

HIỆU QUẢ GIẢM NITRIT TRONG NƯỚC NGỌT, NƯỚC LỢ VÀ NƯỚC AO TÔM CỦA BÀO TỬ *Bacillus polymyxa*

Lê Việt Dũng^{1*}, Sầm Văn Hải^{1,2}

¹*Khoa Thủy sản, Học viện Nông nghiệp Việt Nam*

²*Công ty Cổ phần Giải pháp thú y GreenTech Việt Nam*

*Tác giả liên hệ: levietdung@vnua.edu.vn

Ngày nhận bài: 21.03.2025

Ngày chấp nhận đăng: 20.05.2025

TÓM TẮT

Nồng độ nitrit cao gây độc cho động vật thủy sản. Nghiên cứu này đánh giá khả năng giảm nitrit trong nước của bào tử *Bacillus polymyxa* nhập khẩu từ Ấn Độ trong môi trường giả lập và nước ao tôm. Liều 1g bào tử ($5,3 \times 10^9$ CFU/g) được bổ sung vào môi trường nước ngọt và nước lợ (17ppt), nước ao tôm (17ppt) có nồng độ nitrit 0,5; 2,5; 5,0; 7,5 và 10 mg/l. Sau 24h sục khí, trong môi trường nước ngọt, chỉ có nghiệm thức 2,5 và 0,5 mg/l nitrit giảm về 0 và không giảm đáng kể ở các nồng độ cao hơn. Ngược lại, nitrit đều giảm xuống mức gần 0 trong môi trường nước lợ và nước ao tôm sau 16h. Tốc độ giảm nitrit tối đa đạt 0,6 mg/l/h ở nồng độ 10 mg/l ở môi trường nước lợ và nước ao tôm. Bào tử *B. polymyxa* cho thấy khả năng xử lý nitrit trong nước lợ tốt hơn trong nước ngọt. Cần thêm nghiên cứu để đánh giá hiệu quả sử dụng bào tử *B. polymyxa* trong thực tế nuôi động vật thủy sản nước lợ.

Từ khóa: Nitrit, *Bacillus*, bào tử, xử lý, nước lợ.

Nitrite Reduction Efficiency of *Bacillus polymyxa* Spores in Freshwater, Brackish Water, and Shrimp Pond Water

ABSTRACT

High nitrite concentrations are toxic to aquatic animals. This study evaluated the capability of *Bacillus polymyxa* spores introduced from India in reducing nitrite levels in controlled environments and shrimp pond water. A dose of 1g spores (5.3×10^9 CFU/g) was added to freshwater, brackish water (17ppt), and shrimp pond water (17ppt) containing nitrite concentrations of 0.5, 2.5, 5.0, 7.5, and 10 mg/l. After 24 hours of aeration in freshwater, nitrite was completely reduced only at initial concentrations of 0.5 and 2.5 mg/l, while higher concentrations showed no significant reduction. In contrast, nitrite levels in brackish water and shrimp pond water decreased to near zero within 16 hours. The highest nitrite reduction rate of 0.6 mg/l/h was observed at an initial concentration of 10 mg/l in both brackish water and shrimp pond water. These findings indicate that *B. polymyxa* spores are more effective in nitrite removal in brackish water than in freshwater. Further research is needed to assess their practical application in brackish water aquaculture systems.

Keywords: Nitrite reduction, *Bacillus polymyxa* spores, brackish water, shrimp pond water.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Nitơ là một trong những chất gây ô nhiễm chính trong nuôi trồng thủy sản, trong đó độc tính của nitrit là vấn đề đặc biệt nghiêm trọng. Nitrit được hình thành từ sự phân hủy các chất hữu cơ trong ao và gây độc với động vật thủy sản. Khi tiếp xúc với nitrit, các chỉ số máu bị

ảnh hưởng, gây hiện tượng methemoglobin huyết, thiếu máu tán huyết, đồng thời gây tổn thương mô và rối loạn chuyển hóa, điển hình như bệnh máu nâu của cá (dos Santos Silva & cs., 2018; Banerjee & cs., 2023). Nồng độ nitrit cao thường được phát hiện trong các hệ thống nuôi thâm canh và tuần hoàn, gây tác động tiêu cực đến sự sinh trưởng, quá trình lột xác, khả

năng vận chuyển oxy của máu, cân bằng nước, điều hòa thẩm thấu và cân bằng ion, dẫn đến rối loạn nội tiết (Li & cs., 2019).

Tiến bộ gần đây trong nuôi trồng thủy sản là sử dụng các vi khuẩn có lợi như *Bacillus* để cải thiện chất lượng nước (Soltani & cs., 2019). Nhiều bộ lọc sinh học có *Bacillus* đã được sử dụng trong hệ thống tuần hoàn như lọc sinh học nhỏ giọt, lọc hạt sinh học, lọc sinh học cát lơ lửng. Ngoài ra, các phương pháp vi sinh hay công nghệ biofloc sử dụng *Bacillus* được quan tâm ứng dụng vào quy trình nuôi thâm canh ngoài trời. Một số chủng *Bacillus* có khả năng thực hiện cả quá trình nitrat hóa dị dưỡng và khử nitrat hiếu khí được chú ý. Chúng được xem là những ứng viên tiềm năng trong công nghệ xử lý lọc sinh học nhờ vào tốc độ loại bỏ nitrit cao như *Bacillus subtilis* (Yang & cs., 2011).

Xét đến vai trò quan trọng của vi sinh vật trong quá trình nitrat hóa - khử nitrat hiếu khí dị dưỡng, các nghiên cứu gần đây chủ yếu tập trung vào việc sàng lọc các chủng vi sinh có hiệu suất loại bỏ nitơ cao. Gần đây, loài *Bacillus polymyxa* được phân lập từ rễ cây thực vật đã cho thấy khả năng tăng miễn dịch trên động vật thủy sản (Yang & cs., 2023). Bào tử *B. polymyxa* được sản xuất công nghiệp, đem lại khả năng ứng dụng thực tế cao. Tuy nhiên, chưa có nghiên cứu về khả năng giảm nitrit trong nước của *B. polymyxa*. Do đó, nghiên cứu này được thực hiện nhằm đánh giá khả năng loại bỏ nitrit của bào tử *B. polymyxa* trong môi trường nước ngọt, nước lợ và nước ao tôm.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Thiết kế thí nghiệm

Hiệu quả loại bỏ nitrit của *Bacillus polymyxa* được thử nghiệm trong 3 thí nghiệm 1 nhân tố: môi trường nước 0ppt, 17ppt và nước ao tôm 17ppt. Mỗi thí nghiệm gồm 6 nghiệm thức tương ứng với các nồng độ nitrit 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). Mỗi nghiệm thức được thực hiện với 3 lần lặp. Nhân tố thí nghiệm là các mức nitrit.

Nước ngọt được bơm từ giếng khoan, rồi được loại sắt bằng KMnO_4 và Polyaluminium Chloride 17ppt được pha bằng nước ngọt và nước biển 35ppt. Nước được lọc qua túi mắt lưới 10 μm trước khi sử dụng. Môi trường nước được điều chỉnh về pH 8,0 bằng NaOH 1M. Natri nitrit (NaNO_2) được sử dụng để tạo môi trường có nồng độ nitrit như mong muốn trong nước ngọt và nước lợ. Nước ao tôm 17ppt có nồng độ nitrit 10ppm được pha loãng với nước sạch cùng độ mặn để đạt các mức nồng độ nitrit mong muốn.

Dùng 5g chế phẩm bào tử *B. Polymyxa* (5,3 tỉ CFU/g có nguồn gốc Ấn Độ) và 5g sucrose được cho vào trong các chai 5l nước 0 và 17ppt và nước ao tôm có các nồng độ nitrit như trên. Sục khí được duy trì trong suốt quá trình thí nghiệm. Ngoài ra, một nghiệm thức trắng (blank) ở nồng độ 10ppm nitrit chỉ có sục khí, không bổ sung vi sinh được sử dụng để hiệu chỉnh lượng bay hơi tự nhiên của nitrit cho toàn bộ các nghiệm thức. Thu 5ml mẫu nước mỗi 8 tiếng để đo pH và nitrit 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 nitrit được hiệu chỉnh bằng giá trị nitrit đo được ở các nghiệm thức trừ giá trị nitrit giảm đi ở nghiệm thức trắng.

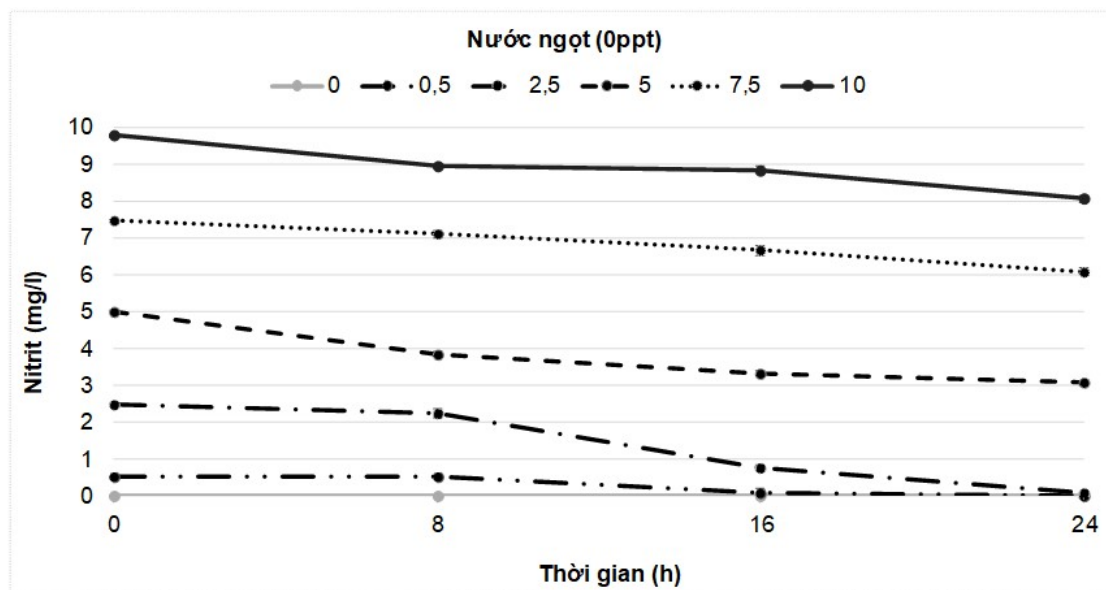
Tốc độ giảm nitrit (mg/l/h) được tính bằng sự chênh lệch giá trị nitrit trên thời gian theo dõi:

$$\Delta\text{NO}_2^- = (\text{NO}_2^-_t - \text{NO}_2^-_{t_0}) / (t - t_0)$$
, trong đó, t và t_0 là thời gian cuối và thời gian đầu.

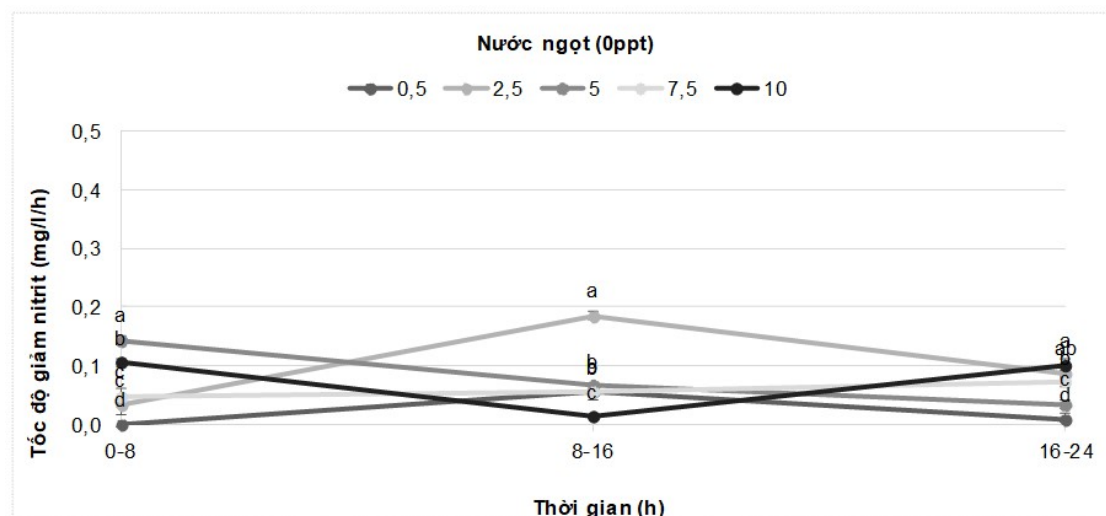
Hiệu quả xử lý nitrit được tính theo phần trăm giá trị nồng độ ban đầu:

$$H = (\text{NO}_2^- / \text{NO}_2^-_{t_0}) \times 100\%$$

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%.



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



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

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

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

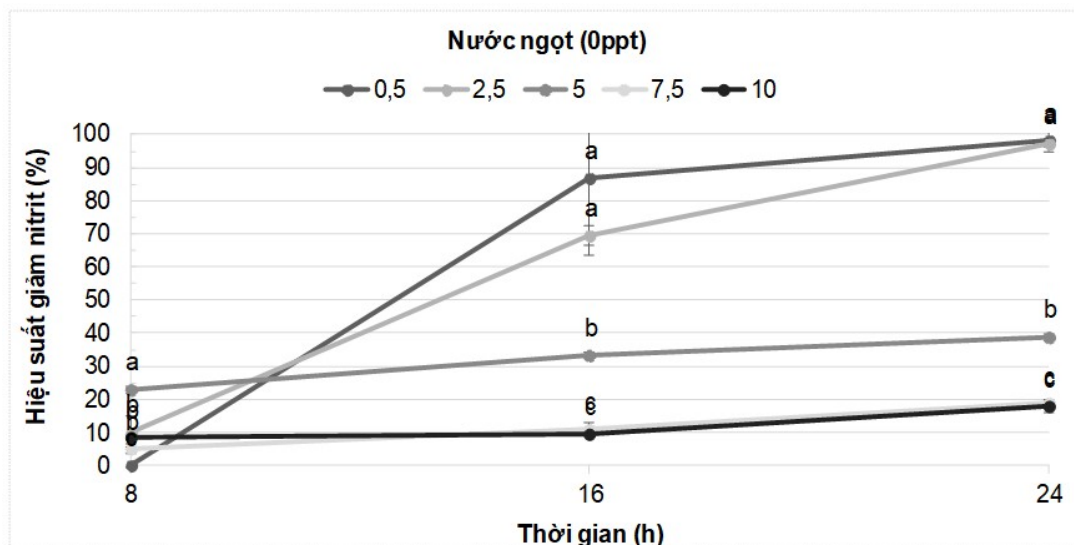
Nồng độ nitrit giảm rõ trong tất cả các nghiệm thức đối với môi trường nước ngọt sau 24h: từ 10 xuống 8ppm; 7,5 xuống 6ppm, 5

xuống 3ppm; 2,5 xuống 0,07; 0,5 xuống 0ppm (Hình 1). Ở khoảng thời gian từ 0-8h, nghiệm thức T5 có tốc độ giảm nitrit nhanh nhất, sau đó tới T10, chậm nhất ở T0,5 ($P < 0,05$, Hình 3a), trong khi đó, không có sự khác biệt về tốc độ giảm nitrit giữa T7,5 và T2,5 ($P > 0,05$). Trong 8-16h, tốc độ giảm nitrit ở T2,5 tăng lên cao hơn các nghiệm thức còn lại ($P < 0,05$), ngược lại, tốc

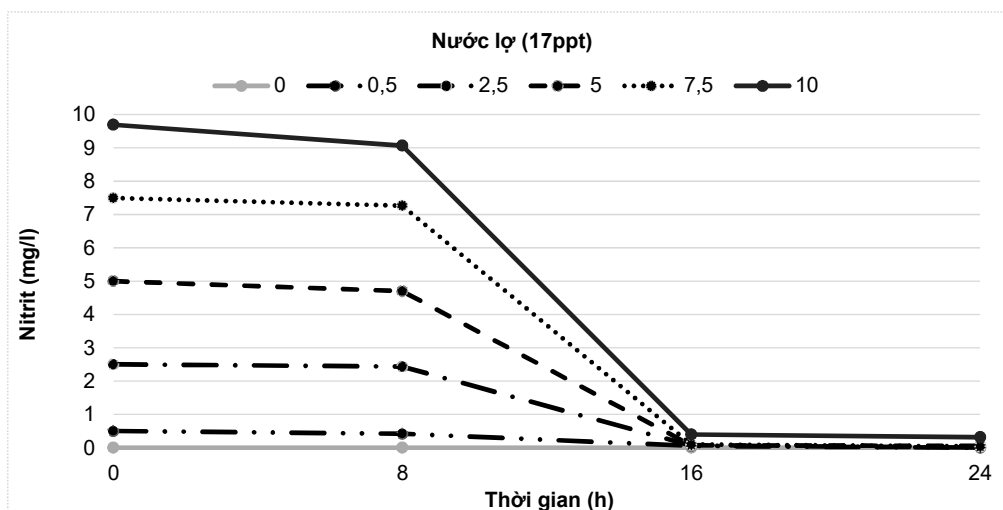
độ giảm nitrit ở T10 giảm xuống thấp nhất ($P < 0,05$) và không có sự khác biệt giữa các nghiệm thức còn lại ($P > 0,05$). Cuối thí nghiệm 16-24h, tốc độ giảm nitrit cao nhất ở nghiệm thức T10, T7,5 và T2,5 ($P < 0,05$, Hình 2a), trong đó, T10 cao hơn T7,5 ($P < 0,05$, Hình 2a). Tốc độ giảm nitrit ở T2,5 không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với T10 và T7,5 ($P > 0,05$).

Hiệu quả xử lý nitrit giữa các nghiệm thức

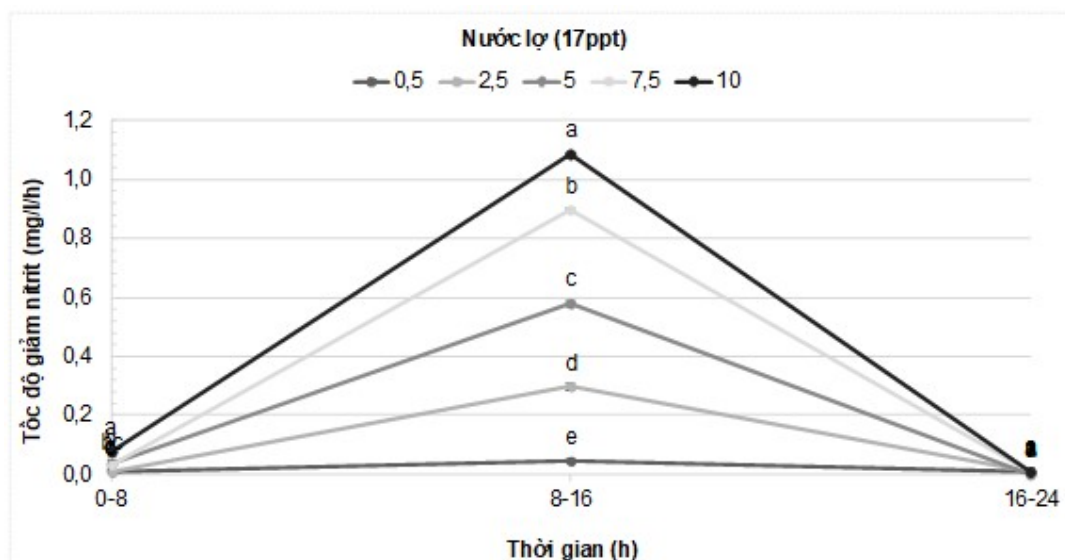
có khác nhau nhưng đều có xu hướng tăng dần theo thời gian (Hình 2b). Sau 8h, hiệu quả xử lý nitrit cao nhất ở nghiệm thức T5 (khoảng 22%, $P < 0,05$), thấp nhất ở nghiệm thức T0,5 (0%, $P < 0,05$) và không có sự khác biệt giữa ba nghiệm thức còn lại ($P > 0,05$, Hình 2b). Sau 16h và 24h, hiệu quả xử lý nitrit ở T0,5 tăng lên cao nhất tương đương với ở T2,5, trong khi đó, hiệu quả xử lý nitrit thấp nhất ở T10 và T7,5 ($P < 0,05$).



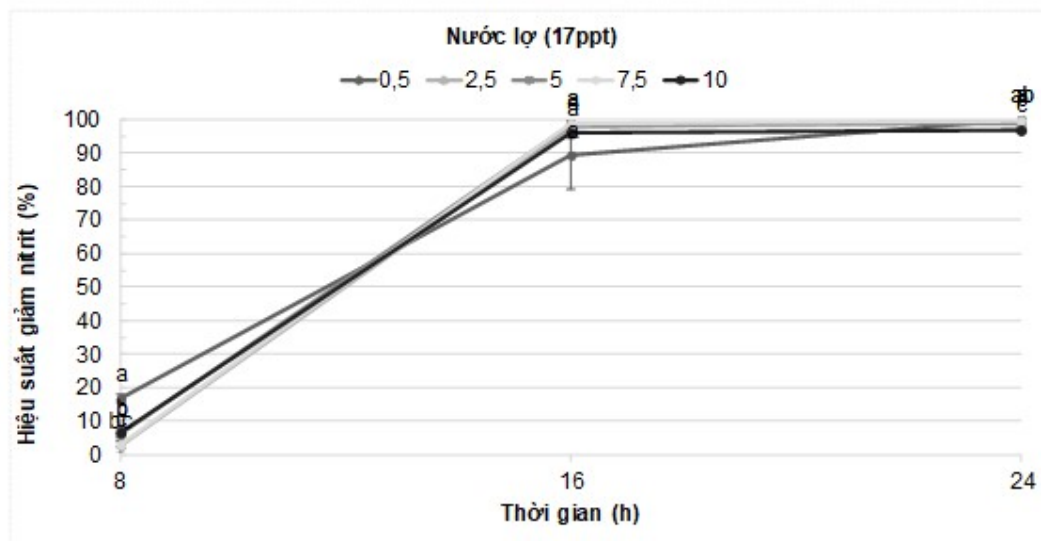
Hình 2b. Hiệu quả xử lý nitrit trong nước ngọt của *B. polymyxa* theo thời gian (%)



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



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



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

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

Nitrit 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, nitrit giảm từ 9,7 xuống 0,31 và từ 7,5; 5; 2,5; 0,5 xuống 0-0,06 mg/l.

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

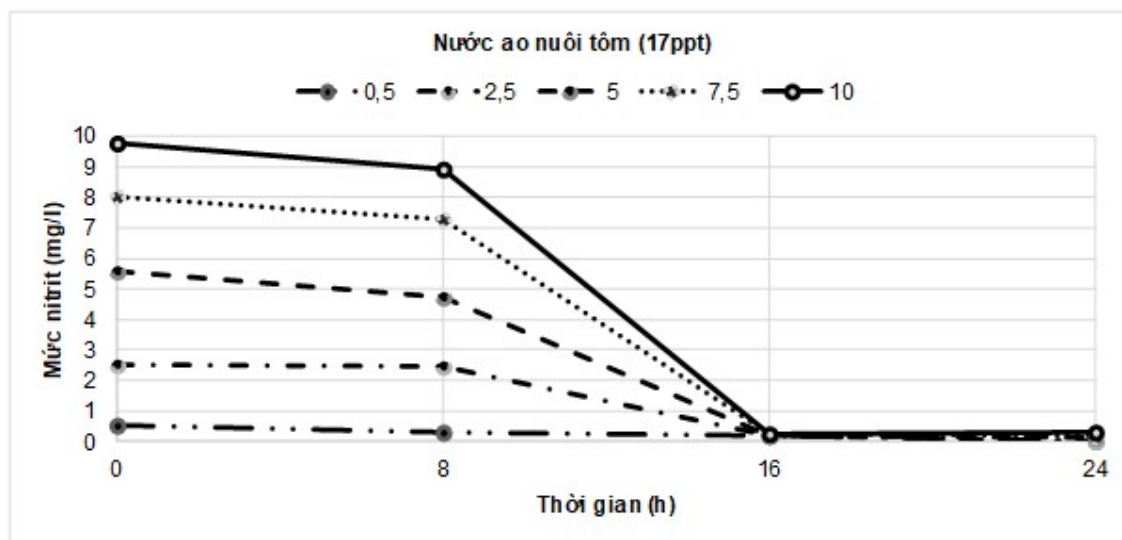
các nghiệm thức ($P > 0,05$). Có thể thấy trong 8-16h, nitrit ở toàn bộ các nghiệm thức đều giảm tới mức gần 0 mg/l. Điều này có thể do sau 8h, bào tử được kích hoạt nảy mầm hoàn toàn và vi khuẩn bắt đầu hoạt động mạnh.

Hiệu quả xử lý nitrit sau 8h cao nhất ở nghiệm thức T0,5 (16%) và thấp nhất ở nghiệm thức T2,5 ($P < 0,05$; Hình 4b). Sau 16h, hiệu quả xử lý nitrit không có sự khác biệt giữa các nghiệm thức ($P > 0,05$). Sau 24h, hiệu quả xử lý

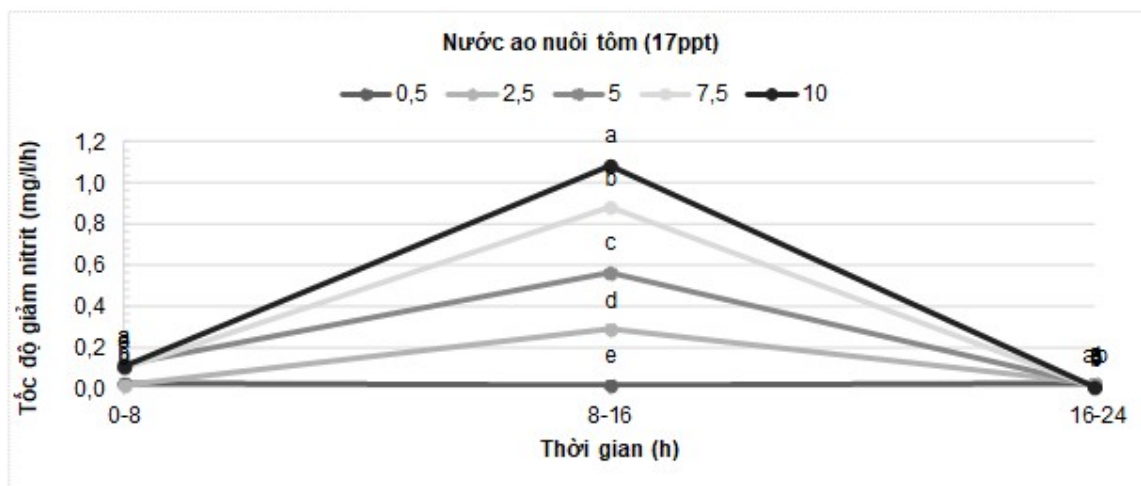
nitrit đều ở mức cao gần 100%.

3.3. Ảnh hưởng của *Bacillus polymyxa* tới các mức nitrit theo thời gian trong môi trường nước ao tôm

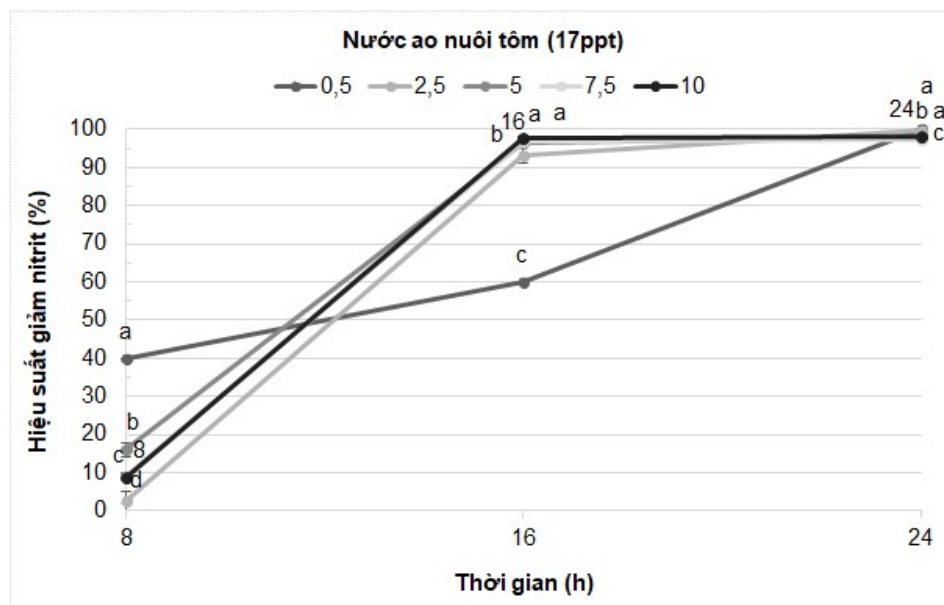
Nitrit trong nước ao tôm với các mức ban đầu 0,5-10 mg/l đều giảm sau khi bổ sung *B. polymyxa* (Hình 5). Sau 24h, nitrit giảm từ 9,8 mg/l xuống 0,3 mg/l và từ 8; 5,6; 2,5; 0,5 mg/l xuống 0-0,2 mg/l.



Hình 5. Sự thay đổi của nitrit (mg/l) theo thời gian trong môi trường nước ao tôm sau bổ sung *B. polymyxa*



Hình 6a. Tốc độ giảm nồng độ nitrit theo các quãng thời gian 8 tiếng (mg/l/h) trong môi trường nước ao tôm khi bổ sung *B. polymyxa*



Hình 6b. Hiệu quả xử lý nitrit trong nước ao tôm của *B. polymyxa* theo thời gian (%)

Có sự khác biệt về tốc độ giảm nitrit giữa các nghiệm thức ở các khoảng thời gian 0-8h, 8-16h và 16-24h ($P < 0,05$, Hình 6a). Trong 8-16h, tốc độ giảm nitrit cao nhất ở nghiệm thức T10 và tiếp đến ở các nghiệm thức T7,5, T5, T2,5 và T0,5 mg/l ($P < 0,05$). Xu hướng này tương tự như thử nghiệm với nước lợ sử dụng NaNO_2 như nguồn $\text{NO}_2\text{-N}$.

Hiệu quả xử lý nitrit trong nước ao tôm sau 8h cao nhất ở nghiệm thức T0,5 (40%) và thấp nhất ở nghiệm thức T2,5 ($P < 0,05$; Hình 6b). Sau 16h, hiệu quả xử lý nitrit ở các nghiệm thức T10, T7,5 và T5 cao hơn ở nghiệm thức T2,5 và T0,5 ($P < 0,05$). Ngược lại, sau 24h, hiệu quả xử lý nitrit ở T2,5 và T0,5 cao hơn ở ba nghiệm thức còn lại ($P < 0,05$).

4. THẢO LUẬN

Kết quả nghiên cứu này chỉ ra nồng độ nitrit ban đầu từ mức 5 mg/l trở lên trong nước ngọt có tác dụng ức chế *B. polymyxa*. Khả năng hoạt động của *B. polymyxa* trong nước ngọt thấp hơn của *B. thuringiensis* (Bảng 1, Xu & cs., 2021; Wang & cs., 2022). Điều này có thể do *B. thuringiensis* được phân lập từ nguồn nước thải của trại lợn và bể biogas, nơi vi khuẩn tiếp xúc với nồng độ nitrit cao trong nước ngọt.

Tuy nhiên, trong nước lợ nồng độ nitrit ở mức 10 mg/l chưa có khả năng ức chế *B. polymyxa*. Các nghiên cứu trước cũng chỉ ra *Bacillus* có khả năng sử dụng nitrit ở mức rất cao trong môi trường nước lợ và mặn (Bảng 1). Tốc độ giảm nitrit và hiệu quả xử lý cao nhất trong nước lợ 17ppt sau 16h của *B. polymyxa* tại nồng độ cao nhất 10ppm trong nghiên cứu này tương ứng đạt 0,6 mg/l/h và 96%.

Tốc độ giảm nitrit đã được chuyển thành tốc độ giảm nitrit đặc hiệu để có thể so sánh giữa các nghiên cứu. So với các chủng vi khuẩn *Bacillus* khác, *B. polymyxa* trong nghiên cứu này thể hiện tốc độ giảm nitrit ở mức trung bình (Bảng 1). Chủng *B. velezensis* QT-101, FZB42 có khả năng giảm nitrit từ mức 25-200 mg/l xuống gần 0 trong 24h (Sang & cs., 2020; Zhang & cs., 2022). Tương tự, các chủng *B. subtilis* LAM-12118, DSM-10, *B. albus* MCCC-1A02146, *B. amyloliquefaciens* BV2007 cũng có khả năng giảm nitrit từ 25 mg/l xuống 0 trong 24h (Zhang & cs., 2022). Mặc dù không phải dạng vi khuẩn đã được kích hoạt như các chủng *Bacillus* trong các nghiên cứu trước, bào tử *B. polymyxa* vẫn có khả năng giảm nitrit từ 10 mg/l xuống gần 0 chỉ trong 16h với nước ao tôm. Điều này gợi ý *B. polymyxa* có khả năng chịu nồng độ nitrit cao hơn 10 mg/l và có thể ứng dụng ngoài thực địa.

Bảng 1. Tổng hợp tốc độ giảm nitrit của một số chủng *Bacillus*

Chủng <i>Bacillus</i>	Độ mặn (ppt)	Nhiệt độ (°C)	pH	Tỉ lệ C/N	Mật độ <i>Bacillus</i> ban đầu ($\times 10^6$ CFU/ml)	Nitrit ban đầu (mg/l)	Nitrit cuối (mg/l)	Thời gian (h)	Tốc độ giảm nitrit (mg/l/h)	Tốc độ giảm nitrit đặc hiệu	Dạng <i>Bacillus</i>	Tài liệu tham khảo
<i>Bacillus polymyxa</i>	17	28	8,2	40	5,3	10	0,4	16	0,60	0,201	Bào tử	Nghiên cứu này
	0	28	8,2	40	5,3	10	8,07	24	0,07	0,008		
<i>B. subtilis</i> JD-014	30	28	7,5	40	42	20	18	24	0,08	0,004	Tế bào sống	Yang & cs. (2021)
	30	28	7,5	40	42	10	9	24	0,04	0,004		
<i>B. megaterium</i>	30	28	7,5	40	42	5	0,1	24	0,20	0,163		Mendoza & cs. (2019)
<i>B. haynesii</i>	30	28	7,5	40	42	5	5	24	0,00	0,000		
<i>B. wiedmannii</i>	30	28	7,5	40	42	5	5	24	0,00	0,000		
<i>B. tequilensis</i>	30	28	7,5	40	42	5	5	24	0,00	0,000		
<i>B. velezensis</i> QT-101	10	28	7	8	63	0,1	0,02	24	0,00	0,067		Sang & cs. (2020)
	10	28	7	8	63	2	0,04	24	0,08	0,163		
	10	28	7	8	63	50	0,1	24	2,08	0,259		
	10	28	7	8	63	100	0,07	24	4,16	0,303		
	10	28	7	8	63	200	0,039	24	8,33	0,356		
<i>B. thuringiensis</i> EM-A1	0	20	7,2	15	25	57,95	5,45	48	1,09	0,049		Wang & cs. (2022)
<i>B. thuringiensis</i> WXN-23	0	30	7	5	42	86,57	15,36	30	2,37	0,058		Xu & cs. (2021)
<i>Bacillus</i> sp. L2	20	30	7	9	140	50	22	24	1,17	0,034		Li & cs. (2024)
<i>B. subtilis</i> IAM-12118	3	30	7	12	22	25	0	24	1,04	0,326		Zhang & cs. (2022)
<i>B. albus</i> MCCC 1A02146	3	30	7	12	18	25	0	24	1,04	0,326		
<i>B. subtilis</i> DSM-10	3	30	7	12	22	25	0	24	1,04	0,326		
<i>B. amyloliquefaciens</i> BV2007	3	30	7	12	18	25	0	24	1,04	0,326		
<i>B. velezensis</i> FZB42	3	30	7	12	22	25	0	24	1,04	0,326		

Ghi chú: Mật độ *Bacillus* ban đầu trong các nghiên cứu được quy đổi theo đường chuẩn của Ibraheim & Darwish (2013). Tốc độ giảm nitrit đặc hiệu được tính theo công thức $[\ln(\text{Mức nitrit ban đầu}) - \ln(\text{Mức nitrit cuối})]/\text{thời gian}$.

5. KẾT LUẬN

Chủng *Bacillus polymyxa* thương mại có nguồn gốc từ Ấn Độ trong nghiên cứu này có khả năng giảm nitrit nhanh hơn và hiệu quả hơn trong môi trường nước lợ và nước ao tôm (17ppt) so với nước ngọt. Mức nitrit tối ưu cho chủng này là 10 mg/l ở điều kiện thí nghiệm với trên 96% hiệu suất trong 16h. Trong tương lai, cần có thêm các nghiên cứu thực địa và đánh giá toàn diện hơn để có thể ứng dụng bào tử *B. polymyxa* vào thực tế.

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

- Banerjee P., Garai P., Saha N.C., Saha S., Sharma P. & Maiti A.K. (2023). A critical review on the effect of nitrate pollution in aquatic invertebrates and fish. *Water, Air & Soil Pollution*. 234(6): 333. doi.org/10.1007/s11270-023-06260-5
- Dos Santos Silva M.J., Da Costa F.F.B., Leme F.P., Takata R., Costa D.C., Mattioli C.C., Luz R.K. & Miranda-Filho K.C. (2018). Biological responses of Neotropical freshwater fish *Lophiosilurus alexandri* exposed to ammonia and nitrite. *Science of The Total Environment*. 616-617: 1566-1575. doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.10.157
- Li B., Lv R., Xiao Y., Hu W., Mai Y., Zhang J., Lin L. & Hu X. (2019). A Novel Nitrite-Base Aerobic Denitrifying *Bacterium Acinetobacter* sp. YT03 and Its Transcriptome Analysis. *Frontiers in Microbiology*. 10: 2580. doi.org/10.3389/fmicb.2019.02580.
- 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. doi.org/10.3390/w16030416.
- Mendoza L.F.D., Quimi Mujica J.G., Risco Cunayque J.M., Aroni Lucana G.W., Intriago Angulo J.J., De La Cruz V.I.S., Escobar V.A.C. & Matonnier E.M. (2019). Assessment of Heterotrophic Nitrification Capacity in *Bacillus* spp. And its Potential Application in the Removal of Nitrogen from Aquaculture Water. *Journal of Pure and Applied Microbiology*. 13(4): 1893-1908. doi.org/10.22207/JPAM.13.4.02.
- Sang C.-G., Fu Y.-W., Guo S.-Q., Luo J.-J. & Zhang Q.-Z. (2020). Isolation and Characterization of an Aerobic Denitrifier *Bacillus* sp. SC16 from an Intensive Aquaculture Pond. *Water*. 12(12): 3559. https://doi.org/10.3390/w12123559.
- Soltani M., Ghosh K., Hoseinifar S.H., Kumar V., Lymbery A.J., Roy S. & Ringø E. (2019). Genus *bacillus*, promising probiotics in aquaculture: Aquatic animal origin, bio-active components, bioremediation and efficacy in fish and shellfish. *Reviews in Fisheries Science & Aquaculture*. 27(3): 331-379. doi.org/10.1080/23308249.2019.1597010
- Wang T., Chen M., Liang X., Chen F., He T. & Li Z. (2022). The Alkali-Tolerant Bacterium of *Bacillus thuringiensis* EM-A1 Can Effectively Perform Heterotrophic Nitrification and Aerobic Denitrification. *Frontiers in Environmental Science*. 9: 818316. doi.org/10.3389/fenvs.2021.818316
- Xu N., Liao M., Liang Y., Guo J., Zhang Y., Xie X., Fan Q. & Zhu Y. (2021). Biological nitrogen removal capability and pathways analysis of a novel low C/N ratio heterotrophic nitrifying and aerobic denitrifying bacterium (*Bacillus thuringiensis* strain WXN-23). *Environmental Research*. 195: 110797. https://doi.org/10.1016/j.envres.2021.110797
- Yang S., Jin D., Li H., Jiang L., Cui J., Huang W., Rang J., Li Y. & 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. https://doi.org/10.1111/jfd.13714.
- Yang T., Shi Y., Yang Q., Xin Y., Gu Z. & Zhang L. (2021). A Novel Regulator Participating in Nitrogen Removal Process of *Bacillus subtilis* JD-014. *International Journal of Molecular Sciences*. 22(12): 6543. doi.org/10.3390/ijms22126543.
- Yang X.-P., 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. doi.org/10.1016/j.biortech.2010.09.007.
- Zhang F., Xie F., Zhou K., Zhang Y., Zhao Q., Song Z. & Cui H. (2022). Nitrogen Removal Performance of Novel Isolated *Bacillus* sp. Capable of Simultaneous Heterotrophic Nitrification and Aerobic Denitrification. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 194(7): 3196-3211. doi.org/10.1007/s12010-022-03877-w.