

DOI:10.22144/ctu.jvn.2020.128

## ẢNH HƯỞNG CỦA SỰ GIA TĂNG ĐỘ MẶN LÊN MẬT ĐỘ VI KHUẨN TRONG MÔ HÌNH MÔ PHỎNG XÂM NHẬP MẶN

Phạm Thị Tuyết Ngân<sup>1\*</sup>, Vũ Hùng Hải<sup>1</sup>, Nguyễn Thanh Phương<sup>2</sup> và Vũ Ngọc Út<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Bộ môn Thủy sinh học ứng dụng, Khoa Thủy sản, Trường Đại học Cần Thơ

<sup>2</sup>Bộ môn Hải sản, Khoa Thủy sản, Trường Đại học Cần Thơ

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

### ABSTRACT

This research is aimed to assess the effect of salinity stress on bacterial density on simulation system for salt water intrusion. The study consisted of 5 treatments with different salinities at 0, 10, 20, and 30‰, respectively, which were diluted from brine water, and seawater 32‰ (B32‰). Each treatment was triplicated and monitored in 50 days. The outdoor experiment was designed randomly in 500 L composite tanks. The microbial parameters of sediments such as total heterotrophic bacteria, *Bacillus* spp., *Lactobacillus* spp., *Vibrio* spp., *Vibrio parahaemolyticus* was evaluated every two weeks. The results show that total heterotrophic bacteria reduced in high salinity. Total heterotrophic bacterial density was highest at 6.2 Log CFU/g in treatment of 0‰ while the lowest density in seawater treatment (B32‰), approximately 5.7 Log CFU/g. The density of *Bacillus* spp. reduced under high salinity and reached a peak at a salinity level of 10‰ and 0‰. In addition, the highest density of *Lactobacillus* spp. was counted in treatment of 10‰ (3.05 Log CFU/g) and significantly difference from other treatments ( $p < 0.05$ ). The *Vibrio*, and *V. parahaemolyticus* density considerably fluctuated by the different salinity levels. The results indicate that the density of *Vibrio* and *V. parahaemolyticus* in 20‰ and 30‰ treatment was significantly higher than those obtained in the comparison groups ( $p < 0.05$ ).

### TÓM TẮT

Nghiên cứu được thực hiện nhằm xác định ảnh hưởng của sự thay đổi độ mặn đến mật độ vi khuẩn trong mô hình mô phỏng xâm nhập mặn. Nghiên cứu được tiến hành gồm có 5 nghiệm thức với các độ mặn khác nhau 0, 10, 20, 30‰ được pha từ nước ót và nước biển tự nhiên 32‰ (B32‰). Mỗi nghiệm thức được lặp lại 3 lần và được theo dõi trong 50 ngày. Các chỉ tiêu vi khuẩn trong bùn như tổng vi khuẩn dị dưỡng, *Bacillus* spp., *Lactobacillus* spp., tổng *Vibrio* spp., *Vibrio parahaemolyticus* được đánh giá mỗi 2 tuần ngoại trừ lần thu mẫu đầu tiên. Kết quả cho thấy mật độ vi khuẩn tổng càng giảm khi độ mặn càng cao. Mật độ tổng khuẩn cao nhất ở nghiệm thức 0‰ (6,2 Log CFU/g) và thấp nhất ở nghiệm thức nước biển tự nhiên 32‰ (5,7 Log CFU/g). Mật độ vi khuẩn *Bacillus* spp. giảm khi độ mặn cao, chúng đạt giá trị cao nhất ở độ mặn 10‰, và 0‰. Bên cạnh đó, mật độ vi khuẩn *Lactobacillus* spp. cao nhất ở nghiệm thức 10‰ (3,05 Log CFU/g), có sự khác biệt các nghiệm thức ( $p < 0,05$ ). Mật độ vi khuẩn *Vibrio* spp. và *V. parahaemolyticus* biến động đáng kể giữa các độ mặn. Kết quả cho thấy mật độ vi khuẩn *Vibrio* và *V. parahaemolyticus* ở nghiệm thức độ mặn 20‰ và 30‰ cao hơn có ý nghĩa so với các nghiệm thức còn lại ( $p < 0,05$ ).

### Thông tin chung:

Ngày nhận bài: 07/04/2020

Ngày nhận bài sửa: 05/07/2020

Ngày duyệt đăng: 28/10/2020

### Title:

Effects of salinity stress on bacterial density in the model on simulation for salt water intrusion

### Từ khóa:

*Bacillus* spp., *Lactobacillus* spp., tổng vi khuẩn dị dưỡng, *Vibrio* spp., *Vibrio parahaemolyticus*

### Keywords:

*Bacillus* spp., *Lactobacillus* spp., *Vibrio* spp., *Vibrio parahaemolyticus*, total heterotrophic bacteria

Trích dẫn: Phạm Thị Tuyết Ngân, Vũ Hùng Hải, Nguyễn Thanh Phương và Vũ Ngọc Út, 2020. Ảnh hưởng của sự gia tăng độ mặn lên mật độ vi khuẩn trong mô hình mô phỏng xâm nhập mặn. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. 56(5B): 184-192.

## 1 ĐẶT VẤN ĐỀ

Trong những năm qua, biến đổi khí hậu đã làm thay đổi thời vụ canh tác và cơ cấu nuôi trồng của người dân đây là nguyên nhân làm suy giảm năng suất và chất lượng nuôi trồng, thay đổi cấu trúc hệ sinh thái thủy sinh, thành phần vi sinh vật bị biến động. Độ mặn là một trong những yếu tố quan trọng nhất làm ảnh hưởng đến sự phân bố và phát triển của thủy sinh vật, đặc biệt là động vật thủy sản. Đồng thời, biến đổi khí hậu và nhiệt độ nóng dần lên làm gia tăng độ mặn, đây là điều kiện thuận lợi cho *Vibrio* spp. phát triển (Nguyễn Thị Hiền và ctv., 2009). Các loài vi khuẩn gây bệnh như *V. parahaemolyticus*, *V. harveyi*, *V. cambellii* gây bệnh phát sáng, bệnh hoại tử gan tụy cấp trong nuôi tôm dẫn đến tỷ lệ tôm chết từ 50 – 100% (Shruti, 2012). Thời tiết nắng nóng, mực nước đầm tôm nuôi thấp, môi trường không ổn định kết hợp với độ mặn cao đã làm cho tôm bị sốc và chết. Qua khảo sát, hiện tượng mưa lớn, nhiệt độ cao, độ mặn gia tăng cũng làm thay đổi cấu trúc hệ sinh thái thủy sinh, tác động trực tiếp đến tăng trưởng của tôm nuôi ven biển, thậm chí gây ra các dịch bệnh trên các giống nuôi trồng, ảnh hưởng đến thu nhập và sinh kế của nhiều hộ nông dân trong vùng. Báo cáo đánh giá của FAO (2017) về những tác động của biến đổi khí hậu là những trở ngại quan trọng đối với sự bền vững của nghề cá và nuôi trồng thủy sản. Để hạn chế các tác động đó thì việc nghiên cứu về vi sinh vật có khả năng gây ảnh hưởng đến nuôi trồng thủy sản là rất cần thiết. Việc phát triển các mô hình nuôi thủy sản ở các vùng nước lợ với độ mặn khác nhau sẽ là vấn đề quan trọng để đáp ứng kịp thời và hiệu quả với diễn biến của các hiện tượng trên.

Trước sự xuất hiện bệnh dịch ngày càng nhiều, hệ sinh thái thủy sản bị biến đổi, hệ vi sinh cũng biến động vì thế việc khảo sát sự biến động vi sinh theo sự biến đổi độ mặn là hết sức cần thiết và từ đó đề tài “ảnh hưởng của sự thay đổi độ mặn lên mật độ vi khuẩn trong mô hình mô phỏng xâm nhập mặn” được thực hiện nhằm đánh giá ảnh hưởng của độ mặn lên sự biến động mật độ của một số nhóm vi khuẩn trong bùn có thể cung cấp thêm thông tin cho các nghiên cứu tiếp theo cũng như cho các hoạt động nuôi trồng thủy sản ở những vùng ảnh hưởng bởi độ mặn tăng.

## 2 PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1 Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Đề tài được thực hiện từ tháng 01/2019 đến 4/2019 tại trại thực nghiệm bên ngoài không mái che và mẫu thu được phân tích trong phòng thí nghiệm

vi sinh vật hữu ích tại Bộ môn Thủy sinh học ứng dụng, Khoa Thủy sản, Trường Đại học Cần Thơ.

### 2.2 Phương pháp nghiên cứu

#### 2.2.1 Vật liệu thí nghiệm

Nước từ nghiệm thức 1 đến nghiệm thức 4 được pha từ nguồn nước ngọt từ kênh Bún Xáng cạnh khoa Thủy sản với nguồn nước ót (80‰) được vận chuyển từ ruộng muối huyện Vĩnh Châu, tỉnh Sóc Trăng để đạt được độ mặn ban đầu theo từng nghiệm thức. Riêng nghiệm thức 5, nước thí nghiệm được lấy từ nước biển tự nhiên ở huyện Vĩnh Châu có độ mặn 32‰ (B32‰). Bùn bố trí trong bể thí nghiệm được lấy cùng nơi với nguồn nước ngọt (từ kênh Bún Xáng) và bố trí vào đáy bể mô phỏng tương tự môi trường tự nhiên.

#### 2.2.2 Bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm được bố trí trong hệ thống bể 1 m<sup>3</sup> theo mô hình mô phỏng ao tăng độ mặn và đặt ngoài trời cho phù hợp với điều kiện tự nhiên (nhiệt độ dao động 28,5±1,5°C vào buổi sáng đến 29,5±1,4°C vào buổi chiều; không mái che). Thí nghiệm gồm 5 nghiệm thức với các độ mặn khác nhau 0‰ (đối chứng), 10‰, 20‰, 30‰ và nước biển tự nhiên 32‰ (B32‰), mỗi nghiệm thức có 3 lần lặp lại. Mỗi bể được bố trí một lớp bùn khoảng 10 cm và 400 L nước ngọt, bể chứa của từng nghiệm thức được nối với bể chứa nước biển tự nhiên (độ mặn >30‰) bằng hệ thống ống có van khóa. Thê tích nước mặn được điều chỉnh tùy theo nghiệm thức với tốc độ thích hợp để đảm bảo đạt được độ mặn mong muốn trong thời gian 6 giờ. Theo kết quả khảo sát sự biến động của độ mặn vào thời điểm nước lớn và nước ròng (cách nhau 6 giờ theo chế độ bán nhật triều) ở Đại Ngãi và vùng cửa sông Trần Đề trong thời gian từ tháng 4/2017 đến tháng 5/2018, độ mặn chênh lệch từ 0-5‰ trong khoảng thời gian 6 giờ giữa thời điểm nước lớn và nước ròng. Căn cứ vào kết quả biến động độ mặn trong thực tiễn nên nghiên cứu này nước mặn cung cấp được điều chỉnh (cho nước chảy từ từ vào bể) tùy theo nghiệm thức với tốc độ thích hợp cho đến khi đạt được độ mặn mong muốn trong khoảng thời gian 6 giờ. Do vậy độ mặn được nâng dần từ 0‰ lên 5‰ trong 6 giờ ở các nghiệm thức 10‰, 20‰, 30‰ trong tuần đầu tiên. Tuần thứ 2 tiếp tục nâng lên 5‰ ở nghiệm thức 10‰, 20‰, 30‰ và liên tục trong 5 tuần sau độ mặn được nâng lên theo đúng độ mặn ở từng nghiệm thức của thí nghiệm. Thí nghiệm kết thúc sau 1 tuần khi nâng đến độ mặn mong muốn.

### 2.2.2 Chỉ tiêu theo dõi

Các chỉ tiêu theo dõi vi khuẩn bao gồm: tổng vi khuẩn dị dưỡng, vi khuẩn *Bacillus* spp., vi khuẩn *Lactobacillus* spp., vi khuẩn *Vibrio* spp. và vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus*. Thí nghiệm được thực hiện với 5 lần thu mẫu, tuần đầu thu mẫu một lần, các tuần tiếp theo thu mẫu cách hai tuần và thí nghiệm kéo dài 50 ngày.

### 2.2.3 Phương pháp thu mẫu và phân tích mẫu bùn

#### a. Phương pháp thu mẫu bùn

Mẫu được thu bằng ống nhựa PVC đã được tiệt trùng bằng cồn 70%. Tại mỗi bề chọn 3 điểm ở 3 vị trí khác nhau trong bể, ở mỗi điểm thu 5 g bùn, mẫu bùn được cho vào trong túi nhựa, trữ lạnh ở 4°C và phân tích trong vòng 24 giờ. Khi phân tích, 3 mẫu đã được trộn lẫn vào nhau thành một mẫu đại diện. Mẫu được phân tích tại phòng vi sinh vật hữu ích thuộc Bộ môn Thủy sinh học ứng dụng, Khoa Thủy sản, Trường Đại học Cần Thơ.

#### b. Phương pháp phân tích mẫu

##### Phương pháp pha loãng mẫu

Mẫu bùn được mở nắp trong tủ cấy tiệt trùng, 1 g mẫu bùn tại vị trí thu mẫu được chuyển sang các ống nghiệm chứa 9 mL nước muối sinh lý (0,85% NaCl) 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, 2003).

##### Phân tích mẫu trên môi trường thạch

Sau khi các mẫu đã được pha loãng, ba độ pha loãng khác nhau tùy vào mật độ vi khuẩn (10-2-3-4), của mỗi mẫu được chọn để trải đều lên các đĩa môi trường, mỗi độ pha loãng lặp lại 3 lần (100  $\mu$ L/đĩa). Môi trường Nutrient agar (NA) có bổ sung NaCl để đạt độ mặn tương đương mẫu thu và môi trường được sử dụng để xác định mật độ vi khuẩn tổng. Phương pháp xác định mật độ vi khuẩn *Bacillus* được chuẩn bị theo Nguyễn Lâm Dũng (1983), môi trường xác định mật độ theo Harwood and Archibald (1990) và được bổ sung bởi Phạm Thị Tuyết Ngân (2012). Môi trường MRS (De Man, Rogosa và Sharpe agar, thường được viết tắt là MRS, là một môi trường chuyên biệt để nuôi cấy vi khuẩn *Lactobacillus* trong phòng thí nghiệm. Được phát triển vào năm 1960 và được đặt tên là các nhà khoa học phát minh ra môi trường này) được sử

dụng cho *Lactobacillus* (Rogosa and Sharpe, 1960). Tổng vi khuẩn *Vibrio* spp. được xác định trên môi trường TCBS (Thiosulphate Citrate Bile Sucrose Agar, Himedia, India). *V. parahaemolyticus* có màu tím hoa cà trên môi trường Chrom Agar. Trong khi đó, trên môi trường HiCrome *Vibrio* Agar, khuẩn lạc *V. parahaemolyticus* màu xanh lá nhạt (Hara-Kudo et al., 2001) với qui trình phân tích của phòng thí nghiệm vi sinh vật hữu ích, Bộ môn Thủy sinh học ứng dụng, Khoa Thủy sản (Nguyễn Hoàng Nhật Uyên et al., 2020).

Sau khi ủ đĩa ở 28°C trong 24 - 48 giờ, số khuẩn lạc phát triển trên bề mặt thạch của các đĩa môi trường được đếm để xác định mật độ vi khuẩn có trong mẫu. Số khuẩn lạc trên các đĩa môi trường được chọn để xác định mật độ vi khuẩn dao động khoảng từ 20 đến 200 khuẩn lạc để đảm bảo độ tin cậy của phương pháp (Huys, 2003). Mật độ vi khuẩn được tính bằng đơn vị hình thành khuẩn lạc (CFU/g bùn).

### 2.3 Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu được tính giá trị trung bình, độ lệch chuẩn và vẽ biểu đồ bằng phần mềm Excel 2010 và phần mềm SPSS 16.0 được sử dụng so sánh thống kê các giá trị trung bình giữa các nghiệm thức bằng phương pháp ANOVA 1 nhân tố và phép thử Duncan ở độ tin cậy  $p < 0,05$ .

## 3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

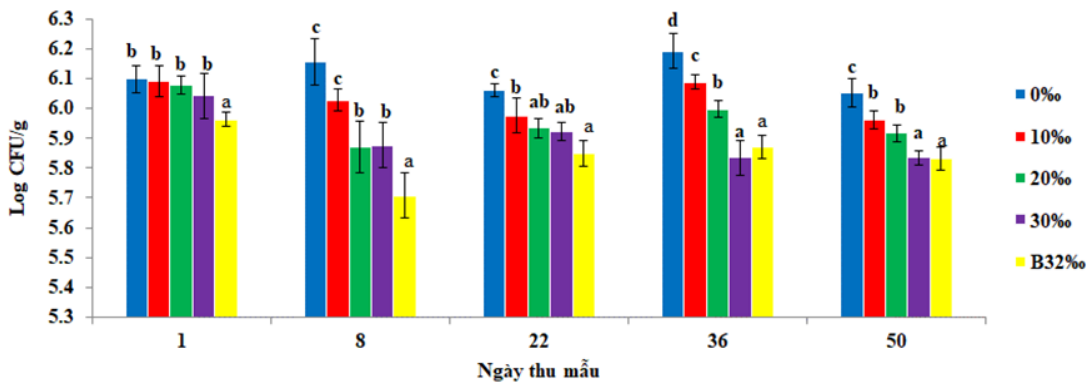
### 3.1 Biến động mật độ tổng khuẩn dị dưỡng ở các độ mặn khác nhau

Mật độ tổng vi khuẩn khá ổn định trong suốt thời gian thí nghiệm (5,7- 6,2 Log CFU/g, Hình 1). Tuy nhiên, ở cùng 1 thời điểm thu mẫu, mật độ vi khuẩn có sự khác biệt giữa các độ mặn. Ở lần thu mẫu thứ nhất, mật độ tổng vi khuẩn cao nhất là nghiệm thức 0‰ (6,1 Log CFU/g) và thấp nhất là nghiệm thức B32‰ (6 Log CFU/g) trong khi đó ở các nghiệm thức 0‰, 10‰, 20‰, 30‰ khác biệt không có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ). Theo Trần Cẩm Vân (2005), mật độ vi khuẩn ở nước ngọt cao hơn trong nước lợ. Do vậy ở lần thu mẫu tiếp theo và cho đến kết thúc thí nghiệm, mật độ vi khuẩn khác nhau có ý nghĩa ở các độ mặn khác nhau ( $p < 0,05$ ). Điều này cho thấy sự tác động của độ mặn lên sự phát triển của quần thể vi khuẩn. Nhìn chung, qui luật biến động của mật độ vi khuẩn tổng khi độ mặn càng cao thì mật độ vi khuẩn càng giảm. Sự phân bố, hoạt động và thành phần loài của vi khuẩn dị dưỡng bị ảnh hưởng bởi các yếu tố thủy lý hóa như nhiệt độ, pH, hàm lượng dinh dưỡng trong thủy vực (Azam et

al., 1983) và theo mùa vụ (Martin, 1981; Syed and Soumendranath, 2016).

Mật độ tổng vi khuẩn khác nhau giữa nghiệm thức 30‰ và B32‰ ở các ngày 1, 8 và 22 nhưng lại giống nhau ở ngày 36 và 50 có thể là do mật độ vi khuẩn ban đầu trong các nghiệm thức có độ mặn khác nhau thì khác nhau (như đã nhận định ở trên về độ mặn càng thấp thì mật độ vi khuẩn tổng càng cao và ngược lại). Mặc dù nguồn nước mặn được sử dụng ở 2 nghiệm thức là giống nhau (32‰) và mật độ vi khuẩn trong nguồn nước mặn là như nhau, tuy nhiên khi pha loãng với nước ngọt để có độ mặn 30‰ thì mật độ vi khuẩn trong nghiệm thức này vẫn cao hơn nguồn nước mặn ban đầu. Rõ ràng, mật độ vi khuẩn ở nghiệm thức 30‰ cao hơn ở nghiệm thức B32‰ trong suốt các tuần đầu tiên (Hình 1). Theo thời gian, độ mặn trong hai nghiệm thức càng ổn định và chênh lệch không lớn (30 và 32‰) nên mật độ vi khuẩn trong hai nghiệm thức chính vì thế trở nên không khác biệt. Nguyễn Thị Kim Liên và ctv. (2020) đã báo cáo giá trị trung bình của các hàm lượng dinh dưỡng trong nước ở hầu hết các nghiệm

thức có xu hướng giảm dần vào cuối thí nghiệm. Hàm lượng trung bình của TAN, TN, và TP biến động lần lượt là  $0,12 \pm 0,12$  đến  $0,54 \pm 0,73$  mg/L,  $2,32 \pm 0,89$  mg/L đến  $2,89 \pm 1,46$  mg/L. Hàm lượng COD ghi nhận thấp nhất ở nghiệm thức nước ngọt, giá trị trung bình của COD ở các nghiệm thức biến động từ  $9,6 \pm 1,8$  đến  $14,1 \pm 3,8$  mg/L, hàm lượng COD đạt cao hơn ở các nghiệm thức có độ mặn càng cao (từ 5-30‰ và nghiệm thức nước biển B32‰). Thông thường, mật độ vi khuẩn trong nước ngọt cao hơn nước biển (Trần Cẩm Vân, 2005) do vậy ở nghiệm thức 30‰, nguồn nước được pha từ nước ngọt nên mật độ vi khuẩn cao hơn nghiệm thức nước biển tự nhiên B32‰. Nguyên nhân mật độ vi khuẩn ở 2 nghiệm thức này lại giống nhau vào ngày 36 và 50 có thể ở thời gian này sau 36 ngày thí nghiệm độ mặn đã ổn định và ở 2 nghiệm thức này có độ mặn gần đương nhau (30-32‰), nên mật độ vi khuẩn ở 2 nghiệm thức này không sai khác có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ). Có thể thấy ở thời điểm này khuynh hướng biến động của mật độ tổng vi khuẩn theo sự thay đổi độ mặn, nhưng không rõ ràng ở ngày 8, 22 và 36 ở tất cả các độ mặn khác nhau.



Hình 1: Biến động mật độ tổng vi khuẩn ở các độ mặn khác nhau

### 3.2 Biến động mật độ *Bacillus* spp. trong bùn ở các độ mặn khác nhau

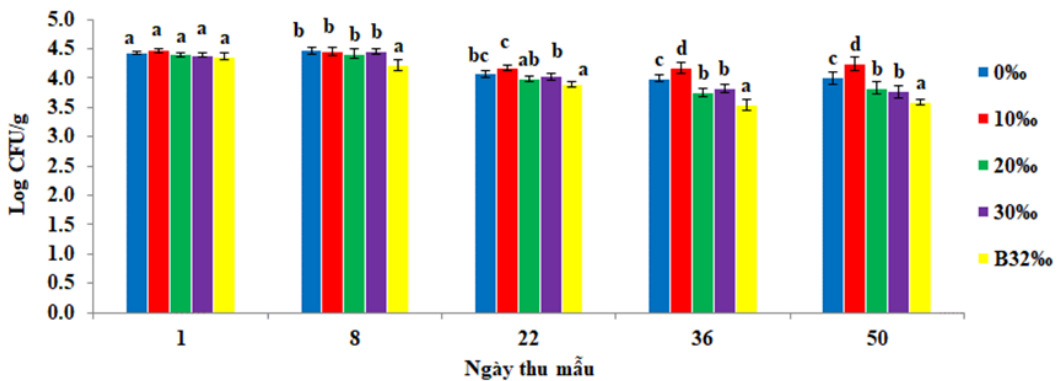
Tương tự qui luật biến động của tổng vi khuẩn, mật độ *Bacillus* spp. ít biến động suốt thời gian thí nghiệm và có khuynh hướng giảm vào cuối thí nghiệm (Hình 2). Ở lần thu mẫu đầu tiên mật độ vi khuẩn ở các độ mặn không có sự khác biệt ( $p > 0,05$ ), đến lần thu mẫu thứ 2 (8 ngày) bắt đầu có sự dao động, nhưng không lớn (4,2 - 4,5 Log CFU/g), có thể thời gian ngắn chưa có ảnh hưởng rõ rệt của độ mặn đến sự phát triển của vi khuẩn *Bacillus* ở thời điểm này. Tới ngày thứ 22, mật độ vi khuẩn có xu hướng giảm nhẹ và có khuynh hướng biến động theo độ mặn trong cùng một thời điểm thu mẫu ( $p < 0,05$ ). Độ mặn càng cao thì mật độ *Bacillus* càng giảm. Ở

nghiệm thức nước mặn tự nhiên (B32‰), mật độ *Bacillus* spp. thấp nhất (4,37 LogCFU/g), nhưng ở độ mặn 10‰ mật độ *Bacillus* spp. cao nhất (4,5 Log CFU/g). Trong khi đó, mật độ *Bacillus* không có sự khác nhau ở độ mặn 20 và 30‰. Từ đây cho thấy trong điều kiện thí nghiệm trên bề mặt khi các điều kiện thí nghiệm có thể không bị tác động bởi các yếu tố bên ngoài khác (như hàm lượng dinh dưỡng, pH, nhiệt độ...) thì sự phát triển vi khuẩn *Bacillus* phụ thuộc vào độ mặn. Khi độ mặn tăng thì mật độ vi khuẩn *Bacillus* sẽ giảm. Điều này khác với kết quả xác định mật độ *Bacillus* dọc theo tuyến sông Mỹ Thanh, Sóc Trăng (Phạm Thị Tuyết Ngân và ctv., 2020<sup>a</sup>). Trong nghiên cứu này độ mặn không phải là yếu tố ảnh hưởng đến mật độ *Bacillus* spp. dọc theo

tuyến sông Mỹ Thanh mà đường như hàm lượng dinh dưỡng có trong môi trường quyết định mật độ vi khuẩn *Bacillus* ở môi trường sống tự nhiên.

Trong nghiên cứu này, mật độ vi khuẩn *Bacillus* ở 10‰ cao hơn 0‰ ở ngày 36 và 50 có thể do độ mặn ở 10‰ thích hợp cho sự phát triển của *Bacillus* hơn ở 0‰. *Bacillus* đã được một số tác giả nghiên cứu và công bố có thể phát triển ở độ mặn từ 0-40‰. Ví dụ trong nghiên cứu của Lê Anh Xuân (2019), kết quả khảo sát ảnh hưởng của độ mặn đến mật độ của hai chủng *B. subtilis* BRB2.1 và *B. siamensis* BDK2.3 (được phân lập từ ao nuôi tôm) trong điều kiện in vitro sau 24 giờ nuôi cấy cho thấy mật độ vi

khẩn của cả hai chủng đều khác biệt không có ý nghĩa thống kê trong khoảng độ mặn được khảo sát là từ 0‰ đến 40‰. Điều này cho thấy cả hai chủng vi khuẩn này đều có khả năng thích ứng cao với điều kiện độ mặn khác nhau của môi trường. Hoặc nghiên cứu của Trần Thị Thu Hiền (2010) cũng cho thấy một số chủng vi khuẩn *Bacillus* có thể chịu đựng được nồng độ muối cao hơn so với độ mặn thường gặp ở môi trường nuôi tôm nước lợ. *Bacillus* spp. thích hợp sinh trưởng ở môi trường có độ mặn cao từ 15, 20, 35‰ (Đỗ Thị Hồng Thịnh và ctv., 2017). Do vậy trong nghiên cứu này mật độ vi khuẩn *Bacillus* ở 10‰ cao hơn 0‰ ở ngày 36 và 50.

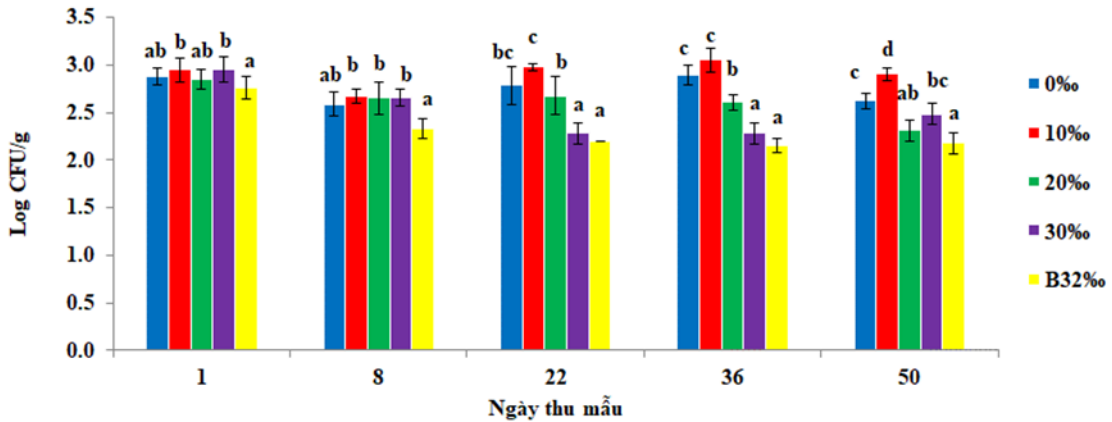


Hình 2: Biến động mật độ *Bacillus* spp. ở các độ mặn khác nhau

### 3.3 Biến động mật độ *Lactobacillus* spp. ở các độ mặn khác nhau

Qua Hình 3, mật độ vi khuẩn *Lactobacillus* ở lần thu mẫu đầu có sự khác biệt giữa các nghiệm thức ( $p < 0,05$ ), mật độ cao nhất ở nghiệm thức 10‰ và 30‰ (3,0 Log CFU/g). Ở lần thu mẫu tiếp theo, mật số vi khuẩn ở các nghiệm thức có xu hướng giảm cao nhất là nghiệm thức 10‰ (2,7 Log CFU/g) tăng dần qua các lần thu (3,1 Log CFU/g), thấp nhất là nghiệm thức nước biển 32B‰ (2,3 Log CFU/g). Tuy nhiên, nghiệm thức ở độ mặn 32B‰ có chiều hướng giảm nhẹ ở các đợt thu mẫu cuối, đạt mật độ 2,2 Log CFU/g và giữa các nghiệm thức cũng có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ). Theo nghiên

cứ của Nguyễn Tuấn Huy (2014), vi khuẩn *Lactobacillus* có khả năng sinh trưởng và phát triển tốt ở nồng độ muối 0‰ đến 3‰. Do nhóm vi khuẩn lactic có nhu cầu dinh dưỡng cao về carbonhydrates, amino acid, vitamin, ... (Walter and Christian, 2006) nên sự hiện diện của loài vi khuẩn này trong hệ thống mô phỏng xâm nhập mặn là tương đối thấp so với các loài vi khuẩn khác được khảo sát. Tương tự như khuynh hướng biến động của *Bacillus*, *Lactobacillus* trong nghiên cứu này, mật độ vi khuẩn *Lactobacillus* ở 10‰ cao hơn 0‰ ở ngày 36 và 50 có thể do độ mặn ở 10‰ thích hợp cho sự phát triển của *Lactobacillus* hơn ở 0‰ với một số nguyên nhân như trên.

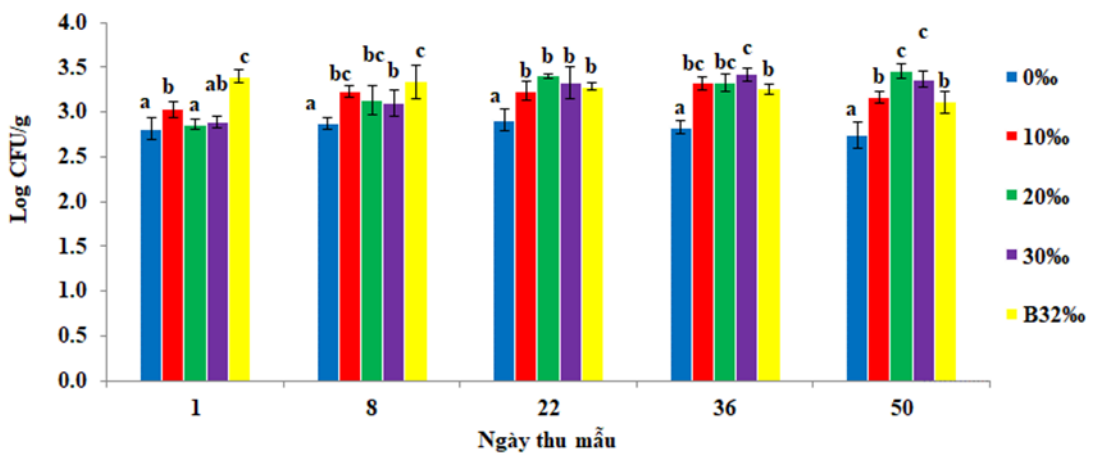


Hình 3: Biến động mật độ *Lactobacillus* spp. ở các độ mặn khác nhau

**3.4 Biến động mật độ tổng vi khuẩn *Vibrio* spp. ở các độ mặn khác nhau**

Mật độ *Vibrio* spp. trong cùng một thời điểm thu mẫu ở một số nghiệm thức khác nhau thì sai khác có ý nghĩa trong thời gian thí nghiệm ( $p < 0,05$ , Hình 4). Ở lần thu mẫu đầu tiên, mật độ vi khuẩn *Vibrio* spp. ở nghiệm thức 0‰ thấp nhất (2,8 Log CFU/g) và cao nhất ở nghiệm thức nước biển tự nhiên B32‰ (3,4 Log CFU/g) ( $p < 0,05$ ). Khuynh hướng này tiếp tục diễn ra cho đến ngày 8. Đến cuối thí nghiệm (50 ngày), sự biến động mật độ *Vibrio* theo độ mặn (từ nghiệm thức 30‰ và B32‰) thể hiện rõ ràng hơn. Mật độ *Vibrio* thấp nhất và có xu hướng giảm (2,7 Log CFU/g) ở 0‰, tiếp đến 10‰ (3,2 Log CFU/g) và cao nhất ở 20‰ (3,5 Log CFU/g). Nghiệm thức 30‰ không sai khác với 20‰. Các nghiệm thức 10‰, 20‰ có xu hướng tăng cao nhất là nghiệm

thức 20‰ (3,5 Log CFU/g), điều này cho thấy ở lần thu mẫu đầu tiên, độ mặn thấp (0‰) đã làm ức chế sự phát triển của vi khuẩn *Vibrio* spp. Kết quả này trùng khớp với nghiên cứu của Trương Thị Mỹ Hạnh và ctv. (2017), mật độ vi khuẩn *Vibrio* spp. có mối tương quan đáng kể với độ mặn ( $R^2 = 0,562$ ;  $p < 0,05$ ) và nghiên cứu của Phạm Thị Tuyết Ngân và ctv. (2020<sup>b</sup>) về ảnh hưởng của độ mặn lên vi khuẩn *Vibrio* spp. dọc theo tuyến sông Mỹ Thanh. Mật độ *Vibrio* spp. trong tự nhiên phụ thuộc vào độ mặn trong môi trường (Phạm Thị Tuyết Ngân và ctv. 2020<sup>b</sup>). Theo Moriarty (1999), mật độ vi khuẩn tổng *Vibrio* vượt quá mức  $10^3$  CFU/mL sẽ gây hại cho tôm. Trong thủy vực tự nhiên, nhóm vi khuẩn *Vibrio* spp. phân bố chủ yếu ở vùng cửa sông, nước lợ, vùng biển và vùng khơi (Messelhauser et al., 2010).



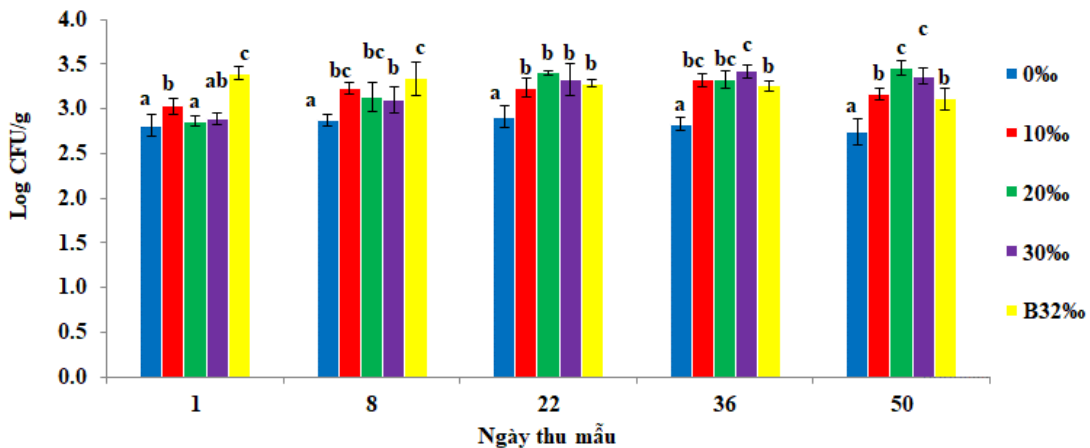
Hình 4: Biến động mật độ *Vibrio* spp. ở các độ mặn khác nhau

### 3.5 Biến động mật độ *Vibrio parahaemolyticus* theo độ mặn khác nhau

Tương tự qui luật biến động tổng *Vibrio*, mật độ *V. parahaemolyticus* cũng biến động khác nhau ở trong cùng một thời điểm thu mẫu suốt thời gian thí nghiệm (Hình 5). Ở lần thu mẫu đầu tiên, mật độ vi khuẩn *V. parahaemolyticus* ở nghiệm thức 0‰ thấp nhất (2,4 Log CFU/g) và cao nhất ở nghiệm thức nước biển tự nhiên B32‰ (3,1 Log CFU/g). Nhưng sau 22 ngày thí nghiệm, mật độ *V. parahaemolyticus* vẫn đạt giá trị thấp nhất (2,3 Log CFU/g) ở nghiệm thức 0‰, nhưng mật độ *V. parahaemolyticus* bắt đầu tăng cao ở nghiệm thức 20‰, 30‰ và B32‰ (2,8-3,1 Log CFU/g) và khác biệt có ý nghĩa so với nghiệm thức 0‰ ( $p < 0,05$ ).

Nhìn chung, *V. parahaemolyticus* có thể tồn tại tự do trong môi trường nước và nền đáy, bám trên bề mặt ngoài và xâm nhập vào bên trong cơ thể động vật phù du, cá và giáp xác (Kaneko and Colwell, 1973, 1975). *V. parahaemolyticus* phát triển tốt hơn so với các chủng vi khuẩn khác trong điều kiện nhiệt

độ và độ mặn tương đối cao (Williams and Larock, 1985). Theo báo cáo của FEHD (2005), chủng vi khuẩn *V. parahaemolyticus* là loài ưa mặn, phát triển tối ưu trong môi trường có độ mặn 20-40‰, bị ức chế khi độ mặn dưới 5‰ và trên 100‰, có thể sinh trưởng ở nhiệt độ 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. De Menezes *et al.* (2017) khảo sát thành phần *Vibrio* spp. tại bốn vùng cửa sông của Brazil và ghi nhận sự hiện diện của 9 loài *Vibrio*, trong đó hai loài *V. parahaemolyticus* và *V. alginolyticus* phong phú nhất. Ngoài ra, *V. parahaemolyticus* và *V. alginolyticus* lần lượt được xác định chiếm ưu thế nhất trong mẫu bùn đất. Theo Phạm Thị Tuyết Ngân *và ctv.* (2020<sup>c</sup>), *V. parahaemolyticus* và *V. campbellii* đều thích hợp phát triển ở độ mặn cao từ 10‰ đến 45‰ và kém phát triển nhất ở 5‰. *V. cholerae* phát triển tốt nhất ở khoảng độ mặn từ 25 đến 35‰. *V. parahaemolyticus* phát triển thích hợp nhất ở độ mặn từ 30 đến 40‰.



Hình 5: Mật độ *Vibrio parahaemolyticus* theo độ mặn khác nhau

## 4 KẾT LUẬN VÀ ĐỀ XUẤT

### 4.1 Kết luận

Mật độ vi khuẩn tổng càng giảm khi độ mặn càng cao. Mật độ cao nhất ở nghiệm thức 0‰ (6,2 Log CFU/g) và thấp nhất ở nghiệm thức nước biển tự nhiên B32‰ (5,7 Log CFU/g).

Mật độ vi khuẩn *Bacillus* cao nhất ở 10‰, tiếp đến 0‰. Độ mặn cao hơn 10‰ thì mật độ *Bacillus* giảm.

Mật độ vi khuẩn *Lactobacillus* cao nhất ở nghiệm thức 10‰ (3,05 Log CFU/g) và có sự khác biệt với các nghiệm thức ( $p < 0,05$ ).

Biến động mật độ vi khuẩn *Vibrio* spp. và *V. parahaemolyticus* theo sự biến động của độ mặn. Tuy nhiên tổng *Vibrio* và *V. parahaemolyticus* cao nhất ở nghiệm thức 20‰ và 30‰ và có sự khác biệt với các nghiệm thức còn lại ( $p < 0,05$ ). Nếu xâm nhập mặn diễn ra, vi khuẩn có hại (*Vibrio* spp.) sẽ tăng nếu độ mặn cao hơn 20‰ và vi khuẩn hữu ích (*Bacillus*, *Lactobacillus*) sẽ giảm nếu độ mặn cao hơn 10‰.

### 4.2 Đề xuất

Trong các nghiên cứu tiếp theo cần phân tích sự phân bố đa dạng của các loài vi khuẩn trong bể mô phỏng bằng phương pháp giải trình tự thế hệ mới

(next generation sequencing) để xác định sự hiện diện của vi khuẩn và nhóm chiếm ưu thế trong môi trường.

## 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.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

Azam, F., Fenchel, T., Field, J.G., Gray, J.S., Meyer-Reil, L.A., and Thingstad, F., 1983. The ecological role of water column microbes in the Sea. *Marine Ecology progress series*. 10(3): 257-263.

De Menezes, F.G.R., Rodriguez, M.T.T., De Carvalho, F.C.T., 2017. Pathogenic *Vibrio* species isolated from estuarine environments (Ceará, Brazil) - antimicrobial resistance and virulence potential profiles. *Annals of the Brazilian Academy of Sciences*. 89(2): 1175-1188.

Đỗ Thị Hồng Thịnh, Trần Hồng Anh, Trần Thị Tường Linh, 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 Khoa học Tự nhiên và Công nghệ*. 14(6): 181 -192.

FEHD (*Food and Environmental Hygiene Department*), 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.

Hara-Kudo, Y., Nishina, T., Nakagawa, H., Konuma, H., Hasegawa, J., Kumagai, S., 2001. Improved Method for Detection of *Vibrio parahaemolyticus* in Seafood. *Applied Environmental Microbiology*. 67(12): 5819-5823.

Huys, G., 2003. Sampling and sample processing procedures for the isolation of Aquaculture-Associated bacteria. Standard operating procedure. Laboratory of Microbiology K.L. Ledeganckstr. 35. B-9000 Gent (Belgium).

Kaneko, T. and Colwell, R. R., 1973. Ecology of *Vibrio parahaemolyticus* in Chesapeake Bay. *Journal of Bacteriology*. 113(1): 24-32.

Kaneko, T. and Colwell, R. R., 1975. Adsorption of *Vibrio parahaemolyticus* onto chitin and copepods. *Applied and Environmental Microbiology*. 29(2): 693-699.

Lê Anh Xuân, 2019. Nghiên cứu ứng dụng vi khuẩn *Bacillus* sp. đối kháng với *Vibrio parahaemolyticus* trong nuôi tôm công nghiệp.

Luận án tiến sĩ khoa Thủy sản, trường Đại học Cần Thơ

Martin, M., 1981. Isolation of oral bacteria. *Journal of Dental Research*.150: 85

Messelhauser, U., Colditz, J., Tharigen, D., Kleih, W., Holler, C., and Busch, U., 2010. Detection and differentiation of *Vibrio* spp. in seafood and fish samples with cultural and molecular methods. *International Journal of Food Microbiology* 28.145(2-3): 492.

Moriarty, D. J. W., 1999. Disease control in shrimp Aquaculture with probiotic bacteria. Biomanagement system Pty. Ltd., 315 Main road, Wellington point. Queensland 4160 Australia and Department of Chemical Engineering. The University of Queensland, Qld. 4072 Australia.

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 Thị Kim Liên, Âu Văn Hóa, Huỳnh Bửu Thành, Huỳnh Phước Vinh, Nguyễn Thanh Phương và Vũ Ngọc Út, 2020. Ảnh hưởng của sự thay đổi độ mặn lên thành phần động thực vật nổi. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, 56(số chuyên đề: Thủy sản)(1): 92-101.

Nguyễn Tuấn Huy, 2014. Phân lập và tuyển chọn các chủng *Lactobacillus* có tiềm năng probiotic từ tôm sú. Luận văn cao học khoa Thủy sản, trường đại học Cần Thơ.

Phạm Thị Tuyết Ngân, Nguyễn Hoàng Nhật Uyên, Nguyễn Thanh Phương và Vũ Ngọc Út, 2020a. Biến động mật độ vi khuẩn *Bacillus* spp. trên tuyến sông Mỹ Thanh, Sóc Trăng. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, 56(số chuyên đề: Thủy sản)(1): 64-70.

Phạm Thị Tuyết Ngân, Nguyễn Hoàng Nhật Uyên, Trần Văn Trọng và Vũ Ngọc Út, 2020b. Ảnh hưởng của độ mặn lên sự hiện diện của vi khuẩn *Vibrio* spp. trên tuyến sông Mỹ thanh. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, 56(số chuyên đề: Thủy sản)(1): 71-79.

Phạm Thị Tuyết Ngân, Nguyễn Hoàng Nhật Uyên, Vũ Ngọc Út và Nguyễn Thanh Phương 2020c. Ảnh hưởng của độ mặn lên sự phát triển của vi khuẩn *Vibrio* spp. trong điều kiện phòng thí nghiệm. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*. 56(2B): 127-135.

Shruti, C., 2012. *Vibrio* related diseases in aquaculture and development of rapid and accurate identification methods. *Journal of Marine Science: Research and Development*. 45(5): 491-500.

Syed, A. A. and Soumendranath, C., 2016. Seasonal Fluctuation of the Population and Characterization of *Bacillus* spp. isolated from



- the Coastal Soils of Digha, West Bengal, India. International Journal of Ecology, Vol. 2016, Article ID 7924258, 10 pages.
- Trần Cẩm Vân, 2005. Giáo trình vi sinh vật học môi trường. Nhà xuất bản Đại quốc gia Hà nội. Trang 1-159.
- Trương Thị Mỹ Hạnh, Kim Văn Vạn, Huỳnh Thị Mỹ Lệ và Phan Thị Vân, 2017. Mối tương quan giữa mật độ vi khuẩn *Vibrio* spp. và độ mặn trong ao nuôi tôm. Vietnam Journal of Agricultural Sciences. 15(4): 455-461.
- Hammes, W. P. and Hertel, C., 2006. The genera *Lactobacillus* and *Camobacterium*. In: Dworkin M., Falkow S., Rosenberg E., Schleifer KH., Stackebrandt E. (Eds.). A Handbook on the Biology of Bacteria. The Prokaryotes. (4): 320-403.
- Williams, L.A. and Larock, P. A., 1985. Temporal occurrence of *Vibrio* species and *Aeromonas hydrophila* in estuarine sediments. Applied and Environmental Microbiology. 50(6): 1490-1495.