



Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ

Số chuyên đề: Thủy sản

website: sj.ctu.edu.vn



DOI:10.22144/ctu.jsi.2020.008

BIẾN ĐỘNG MẬT ĐỘ VI KHUẨN *Bacillus* spp. TRÊN TUYẾN SÔNG MỸ THANH, SÓC TRĂNG

Phạm Thị Tuyết Ngân^{1*}, 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: 21/10/2019

Ngày nhận bài sửa: 22/11/2019

Ngày duyệt đăng: 23/04/2020

Title:

Fluctuation of density of *Bacillus* spp. along the My Thanh River, Soc Trang

Từ khóa:

Bacillus spp., bùn, nước, sông Mỹ Thanh

Keywords:

Bacillus spp., My Thanh river, sediment, water

ABSTRACT

The study was conducted to investigate the variation in density of *Bacillus* spp. bacteria in water and mud in My Thanh river, including the upper stream (Nhu Gia), middle stream (My Thanh 1), and lower stream (My Thanh estuary = Mỹ Thanh2). Samples were collected once a month from July 2017 to June 2018 at low tide. Bacteria density was determined by heating method (80°C in 30 minutes) before plate on *Bacillus* selective medium. The results showed that the density of *Bacillus* bacteria in water and mud ranged from $7,1 \times 10^1$ - $5,4 \times 10^3$ CFU/mL and $8,1 \times 10^3$ - $1,6 \times 10^6$ CFU/g respectively. *Bacillus* density was highest in upper stream and lowest in low stream during sampling period. In general, the trend of *Bacillus* density in water and mud were ranged in the upper stream and stable at the lower stream. The density of *Bacillus* in water and mud tends to decrease as salinity increases, this is probably due to the highest upstream organic matter content compared to the other two sampling site, so it may helps to *Bacillus* bacteria to develop best.

TÓM TẮT

Đề tài được thực hiện nhằm nghiên cứu biến động mật độ vi khuẩn *Bacillus* trong nước và bùn ở tuyến sông Mỹ Thanh: đầu nguồn (nhánh rẽ Nhu Gia); giữa nguồn (Mỹ Thanh 1 và cuối nguồn (cửa sông 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 gia nhiệt (80°C trong 30 phút) và đếm khuẩn lạc trên môi trường chọn lọc cho vi khuẩn *Bacillus*. Kết quả cho thấy mật độ *Bacillus* trong nước và trong bùn dao động lần lượt là $7,1 \times 10^1$ - $5,4 \times 10^3$ CFU/mL và $8,1 \times 10^3$ - $1,6 \times 10^6$ CFU/g. Mật độ *Bacillus* cao nhất ở đầu nguồn và thấp nhất ở cuối nguồn trong suốt quá trình thu mẫu. Khuynh hướng chung của mẫu nước và bùn là dao động nhiều ở cuối nguồn và ổn định ở đầu và giữa nguồn. Mật độ *Bacillus* ở trong nước và bùn có khuynh hướng giảm khi độ mặn tăng, điều này có thể do hàm lượng chất hữu cơ ở đầu nguồn cao nhất so với hai điểm còn lại nên đã tạo điều kiện cho vi khuẩn *Bacillus* phát triển tốt nhất.

Trích dẫn: Phạm Thị Tuyết Ngân, Nguyễn Hoàng Nhật Uyên, Nguyễn Thanh Phương và Vũ Ngọc Út, 2020. 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.

1 GIỚI THIỆU

Các loài vi khuẩn *Bacillus* được tìm thấy trong các môi trường tự nhiên khác nhau, điều kiện phát triển rộng rãi, đa dạng về chủng loại. *Bacillus* là vi khuẩn hình thành bào tử có khả năng tồn tại trong các điều kiện vật lý và hóa học bất lợi, một số loài có đặc điểm sinh lý bất thường cho phép chúng tồn tại trong các điều kiện môi trường khắc nghiệt khác nhau như nước ngọt, trầm tích biển, cát sa mạc, suối nước nóng, Bắc cực, và đường tiêu hóa của người, động vật... Chúng có thể nhanh chóng sinh sản trở lại khi điều kiện sống thích hợp, chính vì đặc điểm này đã mang lại các hiệu quả tích cực để ứng dụng trong lĩnh vực nuôi trồng thủy sản. Ứng dụng của *Bacillus* spp. dùng làm chế phẩm vi sinh trong nuôi trồng thủy sản bền vững có tiềm năng rất lớn. Các loài *Bacillus* có thể đóng vai trò quan trọng trong việc loại bỏ các chất thải từ môi trường nuôi trồng thủy sản, duy trì chất lượng nước tối ưu và giảm stress, giúp cải thiện cân bằng hệ miễn dịch, tăng trưởng tốt hơn và tăng tỉ lệ sống ở động vật thủy sinh. Các loài như *B. subtilis*, *B. licheniformis*, *B. cereus*, *B. coagulans*, *B. amyloliquefaciens*... là những loài có vai trò xử lý nước, phân hủy chất hữu cơ. Tuy nhiên, những loài này thường không xuất hiện với số lượng cần thiết trong môi trường nước, môi trường sống thích hợp tự nhiên của chúng là bùn đáy ao. Khi một số loài được bổ sung vào nước với số lượng lớn, chúng có thể có tác động tích cực đến môi trường. Chúng cạnh tranh với hệ vi khuẩn hiện

diện tự nhiên có sẵn trong môi trường (Soltani, 2019).

Ở Đồng bằng sông Cửu Long, Sông Mỹ Thanh là một trong 2 sông chính thuộc tỉnh Sóc Trăng đổ ra biển. Đây còn là nguồn cung cấp nước cho nghề nuôi trồng thủy sản dọc hai bên bờ sông. Nhưng nguồn nước chịu ảnh hưởng từ các tác động tự nhiên và nhân tạo, sự lắng tụ các vật chất xuống nền đáy lâu dần có thể tạo nên môi trường ẩn chứa nhiều mối đe dọa. Để tìm hiểu về biến động mật độ của vi khuẩn *Bacillus* dọc theo tuyến sông Mỹ Thanh giúp người nuôi đánh giá chất lượng nguồn nước đầu vào cũng như cung cấp thêm thông tin cho việc quản lý bệnh, nên đề tài “biến động mật độ vi khuẩn *Bacillus* spp. ở tuyến sông Mỹ Thanh, Sóc Trăng” đã được thực hiện nhằm đánh giá sự biến động mật độ vi sinh *Bacillus* ở tuyến sông Mỹ Thanh và tìm ra qui luật biến đổi từ đó cung cấp thông tin cho người nuôi cũng như làm tiền đề cho các nghiên cứu tiếp theo.

2 PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Thời gian thu mẫu từ tháng 6/2017 đến 7/2018. Mẫu nước và bùn đáy sông được thu ở tuyến sông Mỹ Thanh tại ba điểm đầu nguồn (Nhu Gia), giữa nguồn (Mỹ Thanh 1) và cuối nguồn (cửa sông Mỹ Thanh), mẫu được thu vào lúc nước ròng. Mỗi tháng thu mẫu 1 lần vào giữa tháng, mỗi địa điểm thu một mẫu đại diện và tiến hành 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 trên tuyến sông Mỹ Thanh

(Nguồn: <https://www.google.com/maps/@9.5037807,105.9377255,11z>)

Phương pháp thu mẫu bùn và chỉ tiêu theo dõi

Mẫu nước được thu bằng ống falcon (50 mL) cách mặt nước khoảng 30-50 cm. Mẫu bùn được thu trực tiếp bằng xilanh (thể tích 10 mL và đã được tiệt trùng bằng dung dịch cồn 70%) ấn xuống nền đáy với độ sâu 5 cm rút mẫu đến khi đầy xilanh. Tại mỗi thủy vực, 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 được trộn lẫn vào nhau thành một mẫu đại diện cho thủy vực đó. Các mẫu được phân tích chỉ tiêu mật độ vi khuẩn *Bacillus* spp.

2.2 Phương pháp xác định mật độ vi khuẩn *Bacillus*

2.2.1 Pha loãng mẫu

Dụng cụ chứa mẫu được mở nắp trong tủ cấy tiệt trùng, 1 mL nước hoặc 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% 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, 2002).

2.2.2 Phân tích mẫu trên môi trường thạch

Môi trường phân lập vi khuẩn *Bacillus* được chuẩn bị theo phương pháp của Nguyễn Lâm Dũng (1983), Harwood and Archibald (1990) và được điều chỉnh bởi Phạm Thị Tuyết Ngân (2012). Sau khi các mẫu đã được pha loãng, ba độ pha loãng khác nhau của mỗi mẫu được chọn để tán đều lên các đĩa môi trường, mỗi độ pha loãng lặp lại 3 lần (100 μ L/đĩa). Các ống nghiệm ở nồng độ pha loãng thích hợp được gia nhiệt ở 80°C trong 30 phút trước khi được tán đều trên đĩa thạch. Sau đó đĩa ủ ở 28°C trong 24 - 48 giờ. 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 cần có số khuẩn lạc dao động trong khoảng từ 20 đến 200 khuẩn lạc để đảm bảo độ tin cậy của phương pháp. Mật độ vi sinh vật được tính bằng đơn vị hình thành khuẩn lạc (CFU/mL nước và CFU/g bùn và đồ thị được biểu diễn bằng Log CFU/mL nước và Log CFU/g bùn).

2.3 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 các nghiệm thức bằng phương pháp ANOVA một nhân tố và phép thử Duncan ($p < 0,05$) bằng phần mềm SPSS 16.0.

3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Biến động độ mặn

Độ mặn ở đầu, giữa và cuối nguồn dao động lần lượt từ 0-8‰; 0-15‰ và 0-27‰. Như vậy độ mặn ở đầu nguồn thấp nhất và cuối nguồn cửa sông cao nhất. Một nghiên cứu cho thấy *Bacillus* có thể tồn tại ở độ mặn tới 60‰ và phát triển tốt nhất ở 20‰; đây là loài vi khuẩn ưa mặn nhẹ. Theo một số nghiên cứu về cơ chế chịu mặn, khi độ mặn dưới 20‰, *Bacillus* hấp thụ K^+ và Na^+ để duy trì cân bằng thẩm thấu, và khi độ mặn trên 20‰, thì *Bacillus* duy trì đời sống bằng cách tạo ra một số lượng lớn bào tử (Zhang, 2014). Theo Bosch *et al.* (1994), *B. subtilis* có khả năng sinh trưởng trong môi trường có nồng độ muối cao đến 70‰. Khi nồng độ muối trong môi trường tăng đột ngột, *B. subtilis* sẽ phản ứng với sốc thẩm thấu này bằng cách tích trữ ion K^+ hoặc Na^+ từ môi trường thông qua các kênh vận chuyển đặc hiệu hoặc không đặc hiệu (Sleator and Hill, 2002). Bằng cách này, *B. subtilis* có thể cân bằng áp suất thẩm thấu giữa tế bào chất với môi trường bên ngoài giúp duy trì sự sinh trưởng của tế bào ở một mức độ nhất định (Brill *et al.*, 2011 trích dẫn bởi Zhang, 2014). Tuy nhiên, sự tăng nồng độ muối trong tế bào chất quá mức cũng ảnh hưởng xấu đến hoạt động của tế bào. Rất nhiều enzym bị bất hoạt khi nồng độ NaCl hay KCl vượt quá mức 0,12M (Yancey *et al.*, 1982 trích dẫn bởi Zhang, 2014). Do vậy, việc tích lũy K^+ hoặc Na^+ là giải pháp để thích ứng với sốc thẩm thấu, nhưng không phải là phương pháp lâu dài, để đối mặt với nồng độ muối cao trong môi trường. Nhiều nghiên cứu đã chỉ ra rằng, sau giai đoạn tích lũy K^+ , *B. subtilis* sẽ tổng hợp nên các chất bảo vệ thẩm thấu như glycine, betaine, proline, carnitine (Sleator and Hill, 2002 trích dẫn bởi Zhang, 2014). Những chất này, ngoài khả năng tạo cân bằng áp suất thẩm thấu, còn giúp ổn định cấu trúc của protein, enzym nội bào (Zhang, 2014).

Trong nghiên cứu của Đỗ Thị Hiền (2018), khả năng kháng *Vibrio* sp. của chủng *B. subtilis* gia tăng khi nồng độ muối tăng dần từ 20-35‰. Tuy nhiên, ở nồng độ NaCl 40‰, khả năng kháng *Vibrio* sp. giảm (thông qua đo đường kính vòng kháng khuẩn). Trong một nghiên cứu khác, Hồ Thị Trường Thy

(2015) cũng quan sát thấy chủng B20.1 phát triển mạnh nhất ở nồng độ NaCl 30‰. Trong khi đó kết quả khảo sát ảnh hưởng của độ mặn đến mật độ của hai loài *B. subtilis* BRB2.1 và *B. siamensis* BDK2.3 của Lê Anh Xuân (2019) sau 24 giờ nuôi cấy cho thấy mật độ vi khuẩn của cả hai loài đều khác biệt không có ý nghĩa thống kê trong khoảng độ mặn được khảo sát là từ 0‰ đến 40‰ (0, 5, 20, 40‰).

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).

Bảng 1: Biến động độ mặn (‰) của bùn và nước qua các đợt khảo sát

Đợt thu (ngày)	Mẫu thu	Độ mặn (ppt)		
		Nhu Gia	Mỹ Thanh 1	Cửa Mỹ Thanh
17/7/2017	Bùn	0.0	2.0	10.0
	Nước	0.0	2.0	17.0
17/8/2017	Bùn	0.0	0.0	8.0
	Nước	0.0	0.0	19.0
17/9/2017	Bùn	0.0	0.0	5.0
	Nước	0.0	0.0	5.0
17/10/2017	Bùn	0.0	0.0	4.0
	Nước	0.0	1.0	6.0
17/11/2017 (*)	Bùn	0.0	1.0	0.0
	Nước	0.0	0.0	1.0
17/12/2017 (*)	Bùn	1.0	2.0	6.0
	Nước	2.0	2.0	7.0
18/1/2018	Bùn	0.0	3.0	10.0
	Nước	3.0	5.0	15.0
18/2/2018	Bùn	3.0	5.0	13.0
	Nước	3.0	5.0	11.0
17/3/2018	Bùn	2.0	9.0	15.0
	Nước	2.0	11.0	20.0
18/4/2018	Bùn	6.0	15.0	20.0
	Nước	8.0	15.0	20.0
18/5/2018	Bùn	0.0	12.0	15.0
	Nước	0.0	13.0	15.0
18/6/2018	Bùn	0.0	0.0	26.0
	Nước	0.0	0.0	27.0

3.2 Biến động mật độ *Bacillus* trong bùn

Kết quả phân tích mật độ *Bacillus* trong bùn qua 12 tháng ở cả 3 điểm có khuynh hướng ít biến động ($8,1 \times 10^3$ - $1,6 \times 10^6$ CFU/g; Bảng 2, Hình 2). Trong 3 điểm thu mẫu, mật độ *Bacillus* trung bình cao nhất ở đầu nguồn, kế đến giữa nguồn và thấp nhất cuối nguồn. Trong khoảng thời gian từ tháng 7 - tháng 12/2017 ở cả ba điểm thu mẫu, mật độ vi khuẩn *Bacillus* tương đối ổn định, ngoại trừ cuối nguồn, mật độ *Bacillus* giảm dần từ tháng 1 đến tháng 6 và thấp nhất ($8,3 \times 10^3$ CFU/g) vào tháng 5 trong khi đó cùng thời điểm này mật độ *Bacillus* ở Nhu Gia đạt cao nhất ($1,7 \times 10^6$ CFU/g) và khác biệt có ý nghĩa so với hai thủy vực còn lại ($p < 0,05$). Ở giữa nguồn, mật số vi khuẩn *Bacillus* spp. cao ($5,6 \times 10^5$ CFU/g) ở tháng 3 và khác biệt có ý nghĩa thống kê với cuối

nguồn ($p < 0,05$), nhưng không khác biệt với đầu nguồn. Theo Phạm Thị Tuyết Ngân và Nguyễn Hữu Hiệp (2010), mật độ vi khuẩn *Bacillus* spp. trong bùn 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 tháng 1 đến tháng 6). Từ đây có thể thấy mật độ và khuynh hướng phát triển nhóm *Bacillus* ngoài tự nhiên và môi trường ao nuôi khá giống nhau.

Theo một nghiên cứu khác của Syed (2016) về sự biến động theo mùa của mật độ vi khuẩn *Bacillus* spp. ở vùng đất ven biển Digha (Tây Bengal, Ấn Độ) đã phát hiện ra rằng, trong mùa hè, mùa thu và mùa đông, mật độ *Bacillus* biến động lần lượt là $1,0 \times 10^4$ - $2,4 \times 10^5$; $1,1 \times 10^5$ - $2,0 \times 10^5$ và $9,8 \times 10^4$ - $1,5 \times 10^5$ CFU/g. Như vậy trong mùa hè *Bacillus* spp. đạt mật độ cao hơn mùa đông. Nghiên cứu cũng cho thấy đất ven biển của khu vực Digha rất giàu các loài

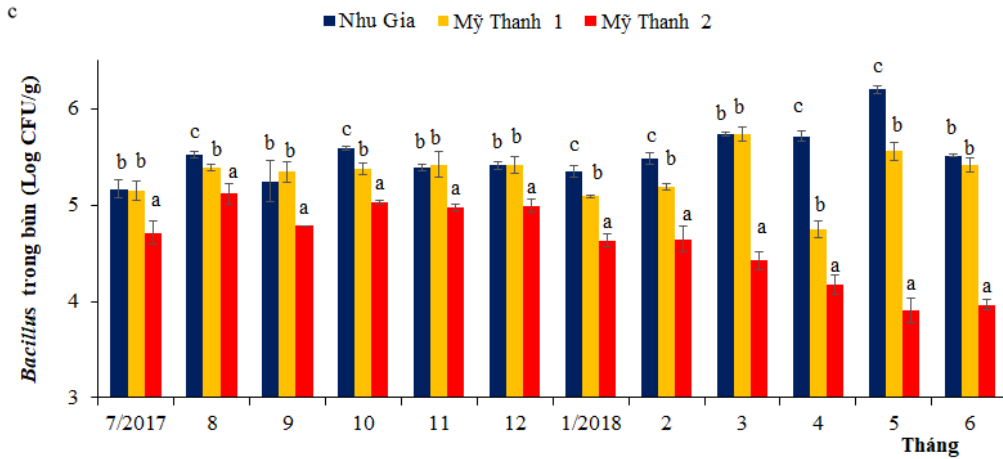
Bacillus spp. khác nhau. Một nghiên cứu khác ở Trung quốc cho thấy tần số xuất hiện của một số loài có mối tương quan đáng kể với độ cao. Zhang *et al.* (2003 trích dẫn bởi Syed, 2016) đã phát hiện sự đa dạng của vi khuẩn *Bacillus* giảm theo thứ tự đất lâm nghiệp > vùng cao > vùng trũng > đất bị xói mòn. Những nghiên cứu này chỉ ra rằng vi khuẩn *Bacillus* trong đất không phân bố ngẫu nhiên và phụ thuộc vào một số yếu tố môi trường nhất định có thể là yếu tố thúc đẩy sự phân bố của chúng. Ngược lại, Liu *et al.* (2016) đã phân lập 136 loài vi khuẩn giống *Bacillus* từ 20 loại đất ở Đài Loan và không có mối tương quan nào trong phân bố loài giữa các địa điểm lấy mẫu được quan sát (trích dẫn bởi Syed, 2016).

Trong nghiên cứu này, nhận thấy ở Nhu Gia độ mặn chỉ <8‰, nhưng mật độ *Bacillus* lại cao nhất ($1,7 \times 10^6$ CFU/g), trong khi độ mặn ở Mỹ Thanh 2 cao hơn nhiều (0-27‰) thì mật độ *Bacillus* lại thấp nhất hơn có ý nghĩa so với hai điểm còn lại trong suốt quá trình thu mẫu. Lê Anh Xuân (2019) chứng minh mật độ vi khuẩn *Bacillus* không khác biệt có ý nghĩa thống kê trong khoảng độ mặn được khảo sát là từ 0‰ đến 40‰ (0, 5, 20, 40‰). Trong khi đó, Zhang (2014) báo cáo *Bacillus* phát triển tốt nhất ở độ mặn 20‰. Do vậy ở đây có thể vật chất hữu cơ đã ảnh hưởng đến mật độ *Bacillus*, vì sự phân bố của *Bacillus* phụ thuộc vào một số yếu tố môi trường nhất định (Syed, 2016).

Bảng 2: Mật độ vi khuẩn *Bacillus* spp. trong bùn và nước (Log CFU/mL và log CFU/g)

Đợt thu (ngày)	Mẫu thu	<i>Bacillus</i> spp. (TB±ĐLC)		
		Nhu Gia	Mỹ Thanh 1	Mỹ Thanh 2
17/7/2017	Bùn	5,17±0,10 ^b	5,15±0,04 ^b	4,72±0,02 ^a
	Nước	2,75±0,04 ^c	2,37±0,23 ^b	1,78±0,17 ^a
17/8/2017	Bùn	5,53±0,10 ^c	5,39±0,14 ^b	5,12±0,08 ^a
	Nước	2,37±0,16 ^b	2,40±0,13 ^b	1,85±0,15 ^a
17/9/2017	Bùn	5,35±0,11 ^b	5,35±0,02 ^b	4,78±0,10 ^a
	Nước	3,34±0,13 ^c	2,83±0,21 ^b	2,14±0,35 ^a
17/10/2017	Bùn	5,59±0,04 ^c	5,37±0,04 ^b	5,03±0,05 ^a
	Nước	3,73±0,08 ^c	3,30±0,13 ^b	1,87±0,16 ^a
17/11/2017	Bùn	5,39±0,11 ^b	5,42±0,09 ^b	4,98±0,09 ^a
	Nước	2,95±0,05 ^b	3,09±0,10 ^b	2,84±0,16 ^a
17/12/2017	Bùn	5,41±0,02 ^b	5,42±0,07 ^b	4,99±0,07 ^a
	Nước	3,05±0,15 ^b	2,42±0,21 ^a	2,53±0,18 ^a
18/1/2018	Bùn	5,35±0,22 ^c	5,09±0,06 ^b	4,63±0,04 ^a
	Nước	3,03±0,05 ^c	2,76±0,13 ^b	2,36±0,16 ^a
18/2/2018	Bùn	5,48±0,10 ^c	5,19±0,01 ^b	4,65±0,10 ^a
	Nước	3,30±0,11 ^b	3,20±0,14 ^b	2,20±0,17 ^a
17/3/2018	Bùn	5,73±0,02 ^b	5,74±0,07 ^b	4,42±0,13 ^a
	Nước	3,19±0,12 ^b	2,45±0,10 ^a	2,33±0,17 ^a
18/4/2018	Bùn	5,72±0,02 ^c	4,75±0,06 ^b	4,18±0,01 ^a
	Nước	3,04±0,08 ^c	2,53±0,30 ^b	2,28±0,13 ^a
18/5/2018	Bùn	6,2±0,07 ^c	5,56±0,03 ^b	3,91±0,11 ^a
	Nước	4,48±0,22 ^b	2,42±0,17 ^a	2,35±0,17 ^a
18/6/2018	Bùn	5,51±0,02 ^b	5,42±0,13 ^b	3,97±0,04 ^a
	Nước	3,17±0,11 ^b	2,95±0,17 ^b	1,98±0,03 ^a

Các giá trị trung bình (TB) ± độ lệch chuẩn (ĐLC) có các ký tự mũ khác nhau trong cùng một hàng thì khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

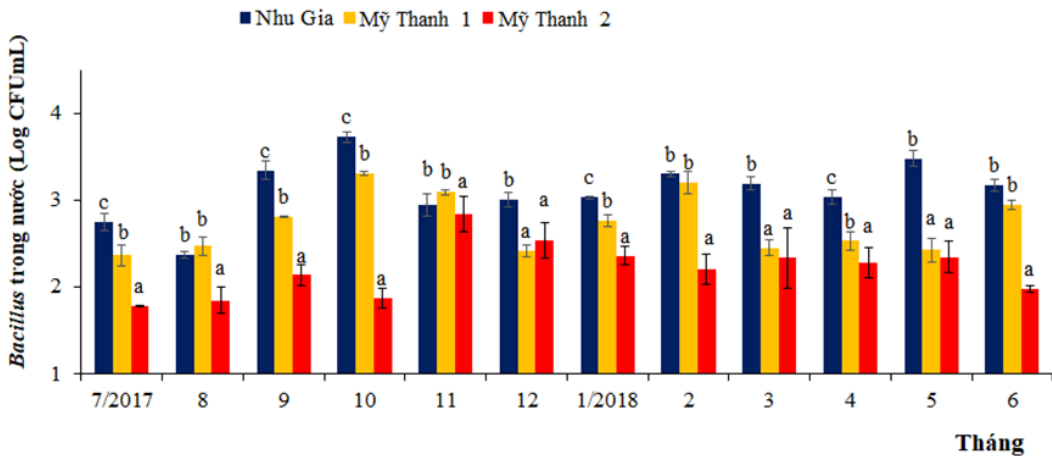


Hình 2: Mật độ vi khuẩn *Bacillus* spp. trong bùn

3.3 Biến động mật độ *Bacillus* trong nước

Mật độ vi khuẩn *Bacillus* trong nước dao động từ $7,1 \times 10^1$ - $5,4 \times 10^3$ CFU/mL (Bảng 2, Hình 3). Mật độ *Bacillus* spp. có khuynh hướng biến động từ tháng 7 đến tháng 10 và ổn định từ tháng 11 đến tháng 6 năm sau. Khuynh hướng biến động mật độ *Bacillus* trong 3 điểm thu mẫu trong 12 tháng tương tự trong bùn, cao nhất ở đầu nguồn, tiếp đến là giữa nguồn và thấp nhất cuối nguồn. Mật độ *Bacillus* ở đầu nguồn ít biến động, *Bacillus* spp. cao nhất vào tháng 10 ($5,4 \times 10^3$ CFU/mL) và thấp nhất vào tháng 8 ($2,6 \times 10^2$ CFU/mL). Tương tự như ở đầu nguồn, mật độ vi khuẩn *Bacillus* spp. ở điểm giữa nguồn ít biến động giữa các tháng, trong 12 tháng thu mẫu mật độ *Bacillus* cao nhất vào tháng 10 ($2,0 \times 10^3$ CFU/mL) và thấp nhất vào tháng 7 ($2,3 \times 10^2$ CFU/mL). Riêng ở điểm cuối nguồn, *Bacillus* có mật độ thấp nhất và khá biến động trong năm, cao nhất vào tháng 11 ($6,9 \times 10^2$ CFU/mL) và

thấp nhất vào tháng 8 ($7,1 \times 10^1$ CFU/mL). Kết quả phân tích thống kê trong cùng một thời điểm ở ba điểm thu mẫu khác nhau cho thấy mật độ vi khuẩn *Bacillus* spp. trong nước ở Nhu Gia luôn cao nhất, kể đến Mỹ Thanh 1 và thấp nhất ở Mỹ Thanh 2 ($p < 0,05$) ở hầu hết các tháng. Nếu so sánh về độ mặn thì Mỹ Thanh 2 có độ mặn cao nhất, nhưng mật độ vi khuẩn *Bacillus* thấp nhất điều này có thể do hàm lượng dinh dưỡng cao ở Nha Du đã ảnh hưởng đến sự phát triển của nhóm vi khuẩn này. Trong nghiên cứu khảo sát mật độ vi khuẩn trong nước ao nuôi tôm sú Phạm Thị Tuyết Ngân và Nguyễn Hữu Hiệp (2010) tìm thấy biến động mật độ *Bacillus* spp. trong nước dao động từ $2,9 \times 10^2$ đến 3×10^4 CFU/mL. Do ao nuôi tôm có hàm lượng chất hữu cơ cao nên *Bacillus* trong nghiên cứu này cao hơn khoảng 100 lần so với trong điều kiện tự nhiên; vì *Bacillus* là nhóm vi khuẩn dị dưỡng thường sống trong môi trường giàu chất hữu cơ.



Hình 3: Mật độ vi khuẩn *Bacillus* spp. trong nước

Mặc dầu độ mặn tăng dần từ đầu nguồn đến cuối nguồn, nhưng mật độ *Bacillus* lại giảm từ đầu nguồn đến cuối nguồn. Do vậy trong nghiên cứu này độ mặn và mật độ *Bacillus* tương quan nghịch, nhưng yếu tố dinh dưỡng và mật độ *Bacillus* tương quan thuận (bài báo đang chờ xuất bản).

4 KẾT LUẬN VÀ ĐỀ XUẤT

4.1 Kết luận

Mật độ *Bacillus* trong nước và trong bùn dao động lần lượt là $7,1 \times 10^1$ - $5,4 \times 10^3$ CFU/mL và $8,1 \times 10^3$ - $1,6 \times 10^6$ CFU/g. Mật độ *Bacillus* cao nhất ở đầu nguồn, tiếp đến giữa nguồn và thấp nhất ở cuối nguồn trong suốt quá trình thu mẫu. Khuynh hướng chung của mẫu nước và bùn là dao động nhiều ở cuối nguồn và ổn định ở đầu và giữa nguồn. Mật độ *Bacillus* trong nước và bùn có khuynh hướng giảm khi độ mặn tăng, điều này có thể do hàm lượng chất hữu cơ ở đầu nguồn cao nhất so với 2 điểm còn lại nên đã tạo điều kiện cho vi khuẩn *Bacillus* phát triển tốt nhất. Trong bùn và trong nước mật độ *Bacillus* giảm khi độ mặn tăng. Tuy nhiên, hàm lượng dinh dưỡng có thể mới quyết định mật độ vi khuẩn dị dưỡng *Bacillus*.

4.2 Đề xuất

Tiếp tục phân tích sự đa dạng của các loài vi khuẩn *Bacillus* ở khu vực sông Mỹ Thanh bằng phương pháp giải trình tự thế hệ mới (NGS – Next Generation Sequencing) và nghiên cứu cây phát sinh loài. Nghiên cứu ảnh hưởng của độ mặn và hàm lượng dinh dưỡng lên sự phát triển *Bacillus* trong phòng thí nghiệm.

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 vật ứng dụng - Khoa Thủy sản – Trường Đại học Cần Thơ.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

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.

- Nair Girish R. and Suresh Raja SS., 2018. Climate and soil properties influence species diversity of soil *Bacillus* community in India. *Microbiology Insights*, (11): 1–7.
- Harwood, C. and A. Archibald, 1990. Growth, maintenance and general techniques. In: C.R., Harwood, S.M. Cutting, *Molecular Biological Methods for Bacillus*. Wiley, Chichester, England: 1-26.
- Huys, G., 2002. Preservation of bacteria using commercial cry preservation systems. *Standard Operation Procedure*, Asia resist.
- 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
- Mehdi Soltani, Koushik Ghosh, Seyed Hossein Hoseinifar, Vikash Kumar, Alan J. LyMBERY, Suvra Roy, 2019. Genus *Bacillus*, promising probiotics in aquaculture: Aquatic animal origin, bio-active components, bioremediation and efficacy in fish and shellfish. *Journal Reviews in Fisheries Science & Aquaculture* (27): 331-379
- Nguyễn Lâm Dũng, 1983. Thực tập vi sinh vật học. Nhà xuất bản Đại học và Trung học chuyên nghiệp Hà Nội, 368 trang.
- 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, trường Đại học Cần Thơ, 159 trang.
- Syed Afrin Azmiand Soumendranath Chatterjee, 2016. Seasonal Fluctuation of the Population and Characterization of *Bacillus* spp. isolated from the Coastal Soils of Digha, West Bengal, India. Hindawi publishing corporation International Journal of Ecology, pp.10 pages
- Zhang Xiaohui, Jie Gao Fangbo, Zhao Yuanyuan, Zhao Zhanshuang Li, 2014. Characterization of a salt-tolerant bacterium *Bacillus* sp. from a membrane bioreactor for saline wastewater treatment. *Journal of Environmental sciences* 6 (26): 1369-1374.