

VI KHUẨN, VI RÚT NỔI TỔNG SỐ Ở MỘT SỐ VÙNG VEN BIỂN VIỆT NAM**PHẠM THẾ THƯ, TRỊNH VĂN QUẢNG, CHU VĂN THUỘC***Viện Tài nguyên và Môi trường Biển*

Vi khuẩn (VK) đóng vai trò quan trọng trong việc chuyển đổi các chất và năng lượng của hệ sinh thái (HST), đóng chốt ở nấc thang cuối của chuỗi thức ăn giúp khép kín các chu trình vật chất quan trọng trong tự nhiên (C, N, P, S, Si...). Vi khuẩn và vi rút (VR) phân bố rộng khắp trong các môi trường tự nhiên và sinh vật, đặc biệt vi rút biển đã được công nhận là sinh vật phân bố rộng với số lượng lớn nhất trong các hệ sinh thái thủy vực [9]. VK còn tham gia các quá trình tổng hợp và phân giải các chất ô nhiễm, đóng vai trò quan trọng trong quá trình tự làm sạch của các HST thủy vực... Nhưng VK và VR cũng là một nguyên nhân gây bệnh và gây chết cho các quần thể sinh vật chủ, làm ảnh hưởng tới sự đa dạng di truyền, tiến hóa của các quần thể vật chủ, thải vào môi trường các chất độc hại [15] làm suy giảm nguồn lợi, đa dạng sinh học, mất cân bằng sinh thái và gây nhiều dịch bệnh nguy hiểm cho động thực vật và con người [7].

Ở Việt Nam, cho tới nay nghiên cứu về quần xã vi khuẩn (QXVK) nói chung và QXVK biển nói riêng chưa được quan tâm đúng mức. Đặc biệt, chưa có công trình nghiên cứu nào về sinh thái vi rút biển. Các nghiên cứu vi sinh vật biển chủ yếu sử dụng các phương pháp truyền thống và tập trung vào một số nhóm VK chủ yếu như: VK phân hủy dầu, VK hiếu khí tổng số, VK *Vibrio*... [1, 10, 11, 12, 13]. Sử dụng phương pháp hiện đại trong nghiên cứu vi sinh vật biển còn rất ít.

Quần xã vi rút và vi khuẩn có mối tương quan, tương tác chặt chẽ với nhau, với các tế bào vật chủ và các yếu tố môi trường trong chức năng và cấu trúc của các HST. Do vậy, trong nội dung nghiên cứu của đề tài "*Nghiên cứu cấu trúc và biến động quần xã vi rút và vi khuẩn nổi trong môi trường ven biển phía Bắc Việt Nam...*" thì nội dung nghiên cứu về VK và VR nổi đã được đặt ra. Trong bài báo này trình bày một phần kết quả về phân bố của quần xã VK và VR nổi ở một số khu vực ven biển Việt Nam.

I. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU**1. Phương pháp thu và bảo quản mẫu**

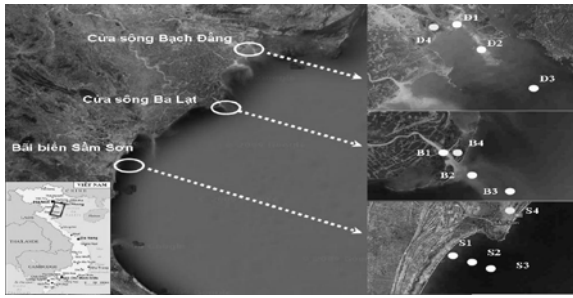
Các thông số môi trường được đo trực tiếp bằng máy CTD ; mẫu nước được thu bằng Bathomet: Nước được chiết vào các chai và cố định hóa chất với các mẫu phân tích hóa học ; với mẫu dùng cho phương pháp định lượng vi khuẩn và vi rút thì được chiết vào chai sạch, cố định hóa chất và bảo quản trong điều kiện lạnh. Các mẫu được bảo quản lạnh và chuyển ngay về phòng thí nghiệm để tiếp tục xử lý.

2. Phương pháp phân tích mẫu

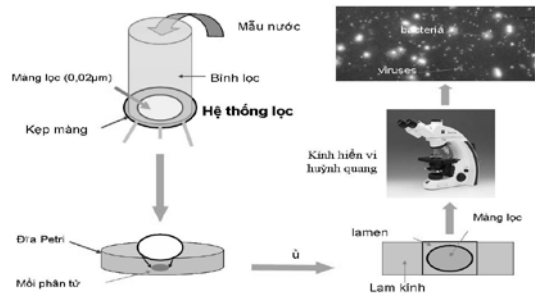
Vi rút được giữ trên trên màng Anodisc với kích thước lỗ 0,02 nm, được nhuộm với môi phân tử SYBR Gold (Molecular Probes, Europe, Leiden, Netherlands) theo phương pháp của Patel và cộng sự (2007). Sau đó số lượng vi rút và vi khuẩn được định lượng trực tiếp trên kính hiển vi huỳnh quang với độ phóng đại 1000x.

3. Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu và biểu đồ được xử lý với phần mềm Microsoft Office (Excel); xây dựng cây cấu trúc quần xã trong khu vực nghiên cứu bằng phương pháp nhóm thứ bậc (AHC - Agglomerative hierarchical clustering) dựa trên hệ số tương đồng về hệ số tương quan Pearson và giá trị trung bình nhóm (Weighted pair-group average); hệ số tương quan (R^2), hệ số độ lệch chuẩn (Standard deviation), độ tin cậy được tính toán bằng phần mềm thống kê.



Hình 1: Sơ đồ thu mẫu

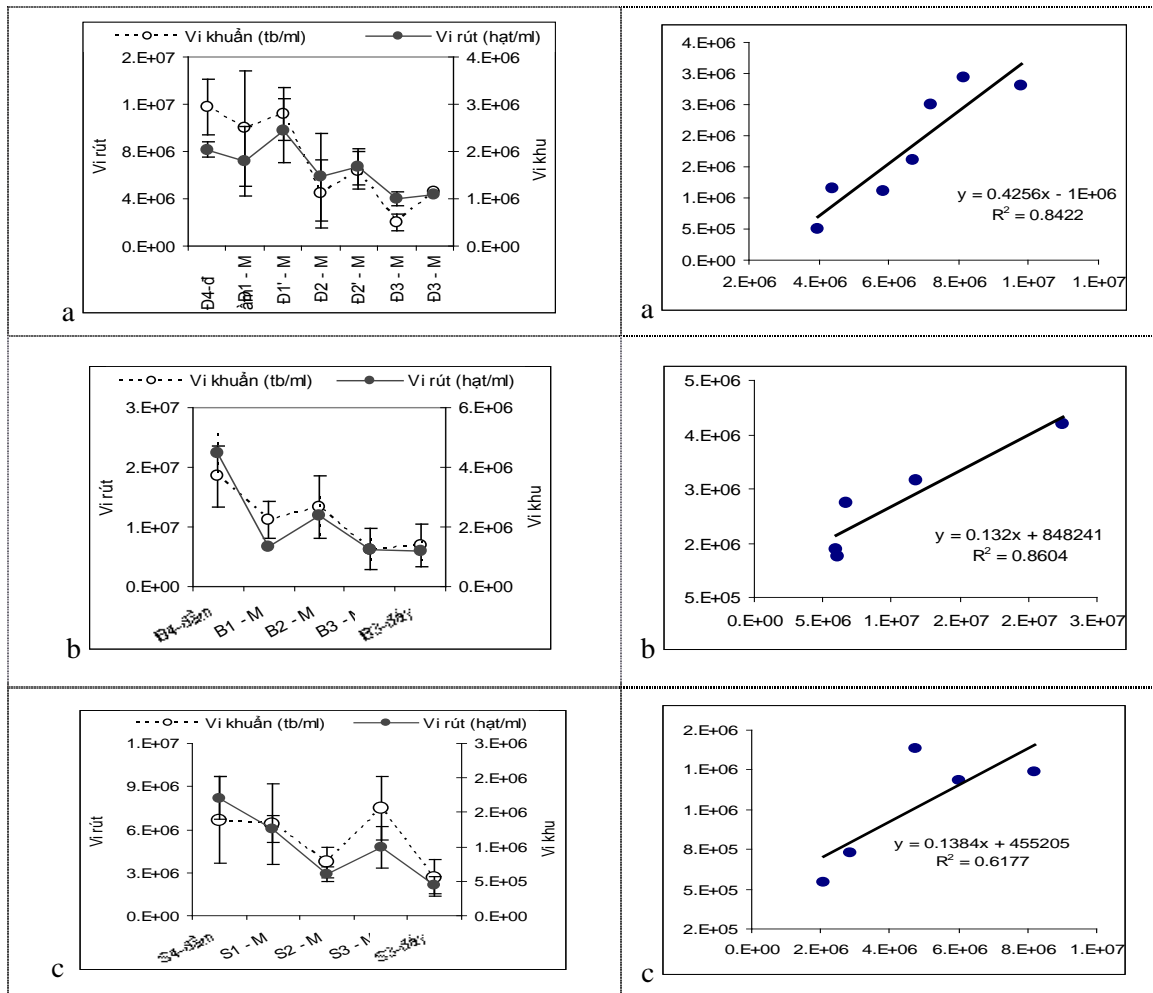


Hình 2: Sơ đồ thí nghiệm

II. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

1. Phân bố của quần xã vi khuẩn và vi rút tổng số

1.1. Phân bố theo không gian và mùa mưa (7/2010): Kết quả phân tích số lượng vi rút và vi khuẩn tổng số được thể hiện trên Hình 3.



Hình 3: Phân bố vi khuẩn và vi rút ở các trạm nghiên cứu trong mùa mưa

(a: Mặt cắt Đồ Sơn, b: Mặt cắt Ba Lạt, c: Mặt cắt Sầm Sơn)

Từ kết quả trên Hình 3 cho thấy, mật độ vi rút tổng số có trong môi trường ven biển luôn luôn cao hơn so với mật độ vi khuẩn tổng số, ở cả ba mặt cắt nghiên cứu đều có chung một xu hướng quần xã vi rút và vi khuẩn biến động giảm dần theo chiều từ môi trường đầm nuôi tôm ra môi trường bên ngoài và từ bờ ra ngoài biển và tầng mặt cao hơn tầng đáy. Mặt khác, từ hệ số tương quan R^2 giữa mật độ vi khuẩn và vi rút cho thấy, ở cả ba mặt cắt đều có sự tương quan giữa hai quần xã từ chặt ($R^2 = 0,62$ tại Sầm Sơn) tới rất chặt ($R^2 = 0,86$ tại Ba Lạt). Mật độ của vi rút tại các trạm ở các mặt cắt nghiên cứu dao động trong khoảng 2×10^6 hạt/ml tới 2×10^7 hạt/ml, vi khuẩn dao động trong khoảng 2×10^5 tb/ml tới 4×10^6 tb/ml và mật độ vi rút cao gấp 3,5 lần so với mật độ vi khuẩn tại mặt cắt Đồ Sơn, 5 lần tại mặt cắt Ba Lạt và Sầm Sơn (Bảng 1).

Bảng 1

Mật độ vi rút và vi khuẩn trong vùng nghiên cứu vào mùa mưa

Mật độ	Đồ Sơn		Ba Lạt		Sầm Sơn	
	Vi rút (hạt/ml)	Vi khuẩn (tb/ml)	Vi rút (hạt/ml)	Vi khuẩn (tb/ml)	Vi rút (hạt/ml)	Vi khuẩn (tb/ml)
Cao nhất	1.E+07	3.E+06	8.E+06	2.E+06	2.E+07	4.E+06
Thấp nhất	4.E+06	5.E+05	2.E+06	6.E+05	6.E+06	1.E+06
Trung bình	7.E+06	2.E+06	5.E+06	1.E+06	1.E+07	2.E+06

1.2. Phân bố theo không gian vào mùa khô (11/2010): Kết quả phân tích số lượng vi rút và vi khuẩn tổng số được thể hiện trên Hình 4.

Kết quả trên Hình 4 cũng cho thấy xu hướng biến động số lượng vi khuẩn và vi rút tổng số tương tự như xu hướng ở mùa mưa (Hình 3). Mặt khác, tương quan giữa mật độ vi khuẩn và vi rút ở mặt cắt Đồ Sơn là chặt chẽ nhất ($R^2 = 0,97$) và hai mặt cắt còn lại ít tương quan hơn. Mật độ của vi rút tại các trạm ở các mặt cắt dao động trong khoảng 2×10^7 hạt/ml tới 3×10^8 hạt/ml, vi khuẩn dao động trong khoảng 4×10^6 tb/ml tới 1×10^7 tb/ml và mật độ vi rút cao gấp khoảng 12,5 lần so với mật độ vi khuẩn tại mặt cắt Đồ Sơn và 6,6 lần tại mặt cắt Ba Lạt và 12 lần tại mặt cắt Sầm Sơn (Bảng 2).

Bảng 2

Mật độ vi rút và vi khuẩn trong vùng nghiên cứu vào mùa khô

Mật độ	Đồ Sơn		Ba Lạt		Sầm Sơn	
	Vi rút (hạt/ml)	Vi khuẩn (tb/ml)	Vi rút (hạt/ml)	Vi khuẩn (tb/ml)	Vi rút (hạt/ml)	Vi khuẩn (tb/ml)
Cao nhất	3.E+08	1.E+07	6.E+07	1.E+07	9.E+07	8.E+06
Thấp nhất	4.E+07	5.E+06	2.E+07	4.E+06	3.E+07	4.E+06
Trung bình	1.E+08	8.E+06	4.E+07	6.E+06	6.E+07	5.E+06

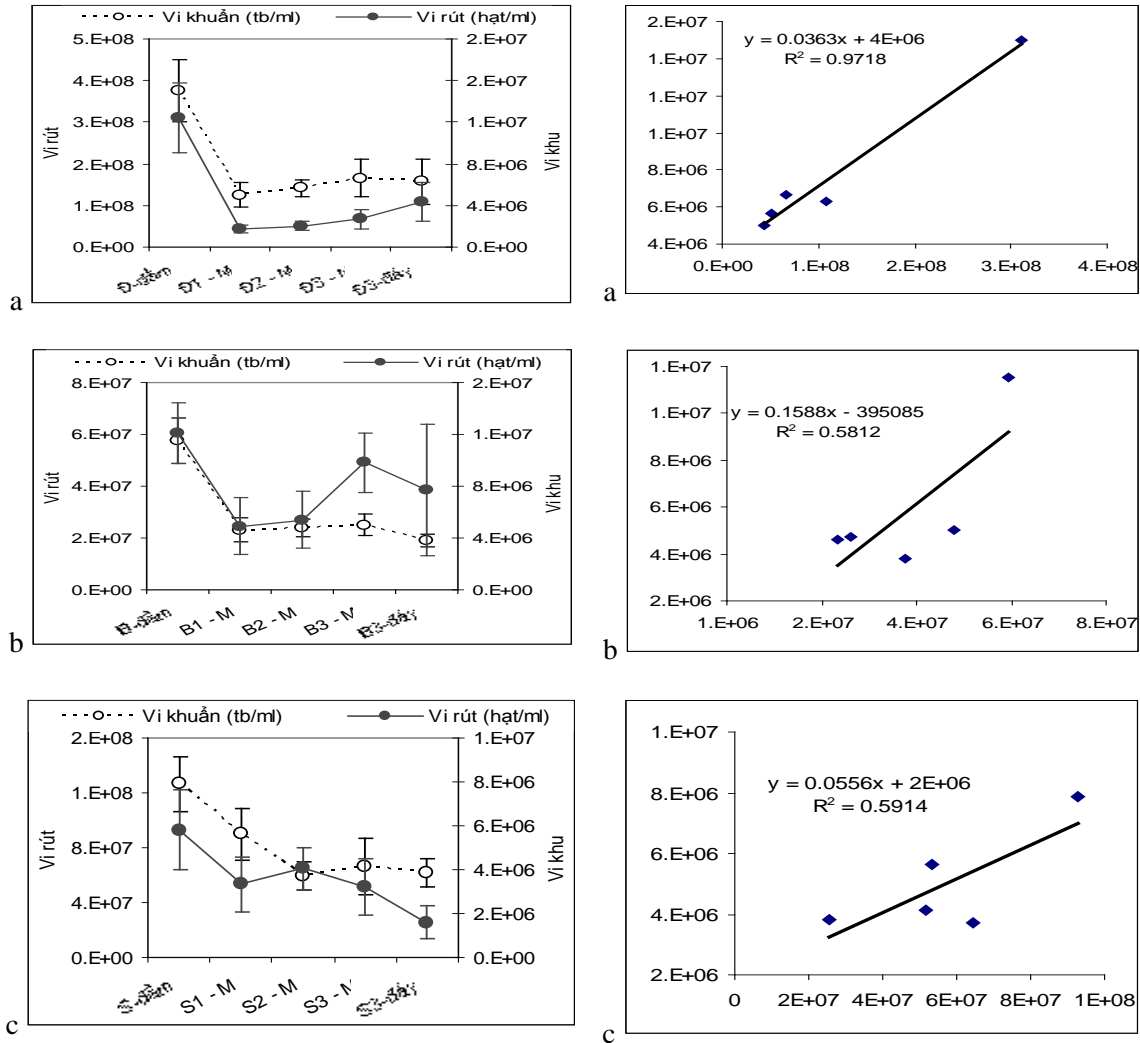
2. Biến động mật độ vi rút và vi khuẩn tổng số theo mùa ở từng trạm và mặt cắt

Sự biến động mật độ tại các trạm theo mùa ở các mặt cắt được thể hiện trên Hình 5. Xu hướng chung xuất hiện trên kết quả ở Hình 5, mật độ cá thể trong quần xã vi rút cũng như vi khuẩn vào mùa khô (11/2010) cao hơn hẳn so với mùa mưa (7/2010) và trạm thu mẫu trong đầm nuôi tôm (4 - đầm) cũng cao hơn so với các trạm khác ngoài môi trường sông biển.

3. Tương quan giữa số lượng vi rút và vi khuẩn với một số yếu tố môi trường

3.1. Tương quan trong mùa mưa (7/2010): Từ kết quả trên Bảng 3 cho thấy, nhìn chung tại mặt cắt Sầm Sơn thì vi rút có sự tương quan chặt chẽ với hầu hết các yếu tố môi trường nghiên cứu (cả yếu tố thủy lý, thủy hóa) trừ yếu tố BOD₅ và cacbon hữu cơ là có tương quan thấp, nhưng đối với số lượng tế bào vi khuẩn thì không thấy sự tương quan. Ở mặt cắt Ba Lạt số

lượng vi rút cũng như vi khuẩn có tương quan chặt với hầu hết các yếu tố dinh dưỡng ngoại trừ yếu tố thủy lý nhiệt độ với ri rút. Ngược lại với mặt cắt Đờ Sơn, số lượng vi rút và vi khuẩn chủ yếu có tương quan với các yếu tố thủy lý như nhiệt độ, pH, DO và ít có tương quan với các yếu tố thủy hóa ngoại trừ yếu tố thủy hóa NO_2^- và cacbon hữu cơ.



Hình 4: Phân bố vi khuẩn và vi rút ở các trạm nghiên cứu trong mùa khô
(a: Mặt cắt Đờ Sơn, b: Mặt cắt Ba Lạt, c: Mặt cắt Sầm Sơn)

3.2. Tương quan trong mùa khô (11/2010): Kết quả tính hệ số tương quan (R^2) của quần xã vi rút và vi khuẩn với các yếu tố môi trường vào mùa khô (với độ tin cậy 95% hay $p < 0,05$). Từ kết quả trên Bảng 4 cho thấy, nhìn chung số lượng vi rút và vi khuẩn tại mặt cắt Sầm Sơn có sự tương quan chặt với phần lớn các yếu tố thủy hóa, còn yếu tố thủy lý chủ yếu có tương quan với số lượng vi rút ngoại trừ yếu tố DO. Tại mặt cắt Ba Lạt thì số lượng vi rút không thấy có tương quan với các yếu tố môi trường, còn số lượng vi khuẩn chủ yếu có tương quan rất chặt với một số yếu tố thủy hóa như BOD_5 , PO_4^{3-} và NH_4^+ . Tương tự như số lượng vi khuẩn tại mặt cắt Ba Lạt thì tại mặt cắt Đờ Sơn, số lượng vi rút và vi khuẩn có tương quan chặt với các yếu tố môi trường BOD_5 , PO_4^{3-} , NH_4^+ ngoài ra còn tương quan với yếu tố thủy lý nhiệt độ.

Bảng 3

Kết quả tính hệ số tương quan (R^2) của quần xã vi rút và vi khuẩn với các yếu tố môi trường vào mùa mưa (với độ tin cậy 95% hay $p < 0,05$)

Yếu tố	Sầm Sơn		Ba Lạt		Đồ Sơn	
	VR (hạt/ml)	VK (tb/ml)	VR (hạt/ml)	VK (tb/ml)	VR (hạt/ml)	VK (tb/ml)
Vi rút (hạt/ml)	1		1		1	
Vi khuẩn (tb/ml)	0,618	1	0,860	1	0,907	1
Nhiệt độ (°C)	0,831	0,254	0,838	0,640	0,074	0,039
pH	0,842	0,243	0,266	0,555	0,934	0,869
DO (mg/l)	0,752	0,148	0,286	0,181	0,737	0,816
S‰	0,724	0,174	0,114	0,230	0,654	0,383
N-NO ₂ ⁻ (µg/l)	0,792	0,278	0,778	0,830	0,863	0,736
N-NO ₃ ⁻ (µg/l)	0,811	0,288	0,749	0,819	0,676	0,522
N-NH ₄ ⁺ (µg/l)	0,793	0,224	0,741	0,859	0,694	0,672
P-PO ₄ ³⁻ (µg/l)	0,779	0,219	0,859	0,769	0,686	0,630
SiO ₃ ²⁻ (µg/l)	0,711	0,134	0,036	0,197	0,424	0,440
BOD ₅ (mg/l)	0,680	0,146	0,883	0,725	0,666	0,626
Carbon hữu cơ (mg/l)	0,613	0,072	0,541	0,752	0,954	0,903

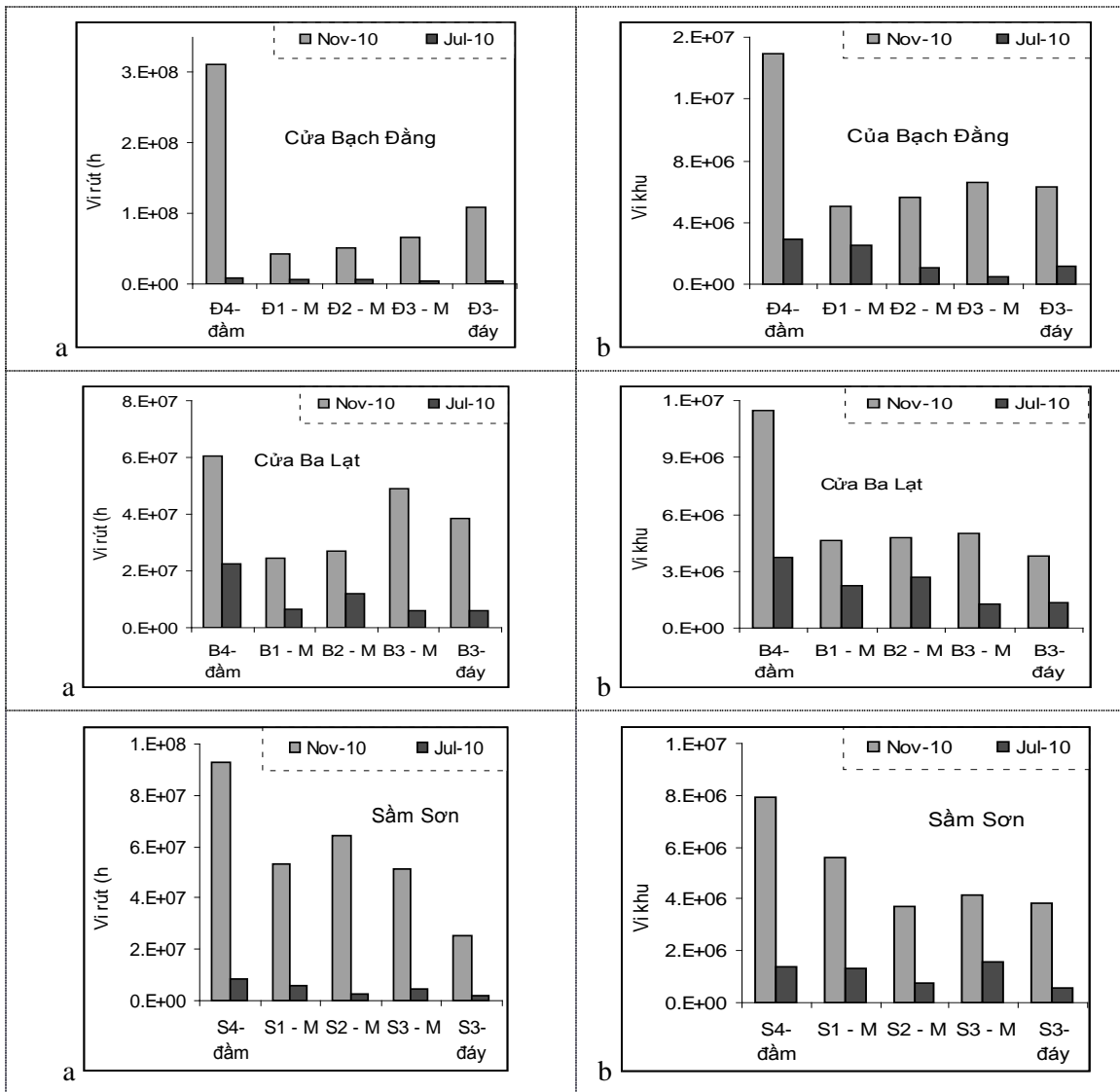
Bảng 4

Hệ số tương quan (R^2) của quần xã VR và VK với các yếu tố môi trường vào mùa khô (với độ tin cậy 95% hay $p < 0,05$)

Yếu tố	Sầm Sơn		Ba Lạt		Đồ Sơn	
	VR (hạt/ml)	VK (tb/ml)	VR (hạt/ml)	VK (tb/ml)	VR (hạt/ml)	VK (tb/ml)
Vi rút (hạt/ml)	1		1		1	
Vi khuẩn (tb/ml)	0,591	1	0,581	1	0,972	1
Nhiệt độ (°C)	0,981	0,658	0,002	0,118	0,951	0,861
pH	0,754	0,649	0,213	0,388	0,034	0,047
DO (mg/l)	0,154	0,420	0,533	0,374	0,475	0,368
S‰	0,990	0,498	0,446	0,027	0,127	0,080
Chl (µg/l)	0,714	0,166	0,638	0,676	0,284	0,272
Turbidity (ftu)	0,595	0,163	0,002	0,074	0,174	0,208
N-NO ₂ ⁻ (µg/l)	0,897	0,857	0,091	0,677	0,348	0,414
N-NO ₃ ⁻ (µg/l)	0,885	0,874	0,067	0,576	0,502	0,589
N-NH ₄ ⁺ (µg/l)	0,815	0,921	0,463	0,969	0,936	0,956
P-PO ₄ ³⁻ (µg/l)	0,829	0,906	0,310	0,919	0,747	0,813
SiO ₃ ²⁻ (µg/l)	0,741	0,913	0,001	0,121	0,451	0,365
BOD ₅ (mg/l)	0,713	0,877	0,380	0,956	0,742	0,800
Carbon hữu cơ (mg/l)	0,635	0,876	0,000	0,337	0,541	0,564

4. Thảo luận

Quần xã vi rút nổi trong môi trường ven biển có mật độ luôn cao hơn so với quần xã vi khuẩn, mật độ của vi rút tại các trạm ở các mặt cắt nghiên cứu dao động trong khoảng 2×10^6 tới 3×10^8 hạt/ml, vi khuẩn dao động trong khoảng 2×10^5 tới 1×10^7 tb/ml. Như vậy, mật độ vi rút cao gấp khoảng 10 lần so với vi khuẩn tại các mặt cắt thu mẫu, điều này được cũng phù hợp với nhiều kết quả nghiên cứu trước đây [1, 10, 16]. Ba mặt cắt nghiên cứu đều có chung xu hướng biến động, mật độ cá thể của quần xã vi rút và vi khuẩn giảm dần theo chiều từ môi trường đầm nuôi tôm ra môi trường bên ngoài và từ bờ ra ngoài biển và tầng mặt cao hơn tầng đáy, vào mùa khô (11/2010) cao hơn hẳn so với mùa mưa (7/2010) điều này cũng được thấy ở các kết quả nghiên cứu trước đây [2, 4, 7, 16]. Mặt khác, kết quả nghiên cứu cho thấy có sự tương quan giữa mật độ vi khuẩn và vi rút, giữa vi rút cũng như vi khuẩn với các thông số môi trường thủy lý, thủy hóa khác nhau (Bảng 1, 2) và điều này đã được chứng minh trong nhiều nghiên cứu của các tác giả khác [1, 3, 5, 16].



Hình 5: Biến động của quần xã VR (a) và VK (b) ở các trạm theo mùa tại các mặt cắt

Như vậy, quần xã vi rút và vi khuẩn ở một số khu vực ven biển Việt Nam cũng đã có một số đặc điểm sinh thái tương tự như các khu vực khác trên thế giới và để biết thêm về cấu trúc quần xã và những yếu tố môi trường nào có vai trò quyết định hơn trong sự phân bố và biến động của quần xã vi rút và vi khuẩn thì những nghiên cứu và phân tích tiếp là hết sức cần thiết, và điều này sẽ được phản ánh trong các công bố tiếp theo của đề tài.

III. KẾT LUẬN

Quần xã vi rút nổi trong môi trường ven biển có mật độ luôn cao hơn so với mật độ cá thể của quần xã vi khuẩn, mật độ của vi rút tại các trạm ở các mặt cắt nghiên cứu dao động trong khoảng 2×10^6 hạt/ml tới 3×10^8 hạt/ml, vi khuẩn dao động trong khoảng 2×10^5 tb/ml tới 1×10^7 tb/ml.

Mật độ của quần xã vi rút và vi khuẩn giảm dần theo chiều từ môi trường đầm nuôi tôm ra môi trường bên ngoài và từ bờ ra ngoài biển và tầng mặt cao hơn tầng đáy, mùa khô (11/2010) cao hơn mùa mưa (7/2010). Có sự tương quan chặt tới rất chặt giữa mật độ vi khuẩn và vi rút, giữa mật độ vi rút cũng như mật độ vi khuẩn với nhiều yếu tố môi trường thủy lý, thủy hóa khác nhau.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Almeida M.A., M.A. Cunha, J.M. Dias, 2007: *J. Microb. Ecol.* 53:208–220
2. Angly F.E., B. Felts, M. Breitbart, P. Salamon, C. Carlson, C.A. Suttle, F. Rohwer, 2006: *PLoS Biology* 4:2121–2131
3. Auguet J. C. *et al.*, 2005: *J. Microb. Ecol.* 50:337–349
4. Bench S.R., T.E. Hanson, K.E. Williamson, 2007: *Appl Environ Microb* 73: 7629–7641
5. Bettarel Yvan *et al.*, 2011: Viral layout in the tropical Bach Dang estuary, Vietnam. *Microbial Ecology*.
6. Cochlan W.P., J. Wikner, 1993: *Mar Ecol Prog Ser* 92:77–87
7. Đặng Thị Cẩm Hà và cs., 1998: Hội nghị Khoa học công nghệ Biển toàn quốc lần thứ IV, Tr. 952-959.
8. Filippini M., N. Buesing, 2008: *Freshwat Biol* 53:1114–1125.
9. Fuhrman & Suttle, 1993: *Oceanography*, 6: 51 –63.
10. Fuhrman, 1999: *Nature*, 399: 541-548.
11. Hewson I., J.M. O’Neil, J.A. Fuhrman, W.C. Dennison, 2001: *Limnol Oceanogr* 47:1734–1746
12. Lại Thúy Hiền và cs., 2005: Tuyển tập Báo cáo khoa học hội nghị môi trường toàn quốc, Tr. 1573-1581.
13. Lại Thúy Hiền và cs., 2009. Hội nghị Khoa học toàn quốc về sinh học biển và phát triển bền vững, Tr. 555-565.
14. Lai Thuy Hien và cs., 2007. The 4th VAST-AIST Workshop on science and technology cooperation, pp.284-293.
15. Patel A., R.T. Noble, J.A. Steele, M.S. Schwalbach, I. Hewson, J.A. Fuhrman, 2007: *Nature Protocols* 2:269-276.
16. Trần Đình Mẫn và cs., 2007: Báo cáo Khoa học về Sinh thái và Tài nguyên sinh vật, Hội nghị toàn quốc lần 2, Tr. 125-137. NXB. Nông nghiệp, Hà Nội.

**PLANKTONIC BACTERIA AND VIRUSES IN SOME COASTAL AREAS
OF VIETNAM**

PHAM THE THU, TRINH VAN QUANG, CHU VAN THUOC

SUMMARY

Bacteria and viruses are widely distributed in the natural environment and the biosphere, especially marine viruses are largest density in the aquatic ecosystems. In nature, bacteria were involved with many material cycles and play important role in the process of self-cleaning of aquatic ecosystems... However, bacteria and viruses also caused diseases and death for the host populations, which affects on genetic diversity and evolution of host populations.

In Vietnam, study on the community of marine microbes was not adequate attention, especially on marine viral ecology. The results of research have showed that the abundance of viral community was higher approximately 10 times than the bacterial community. While the density of the virus at the study areas was fluctuated from 2×10^6 particles/ml to 3×10^8 particles/ml instead of bacteria was arranged between 2×10^5 cells/ml to 1×10^7 cells/ml. Density of viral and bacterial community descending vertically in natural environments from the aquaculture to river and sea, from upstream to downstream, surface to bottom, and from the dry season to rainy season. There was tight to very tight correlation between density of bacteria and viruses, and the density of the virus and bacteria with marine environmental parameters.