

BIẾN ĐỘNG MẬT ĐỘ *Bacillus*, *Lactobacillus* VÀ *Vibrio* TRONG Bùn Ở TUYẾN SÔNG MỸ THANH, TỈNH SÓC TRĂNG

Phạm Thị Tuyết Ngân^{1*}, Vũ Hùng Hải¹, Nguyễn Hoàng Nhật Uyên¹, Nguyễn Thanh Phương² và Vũ Ngọc Út¹

¹Bộ môn Thủy sinh học ứng dụng, Khoa Thủy sản, Trường Đại học Cần Thơ

²Bộ môn Hải sản, Khoa Thủy sản, Trường Đại học Cần Thơ

*Người chịu trách nhiệm về bài viết: Phạm Thị Tuyết Ngân (email: pttngan@ctu.edu.vn)

Thông tin chung:

Ngày nhận bài: 05/09/2019

Ngày nhận bài sửa: 21/12/2019

Ngày duyệt đăng: 28/02/2020

Title:

Fluctuations of *Bacillus*, *Lactobacillus* and *Vibrio* density in mud in the My Thanh river, Soc Trang province

Từ khóa:

Bacillus, *Lactobacillus*, Mỹ Thanh, tổng vi khuẩn, *V. harveyi*, *V. parahaemolyticus*, *Vibrio* sp.

Keywords:

Bacillus, *Lactobacillus*, Mỹ Thanh, Total bacteria, *V. harveyi*, *V. parahaemolyticus*, *Vibrio* sp.

ABSTRACT

The study was conducted to investigate the variation of density and composition of bacteria in mud in My Thanh river including the upper part (Nhu Gia), middle part (My Thanh 1), and lower part (My Thanh 2). Mud samples were collected once a month from July 2017 to June 2018 at low tide. Bacteria density was determined by plate counting. The results indicated that the total bacterial population was at its peak in Nhu Gia ($5,3 \times 10^4$ CFU/g), and at the lowest in My Thanh 2 ($5,3 \times 10^4$ CFU/g), and it tended to decrease from January to June. *Bacillus* and *Lactobacillus* density was high in Nhu Gia and low in My Thanh 2. *Bacillus* density was stable throughout the months of the year at all 3 sampling sites, but the density decreased when salinity increased. In My Thanh 2, *Bacillus* density was proved significantly lower than in Nhu Gia; specifically, in May ($8,3 \times 10^3$ CFU/g) in My Thanh 2 versus ($1,9 \times 10^6$ CFU/g) in Nhu Gia. *Lactobacillus* had the lowest density ($3,4 \times 10^2$ CFU/g) in June and the highest ($2,7 \times 10^5$ CFU/mL) in February. Besides, the total *Vibrio* density tended to increase with the rise of salinity during the year and exceeded 10^3 CFU/g in My Thanh 2. The density of *V. harveyi*, *V. parahaemolyticus* in My Thanh 2 and My Thanh 1 was higher than Nhu Gia's. The higher the salinity, the greater the concentration of *Vibrio*, *V. harveyi* and *V. parahaemolyticus* and it may lead to risk for animals.

TÓM TẮT

Đề tài được thực hiện nhằm nghiên cứu biến động mật độ *Bacillus*, *Lactobacillus* và *Vibrio* trong bùn ở tuyến sông Mỹ Thanh: đầu nguồn (Nhu Gia) giữa nguồn (Mỹ Thanh 1) và cuối nguồn (Mỹ Thanh 2). Mẫu được thu mỗi tháng một lần từ tháng 7/2017 đến 6/2018 vào lúc nước ròng. Mật độ vi khuẩn được xác định bằng phương pháp đếm khuẩn lạc trên đĩa thạch. Kết quả cho thấy, mật độ tổng vi khuẩn cao nhất ở Nhu Gia ($5,3 \times 10^4$ CFU/g) thấp nhất ở Mỹ Thanh 2 ($5,3 \times 10^4$ CFU/g) và có xu hướng giảm từ tháng 1 đến tháng 6. Mật độ *Bacillus* và *Lactobacillus* cao nhất ở Nhu Gia, tiếp đến Mỹ Thanh 1 và thấp nhất là ở Mỹ Thanh 2. *Bacillus* ổn định qua các tháng trong năm ở cả 3 điểm thu mẫu, nhưng mật độ giảm khi độ mặn tăng. Ở Mỹ Thanh 2 luôn thấp hơn và thấp nhất vào tháng 5 ($8,3 \times 10^3$ CFU/g) trong khi đó ở Nhu Gia đạt cao nhất ($1,9 \times 10^6$ CFU/g). *Lactobacillus* biến động thấp nhất ($3,4 \times 10^2$ CFU/g) vào tháng 6 và cao nhất ($2,7 \times 10^5$ CFU/ml) vào tháng 2. Mật độ tổng vi khuẩn *Vibrio* spp. ở cửa sông Mỹ Thanh 2 luôn cao hơn 2 điểm còn lại trong suốt quá trình thu mẫu và cao nhất ($2,6 \times 10^5$ CFU/g) vào tháng 4. *Vibrio* có khuynh hướng tăng theo độ mặn và vượt quá 10^3 CFU/g. *V. harveyi*, *V. parahaemolyticus* có khuynh hướng biến động tương tự *Vibrio*.

Trích dẫn: Phạm Thị Tuyết Ngân, Vũ Hùng Hải, Nguyễn Hoàng Nhật Uyên, Nguyễn Thanh Phương và Vũ Ngọc Út, 2020. Biến động mật độ *Bacillus*, *Lactobacillus* và *Vibrio* trong bùn ở tuyến sông Mỹ Thanh, tỉnh Sóc Trăng. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. 56(1B): 177-186.

1 GIỚI THIỆU

Trong hệ sinh thái ven biển và các vùng cửa sông, thành phần vi sinh vật rất phong phú và đóng vai trò rất quan trọng trong chu trình chuyển hóa dinh dưỡng bởi vì chúng có khả năng phân hủy hợp chất hữu cơ và sử dụng các chất dinh dưỡng này làm nguồn thức ăn đồng thời làm sạch môi trường nước và bùn đáy (Glöckner *et al.*, 2012). Trong số những loài vi khuẩn được phát hiện, *Bacillus* spp. đã được chứng minh là có đặc tính sinh học tốt hơn nhờ khả năng sản xuất các chất kháng khuẩn, không gây bệnh cho vật nuôi và không độc hại, tiết ra enzyme kháng oxy hóa, tăng cường miễn dịch, giảm stress, kháng vi khuẩn gây bệnh và cải thiện môi trường nước. Đặc biệt có khả năng sinh bào tử và sống sót trong các môi trường khác nhau so với các loài *Lactobacillus* spp. Môi trường sống thích hợp tự nhiên của *Bacillus* là bùn đáy ao. Vì vậy điều kiện môi trường nuôi và tình trạng hóa lý của nước nuôi là mối quan tâm thiết yếu trong nuôi trồng thủy sản (Hura *et al.*, 2018). Ngoài ra vi khuẩn sinh axit lactic (*Lactobacillus*) cũng là vi khuẩn hữu ích được tìm thấy trong tự nhiên do sự nhân lên dễ dàng, sản xuất các hợp chất kháng khuẩn (bacteriocin, hydro peroxide, axit hữu cơ) và kích thích phản ứng miễn dịch không đặc hiệu (Gatesoupe, 2008). Một số nghiên cứu cũng đã chứng minh về tác dụng có lợi của vi khuẩn lactic trong một số loài thủy sản bởi lợi ích dinh dưỡng và kháng khuẩn mạnh với các vi khuẩn gây bệnh (Gilliland *et al.*, 1985; Rosslund *et al.*, 2003; Ajitha *et al.*, 2004; Gatesoupe, 2008; Qi *et al.*, 2009; Ismail and Soliman, 2010 và Sivakumar *et al.*, 2012; được trích dẫn bởi Karthik *et al.*, 2014)

Ngoài nhóm vi khuẩn hữu ích này ra, các loài *Vibrio* gây bệnh cho động vật thủy sản cũng hiện diện trong cùng một hệ sinh thái. *V. harveyi*, *V. parahaemolyticus* và *V. campbellii* gây ra bệnh phát sáng, bệnh hoại tử gan tụy cấp trong nuôi tôm dẫn đến tỷ lệ tôm chết từ 50-100% (Wang *et al.*, 2015). Biến đổi khí hậu, nhiệt độ nóng dần lên làm gia tăng độ mặn. Đây là điều kiện thuận lợi cho vi khuẩn *Vibrio* phát triển (Nguyễn Thị Hiền và *ctv.*, 2009). Sóc Trăng là một trong những vùng trọng điểm phát triển ngành nuôi trồng thủy sản. Tuy nhiên, hiện nay vấn đề dịch bệnh đang diễn biến phức tạp. Sông Mỹ Thanh thuộc địa phận tỉnh Sóc Trăng, là nơi giao lưu và chuyển tiếp giữa 2 khu hệ sinh vật nước ngọt và nước biển, hình thành môi trường nước lợ với sự pha trộn các tính chất của môi trường nước biển và nước ngọt nội địa nên độ mặn ở nơi đây cũng thường xuyên biến động. Do vậy xác định mật độ các nhóm vi khuẩn này ở dọc theo tuyến sông Mỹ Thanh nhằm đánh giá mật độ vi khuẩn bùn đáy sẽ giúp cung cấp thêm thông tin cho việc quản lý bệnh đã được thực hiện.

2 PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Thời gian thu mẫu từ tháng 6/2017 đến 6/2018. Địa điểm thu mẫu trên tuyến sông Mỹ Thanh từ đầu nguồn (Nhu Gia), giữa nguồn (Mỹ Thanh 1) và cuối nguồn (Mỹ Thanh 2). Nhịp thu mẫu mỗi tháng một lần. Tại mỗi địa điểm thu một mẫu đại diện và được phân tích trong phòng thí nghiệm vi sinh vật hữu ích, bộ môn Thủy sinh học ứng dụng, Khoa Thủy sản.



Hình 1: Bản đồ các điểm thu mẫu dọc theo tuyến sông Mỹ Thanh

2.2 Phương pháp thu mẫu bùn và chỉ tiêu theo dõi

Mẫu được thu trực tiếp bằng xilanh (được tiệt trùng bằng cồn 70%). Đặt xilanh xuống nền đáy với độ sâu 5 cm và rút mẫu đến khi đầy xilanh. Tại mỗi điểm, mẫu được thu ở 4 vị trí khác nhau ở 2 bên bờ của thủy vực, mỗi bên thu 2 mẫu. Mẫu được trữ trong thùng nước đá và chuyển về phòng thí nghiệm, tiếp tục trữ trong tủ lạnh và phân tích trong vòng 3 - 5 giờ. Tại phòng thí nghiệm, 4 mẫu bùn được trộn lẫn vào nhau thành một mẫu đại diện cho thủy vực, sau đó dùng que trộn đều và cân 1 g bùn để tiến hành thí nghiệm. Độ mặn được đo vào thời điểm thu mẫu bằng khúc xạ kế.

Các chỉ tiêu phân tích bao gồm mật độ tổng vi khuẩn, tổng *Vibrio* sp., *Bacillus* sp., *Lactobacillus* sp., *V. harveyi* và *V. parahaemolyticus*.

2.3 Phương pháp xác định mật số vi khuẩn bằng phương pháp đếm khuẩn lạc trên đĩa thạch

2.3.1 Pha loãng mẫu

Dụng cụ chứa mẫu được mở nắp trong tủ cấy tiệt trùng, 1 g mẫu bùn tại vị trí thu mẫu của cùng một thủy vực được chuyển sang các ống nghiệm chứa 9 mL nước muối sinh lý (0,85%) đã tiệt trùng, trộn đều bằng máy trộn (Vortex) khoảng 1 phút, được độ pha loãng 10^{-1} . Từ mẫu này để lắng 30 giây, chuyển 1 mL dung dịch ở phần giữa của ống nghiệm sang ống nghiệm khác có chứa sẵn 9 mL nước muối sinh lý tiệt trùng, được độ pha loãng 10^{-2} . Tiếp tục pha loãng theo cách này đến khi được độ pha loãng thích hợp (Huys, 2002).

2.3.2 Phân tích mẫu trên môi trường thạch

Môi trường Nutrient agar (NA) có bổ sung NaCl để đạt độ mặn tương đương mẫu thu và môi trường Thiosulphate Citrate Bile Sucrose Agar (TCBS) được sử dụng để xác định mật độ vi khuẩn tổng và *Vibrio*. Môi trường phân lập vi khuẩn *Bacillus* được chuẩn bị theo phương pháp của Nguyễn Lân Dũng (1983), Harwood và Archibald (1990) và được bổ sung bởi Phạm Thị Tuyết Ngân (2012). Môi trường MRS được sử dụng cho *Lactobacillus* (Rogosa và Sharpe, 1960). Dựa vào hình dạng, màu sắc của khuẩn lạc trên từng loại môi trường để chọn ra giống *Vibrio*. Các loài thuộc chi *Vibrio* được phân biệt bằng đặc điểm các kiểu khuẩn lạc khác nhau thể hiện qua sự lên men sucrose. Môi trường được sử dụng cho *V. parahaemolyticus* là CHROMagar™ *Vibrio* và HiCrome *Vibrio* Agar. Vi khuẩn *V. harveyi* được kiểm chứng trên môi trường NA, TCBS, CHROMagar™ và *Vibrio* HiCrome *Vibrio* Agar (Himedia) thông qua một số thử nghiệm trong phòng thí nghiệm. Trên môi trường TCBS, *V.*

harveyi và *V. parahaemolyticus* không lên men sucrose nên khuẩn lạc có màu xanh lá cây (Austin, 1988; Đỗ Thị Hòa, 1999). Trên môi trường CHROMagar™ *Vibrio*, khuẩn lạc *V. parahaemolyticus* có màu tím hoa cà, và *V. harveyi* có màu trắng và tâm có màu xanh lá cây (Hình 9). Trong khi đó trên môi trường HiCrome *Vibrio* Agar thì khuẩn lạc *V. harveyi* có màu trắng và *V. parahaemolyticus* có màu xanh lá nhạt (Kudo *et al.*, 2001) (Hình 10). Sau khi các mẫu đã được pha loãng, ba độ pha loãng khác nhau của mỗi mẫu được chọn để trải đều lên các đĩa môi trường, mỗi độ pha loãng được lặp lại 3 lần (100 µl/đĩa). Đối với chỉ tiêu *Bacillus*, các ống nghiệm ở nồng độ pha loãng thích hợp được gia nhiệt ở 80°C trong 30 phút nhằm loại bỏ các loài vi khuẩn không sinh bào tử khác trước khi được trải trên đĩa thạch. Sau đó vi khuẩn được ủ ở 28°C trong 24 - 48 giờ (đối với *Lactobacillus*, thì vi khuẩn được ủ ở $37-42^{\circ}\text{C}$ trong điều kiện yếm khí). Sau khi ủ, kiểm tra số khuẩn lạc phát triển trên bề mặt thạch của các đĩa môi trường để xác định mật độ vi khuẩn có trong mẫu. Các đĩa môi trường của cả 3 độ pha loãng được chọn cân có số khuẩn lạc dao động trong khoảng từ 20 đến 200 khuẩn lạc để đảm bảo độ tin cậy của phương pháp (Huys, 2002). Mật độ vi khuẩn được tính bằng đơn vị hình thành khuẩn lạc (CFU/g bùn) theo công thức: mật độ vi khuẩn (CFU/mL) = số khuẩn lạc trung bình \times độ pha loãng $\times 10$.

2.4 Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu thu được phân tích bằng thống kê mô tả, kiểm tra tính đồng nhất và phân phối chuẩn trước khi so sánh sự khác biệt của các yếu tố thu được giữa 3 điểm thu bằng phương pháp phân tích phương sai (ANOVA) một nhân tố và phép thử Duncan ($p < 0,05$); so sánh sự khác biệt về mật độ. Các phương pháp xử lý thống kê được thực hiện bằng phần mềm SPSS 22.0.

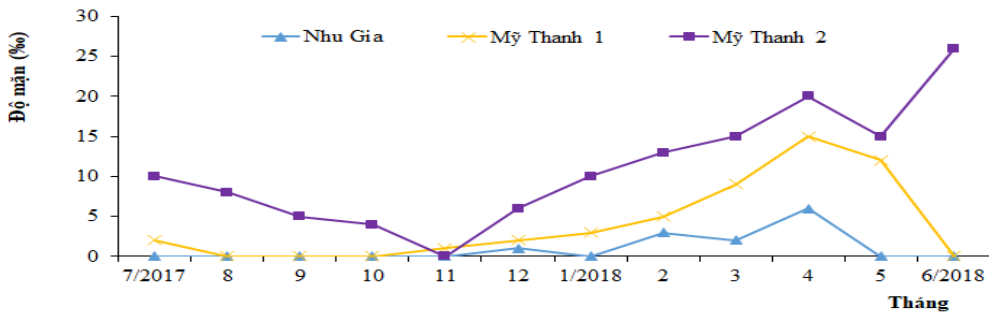
3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Biến động độ mặn

Kết quả khảo sát cho thấy độ mặn giữa các tháng ở các thủy vực có sự biến động theo thời gian và địa điểm thu mẫu (Hình 2). Ở Nhu Gia và Mỹ Thanh 1 từ tháng 7 đến tháng 12/2017 độ mặn không có sự chênh lệch; độ mặn cao nhất vào tháng 4 (6-15‰) và thấp nhất vào tháng 6 (0‰). Riêng ở Mỹ Thanh 2, độ mặn cao nhất vào tháng 6 (26‰) và thấp nhất vào tháng 11 (0‰). Nhìn chung ở cả ba thủy vực, độ mặn tăng dần từ tháng 1 đến tháng 4, nhưng sau đó giảm dần vào tháng 5 và tháng 6 ở Nhu Gia và Mỹ Thanh 1, trong khi độ mặn ở điểm Mỹ Thanh 2 tăng cao vào tháng 6 và giảm dần từ tháng 7 đến tháng 11. Kết quả nghiên cứu của Đỗ Văn Mạnh và ctv. (2015) cũng cho thấy mức độ nhiễm mặn tại 3

điểm thu mẫu từ cầu Phò Nam đến Nam Ô giảm từ tháng 6-9 (>20%) đến tháng 10-11 (giảm còn 0,2%)

ngay tại điểm hạ nguồn tiếp xúc với vịnh Đà Nẵng tương tự với kết quả nghiên cứu này.

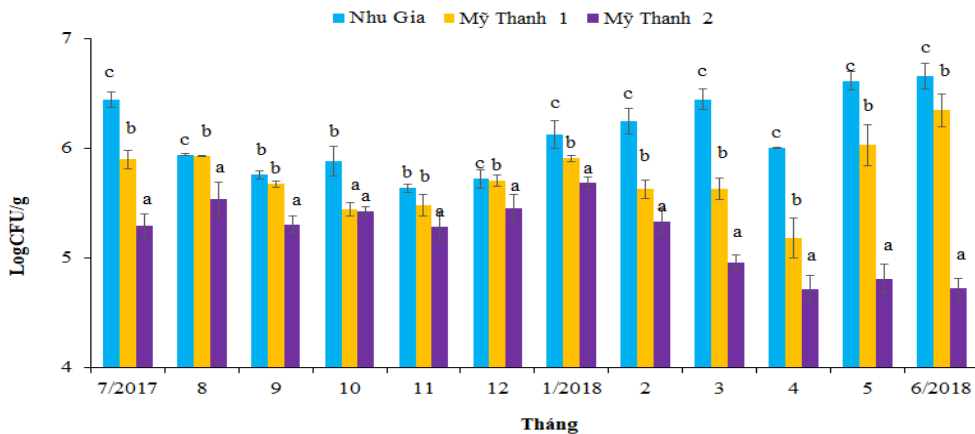


Hình 2: Sự thay đổi về độ mặn giữa các tháng ở các thủy vực

3.2 Biến động mật độ tổng vi khuẩn trong bùn

Kết quả khảo sát cho thấy, các địa điểm thu mẫu như Nhu Gia và Mỹ Thanh 1, mật độ tổng vi khuẩn trong bùn có xu hướng tăng và dao động từ $1,6 \times 10^5$ – $4,7 \times 10^6$ CFU/g (Hình 3). Ở Mỹ Thanh 2, mật độ tổng vi khuẩn có xu hướng giảm và dao động từ $5,3 \times 10^4$ – $3,6 \times 10^5$ CFU/g. Mật độ tổng vi khuẩn trong bùn từ tháng 8 đến tháng 12 không có khác biệt giữa các thủy vực nghiên cứu ($p > 0,05$). Mật độ tổng vi khuẩn trong bùn ở Nhu Gia cao nhất ($4,7 \times 10^6$ CFU/g) vào tháng 6 và khác biệt có ý nghĩa thống kê với mật độ vi khuẩn ở Mỹ Thanh 2 ($p < 0,05$) và Mỹ Thanh 1 ($p < 0,05$). Tuy nhiên ở tháng 11 mật độ vi khuẩn ở Nhu Gia giảm mạnh và thấp nhất ($4,3 \times 10^5$ CFU/g) so với những lần thu mẫu còn lại, nhưng vẫn cao hơn và khác biệt có ý nghĩa thống kê với điểm thu mẫu Mỹ Thanh 2 ($p < 0,05$) và không khác biệt so với Mỹ Thanh 1. Ở tháng 6, mật độ vi khuẩn ở Mỹ Thanh 2 đạt giá trị thấp nhất ($5,3 \times 10^4$ CFU/g) và thấp hơn có ý nghĩa so với hai điểm còn lại ($p < 0,05$).

Do mật độ cư dân ở Nhu Gia đông dẫn đến lượng nước thải sinh hoạt lớn, vật chất hữu cơ lơ lửng nhiều nên tổng mật độ vi khuẩn ở nền đáy sông Nhu Gia luôn cao hơn so với hai điểm thu mẫu còn lại. Theo Lawrence và William (2001) mật độ vi khuẩn dị dưỡng sẽ tăng khi chất hữu cơ tăng. Thông thường sự tích lũy vật chất hữu cơ làm tăng mật độ vi khuẩn dị dưỡng trong nước, ở thủy vực nước ngọt giàu chất dinh dưỡng nên mật độ tổng vi khuẩn cao nhất (Trần Cẩm Vân, 2005). Theo Bùi Thị Nga và ctv. (2010) độ mặn càng cao thì mật độ vi khuẩn dị dưỡng phân hủy lá đước càng giảm. Nền lượng vi sinh vật nền đáy phong phú hay ít dần tùy vào hàm lượng vật chất hữu cơ và độ mặn mà phân bố khác nhau. Theo Anderson (1993), trong môi trường nước sạch mật độ vi khuẩn nhỏ hơn 10^3 CFU/mL, nếu mật độ vi khuẩn vượt quá 10^7 CFU/mL sẽ gây hại cho tôm cá nuôi và môi trường trở nên bẩn. Mật độ tổng vi khuẩn ở các địa điểm thu mẫu vẫn nằm trong giới hạn không ảnh hưởng đến động vật thủy sản cho đến hết thời gian thu mẫu.



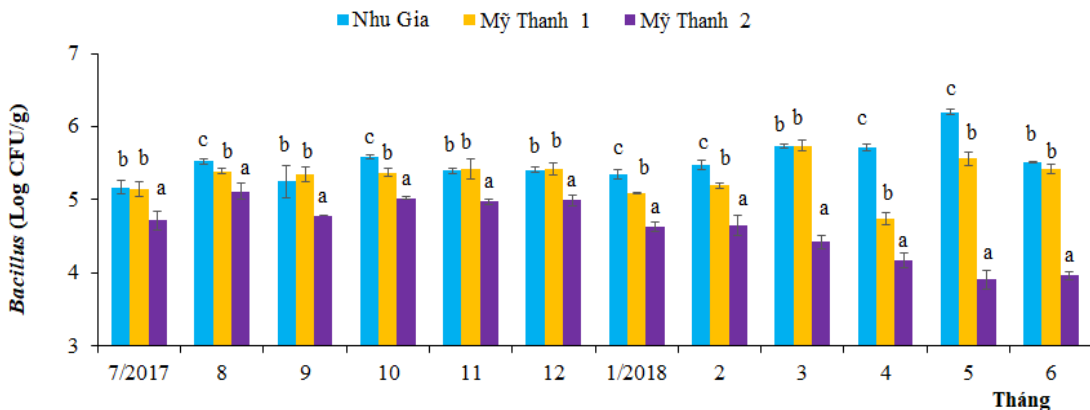
Hình 3: Mật độ tổng vi khuẩn trong bùn

Giá trị trên cùng một tháng của ba thủy vực có chữ cái khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$)

3.3 Biến động mật độ vi khuẩn *Bacillus* trong bùn

Mật độ vi khuẩn *Bacillus* trong bùn không có sự biến động lớn giữa các tháng ở cả ba thủy vực (đặc biệt từ tháng 7 đến tháng 12) và dao động từ $9,3 \times 10^3 - 1,59 \times 10^6$ CFU/g (Hình 4). Ở Nhu Gia, mật độ vi khuẩn *Bacillus* tháng 5 đạt giá trị cao nhất ($1,69 \times 10^6$ CFU/g) và khác biệt có ý nghĩa so với hai thủy vực còn lại ($p < 0,05$). Ở Mỹ Thanh 1, mật độ vi khuẩn *Bacillus* tăng cao ($5,6 \times 10^5$ CFU/mL) ở tháng 3 và khác biệt có ý nghĩa thống kê với Mỹ Thanh 2 ($p < 0,05$), nhưng không khác biệt với Nhu Gia; đến tháng 4 lại giảm ($5,7 \times 10^4$ CFU/g) và khác biệt có ý nghĩa so với Nhu Gia và Mỹ Thanh 2 ($p < 0,05$). Ở

Mỹ Thanh 2, từ tháng 1 đến tháng 6 mật độ vi khuẩn có xu hướng giảm dần; vi khuẩn *Bacillus* tháng 5 đạt mật độ thấp nhất ($8,3 \times 10^3$ CFU/g) và thấp hơn có ý nghĩa so với hai điểm còn lại ($p < 0,05$). Kết quả khảo sát mật độ vi khuẩn *Bacillus* ở Nhu Gia luôn cao hơn so với mật độ vi khuẩn ở Mỹ Thanh 1 và Mỹ Thanh 2 qua các lần thu mẫu. Số lượng vi khuẩn *Bacillus* trong bùn theo khảo sát của Phạm Thị Tuyết Ngân và Nguyễn Hữu Hiệp (2010) ở ao nuôi thâm canh tỉnh Sóc Trăng dao động từ $4,3 \times 10^4$ đến $7,9 \times 10^5$ CFU/g. Từ đây có thể thấy khuynh hướng phát triển nhóm *Bacillus* ngoài tự nhiên và môi trường ao nuôi khá giống nhau. *Bacillus* sp. thích hợp sinh trưởng ở môi trường giàu dinh dưỡng và có độ mặn từ 15 - 35‰ (Đỗ Thị Hồng Thịnh và *ctv.*, 2017).



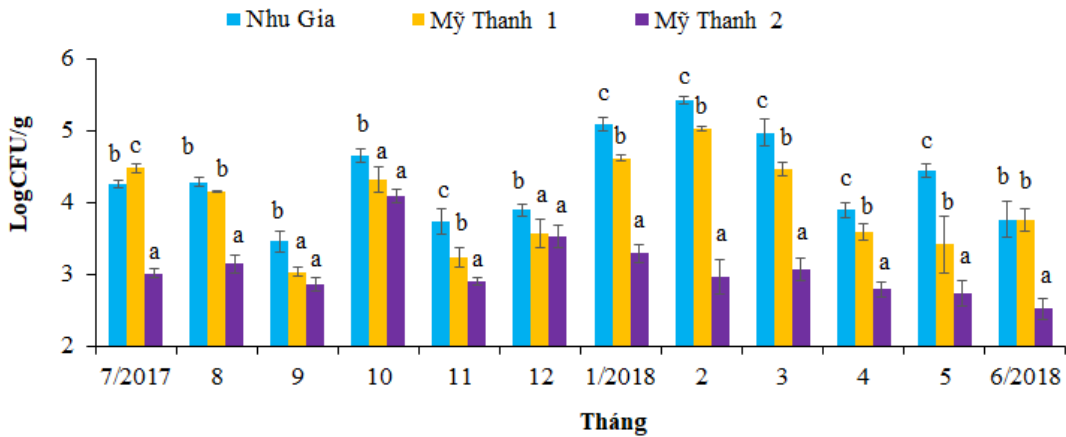
Hình 4: Mật độ vi khuẩn *Bacillus* trong bùn

Giá trị trên cùng một tháng của ba thủy vực có chữ cái khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$)

3.4 Biến động mật độ *Lactobacillus* trong bùn

Mật độ vi khuẩn *Lactobacillus* từ tháng 9 đến tháng 12 trong bùn không biến động nhiều, thấp nhất ở Mỹ Thanh 2 ($3,4 \times 10^2$ CFU/g) vào tháng 6 và cao nhất ở Nhu Gia ($2,7 \times 10^5$ CFU/g) vào tháng 2, khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa Nhu Gia và Mỹ Thanh 2 trong cùng một tháng ($p < 0,05$) (Hình 5). Ở Nhu Gia, mật độ vi khuẩn *Lactobacillus* giảm mạnh ở tháng 9 (3×10^3 CFU/g), nhưng vẫn cao hơn có ý nghĩa so với hai điểm thu mẫu còn lại ($p < 0,05$). Mật độ vi khuẩn *Lactobacillus* ở Mỹ Thanh 2 thấp nhất và luôn thấp hơn có ý nghĩa so với hai điểm thu mẫu còn lại ($p < 0,05$). Mật độ vi khuẩn bị ảnh hưởng bởi

chất hữu cơ, do đó vi khuẩn ở Nhu Gia có mật độ cao hơn Mỹ Thanh 2 (Trần Cẩm Vân, 2005). Theo Bobillo và Marshall (1991) khi độ mặn tăng thì *Lactobacillus* trong môi trường nuôi cấy chậm tăng trưởng, giảm mật độ tế bào, chậm tiêu thụ glucose và citrate, ảnh hưởng đến hoạt động chuyển hóa của vi khuẩn. Theo nghiên cứu của Nguyễn Tuấn Huy (2014), vi khuẩn *Lactobacillus* có khả năng sinh trưởng và phát triển ở độ mặn 0-3‰, nhưng phát triển tốt nhất ở độ mặn 1‰, mật độ vi khuẩn bắt đầu giảm ở 2‰ và giảm nhiều ở 3‰. Nhận định này đúng với kết quả khảo sát tại các địa điểm thu mẫu có độ mặn lần lượt từ cuối nguồn (0- 26‰), giữa nguồn (0 - 15‰), đầu nguồn (0- 6‰).



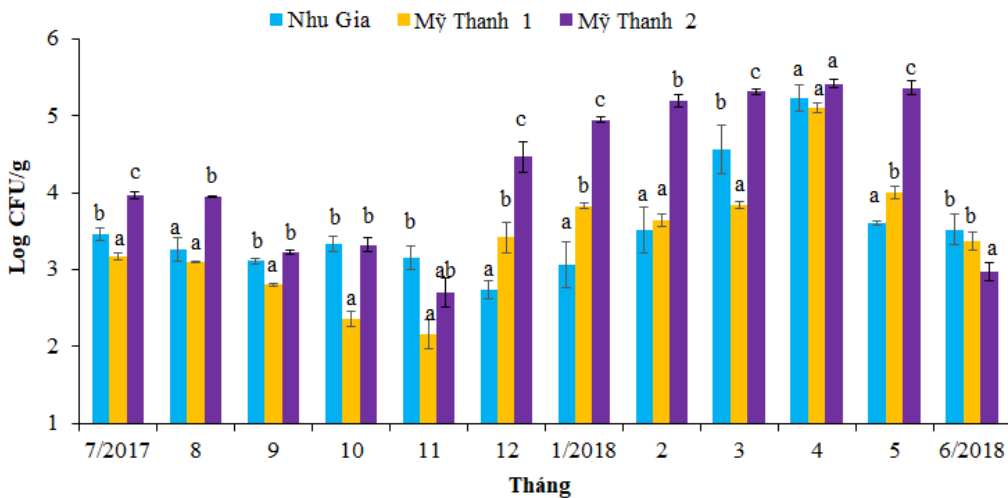
Hình 5: Mật độ vi khuẩn *Lactobacillus* trong bùn

Giá trị trên cùng một tháng của ba thủy vực có chữ cái khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$)

3.5 Biến động mật độ *Vibrio* trong bùn

Mật độ tổng *Vibrio* trong bùn có khuynh hướng tăng dần từ Nhu Gia đến Mỹ Thanh 2 và dao động từ $5,3 \times 10^2$ CFU/mL – $2,6 \times 10^5$ CFU/g (Hình 6). Từ tháng 8 đến tháng 11 và tháng 4, biến động mật độ tổng *Vibrio* không khác biệt nhiều ở các điểm thu mẫu. Ở các tháng còn lại, mật độ *Vibrio* ở Nhu Gia và Mỹ Thanh 2 khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$). Ở Nhu Gia và Mỹ Thanh 2, mật độ *Vibrio* tăng từ tháng 12 đến tháng 5 năm sau, cao nhất vào tháng 4 ở Nhu Gia (2×10^5 CFU/g) và Mỹ Thanh 2 ($2,6 \times 10^5$ CFU/g), sau đó giảm vào tháng 6 ở Nhu Gia ($3,6 \times 10^3$ CFU/g) và Mỹ Thanh 2 ($9,7 \times 10^2$ CFU/g). Mật độ tổng *Vibrio* có xu hướng tăng dần từ tháng 11 đến tháng 4 năm sau, sau đó giảm ở tháng 5 và 6 ở Mỹ Thanh 1. Vi khuẩn *Vibrio* là loài ưa muối, chúng phân bố rộng ở các khu vực nước

mặn, vùng ven biển, cửa sông và các khu vực nuôi trồng thủy hải sản (Nguyễn Thị Hiền và ctv., 2009). Nhận định này phù hợp với kết quả khảo sát mật độ vi khuẩn ở các địa điểm thu. Theo Moriarty (1999) mật độ vi khuẩn *Vibrio* vượt quá mức 10^3 CFU/mL sẽ gây hại cho động vật thủy sản. Kết quả khảo sát cho thấy mật độ vi khuẩn ở Mỹ Thanh 2 luôn cao hơn 2 điểm thu mẫu còn lại. Nhu Gia và Mỹ Thanh 1 còn nằm ở mức an toàn, riêng ở Mỹ Thanh 2 mật độ vi khuẩn trong bùn lên đến 3×10^5 CFU/g nên có thể ảnh hưởng chất lượng nước và gây hại cho động vật thủy sản. Qua nghiên cứu bệnh trên tôm cho Nguyễn Văn Hào (2002) cho thấy vi khuẩn *Vibrio* là tác nhân thường gặp và nguy hiểm hiện diện trong nhiều hội chứng bệnh khác nhau ở tôm bố mẹ và ấu trùng tôm, do đó việc sử dụng nguồn nước ở cửa sông nuôi trồng thủy sản cần xem xét.



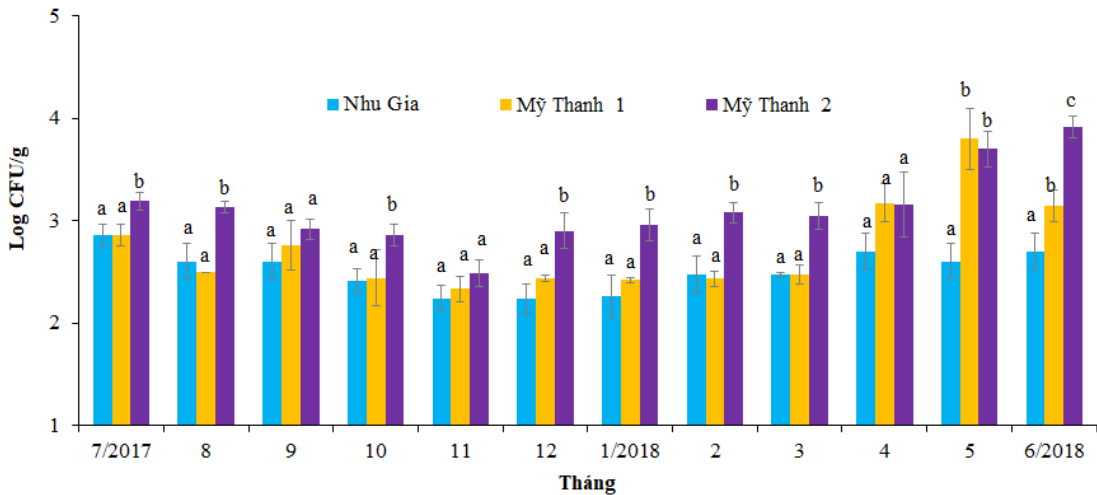
Hình 6: Mật độ tổng vi khuẩn *Vibrio* trong bùn

Giá trị trên cùng một tháng của ba thủy vực có chữ cái khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$)

3.6 Biến động mật độ vi khuẩn *Vibrio harveyi* trong bùn

Theo kết quả khảo sát, mật độ vi khuẩn *V. harveyi* trong bùn giữa các lần thu mẫu không có khác biệt lớn, dao động từ $5,7 \times 10^1$ – $2,67 \times 10^3$ CFU/g (Hình 7). Ở mỗi tháng thu mẫu, mật độ vi khuẩn ở Nhu Gia và Mỹ Thanh 1 không khác biệt có ý nghĩa thống kê và luôn thấp hơn so với mật độ vi khuẩn ở Mỹ Thanh 2 ($p < 0,05$). Tuy nhiên đến tháng 5, mật độ vi khuẩn *V. harveyi* ở Mỹ Thanh 1 tăng cao nhất ($2,3 \times 10^3$ CFU/g) so với các lần thu mẫu còn lại và không khác biệt với Mỹ Thanh 2, nhưng khác biệt có ý nghĩa với Nhu Gia ($p < 0,05$). Ở Mỹ

Thanh 2 vào tháng 6, mật độ vi khuẩn *V. harveyi* cao nhất ($2,7 \times 10^3$ CFU/g) trong các lần thu mẫu và cao hơn có ý nghĩa so với mật độ vi khuẩn ở Nhu Gia và Mỹ Thanh 1 ($p < 0,05$). *Vibrio* gây bệnh phát sáng và là vi khuẩn gây bệnh chủ yếu ở các loài tôm biển và tôm càng xanh. *V. harveyi* phát triển mạnh ở môi trường có độ mặn 20 - 30‰, mật độ vi khuẩn giảm rõ rệt khi ở môi trường có độ mặn từ 5 - 7‰ (Từ Thanh Dung và *ctv.*, 2005). Nhận định này phù hợp kết quả mật độ vi khuẩn phân bố ở các địa điểm khảo sát. Theo Moriarty (1999), mật độ *Vibrio* có hại, đặc biệt là vi khuẩn phát sáng vượt quá 10^3 CFU/mL thì gây hại cho tôm. Qua khảo sát mật độ vi khuẩn *V. harveyi* vẫn nằm trong mức không gây hại.



Hình 7: Mật độ vi khuẩn *Vibrio harveyi* trong bùn

Giá trị trên cùng một tháng của ba thủy vực có chữ cái khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$)

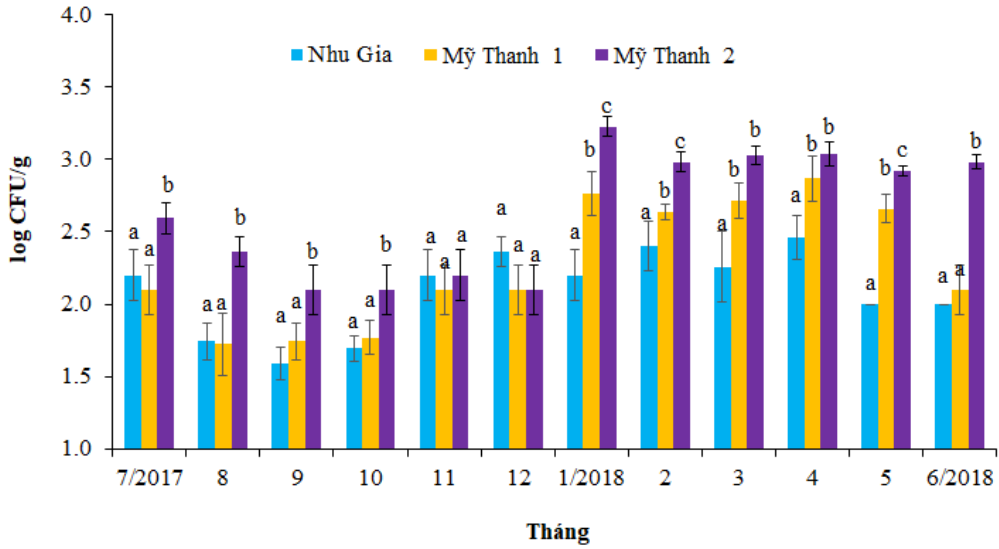
3.7 Biến động mật độ vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus* trong bùn

Mật độ vi khuẩn *V. parahaemolyticus* ở cả ba thủy vực qua các lần thu mẫu không có sự thay đổi lớn, dao động từ 4×10^1 – $1,7 \times 10^3$ CFU/g (Hình 8). Trong lần thu mẫu thứ nhất, mật độ vi khuẩn ở Mỹ Thanh 2 đạt giá trị cao hơn (4×10^2 CFU/g) và khác biệt có ý nghĩa so với hai điểm còn lại ($p < 0,05$). Tuy nhiên từ tháng 1 đến tháng 4, mật độ vi khuẩn ở Mỹ Thanh 1 tăng cao và không khác biệt so với mật độ vi khuẩn ở Mỹ Thanh 2 ($p > 0,05$), nhưng cao hơn có ý nghĩa so với mật độ vi khuẩn ở Nhu Gia ($p < 0,05$). Vào tháng 5, mật độ vi khuẩn ở Mỹ Thanh 1 có xu hướng giảm thấp đến tháng 6 ($1,3 \times 10^2$ CFU/g), thấp hơn có ý nghĩa so với mật độ vi khuẩn ở Mỹ Thanh 2 ($p < 0,05$) và không có sự khác biệt so với Nhu Gia ($p > 0,05$). Các lần thu mẫu từ tháng 1 đến tháng 6, cho thấy mật độ vi khuẩn ở Nhu Gia luôn thấp hơn so với hai điểm thu mẫu còn lại; đối với các lần thu của các tháng còn lại thì mật độ vi khuẩn *V. parahaemolyticus* không khác biệt với mật độ vi

khuẩn ở Mỹ Thanh 1 nhưng khác biệt với mật độ vi khuẩn ở Mỹ Thanh 2 ($p < 0,05$). *V. parahaemolyticus* tồn tại phổ biến ở hệ sinh thái nước mặn và vùng cửa sông trong đó có các ao nuôi, đặc biệt ở khu vực Đông Nam Á (Wong *et al.*, 2000). Nó có thể tồn tại tự do trong môi trường nước và nền đáy, bám trên bề mặt và xâm nhập vào bên trong cơ thể của động vật phù du, cá và giáp xác. *V. parahaemolyticus* phát triển tốt hơn so với các vi khuẩn khác trong điều kiện nhiệt độ và độ mặn tương đối cao (Williams và Larock, 1985). Theo báo cáo của FEHD (2005) vi khuẩn *V. parahaemolyticus* là loài ưa mặn, chúng phát triển tối ưu trong môi trường có độ mặn 20-40‰, chúng bị ức chế khi độ mặn dưới 5‰ và trên 100‰, chúng bị bất hoạt trong nước cất, có thể sinh trưởng ở 5-43°C, phát triển tối ưu ở 37°C, pH tối ưu: 7,8-8,6, nhưng vẫn phát triển bình thường ở pH 4,8-11. Nhưng với môi trường độ mặn cao rất dễ phát sinh ra dịch bệnh EMS ở tôm nuôi. Theo FAO (2014) với độ mặn trên 5‰, EMS sẽ nhanh chóng trở thành một vấn đề, nếu độ mặn tăng lên 10‰ EMS sẽ có tác động mạnh nhất. Trong nghiên cứu

này độ mặn ở cửa Mỹ Thanh tăng dần từ tháng 1 (10‰) đến tháng 6 (26‰) trong tự xu hướng này mật độ vi khuẩn *V. parahaemolyticus* cũng tăng lên

đáng kể trong thời gian này. Vì thế, người nuôi cần lưu ý quản lý tốt môi trường để tránh những thiệt hại không mong muốn.



Hình 8: Mật độ vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus* trong bùn

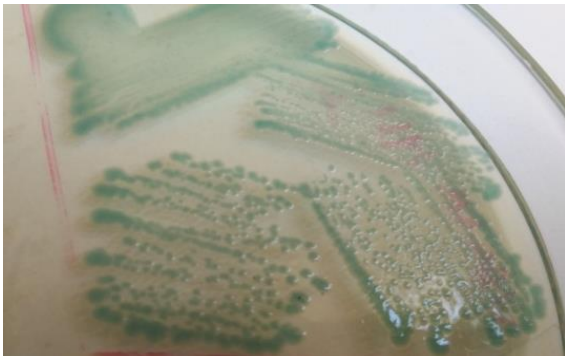
Giá trị trên cùng một tháng của ba thủy vực có chữ cái khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$)



Khuẩn lạc *V. parahaemolyticus* có màu tím hoa cà trên môi trường CHROMagar™ Vibrio

Khuẩn lạc *V. harveyi* có rìa màu trắng, tâm có màu xanh lá cây CHROMagar™ Vibrio

Hình 9: Màu sắc khuẩn lạc *V. parahaemolyticus* và *V. harveyi* trên môi trường CHROMagar™ Vibrio



Khuẩn lạc *V. parahaemolyticus* có màu xanh lá nhạt trên môi trường HiCrome Vibrio Agar

Khuẩn lạc *V. parahaemolyticus* có màu trắng trên môi trường

Hình 10: Màu sắc khuẩn lạc *V. parahaemolyticus* và *V. harveyi* trên môi trường CHROMagar™ Vibrio

4 KẾT LUẬN VÀ ĐỀ XUẤT

4.1 Kết luận

Mật độ tổng vi khuẩn cao nhất ở Nhu Gia, thấp nhất ở Mỹ Thanh 2 và có xu hướng giảm từ tháng 1 đến tháng 6. Mật độ *Bacillus* và *Lactobacillus* cao nhất ở Nhu Gia, tiếp đến Mỹ Thanh 1 và thấp nhất là ở Mỹ Thanh 2; mật độ vi khuẩn có khuynh hướng biến động và giảm khi độ mặn tăng. Mật độ *Bacillus* ổn định qua các tháng trong năm ở cả 3 điểm thu mẫu, nhưng mật độ *Bacillus* ở Mỹ Thanh 2 luôn thấp hơn và thấp nhất vào tháng 5 ($8,3 \times 10^3$ CFU/g) trong khi đó mật độ vi khuẩn ở Nhu Gia đạt cao nhất ($1,9 \times 10^6$ CFU/g). *Lactobacillus* thấp nhất ($3,4 \times 10^2$ CFU/g) vào tháng 6 và cao nhất ($2,7 \times 10^5$ CFU/mL) vào tháng 2. Mật độ tổng vi khuẩn *Vibrio* spp. ở Mỹ Thanh 2 luôn cao hơn 2 điểm còn lại trong suốt quá trình thu mẫu và cao nhất ($2,6 \times 10^5$ CFU/g) vào tháng 4 và thấp nhất vào tháng 11 ($5,3 \times 10^2$ CFU/mL). *Vibrio* có khuynh hướng tăng theo độ mặn và vượt quá 10^3 CFU/g. *V. harveyi*, *V. parahaemolyticus* có khuynh hướng biến động tương tự *Vibrio*.

4.2 Đề xuất

Tiếp tục khảo sát mật độ vi sinh cũng như thành phần loài ở các tuyến sông khác, nơi có tác động trực tiếp đến thổ nhưỡng nền đáy, dẫn đến các ảnh hưởng đến chất lượng nước sinh hoạt và nuôi trồng thủy sản. Cần có biện pháp kiểm định các chỉ tiêu môi trường, mật độ vi sinh vật sống (đặc biệt *Vibrio*) và xử lý trước khi sử dụng nguồn nước ở vùng cửa sông để nuôi tôm cũng như các thủy hải sản khác.

LỜI CẢM ƠN

Đề tài này được tài trợ bởi Dự án Nâng cấp Trường Đại học Cần Thơ VN14-P6 bằng nguồn vốn vay ODA từ chính phủ Nhật Bản. Tôi xin chân thành cảm ơn tất cả thầy cô, cán bộ và các em sinh viên thực hiện đề tài tại Bộ môn thủy sinh học ứng dụng - Khoa Thủy Sản - Trường Đại học Cần Thơ.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Anderson, I., 1993. The veterinary approach to marine prawns. In: Aquaculture for veterinarians: fish husbandry and medicine (Editor Brown L.), pp. 271-296

Austin, B., 1988. Methods in aquatic bacteriology: Modern microbiological methods. A Wiley - Interscience Publication, 495

Bobillo, M., and Marshall, V.M., 1991. Effect of salt and culture aeration on lactate and acetate production by *Lactobacillus plamtarum*. Food Microbiol. 8(2): 153-160

Bùi Thị Nga, Đinh Ngô Mỹ Liên và Nguyễn Hữu Hiệp, 2010. Ảnh hưởng của nồng độ đậm và độ mặn trong nước đối với mật số vi khuẩn dị

dưỡng bám trên lá đước (*Rhizophora apiculata*). Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ, 14: 269-277.

- Đỗ Thị Hòa, 1999. Phương pháp nghiên cứu bệnh do vi khuẩn ở động vật thủy sản. Tài liệu tập huấn Chẩn đoán xác định bệnh tôm và môi trường ao nuôi. Tổ chức tại Khánh Hòa, 12-18/8/1999.
- Đỗ Thị Hồng Thịnh, Trần Hồng Anh, Trần Thị Tường Linh và Võ Đình Quang, 2017. Đánh giá khả năng sinh trưởng của một số chủng vi sinh có khả năng phân hủy nhanh hoạt chất cypermethrin trong môi trường có độ mặn khác nhau. Tạp chí Khoa học Trường đại học sư phạm TP. Hồ Chí Minh, 14(6): 181-192.
- Đỗ Văn Mạnh, Huỳnh Đức Long, Trương Thị Hòa, Nguyễn Thị Linh, Phạm Thị Minh Đức, 2015. Tạp chí Phân tích Hóa, Lý và Sinh học -20, (4): 29-36.
- FAO, 2014. The State of World Fisheries and Aquaculture. Rome: Food and Agriculture Organization.
- FEHD, 2005. *Vibrio* species in seafood. Risk Assessment Study, Report No.20. Food and Environmental Hygiene Department, The Government of the Hong Kong Special Administrative Region, 25 pages.
- Gatesoupe, F.J. 2008. Updating the importance of lactic in fish farming: natural occurrence and probiotic treatment. J Mol Microbiol Biotechnol. (14): 107-114.
- Glöckner, F.O.; Stal, L.J.; Sandaa, R.-A.; Gasol, J.M.; O'Gara, F.; Hernandez, F.; Labrenz, M.; Stoica, E.; Varela, M.M.; Bordalo, A.; Pitta, P., 2012. Marine microbial diversity and its role in ecosystem functioning and environmental change. European Marine Board Position Paper, 17. Marine Board-ESF: Ostend. ISBN 978-2-918428-71-8. 80 pages.
- Harwood, C. and A. Archibald, 1990. Growth, maintenance and general techniques. In: C.R., Harwood and S.M. Cutting (ed.), Molecular Biological Methods for *Bacillus*. John Wiley & Sons Ltd., Chichester, United Kingdom: 1-26.
- Hura, M.U.D., Zafar, T., Borana, K. J.R. Prasad, K, Iqbal, J., 2018. Effect of commercial probiotic *Bacillus megaterium* on water quality in composite culture of major carps, Intenational Journal Current 828, *Agricultural Science* 8: 268-273.
- Huys, G., 2002. Preservation of bacteria using commercial cry preservation systems. Standard Operation Procedure, Asia resist.
- Karthik R., Karthik1, A. Jaffar Hussain2 and R. Muthezhilan1, A., 2014. Effectiveness of *Lactobacillus* sp (AMET1506) as Probiotic against Vibriosis in *Penaeus monodon* and *Litopenaeus vannamei* Shrimp Aquaculture. Biosciences biotechnology research Asia, (11): 297-305.

- Kudo Hara-Y, Nishina T, Nakagawa H, Konuma H, Hasegawa J, Kumagai S, 2001. Improved method for detection of *Vibrio parahaemolyticus* in seafood. Appl. Environ. Microbiol., 67(12):5819-23.
- Lawrence R. Pomeroy and William J. Wiebe, 2001. Temperature and substrates as interactive limiting factors for marine heterotrophic bacteria. Aquatic Microbial Ecology (23): 187–204.
- Moriarty, D. J. W., 1999. Disease control in shrimp Aquaculture with probiotic bacteria. Biomangement system Pty. Ltd., 315 Main road, Wellington point. Queensland 4160 Australia and Department of Chemical Engineering. The University of Queensland. Qld. 4072 Australia.
- Nguyễn Lâm Dũng, 1983. Thực tập vi sinh vật học. Nhà xuất bản Đại học và Trung học chuyên nghiệp Hà Nội, 368 trang.
- Nguyễn Thị Hiền, Phạm Thị Kim, Trương Thị Hòa và Lê Thị Lan Chi, 2009. Vi sinh vật tạp nhiễm trong lương thực–thực phẩm. Đại học Bách Khoa Hà Nội, 109 trang.
- Nguyễn Tuấn Huy, 2014. Phân lập và tuyển chọn các chủng *Lactobacillus* có tiềm năng probiotic từ tôm sú. Luận văn cao học. Đại học Cần Thơ, 49 trang.
- Nguyễn Văn Hào, 2002. Một số vấn đề về kỹ thuật nuôi tôm sú công nghiệp, Nhà xuất bản Nông nghiệp, thành phố Hồ Chí Minh.
- Phạm Thị Tuyết Ngân và Nguyễn Hữu Hiệp, 2010. Biến động mật độ vi khuẩn hữu ích trong ao nuôi tôm sú (*Penaeus monodon*) thâm canh. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ, 14: 166-176.
- Phạm Thị Tuyết Ngân, 2012. Nghiên cứu quần thể vi khuẩn chuyển hóa đạm trong ao nuôi tôm sú (*Penaeus monodon*). Luận án tiến sĩ, Khoa Thủy Sản, Đại học Cần Thơ, 159 trang.
- Trần Cẩm Vân, 2005. Giáo trình vi sinh vật học môi trường. Nhà xuất bản Đại quốc gia Hà nội. Trang 1-159.
- Từ Thanh Dung, Đặng Thị Hoàng Oanh, và Trần Thị Tuyết Hoa, 2005. Giáo trình bệnh học thủy sản, Khoa Thủy Sản, trường Đại học Cần Thơ, 151 trang.
- Wang, L., Y. Chen, H. Huang, Z. Huang, H. Chen and Z. Shao, 2015. Isolation and identification of *Vibrio campbellii* as a bacterial pathogen for luminous vibriosis of *Litopenaeus vannamei*. Aquaculture Research, 46(2): 395-404.
- William L.A and P.A Larock, 1985. Temporal occurrence of *Vibrio* species and *Aeromonas hydrophila* in estuarine sediments. Applied and environmental microbiology 50(6): 1490-1495.
- Wong H.C., Liu S.H., Wang T.K., Lee C.L., Chiou C.S. and Liu D.P, 2000. Characteristics of *Vibrio parahaemolyticus* O3: K6 from Asia. Appl. Environ Microbiol, 66 (9): 3981–3986.