

ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC CỦA CÁC CHỦNG VI KHUẨN NITRAT HÓA PHÂN LẬP TỪ NƯỚC LỢ NUÔI TÔM TẠI QUẢNG BÌNH VÀ HÀ TĨNH

Hoàng Phương Hà¹, Trần Văn Nhị¹, Phạm Việt Cường¹, Nguyễn Thị Kim Cúc¹

TÓM TẮT

Nitrat hóa là một quá trình sinh học, tại đó vi khuẩn nitrat hóa oxy hóa amoni thành nitrat thông qua sự hình thành nitrit. Quá trình này rất nhạy cảm với các yếu tố môi trường như nhiệt độ, pH, nồng độ oxy hoà tan, nồng độ cơ chất. Các hợp chất chứa nitơ như NH_4^+ , NO_2^- với hàm lượng cao có thể gây độc cho cá, tôm và các sinh vật thủy sinh khác, gây hiện tượng phú dưỡng và tạo nên nhu cầu lớn về oxy trong môi trường nước. Trong bài báo này, chúng tôi đã phân lập được 19 chủng vi khuẩn nitrat hóa từ nước lợ nuôi tôm tại Quảng Bình và Hà Tĩnh, nghiên cứu một số đặc điểm sinh học của 6 chủng vi khuẩn nitrat hóa điển hình, trong đó 3 chủng vi khuẩn oxy hoá amoni (chủng HT₁₋₂; HT₂₋₂; TS₁₀) và 3 chủng vi khuẩn oxy hóa nitrit (chủng HT₁₃; CP₁₀; TS₂). Các chủng vi khuẩn tuyển chọn có đặc điểm hình thái tế bào và hình thái khuẩn lạc khác nhau, chúng đều là hình roi và có kích thước tế bào khoảng 0,3 - 1,0 x 1,0 - 2,0 μm , Gram (âm) và hiếu khí bắt buộc. Cũng đã nghiên cứu ảnh hưởng của nhiệt độ nuôi cấy, pH môi trường, nguồn cacbon vô cơ cho sinh trưởng và hoạt tính của các chủng vi khuẩn tuyển chọn. Kết quả cho thấy, trong môi trường khoáng cơ sở Winogradsky I, II, nhiệt độ tối ưu cho phát triển và hoạt tính nitrat hóa của các chủng nghiên cứu là 28-30°C, pH từ 7,5- 8, và đặc biệt nguồn cacbon vô cơ NaHCO_3 thích hợp hơn cho sự sinh trưởng của các chủng vi khuẩn nghiên cứu so với CaCO_3 .

Từ khóa: Amoni, nitrit, nitrat, sự nitrat hóa, vi khuẩn nitrat hóa

I. MỞ ĐẦU

Trong những năm gần đây, quá trình loại bỏ các hợp chất chứa nitơ trong nước thải đã thu được những kết quả đáng kể trong việc bảo vệ môi trường. Nitrat hoá là bước đầu tiên quan trọng và cần thiết trong toàn bộ quá trình nitrat hóa - khử nitrat. Quá trình nitrat hóa xảy ra với sự tham gia của nhóm vi khuẩn tự dưỡng, Gram (âm) và hiếu khí bắt buộc. Chúng sử dụng năng lượng từ các quá trình oxy hóa này để sinh trưởng (Bock, Koops, 1992) và đồng hóa CO_2 từ chu trình Calvin.

Hàm lượng amoni ở mức 0,425 mg /l trong môi trường nước có thể gây độc cho cá và các động vật thủy sinh khác (Slil S. *et al.*, 2007). Amoni gây độc trực tiếp đến hệ hô hấp của cá hoặc tôm, gây mất cân bằng về mặt lý sinh, giảm sức đề kháng và dẫn đến tôm cá bị chết. Hàm lượng nitrit vượt quá 0,3 mg/l sẽ ức chế sự vận chuyển oxy trong máu, gây độc rất lớn cho vật nuôi. Nitrat là sản phẩm tiếp theo của quá trình oxy hóa nitrit, với hàm lượng vượt quá 10 mg/l gây nên sự phú dưỡng, ảnh hưởng lớn đến môi trường thủy sinh.

Các nghiên cứu trên thế giới và ở nước ta cho thấy, vi khuẩn nitrat hoá giữ vai trò quan trọng trong việc làm sạch môi trường nước bị nhiễm amoni. Vì vậy, chúng tôi tiến hành phân lập và tuyển chọn một

số chủng vi khuẩn nitrat hóa từ nước lợ nuôi tôm tại Quảng Bình và Hà Tĩnh, với mục đích tuyển chọn một số chủng điển hình có khả năng sử dụng để xử lý môi trường nuôi trồng thủy sản.

II. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Sử dụng mẫu nước và mẫu bùn lấy từ các hồ nuôi tôm tại Hà Tĩnh và Quảng Bình để phân lập vi khuẩn nitrat hóa.

Môi trường khoáng cơ sở Winogradsky I và II cải tiến (Ronald, 1995) được sử dụng để nuôi cấy vi khuẩn. Xác định sinh trưởng của vi khuẩn theo hàm lượng protein tích lũy bằng phương pháp Bradford (Nguyễn Quang Vinh và ctv, 2004). Xác định hoạt tính oxy hóa amoni bằng hàm lượng amonit mất đi và nitrit tạo thành, hoạt tính oxy hóa nitrit bằng hàm lượng nitrit mất đi và nitrat tạo thành. Xác định hàm lượng amoni theo phương pháp Phenate (Franson M. A. H., 1995), NO_2^- theo phương pháp Griss (Franson, 1995); NO_3^- theo phương pháp Brucine (Franson, 1995). Quan sát hình thái tế bào dưới kính hiển vi quang học Olympus (Nhật Bản) hoặc chụp ảnh bằng kính hiển vi điện tử JEM 1010 (Nhật Bản). Tế bào vi khuẩn được nhuộm Gram (Seeley H.W., *et al.* 1981)

Để nghiên cứu ảnh hưởng của nhiệt độ và pH lên sinh trưởng và hoạt tính sinh học của vi khuẩn, các chủng vi khuẩn tuyển chọn được nuôi trong các bình tam giác 100 ml chứa 30 ml môi trường lỏng cơ sở I hoặc II, nuôi lắc (200 vòng/phút) ở các nhiệt độ khác

¹ Viện Công nghệ sinh học- Viện KH và CN Việt Nam

nhau: 4; 10; 20; 28; 30; 37°C, và các pH khác nhau: 4; 6; 8; 10; 14 với nhiệt độ nuôi cấy là 30°C. Điều chỉnh giá trị của pH ban đầu bằng 1N HCl hoặc 3N NaOH.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

1. Phân lập và tuyển chọn vi khuẩn nitrat hóa

Các chủng vi khuẩn nitrat hóa được phân lập trên môi trường chọn lọc trong điều kiện hiếu khí. Đã phân lập được 19 chủng vi khuẩn, trong đó 10 chủng có hoạt tính oxy hóa amoni và 9 chủng có hoạt tính oxy hóa

nitrit. Sau 7 ngày nuôi cấy trên môi trường Winogradsky dịch thể bổ sung 10mg/l N-NH_4^+ hoặc N-NO_2^- , đã xác định sự sinh trưởng, hoạt tính oxy hóa amoni và oxy hóa nitrit của các chủng vi khuẩn. Từ kết quả nhận được, đã lựa chọn 3 chủng vi khuẩn oxy hóa amoni (chủng HT_{1-2} ; HT_{2-2} ; TS_{10}) và 3 chủng vi khuẩn oxy hóa nitrit (chủng HT_{13} ; CP_{10} ; TS_2), có khả năng sinh trưởng và chuyển hóa nitơ cao hơn các chủng còn lại để sử dụng cho các nghiên cứu tiếp theo.

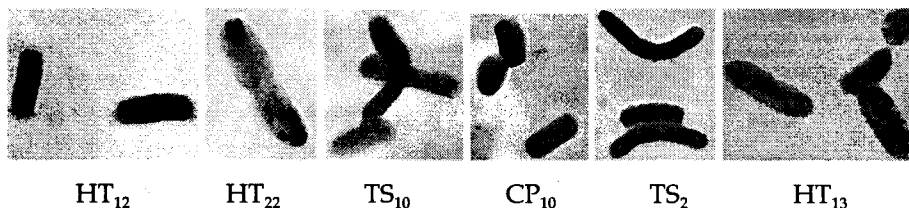
Bảng 1. Hoạt tính của các chủng vi khuẩn oxy hoá amoni và nitrit

Chủng vi khuẩn oxy hóa amoni	Lượng N-NH_4 còn lại (mg/l)	Lượng N-NO_2 sinh ra (mg/l)	Chủng vi khuẩn oxy hóa nitrit	Hàm lượng N-NO_2 còn lại (mg/l)	Hàm lượng N-NO_3 sinh ra (mg/l)
TS_{10}	2,36	6,65	HT_{13}	2,35	6,67
BN_{7-1}	4,45	3,36	TS_2	2,42	6,5
HT_{1-2}	2,12	6,85	CP_{10}	2,08	6,9
HT_{2-2}	2,09	6,90	4	5,37	3,52
TS_9	5,35	2,18	BN_{2-5}	6,32	2,78
HT_{7-3}	6,32	2,14	HT_{3-6}	5,98	2,94
BN_{3-4}	6,54	1,95	220	6,27	2,97
BN_{2-2}	7,02	1,56	HT_{1-1}	6,78	2,65
HT_{3-2}	7,53	1,34	HT_{3-2}	7,03	2,12
HT_{2-1}	6,95	1,89			

2. Một số đặc điểm hình thái của các chủng vi khuẩn nitrat hóa tuyển chọn

Các chủng vi khuẩn oxy hóa amoni (chủng HT_{1-2} ; HT_{2-2} ; TS_{10}) có đặc điểm hình thái đặc trưng của vi

khuẩn thuộc chi *Nitrosomonas*, các chủng vi khuẩn oxy hóa nitrit (chủng HT_{13} ; CP_{10}) có đặc điểm hình thái giống như vi khuẩn thuộc chi *Nitrobacter*, chủng TS_2 là vi khuẩn oxy hóa nitrit nhưng có đặc điểm hình thái tương tự các chủng thuộc chi *Nitrospira*.



Hình 1. Hình thái tế bào của các chủng vi khuẩn nitrat hóa tuyển chọn ở độ phóng đại 8000-10000 lần

Chủng HT_{12} : Khuẩn lạc hình tròn, bề mặt lồi, có nhân, màu vàng nhạt. Sinh sản theo kiểu phân đôi tế bào, $\varnothing = 1-1,2\text{mm}$. Tế bào hình que, chuyển động, có kích thước $0,3 \times 0,8 \mu\text{m}$, Gram (âm). **Chủng HT_{22} :** Khuẩn lạc hình tròn, bề mặt bóng, lồi. Sinh sản theo kiểu phân đôi tế bào, $\varnothing = 1\text{mm}$. Tế bào hình que có roi, kích thước $0,7 \times 1,7 \mu\text{m}$, Gram (âm). **Chủng TS_{10} :** Khuẩn lạc hình tròn, bề mặt nhẵn, màu vàng nhạt, sinh sản theo kiểu phân đôi tế bào, $\varnothing = 1\text{mm}$. Tế bào hình que, có roi, bề mặt tế bào sù sì, kích thước $0,3 \times 0,8 \mu\text{m}$, Gram (âm). **Chủng TS_2 :** Khuẩn lạc tròn, bề mặt bóng, có nhân, màu trắng đục, $\varnothing = 1,5\text{mm}$. Tế bào hình que cong kích thước $0,3 \times 1,8 \mu\text{m}$, Gram (âm). **Chủng CP_{10} :** Khuẩn lạc hình tròn, rìa mép hình răng cưa, $\varnothing = 1,3\text{mm}$. Sinh sản theo kiểu phân đôi tế bào hay nảy chồi. Tế bào hình

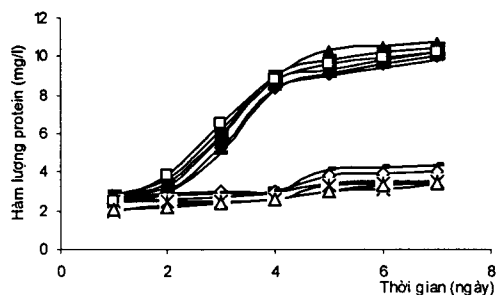
que kích thước $0,8 \times 1,3 \mu\text{m}$, Gram (âm). **Chủng HT_{13} :** Khuẩn lạc hình tròn, bề mặt bóng, màu nâu nhạt, $\varnothing = 0,5\text{mm}$. Sinh sản theo kiểu phân đôi tế bào. Tế bào hình que kích thước $1 \times 2 \mu\text{m}$, Gram (âm).

3. Ảnh hưởng của một số điều kiện nuôi cấy đến sinh trưởng và hoạt tính nitrat hóa của các chủng vi khuẩn nitrat hóa tuyển chọn

a) Ảnh hưởng của nguồn cacbon vô cơ

Các chủng vi khuẩn thuộc nhóm này là vi khuẩn tự dưỡng hóa năng vô cơ và hiếu khí bắt buộc, Gram (âm), lấy năng lượng để sinh trưởng bằng cách oxy hóa amoni (vi khuẩn oxy hóa amoni) hay oxy hóa nitrit (vi khuẩn oxy hóa nitrit) và đồng hóa CO_2 qua chu trình Calvil-Benson (Bock, Koops, 1992) nên

chúng phát triển rất chậm. Việc lựa chọn nguồn cacbon vô cơ cho quá trình nuôi cấy là cần thiết để tối ưu hóa điều kiện sinh trưởng của chúng. Nhằm mục đích này, chúng tôi tiến hành nuôi các chủng vi khuẩn trong môi trường Winogradsky I và II lỏng có nguồn cacbon vô cơ là CaCO_3 hoặc NaHCO_3 . Thí nghiệm được tiến hành trong điều kiện nuôi lắc (200 vòng/phút) ở nhiệt độ $28 \pm 2^\circ\text{C}$. Kết quả ở hình 2 cho thấy, trong môi trường với nguồn cacbon là NaHCO_3 , cả 6 chủng vi khuẩn nitrat hóa đều có khả năng sinh trưởng tốt hơn so với môi trường chứa CaCO_3 . Hàm lượng protein (biểu thị sinh khối) của các chủng nghiên cứu trong môi trường có NaHCO_3 bắt đầu tăng từ ngày thứ 2, pha log của chúng sớm hơn, bắt đầu từ ngày thứ 2 và kéo dài đến ngày thứ 4, hàm lượng protein đạt được từ 8-9 mg/l, đến ngày thứ 7 đạt từ 9-10 mg/l. Trong khi đó ở môi trường chứa CaCO_3 , hàm lượng protein của vi khuẩn bắt đầu tăng ở ngày thứ 4, pha log bắt đầu từ ngày thứ 4-5, hàm lượng protein chỉ đạt 2,5-4 mg/l, sau đó hầu như tăng không đáng kể. Rất có thể trong môi trường dịch thể, NaHCO_3 là một chất dễ phân ly để tạo thành CO_2 và H_2O , nên vi khuẩn dễ dàng sử dụng hơn. Đặc biệt, khi sử dụng muối bicacbonat, pH trong môi trường luôn giữ ở khoảng 7,5-7,8, rất lý tưởng cho môi trường sống của vi khuẩn. Theo Campos *et al.*, (1999); Ruiz (2003), vi khuẩn sử dụng NaHCO_3 không những như một nguồn cacbon vô cơ cần thiết mà còn duy trì pH kiềm thích hợp trong môi trường nuôi của vi khuẩn nitrat hóa.



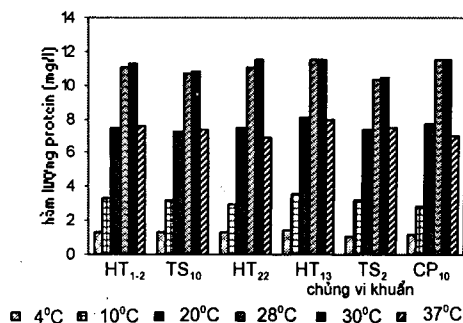
Hình 2. Ảnh hưởng của NaHCO_3 và CaCO_3 đến sự tích lũy sinh khối của vi khuẩn tuyển chọn

(•): HT_{1-2} (NaHCO_3); (◐): HT_{1-2} (CaCO_3); (▲): HT_{2-2} (NaHCO_3); (×): HT_{2-2} (CaCO_3); (■): TS_{10} (NaHCO_3); (◊): TS_{10} (CaCO_3); (◼): HT_{1-3} (NaHCO_3); (◓): HT_{1-3} (CaCO_3); (◑): TS_2 (NaHCO_3); (*): TS_2 (CaCO_3); (◒): CP_{10} (NaHCO_3); (Δ): CP_{10} (CaCO_3)

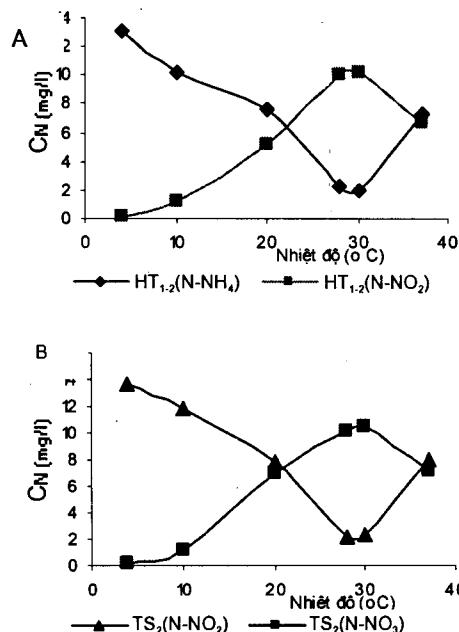
b) Ảnh hưởng của nhiệt độ

Kết quả ở hình 3 cho thấy, nhiệt độ tối ưu cho sự phát triển của cả 2 nhóm vi khuẩn oxy hóa amoni và oxy hóa nitrit dao động ở $28-30^\circ\text{C}$. Tại nhiệt độ này, hàm lượng protein của các chủng nghiên cứu đạt 10,5-11,56 mg/l. Trong khi đó hàm lượng protein hầu như

không tăng ở nhiệt độ $4-10^\circ\text{C}$, chỉ đạt 1,2-3 mg/l và giảm đáng kể tới 40% ở 20°C và trên 37°C . Nhiệt độ không những ảnh hưởng đến tốc độ sinh trưởng của vi khuẩn mà còn ảnh hưởng đến hoạt tính nitrat hóa của chúng. Kết quả ở hình 4 cho thấy, ở nhiệt độ $28-30^\circ\text{C}$, hoạt tính oxy hóa amoni (chủng HT_{1-2}) và hoạt tính oxy hóa nitrit (chủng TS_2) là cao nhất. Công bố của K.Vijaya Bhaskar và đồng tác giả (2005) cũng cho thấy, ở 30°C cả *Nitrosomonas* (vi khuẩn oxy hóa amoni) và *Nitrobacter* (vi khuẩn oxy hóa nitrit) đều sinh trưởng tốt nhưng tỷ lệ sinh trưởng giảm tới 50% ở 20°C và 40°C



Hình 3. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến sự sinh trưởng của các chủng vi khuẩn tuyển chọn

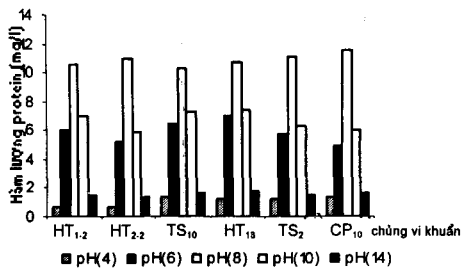


Hình 4. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến hoạt tính oxy hóa amoni (A) và oxy hóa nitrit (B) của 2 chủng vi khuẩn tuyển chọn (HT_{1-2} và TS_2)

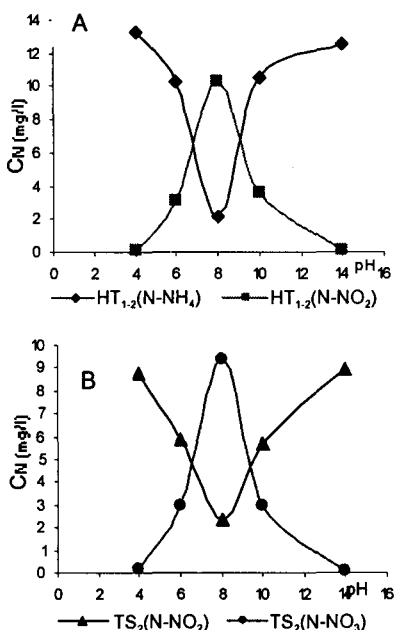
c) Ảnh hưởng của pH

Hình 5,6 cho thấy ảnh hưởng của pH đến sự sinh trưởng và hoạt tính nitrat hóa của các chủng vi khuẩn tuyển chọn. Sự sinh trưởng của vi khuẩn nitrat hóa và

hoạt tính oxy hóa amoni (chủng HT₁₋₂), oxy hóa nitrit (chủng TS₂) đạt cực đại ở pH 8, hàm lượng protein được tích lũy cao nhất là 10-12mg/l, hàm lượng amoni và nitrit trong môi trường giảm từ 70-80% sau 7 ngày nuôi cấy. Trong môi trường axit (pH4, pH6) và bazơ (pH10, pH14) tốc độ sinh trưởng của các vi khuẩn này rất chậm, giảm tới 40% ở pH 6, pH 10 và hầu như ngừng sinh trưởng ở pH 4 và pH 14. Tương tự, tại các điểm pH này, khả năng khử amoni và nitrit của các chủng vi khuẩn nghiên cứu cũng rất thấp (hình 6). G.Ruiz và đồng tác giả (2002) cho rằng ở pH thấp hơn 6,45 và trên 8,95 quá trình nitrát hóa bị ức chế. Công bố của K.Vijaya Bhaskar và đồng tác giả (2005) cho rằng vi khuẩn nitrát hóa sinh trưởng bình thường ở pH 7-8, tốc độ sinh trưởng tối đa của cả 2 nhóm vi khuẩn oxy hóa amôn và oxy hóa nitrit ở pH 8. Điều này chứng tỏ pH giữ vai trò quan trọng đối với vi khuẩn nitrát hóa và được sử dụng như một trong những thông số chìa khóa của quá trình.



Hình 5. Ảnh hưởng của pH đến sự sinh trưởng của các chủng vi khuẩn tuyển chọn



Hình 6. Ảnh hưởng của pH đến hoạt tính oxy hóa amoni (A) và oxy hóa nitrit (B) của 2 chủng vi khuẩn tuyển chọn (HT₁₋₂ và TS₂)

IV. KẾT LUẬN

Từ các ao nuôi tôm nước lợ tại Quảng Bình và Hà Tĩnh, trên môi trường Winogradsky I và II cải tiến, đã phân lập được 17 chủng vi khuẩn nitrát hóa (10 chủng vi khuẩn oxy hóa amoni và 7 chủng vi khuẩn oxy hóa nitrit), trong đó đã tuyển chọn 6 chủng vi khuẩn nitrát hóa có khả năng ứng dụng trong thực tiễn là HT₁₋₂; HT₂₋₂; TS₁₀; HT₁₋₃; TS₂; CP₁₀.

Các chủng vi khuẩn oxy hóa amoni (HT₁₋₂; HT₂₋₂; TS₁₀) có đặc điểm hình thái đặc trưng của vi khuẩn thuộc chi *Nitrosomonas*. Các chủng vi khuẩn oxy hóa nitrit (HT₁₃; CP₁₀) có đặc điểm hình thái giống như vi khuẩn thuộc chi *Nitrobacter*. Chủng TS₂ là vi khuẩn oxy hóa nitrit nhưng có đặc điểm hình thái tương tự các chủng thuộc chi *Nitrospira*.

Các chủng vi khuẩn nghiên cứu đều sinh trưởng tốt hơn với nguồn cacbon vô cơ là NaHCO₃ so với CaCO₃. Nhiệt độ 28-30°C; pH 8 là tối ưu cho sự sinh trưởng và hoạt tính nitrát hóa của các chủng này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- (1) Bock E, Koops H., (1992). Oxidation of inorganic nitrogen compounds as energy source, in *The prokaryote* 2nd Edn In A. Balows, H.G. Trüper, M. Dworkin, W. Harder, K. Schleifer Eds., Springer-Verlag, NewYork, pp. 414-430.
- (2) Campos J.L., et al., (1999). Nitrification at high ammonia loading rates in an activated sludge unit, *Biores Technol.*, 68, pp. 141-148.
- (3) Franson M.A.H., (1995). Standard methods for the Examination of Water and Wastewater, *Publication Office American Public Health Association-Washington, DC 20005*, 19th Edition 1995, pp. 225-227; 240-243; 461-464.
- (4) Koops H., Moller U.C., (1992). The lithotrophic ammonia- oxidizing bacteria, in *The Prokaryotes*, 2nd Edn In A Balows, H G. Trüper, M. Dworkin, W. Harder, K. Schleifer Eds., Springer-Verlag, NewYork, pp.2625-2637.
- (5) Nguyễn Quang Vinh, Bùi Phương Thuận, Phan Tuấn Nghĩa, (2004). Xác định protein theo phương pháp Bradford. *Thực tập hóa sinh học*. Nxb. Đại học quốc gia Hà Nội.
- (6) Roned M., (1995). Atlas Winogradsky's Medium, Modified, *Handbook of Media for Environmental Microbiology*. CRC Press Boca Raton: New York-London-Tokyo, pp. 503.
- (7) Ruiza G., et al., (2003). Nitrification high nitrite accumulation for the treatment of wastewater

with high ammonia concentration. *Wat Res* 37, pp. 1371-1377.

(8) Seeley H.W., Van Demark P., (1981). Gram stain. *Selected exercises from Microbes in action*, a laboratory Manual of Microbiology, 3rd edition, pp. 31-34.

(9) Siripong S., Rittmann B.E., (2007). Diversity study of nitrifying bacteria in full-scale municipal wastewater treatment plants. *Wat Res*, vol. 41 (5), pp.1110-1120.

(10) Slil S., Bruce E. R., (2007). Diversity study of nitrifying bacteria in full-scale municipal wastewater treatment plants, *Elsevier Ltd. All rights reserved*

(11) Vijaya Bhaskar K., Charyulu P.B.B.N., (2005). Effect of environmental factors on nitrifying bacteria isolated from the rhizosphere of *Setaria italica* (L.), *African Journal of Biotechnology*, Vol. 4 (10), pp:1145-1146.

BIOLOGICAL CHARACTERIZATION OF NITRIFYING BACTERIAL STRAINS ISOLATED FROM BRACKISH WATER OF SHRIMP'S PONDS IN QUANGBINH AND HATINH PROVINCES

Hoang Phuong Ha, Tran Van Nhi, Pham Viet Cuong, Nguyen Thi Kim Cuc

Summary

Nitrification is a biological process in which nitrifying bacteria oxidize ammonia to nitrate via nitrite. The process is sensitive to environmental factors such as temperature, pH, dissolved oxygen concentration, and available substrate. Nitrogen compounds as NH_4^+ , NO_2^- can be harmful to fish, shrimp and other aquatic life at sufficient high levels, contributes to eutrophication, and creates a large oxygen demand in receiving water. In this paper, 19 nitrifying bacterial strains isolated from brackishwater shrimp's ponds in Quang Binh and Ha Tinh provinces, six selected nitrifying bacterial strains were characterized. Among them, three strains oxidized ammonia (strains HT_{1,2}; HT_{2,2}; TS₁₀) and three strains oxidized nitrite (strains HT_{1,3}; CP₁₀; TS₂). The selected bacterial strains were different on morphology, all of them are rod - shaped, size of cells approximately 0,3 - 1,0 x 1,0 - 2,0 μm , Gram - negative, obligately aerobic. The effects of temperature, pH, and inorganic carbon sources on their growth and biological activity were investigated. The received results showed that, in Winogradsky I, II media, the optimum temperature for growth and biological activity of ammonium oxydation and nitrite oxydation was 28 - 30°C. The optimum pH of both group of bacteria was 7,5 - 8; Especially, these bacterial strains grew well in the media content of inorganic carbon NaHCO_3 .

Keywords: Ammonium, nitrite, nitrate, nitrification, nitrifying bacteria

Người phản biện: TS. Tăng Thị Chính