

DOI:10.22144/ctu.jsi.2018.038

## KHẢO SÁT SỰ BIẾN ĐỘNG MẬT ĐỘ VI SINH VẬT VÀ MỘT SỐ YẾU TỐ MÔI TRƯỜNG TẠI THỜI ĐIỂM NGHÊU CHẾT Ở TỈNH NAM ĐỊNH NĂM 2016-2017

La Thủy An\* và Ngô Thị Ngọc Thủy

Phân viện Nghiên cứu Thủy sản Nam Sông Hậu, Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản 2

\*Người chịu trách nhiệm về bài viết: La Thủy An (email: lathuyan67@gmail.com)

### Thông tin chung:

Ngày nhận bài: 17/05/2018

Ngày nhận bài sửa: 30/06/2018

Ngày duyệt đăng: 30/07/2018

### Title:

Research on the microorganisms volatility and the changes of some environmental factors relating to clam mortality at Nam Dinh province in 2016-2017

### Từ khóa:

Nghêu, chết, *Vibrio parahaemolyticus*

### Keywords:

Clam, mortality, *Vibrio parahaemolyticus*

### ABSTRACT

The aim of the study is to identify the reasons and causative agents related to clam mortality at Nam Dinh province in 2016-2017, which mainly focuses on the microorganisms volatility and the changes of some environmental factors. Samples including water, sediment and clams in different areas of low, mid and high tide were collected and analyzed for the presence and density of *Vibrio* bacteria and common water parameters such as pH, salinity, temperature, ammonia, nitrite and hydrogen sulfide in predetermined periods. Then, t-test and one-way anova analysis were used to access the impacts of those parameters on the clam health. The results showed that low mortalities (1-10%) of clams had occurred at high tidal growing area in April 2016 and May 2017. Mortalities were observed only on clams in big size at high density areas of 500-600 individuals/m<sup>2</sup>. Clams did not show specific clinical signs, and histological results showed minor injuries on their shells and gills. Correlation analysis revealed some biotic components related to clam health status; they were number of *Vibrio* bacteria in water (2068,2 cfu/ml), in mud (9713,5 cfu/g), in clam (2241,3 cfu/g) and amount of *V. parahaemolyticus* (96,8 cfu/g) in clam. In addition, some abiotic factors were also correlated with clam mortality. Clam deaths occurred at low tidal areas due to long exposure to sunlight (5-6 hours), high temperature (23- 26<sup>o</sup>C in 2016 and 32-38<sup>o</sup>C in 2017), and high salinity (19-21‰ in 2016 và 23-27‰ in 2017). However, temperature and salinity parameters measured at the two events were not as high as those in previous mass mortality cases in Nam Dinh province. This might be a reason for no serious clam death occurrence in 2016 and 2017.

### TÓM TẮT

Nghiên cứu nhằm khảo sát sự biến động mật độ vi sinh vật và một số yếu tố môi trường liên quan đến nghêu chết tại tỉnh Nam Định năm 2016-2017. Mẫu nước, bùn, nghêu được thu tại các khu vực khác nhau của vùng thấp triều, trung triều và cao triều. Sự hiện diện và mật độ nhóm vi khuẩn *Vibrio* và các chỉ tiêu: pH, độ mặn, nhiệt độ, NH<sub>3</sub>, NO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>S được xác định, đồng thời, phương pháp t-test, ANOVA một nhân tố được sử dụng để tìm ra mối tương quan của các yếu tố này đến sức khỏe nghêu. Kết quả cho thấy, trên tổng diện tích nuôi, hiện tượng nghêu chết rải rác với tỷ lệ thấp (1-10%) đã xảy ra vùng cao triều vào tháng 4/2016 và 5/2017. Nghêu chết có kích thước lớn, mật độ cao (500-600 con/m<sup>2</sup>). Nghêu không thể hiện các dấu hiệu đặc trưng, kết quả mô học vô tổn thương và bong tróc tế bào mang ở mức nhẹ. Các yếu tố sinh vật liên quan đến nghêu chết là mật độ của vi khuẩn nhóm *Vibrio* trong nước (2068,2 cfu/ml), bùn (9713,5 cfu/g), nghêu (2241,3 cfu/g) và mật độ vi khuẩn *V. parahaemolyticus* trong nghêu (96,8 cfu/g). Ngoài ra, môi trường ảnh hưởng đến nghêu chết là thời gian phơi bãi kéo dài (5-6 giờ), nhiệt độ nước cao (23- 26<sup>o</sup>C năm 2016 và 32-38<sup>o</sup>C năm 2017) và độ mặn cao (19-21‰ năm 2016 và 23-27‰ năm 2017). Tuy nhiên, các giá trị nhiệt độ, độ mặn của hai đợt chết này không cao như các đợt nghêu chết hàng loạt trước đây tại Nam Định. Đây có thể là nguyên nhân không xuất hiện nghêu chết hàng loạt năm 2016 và 2017.

Trích dẫn: La Thủy An và Ngô Thị Ngọc Thủy, 2018. Khảo sát sự biến động mật độ vi sinh vật và một số yếu tố môi trường tại thời điểm nghêu chết ở tỉnh Nam Định năm 2016-2017. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. 54(Số chuyên đề: Thủy sản)(2): 68-75.

### 1 GIỚI THIỆU

Nam Định hiện có hơn 2.000 ha nuôi nghêu (*Meretrix lyrata*), tập trung tại hai huyện Giao Thủy và Nghĩa Hưng. Để nghề nuôi nghêu phát triển ổn định, đem lại thu nhập cao, các hộ nuôi chú trọng chọn bãi, cải tạo nền bãi nuôi, khơi thông dòng chảy tạo môi trường thuận lợi cho nghêu phát triển và chọn thời điểm thả giống, quản lý sản phẩm nên năng suất tăng lên qua từng năm mỗi năm cung cấp cho thị trường hơn 32 nghìn tấn. Cụ thể, sản lượng nghêu năm 2016 đạt 31.795 tấn, đạt 105,98% kế hoạch, tăng 13,23% so với năm 2015 và tăng 170% so với năm 2010. Năng suất bình quân đạt hơn 17 tấn/ha/năm, có những bãi nuôi đạt năng suất cao 20 tấn/ha/năm (Chi cục Thủy sản Nam Định, 2016). Tuy nhiên, nghề sản xuất nghêu tại Nam Định còn xuất hiện một vài yếu tố thiếu tính bền vững: nuôi nghêu theo hướng tự phát, chưa có quy hoạch đồng bộ, chưa chủ động con giống trong sản xuất còn phụ thuộc chủ yếu nguồn con giống từ tự nhiên. Quản lý nhà nước chưa thực sự hiệu quả và tổ chức sản xuất chưa chặt chẽ nên tiêu thụ sản phẩm chưa có giá trị gia tăng cao và còn bấp bênh (Nguyễn Xuân Thành và ctv, 2013). Thêm vào đó, thời tiết diễn biến bất thường, hiện tượng biến đổi khí hậu càng rõ rệt hơn, nắng nóng, độ mặn tăng cao, hiện tượng nghêu chết hàng loạt đã diễn ra gây hậu quả nghiêm trọng cho nghề nuôi. Tháng 3/2013, tỷ lệ nghêu chết cao (50%) đã xảy ra tại Nam Định, trong thời gian đó, tỷ

lệ nghêu chết được ghi nhận tại Thái Bình là 10 – 70% (Bùi Ngọc Thanh, 2014). Ngô Thị Thu Thảo và Lâm Thị Quang Mẫn (2012) cho rằng ở độ mặn 30‰ cùng với thời gian phơi bãi 6 giờ đã ảnh hưởng đáng kể đến tỷ lệ sống của nghêu. Để nhận biết hiện tượng nghêu chết ở giai đoạn sớm nhất và xác định nguyên nhân/tác nhân gây chết nghêu, đề tài xác định mối tương quan giữa các yếu tố môi trường và sinh vật đến hiện tượng nghêu chết tại Nam Định được thực hiện.

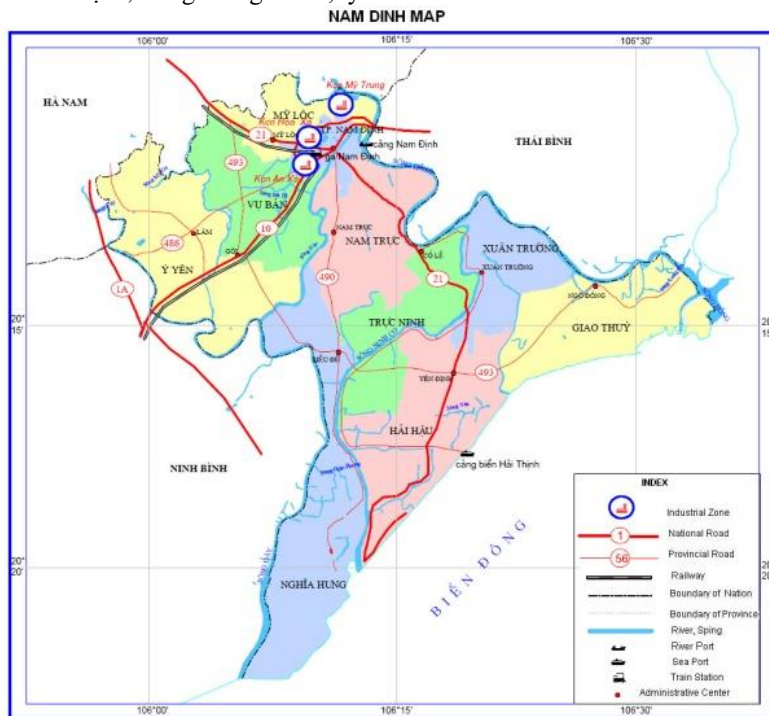
### 2 NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

#### 2.1 Nội dung nghiên cứu

Đề tài được thực hiện từ tháng 3/2016 – tháng 8/2016 và tháng 2/2017 – tháng 8/2017, nhằm xác định mối tương quan giữa các yếu tố sinh học và môi trường với hiện tượng nghêu chết hàng loạt tại vùng nuôi nghêu thuộc xã Giao Xuân, huyện Giao Thủy, tỉnh Nam Định năm 2016-2017.

#### 2.2 Phương pháp xác định mối tương quan giữa các yếu tố sinh học và môi trường với nghêu chết hàng loạt

– Áp dụng phương pháp nghiên cứu dịch tễ học - nghiên cứu bệnh chứng để xác định mối tương quan giữa các yếu tố sinh học và môi trường với nghêu chết hàng loạt. Đồng thời thu và phân tích mẫu môi trường, vi sinh vật.



Hình 1: Sơ đồ vị trí khảo sát nghêu tỉnh Nam Định

### 2.2.1 Tàn suất thu mẫu

– Nhiệt độ, pH, độ mặn: Hàng ngày đo vào lúc triều cường và triều kém

– *Ostricola* sp.: Hàng ngày

– Mật độ *Vibrio* sp và *V. parahaemolyticus* trong nước, trong nghêu, trong bùn, hàm lượng Amonia, Nitrite, Hydrosulfite: định kỳ 6 ngày/lần ở giai đoạn nghêu chưa có hiện tượng chết; và phân tích mẫu hàng ngày khi có hiện tượng nghêu chết (xử lý thông kê thời điểm 10 ngày trước và sau khi có hiện tượng nghêu chết hàng loạt).

### 2.2.2 Phương pháp thu và bảo quản mẫu

Tỷ lệ chết của nghêu được xác định bằng phương pháp đào nghêu trong diện tích 1m<sup>2</sup> trên các bãi (đào 3-5 ô 1m<sup>2</sup> trên 1 bãi).

Mẫu nước được thu để xác định sự hiện diện của vi khuẩn dựa theo TCVN 5998:1995, bảo quản và xử lý mẫu dựa theo phương pháp mô tả trong TCVN 6663-3:2008; mẫu bùn được thu để xác định sự hiện diện của vi khuẩn dựa theo phương pháp mô tả trong TCVN 6663-13:2000, bảo quản và xử lý dựa theo TCVN 6663-15:2004; phương pháp thu mẫu nghêu dựa theo phương pháp của OIE (2017). Mẫu nghêu được cố định hoặc xử lý sơ bộ; mẫu nước, mẫu bùn được bảo quản lạnh và vận chuyển về phòng thí nghiệm.

### 2.2.3 Phương pháp phân tích các thông số môi trường

– Nhiệt độ và pH: Đo tại hiện trường bằng máy đo pH/nhiệt độ meter hãng WTW – Đức.

– Độ mặn: Đo tại hiện trường bằng máy Refractometer hãng Atago – Nhật Bản.

– Khí độc H<sub>2</sub>S: Thu mẫu bằng Bathometer; cố định ngay tại hiện trường bằng KI/NaOH 10% và Zn(CH<sub>3</sub>COO)<sub>2</sub> 30%; phân tích bằng phương pháp chuẩn độ (Iodometric). Phương pháp Iodometric là phương pháp oxy hóa sulfide thành sulfua bởi iodine. Lượng dung dịch iodine cho vào đảm bảo phải lớn hơn lượng sulfide có trong mẫu và lượng iodine dư này được xác định bằng chuẩn độ ngược bởi dung dịch Standard sodium thiosulfate solution (Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>).

– Ammonia tổng (NH<sub>4</sub><sup>+</sup> và NH<sub>3</sub>): Thu mẫu bằng Bathometer; bảo quản lạnh ở 4°C; phân tích bằng phương pháp so màu Phenat. Phương pháp này dựa trên nguyên lý phenol và hypochlorite trong môi trường kiềm sẽ tạo thành phenylquynone-monoimin, sau đó chất này phản ứng với ammonia tạo thành indophenol có màu xanh. Dùng máy so màu (spectrophotometer) đo độ hấp thụ ánh sáng của dung dịch ở bước sóng 663nm. Dựa vào nhiệt độ và pH, tính tỷ lệ của NH<sub>4</sub><sup>+</sup> và NH<sub>3</sub>.

– Hàm lượng N - NO<sub>2</sub><sup>-</sup>: Thu bằng Bathometer; bảo quản lạnh ở 4°C; phân tích bằng phương pháp so màu Diazotizing. Trong phương pháp này nitrite tác dụng với các chất diazotizing (Sulfanilamide) trong môi trường axit tạo thành muối Diazonium. Muối này sau đó kết hợp với nhóm amino hoặc hydroxyl của hợp chất vòng thơm (NED) để tạo thành hợp chất có màu hồng tươi. Dùng máy so màu (Spectrophotometer) đo độ hấp thụ ánh sáng của hợp chất màu này ở bước sóng 543nm.

### 2.2.4 Phương pháp phân tích yếu tố vi sinh vật

Xác định sự hiện diện của *Vibrio* sp. và *V. parahaemolyticus* tổng trong nước, trong bùn và trong nghêu: Thực hiện theo phương pháp pha loãng và trang trên đĩa thạch môi trường đặc trưng TCBS (Thiosulfate Citrate Bile Salts Sucrose Agar) và CHROMagar™ *Vibrio* dựa vào TCVN 79051:2008. Các bước tiến hành như sau:

– *Mẫu nước*: Dùng pipet 10 ml và các falcon vô trùng pha loãng mẫu nước (tùy theo chất lượng nước ít ô nhiễm hay ô nhiễm nhiều) theo hệ số 10 thành các falcon có nồng độ 10<sup>-1</sup>, 10<sup>-2</sup> và 10<sup>-3</sup> ... 10<sup>-9</sup>. Thay đầu pipet sau mỗi lần pha loãng và dùng máy Vortex mixer để trộn dung dịch trong falcon. Sau đó, chuyển 0,1 ml mẫu vào đĩa môi trường, mỗi hệ số pha loãng cấy 2 đĩa môi trường. Dùng que thủy tinh dàn đều trên mặt môi trường, sau 15 phút lật ngược đĩa môi trường nuôi cấy, đếm số lượng khuẩn lạc mọc trên đĩa môi trường sau 18-24 giờ nuôi cấy. Mỗi que cấy thủy tinh chỉ dùng cho một đĩa môi trường, khử trùng que dàn thủy tinh bằng cách nhúng vào cồn 96° và đốt cháy trên ngọn lửa đèn cồn. Tiến hành như trên ở các nồng độ tiếp theo.

– *Mẫu nghêu, mẫu bùn*: Đối với mẫu nghêu, lấy 10 con nghêu/mẫu, tách vỏ, cân trọng lượng, rửa qua nước muối sinh lý 3 lần, rồi dùng kéo cắt nhỏ mẫu và chuyển vào cối chày sứ đã khử trùng. Dùng chày sứ nghiền nhỏ mẫu, sau đó lấy 1 g mẫu đã nghiền đi pha loãng theo cơ số 10 và nuôi cấy như đối với mẫu nước. Đối với mẫu bùn, cân 1 g mẫu, rồi pha loãng theo cơ số 10 và nuôi cấy như đối với mẫu nước và mẫu nghêu

Kết quả được tính theo công thức: **X= số khuẩn lạc × độ pha loãng × 10**

(X: là số khuẩn lạc trong 1 ml nước mẫu (cfu/ml) hoặc 1 g thịt nghêu hoặc 1 g bùn (cfu/g))

– Ký sinh trùng ngoại ký sinh: Nghêu thu mẫu được quan sát bên ngoài để xác định sự hiện diện của sinh vật bám như sun barnacle, tổn thương vỏ với giun nhiều tơ,... Ngoài ra, mang, màng áo của nghêu được cạo, bổ sung thêm nước biển cất rồi soi tươi dưới kính hiển vi quang học ở vật kính 4X, 10X và 40X để xác định sự hiện diện của các loại ký sinh

như trùng lông, giáp xác chân chèo *Ostrincola* sp. Ký sinh trùng (copepod) được cố định tại hiện trường và phân loại trong phòng thí nghiệm dựa theo tài liệu của Lin and Ho (1999), Guoxing *et al.*, (1995), Ho and Zeng (1994).

– Ký sinh trùng *Perkinsus* sp. được xác định bằng phương pháp nuôi cấy bào tử trên môi trường FTM (Fluid Thioglycolate Medium –FTM) của OIE (2017). Thịt nghêu sau khi tách khỏi vỏ được cắt nhỏ và cho vào các ống nghiệm đã chứa 5ml FTM có bổ sung kháng sinh Penicillin, Streptomycin và Nystatin nhằm làm giảm thiểu sự phát triển của vi khuẩn và nấm rồi ủ trong 5-7 ngày ở điều kiện tối. Sau đó, miếng mô nghêu được xử lý bằng NaOH, nhuộm lugol để quan sát sự hiện diện của bào tử.

– Xác định sự hiện diện của các tác nhân khác như vi khuẩn nội bào (RLO, các ký sinh trùng (QPX, *Bonemia* sp., *Haphlosporidium* sp., ...)) bằng phương pháp mô bệnh học với phương pháp nhuộm mô cơ bản (Hematoxyline và Eosin) và nhuộm mô đặc biệt. Những mẫu nghi ngờ có sự hiện diện của các tác nhân trên tiêu bản mô bệnh học sẽ được kiểm tra kính hiển vi điện tử hoặc dùng phương pháp sinh học phân tử để xác định giống, loài

– *Phương pháp mô học*: Mẫu mô được lấy toàn bộ phần thịt cố định trong dung dịch Davidson. Mẫu được xử lý qua các giai đoạn: loại nước, làm trong

mẫu và tẩm paraffin. Sau đó mẫu được đúc khối, cắt với độ dày từ 2-3  $\mu$ m và nhuộm Haematoxylin và Eosin. Tiêu bản được quan sát dưới kính hiển vi lần lượt ở độ phóng đại 10X, 20X, 40X, 100X và chụp hình tiêu bản đặc trưng.

### 2.3 Phương pháp xử lý số liệu

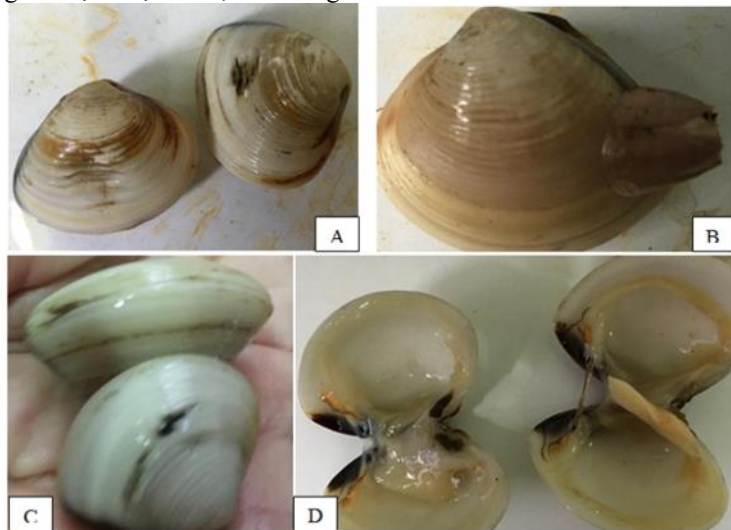
Phân tích thống kê được thực hiện trên phần mềm MS Excell 2017 và IBM SPSS Statistic 22.0.

Phương pháp thống kê mô tả, t-test, ANOVA một nhân tố được sử dụng tìm ra mối tương quan của các yếu tố này tác động đến sức khỏe nghêu.

## 3 KẾT QUẢ

### 3.1 Diễn biến nghêu chết năm 2016 – 2017 tại Nam Định

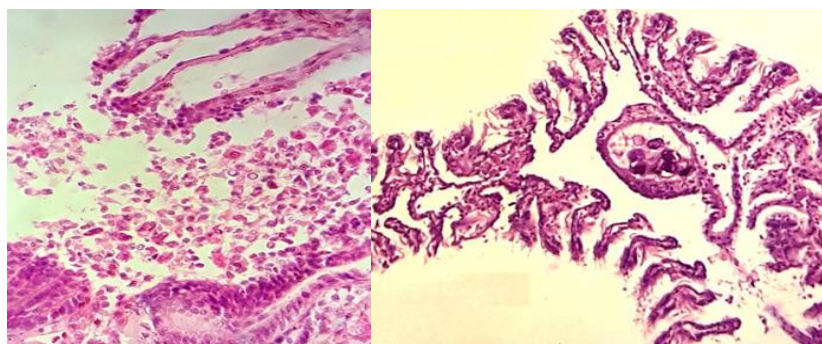
Năm 2016-2017, Nam Định không xảy ra hiện tượng nghêu chết hàng loạt. Trên tổng diện tích khảo sát, nghêu chết rải rác tỷ lệ 3-5% (2016) và 8-10% (2017). Nghêu chết có kích thước lớn, chủ yếu ở vùng cao triều và chết nhiều ở các vây nuôi có mật độ dày (khoảng 500-600 con/m<sup>2</sup>). Một số nghêu chết có dấu hiệu vỏ bị sun barnacle bám (1,8%) hoặc bị tổn thương với tỷ lệ thấp (2,7%), trên các vây nuôi vùng cao triều có xuất hiện một vài nghêu không vùi được, nổi trên mặt bãi.



**Hình 2:** Vỏ ngoài nghêu bị lõm và có điểm đen (Hình A và C), nghêu bị sun bám (Hình B), ruột nghêu (Hình D)

Kiểm tra thịt nghêu cho thấy thịt trắng, không ngâm cát, tỷ lệ nghêu gầy 20%. Kết quả phân tích

mô học cho thấy, hiện tượng bong tróc tế bào biểu mô mang ở mức độ nhẹ và không ghi nhận dấu hiệu bất thường các cơ quan khác.



**Hình 3: Bong trúc tế bào biểu mô (A) và Nematopis sp. (B) trên mang nghêu**

**3.2 Kết quả phân tích tương quan giữa các yếu tố sinh vật và phi sinh vật đến nghêu chết**

**3.2.1 Các yếu tố sinh vật**

Một số loài sinh vật trên mẫu nghêu được phát hiện với tỷ lệ thấp, trừ nhóm vi khuẩn *Vibrio*. Sinh

vật bám chủ yếu tìm thấy trên nghêu cỡ lớn với tỷ lệ thấp (1,9%), *Nematopis* sp., RLO cũng được phát hiện ký sinh trên mang nghêu với tỷ lệ 2,5% và 5,0% (Bảng 1). Giáp xác chân chèo *Ostricola* sp không được tìm thấy trên nghêu thu tại Nam Định năm 2016-2017.

**Bảng 1: Tỷ lệ nhiễm các loại vi sinh vật**

STT	Tác nhân	Năm 2016	Năm 2017	Trung bình
1	Sinh vật bám (Barnacles) (%)	2,6	1,2	1,9
2	<i>Nematopis</i> sp. (%)	1,3	3,7	2,5
3	RLO (%)	3,9	6,2	5,0
4	<i>Perkinsus</i> sp. (%)	3,9	3,7	3,8
5	<i>Ostricola</i> sp. (%)	0	0	0
6	<i>V.parahaemolyticus</i> trong nghêu (%)	69,2	76,8	73,0
7	<i>V.parahaemolyticus</i> trong nước (%)	57,7	75,6	66,7
8	<i>V.parahaemolyticus</i> trong bùn (%)	65,4	78,2	71,8

Bảng 1 cho thấy nhóm vi khuẩn *Vibrio* sp xuất hiện trên tất cả các mẫu nghêu, bùn, nước. Trong đó, vi khuẩn *V. parahaemolyticus* có tần suất xuất hiện nhiều nhất trên mẫu nghêu (73%), mẫu bùn (71,8%) và ít nhất trên mẫu nước (66,7%). Kết quả phân tích chung chỉ ra rằng trong mẫu nghêu, bùn, nước,

nhóm vi khuẩn *Vibrio* tại thời điểm nghêu chết có mật độ cao hơn tại thời điểm nghêu không chết, sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ) (Bảng 2). Tuy nhiên, thống kê theo từng năm, kết quả này chỉ đúng cho năm 2017, tại thời điểm nghêu chết năm 2016, mật độ vi khuẩn *Vibrio* trong bùn cao.

**Bảng 2: Phân tích ANOVA mối liên quan giữa mật độ vi sinh vật và nghêu chết**

Danh sách biến	Tình trạng nghêu	Số lượng mẫu	Trung bình	Độ lệch chuẩn	Giá trị ANOVA P
Tổng <i>Vibrio</i> trong nghêu	Không chết	131	1204,1	826,72	0,000
	Có chết	23	2241,3	1757,81	
Tổng <i>Vibrio</i> trong bùn	Không chết	131	6511,2	2234,94	0,000
	Có chết	23	9713,5	2161,31	
Tổng <i>Vibrio</i> trong nước	Không chết	53	1167,9	762,13	0,004
	Có chết	11	2068,2	1479,61	
<i>V. parahaemolyticus</i> trong nước	Không chết	137	52,3	81,39	0,877
	Có chết	23	49,5	64,73	
<i>V. parahaemolyticus</i> trong nghêu	Không chết	137	69,1	80,26	0,148
	Có chết	23	96,8	107,38	
<i>V. parahaemolyticus</i> trong bùn	Không chết	133	46,6	59,28	0,712
	Có chết	23	41,8	38,16	

Kết quả phân tích cho thấy, sự xuất hiện nhóm vi khuẩn *Vibrio* tổng cao nhất tại thời điểm nghêu

chết, kể đến là sau khi nghêu chết, thấp nhất trước khi nghêu chết, giá trị này khác biệt có ý nghĩa thống

kê ( $p < 0,05$ ). Trước khi có hiện tượng nghêu chết, mật độ nhóm vi khuẩn *Vibrio* thấp, tuy nhiên, các giá trị này tăng cao tại thời điểm nghêu đang chết trên bãi, kết quả phân tích mật độ vi khuẩn *Vibrio* trong nghêu khoảng 2.241 cfu/gram thịt, trong bùn 9.713 cfu/gram, trong nước 2.068 cfu/ml, nhưng lại giảm rõ rệt sau thời điểm nghêu chết (Bảng 3). Kết

quả này cũng tương đồng tại thời điểm nghêu đang chết, nhóm vi khuẩn *V. parahaemolyticus* xuất hiện mật độ cao, khác biệt ( $p < 0,05$ ) so với các thời điểm còn lại. So theo từng đợt thì kết quả tương quan giữa mật độ *V. parahaemolyticus* cao trong nghêu và trong bùn tại thời điểm nghêu đang chết so với thời điểm trước và sau đó.

**Bảng 3: Mối liên quan giữa mật độ vi sinh vật và thời điểm nghêu chết**

Danh sách biến	Tình trạng nghêu	Số lượng mẫu	Trung bình	Độ lệch chuẩn	Giá trị ANOVA P
Tổng <i>Vibrio</i> trong nghêu	Trước chết	74	766,0	429,41	0,001
	Đang chết	23	2241,3	1757,81	
	Sau chết	57	1772,8	873,71	
Tổng <i>Vibrio</i> trong bùn	Trước chết	74	5248,2	1683,68	0,001
	Đang chết	23	9713,5	2161,31	
	Sau chết	57	8150,7	1748,24	
Tổng <i>Vibrio</i> trong nước	Trước chết	34	746,2	323,33	0,001
	Đang chết	11	2068,2	1479,61	
	Sau chết	19	1922,6	7,41	
<i>V. parahaemolyticus</i> trong nghêu	Trước chết	88	57,3	65,88	0,031
	Đang chết	23	96,8	107,38	
	Sau chết	49	90,4	98,33	
<i>V. parahaemolyticus</i> trong bùn	Trước chết	84	45,3	63,78	0,879
	Đang chết	23	41,8	38,16	
	Sau chết	49	48,8	51,20	
<i>V. parahaemolyticus</i> trong nước	Trước chết	88	55,0	94,58	0,860
	Đang chết	23	49,5	64,73	
	Sau chết	49	47,5	50,16	

3.2.2 Các yếu tố môi trường

Kết quả phân tích thống kê mô tả

Bảng 4 cho thấy, các yếu tố môi trường đều nằm trong giới hạn nghêu phát triển (nhiệt độ nước 13-

37°C, độ mặn 8-27‰, pH 7,2-8,1). Thêm vào đó, hàm lượng các khí độc thấp, NH<sub>3</sub> 0,08±0,03 mg/l, giá trị pH < 8,5 nên hàm lượng NH<sub>3</sub> không ảnh hưởng đến vùng nuôi. Hàm lượng H<sub>2</sub>S 0,096± 0,08 mg/l, Nitrite có giá trị trung bình 0,1±0,045mg/l.

**Bảng 4: Giá trị các thông số môi trường tại vùng nuôi nghêu Nam Định năm 2016 – 2017**

Thông số	Trung bình	Năm 2016	Năm 2017
NH <sub>3</sub> (mg/l)	0,08±0,03	0,07±0,03	0,08±0,03
N-NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> (mg/l)	0,101±0,045	0,103±0,048	0,090±0,029
H <sub>2</sub> S (mg/l)	0,096±0,08	0,087±0,07	0,127±0,07
DO (mg/l)	2,63±0,98	2,47±1,12	2,90±0,58
Độ mặn triều lên (‰)	17,3±4,21	12,42±1,71	22,12±0,23
Độ mặn triều xuống (‰)	17,2±4,46	10,97±1,74	22,09±0,22
Số giờ phơi bãi (giờ)	2,6±2,18	2,47±2,12	2,73±2,21
Nhiệt độ triều lên (°C)	26,6±4,71	26,54±4,41	26,72±5,24
Nhiệt độ triều xuống (°C)	26,6±4,71	26,22±3,78	26,91±5,29
pH triều lên	7,7±0,18	7,57±0,16	7,82±0,08
pH triều xuống	7,7±0,18	7,60±0,17	7,84±0,07

Theo kết quả quan sát trên bãi nghêu, hiện tượng nghêu chết sau 2-3 ngày khi thời gian phơi bãi kéo dài (5-6 tiếng/ ngày), thời gian này đều rơi vào ban

ngày khi trời không mưa. Tỷ lệ nghêu chết thấp 1-5% (năm 2016) và 5-10% (năm 2017), kéo dài trong thời gian ngắn (khoảng 5 ngày). Kết quả phân tích tương quan chỉ ra rằng mối liên hệ giữa độ mặn cao,

số giờ phơi bãi kéo dài, nhiệt độ cao có liên quan đến nghề chết tại Nam Định năm 2016-2017.

*Phân tích tương quan*

Bảng 5 cho thấy, các giá trị số giờ phơi bãi, độ mặn, nhiệt độ khi thủy triều lên tại thời điểm nghề chết cao hơn so với thời điểm nghề không chết.

**Bảng 5: Mối liên quan giữa các yếu tố môi trường và nghề chết**

Danh sách biến	Nghề chết	Số mẫu	Trung bình	Độ lệch chuẩn	Giá trị ANOVA P
Độ mặn thủy triều lên	Không	415	17,1	4,24	0,001
	Có	10	21,8	2,10	
Độ mặn thủy triều xuống	Không	237	17,0	4,40	0,000
	Có	10	22,1	3,03	
Giờ phơi bãi	Không	412	2,6	2,16	0,000
	Có	10	5,1	0,99	
Nhiệt độ thủy triều lên	Không	413	26,6	4,87	0,035
	Có	10	29,9	5,23	
Nhiệt độ thủy triều xuống	Không	238	26,5	4,64	0,239
	Có	10	28,3	6,27	
pH thủy triều lên	Không	228	7,7	0,18	0,540
	Có	9	7,6	0,13	
pH thủy triều xuống	Không	123	7,7	0,18	0,878
	Có	9	7,7	0,12	

**4 THẢO LUẬN**

**4.1 Các yếu tố vi sinh vật**

Giáp xác chân chèo *Ostricola sp* được xem là nguyên nhân gây nghề chết tại Trung Quốc năm 1988-1999 (Ho and Zeng, 1994), loài này không được tìm thấy trên nghề thu tại Nam Định năm 2016-2017. Theo nghiên cứu của Nguyễn Văn Hào và ctv. (2011) về sự hiện diện của *Perkinsus sp* tại vùng nuôi nghề Cần Giờ, tỷ lệ nhiễm trung bình khá cao 60,1% so với nghiên cứu này là 3,8%. Nhóm nghiên cứu khác cũng ghi nhận được nấm, *Perkinsus sp* và vi khuẩn trên nghề nhưng những tác nhân này không gây chết hàng loạt nghề nuôi thương phẩm tại Việt Nam (Bùi Ngọc Thanh, 2014).

Trong nghiên cứu này, kết quả phân tích mối liên quan giữa mật độ vi sinh vật và thời điểm nghề chết phù hợp so với từng đợt nghề chết, kết quả này cao hơn so với nghiên cứu của Moriarty (1998), mật độ vi khuẩn *Vibrio sp* trong nước vượt quá 1000 cfu/ml sẽ gây ảnh hưởng xấu đến quá trình ương nuôi các đối tượng thủy sản. Có thể lý giải sự gia tăng mật độ của nhóm *Vibrio* tại thời điểm nghề chết là do (1) nghề yếu và môi trường xấu tạo điều kiện cho *Vibrio* phát triển và gây hại, (2) lượng chất hữu cơ cao do nghề chết phân giải tạo môi trường tốt cho chúng gia tăng về số lượng.

Bên cạnh đó, khi phân tích so sánh các giá trị trên tại 3 thời điểm (trước, trong và sau khi nghề chết), kết quả cho thấy ba yếu tố này đạt giá trị cao nhất tại thời điểm nghề đang chết và sai khác có ý nghĩa thống kê so với các thời điểm còn lại ( $p < 0,05$ ).

Do nhiễm tỷ lệ thấp nên các tác nhân vi sinh vật không được xem là nguyên nhân gây chết nghề.

**4.2 Các yếu tố môi trường**

Kết quả môi trường nước nằm trong giới hạn phát triển của nghề, phù hợp với các nghiên cứu khác về giới hạn chịu đựng của nghề trong môi trường nước là  $NH_3-N < 2mg/l$ ,  $NO_2 < 1,8mg/l$ ,  $H_2S < 30mg/l$  (Epifano et al., 1975; Nagasoe et al., 2011).

Điều tra về nghề nuôi nghề ven biển chỉ ra rằng hiện tượng nghề bị chết hàng loạt thường xảy ra từ tháng 2 đến tháng 5 hàng năm, những tháng khác trong năm vẫn có hiện tượng này nhưng ít xảy ra hơn. Đa số các hộ nuôi cho rằng sự thay đổi về nhiệt độ (30,5% số trả lời), độ mặn (14,3% số trả lời), chất lượng nước kém (24,8% số trả lời) là những nguyên nhân chủ yếu gây ra hiện tượng nghề chết hàng loạt ở nhiều địa phương trong thời gian qua (Bùi Đắc Thuyết và Trần Văn Dũng, 2013).

Kết quả phân tích mối liên quan giữa các yếu tố môi trường và nghề chết khá tương đồng với các nghiên cứu khác. Các tác giả khẳng định rằng nhiệt độ và độ mặn cùng thời gian phơi bãi có liên quan đến hiện tượng nghề chết hàng loạt (Bùi Ngọc Thanh, 2014). Năm 2013, độ mặn tại bãi nghề đang chết tỷ lệ cao ở Nam Định là 36%, Thái Bình là 37%, Bến Tre 30-32%, cũng trong năm 2013 tại Bến Tre, đợt nghề chết hàng loạt ghi nhận nhiệt độ

khá cao (nhiệt độ nước khi triều xuống 34°C, nhiệt độ không khí 40°C). Bên cạnh đó, thí nghiệm trong phòng cũng cho thấy nghêu có kích cỡ lớn (dài: 23,2 ± 0,11 mm), được nuôi ở độ mặn 30‰, với thời gian phơi bãi 6 giờ/ ngày, tỷ lệ nghêu chết 79,43% (Ngô Thị Thu Thảo và Lâm Thị Quang Mẫn, 2012). Một thí nghiệm khác cũng cho kết quả trong gây nhiễm nhóm vi khuẩn *Vibrio* sp ở điều kiện nhiệt độ 33°C và độ mặn 33‰ nghêu chết 100%, tác giả này cũng kết luận yếu tố môi trường đóng vai trò không nhỏ đến hiện tượng nghêu chết hàng loạt (Nguyễn Thị Huyền, 2015). Tại các đợt nghêu chết hàng loạt, các giá trị về nhiệt độ và độ mặn cao hơn nhiều so với kết quả ghi nhận được tại Nam Định năm 2016-2017. Cụ thể năm 2016 (độ mặn 19-21‰, nhiệt độ 23-26°C), tỷ lệ nghêu chết thấp (1-5%). Năm 2017, nhiệt độ bãi nuôi tại thời điểm có nghêu chết cao (32-38°C) tương đương với các đợt nghêu chết hàng loạt đã công bố, tuy nhiên, độ mặn lại thấp hơn (23-27‰); đây có thể là lý do nghêu chết hàng loạt đã không xảy ra tại Nam Định năm 2017.

## 5 KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

### 5.1 Kết luận

Hiện tượng nghêu chết rải rác với tỷ lệ chết thấp từ 1-10% đã xảy ra trên bãi nghêu tại Giao Thủy, Nam Định vào tháng 4/2016 và tháng 5/2017.

Nghêu không thể hiện các dấu hiệu đặc trưng trong các đợt chết: nghêu chết là nghêu có kích thước lớn, tập trung ở vùng có mật độ cao (500-600 con/m<sup>2</sup>) ở vùng cao triều, trước khi chết một vài nghêu có dấu hiệu nổi bãi, vỏ tổn thương và có dấu hiệu bong tróc tế bào mang ở mức nhẹ.

Các yếu tố sinh vật liên quan đến nghêu chết tại Nam Định năm 2016-2017: sự xuất hiện mật độ vi khuẩn nhóm *Vibrio* trong nước (2068,2 cfu/ml), bùn (9713,5 cfu/g), nghêu (2241,3 cfu/g) và mật độ vi khuẩn *V. parahaemolyticus* trong nghêu (96,8 cfu/g).

Các yếu tố môi trường liên quan đến nghêu chết tại Nam Định năm 2016-2017 là số giờ phơi bãi cao (5-6 giờ), nhiệt độ (23- 26°C năm 2016 và 32-38°C năm 2017), độ mặn cao (19-21‰ năm 2016 và 23-27‰ năm 2017). Các giá trị nhiệt độ, độ mặn của 2 đợt chết này không cao như giá trị quan sát được tại các đợt nghêu chết hàng loạt trước đây tại Nam Định. Đây có thể là nguyên nhân không xuất hiện nghêu chết hàng loạt năm 2016 và 2017.

### 5.2 Đề nghị

Đề nghị biết hiện tượng nghêu chết hàng loạt ở giai đoạn sớm và xác định nguyên nhân/tác nhân gây chết nghêu, nghiên cứu xây dựng thẻ bệnh cho hiện tượng nghêu chết hàng loạt tại Nam Định cần được tiến hành.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Bùi Đắc Thuyết và Trần Văn Dũng, 2013. Hiện tượng nghề nuôi ngao ở một số tỉnh ven biển miền Bắc và Bắc Trung Bộ, Việt Nam. Tạp chí Khoa học và Phát triển. 11(7): 972-980.
- Bùi Ngọc Thanh, 2014. Nghiên cứu các biện pháp kỹ thuật và quản lý nhằm góp phần ổn định nghề nuôi nghêu thương phẩm ở Việt Nam, Báo cáo tổng kết đề tài. Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản I. Bắc Ninh.
- Chi cục Thủy sản Nam Định, 2016. Báo cáo đánh giá kết quả thực hiện nhiệm vụ năm 2016 kế hoạch năm 2017 Nam Định.
- Guoxing, Z., Yeshao, Y., Ningyu, H., and He, L., 1995. Observations on a parasitic copepoda found in the mantle cavity of the clam *Meretrix meretrix* by scanning electron microscopy. DONGAHI MARINE SCIENCE 02.
- Ho, J. S., and Zeng, G. X., 1994. *Ostricola koei* (Copepoda, Mycicolidae) and mass mortality of cultured hard clam (*Meretrix meretrix*) in China. Hydrobiologia 284(2): 169-173.
- Lin, C.L., and Ho, J.S., 1999. Poecilostomatoid copepods parasitic in bivalve mollusks of Taiwan. Publ. Mar. Biol. Lab. 38: 201-218.
- Moriarty, D.J.W., 1998. Control of luminous *Vibrio* species in Penaeid aquaculture ponds. Aquaculture. 164: 351-358.
- Nagasoe, S., Yurimoto, T., Suzuki, K., Maeno, Y., and Kimoto, K., 2011. Effects of hydrogen sulfide on the feeding activity of Manila clam *Ruditapes philippinarum* Aquat Biol. 13.
- Ngô Thị Thu Thảo và Lâm Thị Quang Mẫn, 2012. Ảnh hưởng của độ mặn và thời gian phơi bãi đến sinh trưởng và tỷ lệ sống của nghêu (*Meretrix lyrata*) Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ, 123-130.
- Nguyễn Văn Hào, Ngô Thị Ngọc Thủy, Tiêu Thanh Tươi, Hoàng Thị Hiền, Phạm Lâm Chính Văn và Nguyễn Vy Vân, 2011. Sự hiện diện của *Perkinsus* sp. trên nghêu (*Meretrix lyrata*) tại vùng biển Cần Giờ - thành phố Hồ Chí Minh. Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn tháng 12/2011, 97-105.
- Nguyễn Thị Huyền, 2015. Đánh giá vai trò của vi khuẩn *vibrio* với hiện tượng ngao *Meretrix* sp chết hàng loạt tại một số tỉnh phía Bắc Việt Nam. Luận văn Thạc sĩ, Đại Học Nha Trang.
- Nguyễn Xuân Thành, Phạm Thuộc và Trần Công Khôi, 2013. Hiện trạng và định hướng phát triển nuôi ngao tại Nam Định. Tạp chí Khoa học và Công nghệ Biển. 13 (1): 88-94.
- OIE - World Organisation for Animal Health, 2017. Mollusc disease in Manual of diagnostic tests for Aquatic animal, available at <http://www.oie.int/eng/normes/fmanual>