ĐẶT VẤN ĐỀ

Rừng ngập mặn là rừng nhiệt đới ven biển có giá trị sử dụng đa dạng và quan trọng. Trong những năm gần đây rừng ngập mặn ở Đồng bằng sông Cửu Long (ĐBSCL) được khai thác mạnh bởi các mô hình rừng – thủy sản và các mô hình này thường có hiệu quả cao (Minh *et al*., 2001). Ngoài ra, rừng ngập mặn có khả năng loại bỏ hiệu quả các vật chất rắn và chất dinh dưỡng trong nước thải từ các đầm nuôi thủy sản (Paez-Osuna *et al*., 1998).

Johnston *et al.* (2000) chỉ ra rằng mô hình tôm – rừng cho năng suất trung bình hàng năm khoảng 100-600 kg/ha, trái lại không có rừng, năng suất tôm thấp hơn, chỉ khoảng 100-400 kg/ha. Trong hệ thống nuôi tôm – rừng, lá đước phân hủy cung cấp nhiều dưỡng chất cho thủy vực (Bùi Thị Nga *et al*., 2004b) và lá đước là nguồn cung cấp thức ăn cho các loại thủy sinh đặc biệt là tôm (Zhou, 2001; Bùi Thị Nga *et al*., 2005). Nghiên cứu của Holguin *et al*. (2001) cho thấy hàm lượng protein trong lá cây ngập mặn chiếm khoảng 6% nhưng sau khi phân hủy, lượng protein khoảng 20%. Hàm lượng đạm của các mẫu lá cũng gia tăng trong thời gian đầu phân hủy (Pascoal & Fernanda, 2004). Phan Nguyên Hồng *et al*. (1999) cho rằng những sản phẩm phân hủy xác hữu cơ giàu chất dinh dưỡng của cây ngập mặn được nước triều mang ra các vùng cửa sông ven biển, làm phong phú thêm nguồn thức ăn cho thủy sinh vật cả một vùng rộng lớn. Những mẫu vụn của lá, vật chất hữu cơ từ xác thực vật và các chất hữu cơ hòa tan không chỉ là nguồn dinh dưỡng cho các ấu trùng mà còn là nguồn thức ăn quan trọng cho tôm, cua, cá trưởng thành.

Sự phóng thích hoặc hấp thu các chất dinh dưỡng trong quá trình phân hủy trong rừng ngập mặn là kết quả của sự khoáng hóa nhờ hoạt động của vi sinh vật (O'Connell, 1988). Vì vậy mà có sự thay đổi hàm lượng các chất trong lá và trong nước phân hủy lá cây ngập mặn. Sự gia tăng hàm lượng đạm trong lá đước phân hủy có thể là do sự cố định đạm bởi các vi khuẩn bám trên lá đước (Chale, 1993; Holmer & Olsen, 2002). Tuy nhiên, vi khuẩn tham gia vào quá trình phân hủy lá cây ngập mặn cũng như các nhân tố trong môi trường ảnh hưởng đến hoạt động của vi khuẩn phân hủy thì chưa được nghiên cứu cụ thể. Đề tài "Ảnh hưởng của các nồng độ đạm, độ mặn và lượng lá ngâm ủ đến mật số vi khuẩn dị dưỡng phân hủy lá đước *Rhizophora apiculata* trong điều kiện phòng thí nghiệm" được thực hiện nhằm cung cấp dữ liệu về vi khuẩn tham gia phân hủy lá cây ngập mặn. Kết quả nghiên cứu của đề tài góp phần giải thích cơ chế, vai trò cung cấp dưỡng chất của rừng ngập mặn và là cơ sở cho các nghiên cứu về vi khuẩn trong hệ sinh thái rừng ngập mặn. Đây cũng là cơ sở khoa học để quản lý hiệu quả và bền vững hệ thống nuôi tôm – rừng.

MỤC TIÊU NGHIÊN CỨU

Mục tiêu tổng quát

Xác định ảnh hưởng của độ mặn, nồng độ đạm trong nước và lượng lá ủ đến vi khuẩn dị dưỡng phân hủy lá đước.

Mục tiêu cụ thể

Xác định mật số và một số đặc tính của vi khuẩn dị dưỡng hiếu khí và kỵ khí trong quá trình phân hủy lá đước ở các độ mặn 5ppt, 25ppt; các nồng độ đạm 0ppm, 5ppm, 10ppm; lượng lá 0g/L, 10 g/l, 30 g/l với thời gian phân hủy lá đước là 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 và 8 tuần.

Khảo sát sự biến động hàm lượng tổng đạm, tổng lân trong môi trường nước ngâm ủ lá đước.

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHẠM VI NGHIÊN CỨU

Đối tượng nghiên cứu

Vi khuẩn dị dưỡng phân hủy lá đước.

Phạm vi nghiên cứu

Sự phân hủy lá đước trong điều kiện phòng thí nghiệm, Bộ môn MT & QLTNTN, ĐHCT.

CHƯƠNG 1: LƯỢC KHẢO TÀI LIỆU

1.1 KHÁI QUÁT VAI TRÒ CỦA RỪNG NGẬP MẶN

Rừng ngập mặn (RNM) là một trong những hệ sinh thái (HST) tự nhiên có năng suất sinh học cao nhất. Vai trò quan trọng của RNM trong việc đóng góp vào năng suất vùng cửa sông ven biển đã được biết đến từ những năm 1960. RNM cung cấp một lượng lớn sinh khối cơ bản duy trì sự tồn tại của HST cả về ý nghĩa môi trường và kinh tế (Phan Nguyên Hồng *et al*., 1999). RNM có vai trò bảo vệ bờ biển, chống lại xói mòn, chống lại gió bão,... RNM còn là nơi cung cấp thức ăn và là nơi cư trú của nhiều loài thủy sản quan trọng có giá trị thương mại cao. Từ lâu RNM đã đem lại nhiều lợi ích về kinh tế xã hội cho cư dân vùng ven biển Việt Nam (Nguyễn Hoàng Trí,1999).

1.1.1 Vai trò cung cấp chất dinh dưỡng của rừng ngập mặn

Hệ sinh thái RNM là sản phẩm đặc trưng vùng ven biển nhiệt đới, với nhiều loài cây rừng đa dạng, sống ở vùng triều ưa độ muối thấp. Đây là môi trường thích hợp cho nhiều loài động thực vật vùng triều, đặc biệt là các loài thủy sản, chúng tạo nên HST độc đáo và giàu có về mặt năng suất sinh học so với các HST tự nhiên khác. RNM cung cấp mùn bã hữu cơ khoảng 10,6 tấn/ha/năm, lượng chất hữu cơ này đã tạo nên thức ăn chủ yếu cho các nhóm tiêu thụ như cua, tôm, các loài nhuyễn thể 2 vỏ, giun nhiều tơ và các loài cá ăn mùn bã hữu cơ (Bộ thủy sản, 1996).

Nghiên cứu của Vazquez et *al*. (2000) chỉ ra rằng hệ sinh thái rừng ngập mặn giàu chất hữu cơ nhưng thiếu chất dinh dưỡng nhất là đạm, lân. Mặc dù vậy, rừng ngập mặn vẫn có năng suất cao do sự tuần hoàn của chất dinh dưỡng ở đây rất hiệu quả, do đó những chất dinh dưỡng khan hiếm vẫn được duy trì và tái tạo từ quá trình phân hủy của lá cây ngập mặn. Xác cây ngập mặn khi bị phân hủy trở nên giàu chất dinh dưỡng, chúng được nước triều mang ra các vùng cửa sông ven biển làm phong phú thêm nguồn thức ăn cho các sinh vật ở hệ sinh thái kế cận (Lê Huy Bá, 2000). Sự phân hủy vật rụng của cây ngập mặn đã cung cấp lượng carbon và nitơ đáng kể cho đất rừng. Lượng carbon và nitơ trong đất phụ thuộc vào tuổi rừng, rừng càng nhiều tuổi thì lượng carbon và nitơ trong đất càng nhiều, nơi đất trống không có rừng lượng carbon và nitơ rất thấp, hầu như không đáng kể. Đối với các mẫu lá phân hủy, tỷ lệ phần trăm carbon hữu cơ trong mẫu lá giảm dần qua các tháng phân hủy, ngược lại tỷ lệ phần trăm nitơ lại tăng lên. Tỷ lệ nitơ trong mẫu phân hủy được tích lũy ngày càng cao chính là nguồn thức ăn giàu chất đạm cho các loài động vật đáy cư trú trong rừng ngập mặn (Nguyễn Thị Hồng Hạnh & Mai Sỹ Tuấn, 2005).

Năng suất lượng rơi càng nhiều thì khi phân hủy sẽ cung cấp lượng carbon hữu cơ và nitơ cho đất càng cao. Lượng carbon, nitơ trả lại cho đất thông qua sự phân hủy vật

rụng phụ thuộc vào tuổi rừng và lượng rơi của rừng, rừng càng nhiều tuổi lượng rơi càng nhiều và sự tích tụ carbon, nitơ trong đất càng lớn. Qua quá trình phân hủy, lá cây ngập mặn sau khi rơi xuống sàn rừng đã trả lại cho đất rừng một lượng chất hữu cơ đáng kể, lượng chất hữu cơ này trả về cho đất dưới dạng các chất khoáng. Đây chính là quá trình tự cung tự cấp chất dinh dưỡng của cây rừng ngập mặn (Nguyễn Thị Hồng Hạnh & Mai Sỹ Tuấn, 2005).

1.1.2 Vai trò của rừng ngập mặn đối với nuôi thủy sản ven biển

RNM không tồn tại độc lập mà liên hệ mật thiết với các HST liên đới trong lục địa và biển. Sự trao đổi vật chất của 2 môi trường RNM và biển cũng thể hiện mối phụ thuộc giữa chúng với nhau, trong đó RNM đóng vai trò quan trọng trong việc cung cấp chất dinh dưỡng cho biển và cùng với việc nuôi dưỡng các ấu thể của động vật biển đã giúp cho RNM thực hiện chức năng duy trì đa dạng sinh học và là nguồn lợi sinh vật tiềm tàng cho biển (Phan Nguyên Hồng *et al*., 1999).

Trong HST RNM, đa dạng về loài và đông về số lượng là giáp xác, đặc biệt các loài thuộc họ Tôm he như tôm sú, tôm he mùa, tôm rảo, tôm bộp, tôm sắt… là cư dân trong vùng cửa sông nhiệt đới mà đời sống rất gắn bó với môi trường RNM, như cách nói của người dân "Con tôm ôm cây đước". Tôm là loài ăn tạp do vậy trong thành phần thức ăn của chúng các mảnh vụn của cây ngập mặn chiếm một lượng đáng kể (Phan Nguyên Hồng *et al*., 1999). Nguồn thức ăn đầu tiên, phong phú và đa dạng cung cấp cho các loài thủy sản là các mảnh vụn hữu cơ được phân hủy từ vật rụng cây ngập mặn (Kathiresan & Bingham, 2001). Quá trình phân hủy diễn ra làm cho hàm lượng acid amin ở các mẫu lá tăng cao và làm giàu dinh dưỡng cho cả thủy vực. RNM vừa tạo ra nguồn thức ăn trực tiếp là các mùn bã hữu cơ, vừa cung cấp thức ăn gián tiếp qua các động vật ăn mùn bã làm mồi cho các loài cá lớn và một số động vật ăn thịt khác. Do đó, thành phần động vật trong vùng RNM rất phong phú và đa dạng (Phan Nguyên Hồng & Mai Thị Hằng, 2002).

RNM không chỉ là nguồn cung cấp thức ăn sơ cấp cho các loài thủy sản mà còn có vai trò hạn chế sự tăng nhiệt độ và sự bốc hơi nước của thủy vực, làm cho độ mặn của nước trong đầm và khu vực nuôi thủy sản ven biển không lên quá cao (Lê Bá Toàn, 2005). Rễ nơm và thân cây đước tạo thành sức cản nước triều, làm lắng đọng phù sa của dòng triều chứa chất hữu cơ màu mỡ (Dương Hữu Thời, 1998). Theo Primavera *et al*. (2005), RNM và các vuông tôm có tác dụng hỗ trợ nhau. RNM có tác dụng như là bể lọc sinh học xử lý nước thải từ đầm nuôi tôm. Trong quá trình làm sạch nguồn nước, RNM giữ lại chất dinh dưỡng, hấp thu chất hữu cơ và tăng sinh khối. RNM còn góp phần làm tăng nguồn hải sản trong vùng và các bãi triều lân cận qua đó góp phần nâng cao đời sống của người dân (Phan Nguyên Hồng *et al*., 2005).

Thật vậy, RNM là nơi duy trì bền vững các nguồn lợi hải sản và hỗ trợ nghề cá. Nhờ các loại chất dinh dưỡng RNM thu nhận được từ nội địa chuyển ra hay biển khơi chuyển vào, đặc biệt là khối lượng lớn mùn bã từ các cây ngập mặn phân hủy tại chỗ mà tính đa dạng sinh học trong hệ sinh thái RNM rất cao, trong đó có nhiều loài hải sản quan trọng. Nhờ nguồn mùn bã phong phú của RNM mà nhiều đầm tôm, đầm cua ở đây có năng suất cao hơn các vùng khác (Phan Nguyên Hồng *et al*., 2005).

1.1.3 Một vài đặc tính của lá đước *Rhizophora apiculata*

Cây đước *Rhizophora apiculata* phát triển tốt ở vùng đất bùn sét chặt và được ngập nước triều hàng ngày dưới chế độ bán nhật triều hay nhật triều, độ mặn ổn định quanh năm từ 18‰-25‰ (Thái Văn Trừng, 1998). Sự cung cấp vật rụng của cây đước và các cây ngập mặn khác có vai trò quan trọng trong việc cung cấp chất hữu cơ cho rừng ngập mặn và các hệ sinh thái kế cận (Lê Huy Bá, 2000). Theo Nguyễn Hoàng Trí (1999), tổng lượng rơi trung bình hàng năm của đước đôi ở bán đảo Cà Mau là 9,75 tấn/ha, trong đó lượng rơi của lá cao nhất chiếm 79,71%. Lá đước là 1 trong các loại lá cây ngập mặn chứa lượng lớn các chất khoáng, vitamin, protein, chất béo, đó là nguồn dinh dưỡng rất tốt cho các động vật ăn thực vật. Trong hệ thống nuôi tôm-rừng, lá đước rơi xuống ao tôm có thể mang đến những ảnh huởng có lợi cho tôm, đó là sự cung cấp chất dinh dưỡng (đạm và lân) trong suốt quá trình phân hủy (Bùi Thị Nga *et al.*, 2004a). Nghiên cứu của Châu Thị Kim Thoa (2002) chỉ ra rằng hàm lượng đạm và lân tuy thấp hơn so với natri, kali, canxi, magie nhưng quá trình chúng phóng thích vào nước chậm. Do đó lá đước phân hủy còn giữ lại hàm lượng đạm và lân cao hơn so với các chất khác.

1.2 SƠ LƯỢC VỀ VI KHUẨN

1.2.1 Đặc điểm chung

Vi khuẩn là nhóm vi sinh vật có cấu tạo tế bào nhưng chưa có cấu trúc nhân phức tạp, thuộc nhóm Prokaryotes. Nhân tế bào chỉ gồm một chuỗi ADN không có thành phần protein, không có màng nhân. Nhóm vi khuẩn có nhiều dạng khác nhau về mặt phân loại cũng như phương thức dinh dưỡng và các phản ứng do chúng thực hiện (Phạm Thành Hổ, 2000).

Theo Phạm Thành Hổ (2000), tế bào vi khuẩn có hình cầu, hình que, hình dấu phẩy, hình xoắn và có thể đứng riêng hoặc xếp thành từng đôi, từng chuỗi hay từng chùm. Các vi khuẩn rất khác nhau về các con đường trao đổi chất: phần lớn là hiếu khí, một số kỵ khí, một số có khả năng cố định đạm không khí. Một số loài vi khuẩn có khả năng tạo bào tử chịu đựng các điều kiện bất lợi và tồn tại trong 1 thời gian dài thiếu nước và chất dinh dưỡng. Về di động: vi khuẩn được chia 2 loại: di động và không di động.

1.2.2 Hình thái và kích thước

Vi khuẩn có nhiều hình thái khác nhau: Hình cầu, hình que, hình xoắn, hình dấu phẩy, hình sợi… Kích thước của vi khuẩn thay đổi tùy theo các loại hình và trong một loại hình, kích thước cũng khác nhau. Nhưng so với virus, kích thước của vi khuẩn lớn hơn nhiều, có thể quan sát vi khuẩn dưới kính hiển vi quang học (Trần Cẩm Vân, 2001).

1.2.3 Cấu tạo và chức năng một số thành phần của tế bào vi khuẩn

- Thành tế bào và loại Gram của vi khuẩn

Thành tế bào là lớp ngoài cùng bao bọc vi khuẩn, giữ cho chúng có hình dạng nhất định, chiếm 15 – 30% trọng lượng khô của tế bào. Thành phần hóa học của thành tế bào vi khuẩn rất phức tạp, bao gồm nhiều hợp chất khác nhau như Peptidoglycan, Polisaccarit, Protein, Acid tecoic, Lipoit, …Dựa vào tính chất hóa học của thành tế bào và tính chất bắt màu của nó, người ta chia ra làm 2 loại Gram: Gram âm (-) và Gram dương (+) (Trần Cẩm Vân, 2001).

Theo Phạm Thành Hổ (2000), vi khuẩn Gram âm là những vi khuẩn có thành tế bào mỏng, lớp peptidoglycan chỉ khoảng 10%. Mặt ngoài lớp peptidoglycan là một lớp dày chiếm tỉ lệ 80% có chứa protein, lipit, lipo-polysacarid. Vi khuẩn Gram dương là nhóm có vách tế bào dày, chứa nhiều *peptidoglycan*, còn gọi là mucopeptid hay *murein* với tỉ lệ từ 80-90%. Ngoài ra còn chứa chất đặc biệt là *teichoic acid* .

Với cùng một phương pháp nhuộm như nhau, trong đó có hai loại thuốc nhuộm Cristal Violet màu tím và Fushsin màu hồng, vi khuẩn Gram (+) bắt màu tím xanh còn vi khuẩn Gram (–) bắt màu hồng. Nguyên nhân là do cấu tạo thành tế bào của hai loại khác nhau (Trần Cẩm Vân, 2001).

- Chiên mao và khả năng chuyển động của vi khuẩn

Theo Trần Cẩm Vân (2001), chiên mao là những cơ quan giúp vi khuẩn di động, nhưng không phải tất cả các vi khuẩn đều có chiên mao. Hầu hết các cầu khuẩn không có chiên mao và không có khả năng di động, trừ một vài chi như Planococcus và Planosarcina. Chiên mao thường có chiều rộng 10 – 25 μm, chiều dài thay đổi tùy theo loài vi khuẩn. Số lượng chiên mao cũng phụ thuộc vào loài vi khuẩn. Chiên mao có bản chất protein, bị phân giải ở nhiệt độ 60ºC hoặc ở môi trường acid.

1.3 VI KHUẨN TRONG SINH QUYỂN

1.3.1 Sự phân bố của vi khuẩn trong sinh quyển

Nếu như sự phân bố rộng rãi của thực vật dễ nhận thấy qua màu xanh ở trên trái đất thì các vi khuẩn là 1 thế giới vô hình khó nhìn thấy bằng mắt thường, nhưng chúng hiện diện ở khắp nơi, cả ở những điều kiện khắc nghiệt là ranh giới cực đoan của sự

sống như băng giá các cực, dưới đáy đại dương. Hiện nay số lượng tế bào vi khuẩn ước tính khoảng $5x10^{30}$, tổng sinh khối bằng cả thực vật trên cạn Nhờ vi khuẩn có kích thước nhỏ bé, tốc độ sinh sản nhanh (thời gian 1 thế hệ là 20-30 phút), tính linh hoạt đáng kể của sự trao đổi chất và khả năng sống ở mọi nơi nên chúng có số lượng cá thể (tế bào) lớn nhất trên quả đất (Phạm Thành Hổ, 2000).

1.3.2 Vai trò của vi khuẩn trong sinh quyển

Do số lượng lớn, lại hiện diện hầu như trong tất cả các hệ sinh môi, các vi khuẩn có vai trò rất quan trọng trong sinh quyển. Nếu thiếu chúng sự sống trên trái đất khó tồn tại. Đặc biệt là nhóm vi khuẩn phân hủy (decomposers), nếu không có chúng, các sinh vật chết đi không được phân hủy đến tận cùng và nhiều chất dinh dưỡng sẽ không quay lại vòng tuần hoàn vật chất (Nguyễn Như Thanh *et al*.,1990). Bùi Lai *et al*. (1979) đã nhấn mạnh vai trò của vi khuẩn trong việc tái tạo các chất sinh học và chuyển hóa năng lượng trong thiên nhiên, vi khuẩn có khả năng trao đổi chất cao và có thể nhanh chóng thích ứng với những thay đổi của môi trường, chúng tham gia phân hủy, tái tạo phần lớn các chất hữu cơ thiên nhiên có ở trong bất kỳ môi trường nào. Lượng carbon chứa trong vi khuẩn khoảng 350-550 tỉ tấn trong khi đó lượng carbon của thực vật trên cạn khoảng 550 tỉ tấn. Vi khuẩn chứa 10 lần nhiều hơn số lượng nitrogen và photpho của thực vật, cụ thể là 85-130 tỉ tấn nitrogen và 9-14 tỉ tấn photpho ở vi khuẩn so với 10 tỉ tấn nitrogen và 1,1 tỉ tấn photpho ở thực vật (Phạm Thành Hổ, 2000).

1.4 VI KHUẨN TRONG MÔI TRƯỜNG NƯỚC

1.4.1 Đặc điểm chung

Đa số vi khuẩn nước là các sinh vật dị dưỡng carbon tức là nhóm được nuôi dưỡng bằng các chất hữu cơ. Số lượng lớn trong đó lại là vi khuẩn hoại sinh sống trên nguyên liệu của các động vật và thực vật chết, còn vi khuẩn ký sinh thì nói chung chỉ chiếm số ít. Vi khuẩn nước có khả năng sử dụng những nồng độ chất dinh dưỡng rất nhỏ. Chúng có thể sống tự do trong nước hoặc bám vào các cơ chất rắn, đa số có khả năng sống theo cả 2 cách (Kiều Hữu Ánh & Ngô Tự Thành, 1985).

Về mặt hình thái, vi khuẩn nước thường có các hình dạng cơ bản như hình cầu, hình que, hình dấu phẩy hay hình xoắn. Đa số các vi khuẩn nước di động được nhờ chiên mao, một số di động bằng cách trườn trên cơ chất rắn (Kiều Hữu Ánh & Ngô Tự Thành, 1985).

Mặc dù vi khuẩn tồn tại ở hầu hết các thủy vực nhưng sự phân bố về số lượng cũng như thành phần loài của chúng rất khác nhau và phụ thuộc vào loại thủy vực, trong đó các nhân tố quan trọng của thủy vực có tính quyết định là hàm lượng muối, chất hữu

cơ, pH, độ đục, nhiệt độ. Vì thế có sự khác biệt giữa các vi khuẩn sống trong biển với các vi khuẩn sống trong nước ngọt (Kiều Hữu Ánh & Ngô Tự Thành, 1985).

1.4.2 Vi khuẩn trong các nguồn nước

- Vi khuẩn trong các suối, sông và hồ

Nhìn chung ở những nguồn nước càng nghèo chất dinh dưỡng thì số lượng tế bào vi khuẩn càng ít. Trong nước suối, vì thiếu chất dinh dưỡng nên hàm lượng vi khuẩn rất thấp. Do nồng độ chất dinh dưỡng thấp mà các tế bào thường thoái hóa thành dạng phát triển không trọn vẹn, dạng này thường có kích thước nhỏ hơn tế bào bình thường. Thông thường, chỉ có một phần vi khuẩn sống tự do trong nước, phần còn lại sống bám vào các hạt nhỏ lơ lửng. Đối với các hồ sạch, số lượng vi khuẩn lớn nhất thường đạt được vào thời gian mà chất dinh dưỡng được sinh ra nhiều nhất tức là vào mùa xuân, cuối mùa hè hoặc đầu mùa thu (Kiều Hữu Ánh & Ngô Tự Thành, 1985).

- Vi khuẩn trong nước lợ

Trong các vùng ven biển nước lợ với nồng độ muối thường dưới 30‰, ngoài các vi khuẩn biển thật sự và các vi khuẩn nước ngọt chịu mặn, còn tìm thấy các vi khuẩn nước lợ ưa mặn. Nồng độ muối tối ưu của chúng nằm ở giữa 5 và 20‰. Các vi khuẩn nước lợ thường phát triển rất yếu hoặc hoàn toàn không phát triển được trong các môi trường nước ngọt và rất hay bị ức chế sinh trưởng ở các nồng độ muối trên 30‰ (Kiều Hữu Ánh & Ngô Tự Thành, 1985).

- Vi khuẩn trong biển

Đa số vi khuẩn biển là những cơ thể ưa mặn, tức là những cơ thể cần NaCl để phát triển. Hàm lượng muối của biển vào khoảng 35‰ là nồng độ muối tối ưu đối với các vi khuẩn biển thật sự. Ngoài các vi khuẩn ưa mặn, trong vùng biển còn có những vi khuẩn chịu mặn, chúng cũng có khả năng phát triển tốt trong các môi trường nước ngọt. Chúng thường được gặp ở các vùng gần bờ, ở các vịnh và vùng cửa sông. Do điều kiện dinh dưỡng phong phú hơn mà hàm lượng vi khuẩn ở vùng nước gần bờ lớn hơn đáng kể so với ở ngoài khơi và nói chung càng xa bờ thì số lượng vi khuẩn hoại sinh càng giảm (Kiều Hữu Ánh & Ngô Tự Thành, 1985).

Thông thường các vi khuẩn biển phát triển chậm hơn so với các vi khuẩn đất nhưng năng lực trao đổi chất cũng như khả năng chuyển hóa vật chất của chúng đa dạng hơn so với các vi khuẩn đất và vi khuẩn vùng nước ngọt. Chúng có khả năng sử dụng các cơ chất dinh dưỡng khác nhau và ở những nồng độ rất thấp. Khả năng này làm cho chúng có thể phát triển được trong các loại nước biển nghèo chất dinh dưỡng (Trần Cẩm Vân, 2001).

Các loại vi khuẩn nước mặn đóng vai trò quan trọng đối với sự chuyển hóa vật chất trong nước biển, tạo ra sự cân bằng sinh học cần thiết trong môi trường biển (Nguyễn Đức Lượng & Nguyễn Thị Thùy Dương, 2003).

1.4.3 Ảnh hưởng của các yếu tố môi trường đến vi khuẩn trong nước

Cơ thể vi khuẩn chỉ được tạo ra từ 1 tế bào. Cơ thể đơn bào thực hiện tất cả chức năng của sự sống như chức năng sinh sản, phát triển và trao đổi chất. Vì là 1 tế bào nên mọi tác động của môi trường là những tác động trực tiếp lên cơ thể, mọi phản ứng của cơ thể sinh vật với môi trường cũng là những phản ứng trực tiếp (Nguyễn Đức Lượng & Nguyễn Thị Thùy Dương, 2003).

- *Ảnh hưởng của nhiệt độ*

Phần lớn vi sinh vật chịu tác động của nhiệt độ trong 1 giới hạn hẹp, khoảng từ -10 đến $+90^0$C. Trong phạm vi này, nhiệt độ ảnh hưởng đến tốc độ sinh trưởng, nhu cầu dinh dưỡng, cả đến thành phần enzym và thành phần hóa học của tế bào (Kiều Hữu Ánh & Ngô Tự Thành, 1985). Theo Nguyễn Đức Lượng & Nguyễn Thị Thùy Dương (2003), khi nghiên cứu ảnh hưởng của nhiệt độ đến sự phát triển của vi sinh vật, các nhà khoa học chia chúng ra thành các nhóm khác nhau. Tuy nhiên, sự phân chia các nhóm vi sinh vật quan hệ với nhiệt độ chỉ có tính chất tương đối các nhóm này không tách biệt nhau rõ ràng mà gắn liền với nhau qua các dạng trung gian.

Bảng 1: Phân nhóm vi sinh vật theo khả năng phát triển ở nhiệt độ khác nhau (Kiều Hữu Ánh và Ngô Tự Thành, 1985)

STT	Nhóm vsv	Nhiệt độ cực tiểu	Nhiệt độ tối ưu	Nhiệt độ cực đại (^{0}C)
1	Ưa lạnh	-10 đến +5	+10 đến +20	+20 đến +30
2	Ưa ấm	+10 đến +15	+30 đến +40	+40 đến +50
3	Ưa nóng	+25 đến +45	+50 đến +65	+75 đến +90

Trong quá trình phát triển của vi khuẩn có 1 giai đoạn hết sức đặc biệt, đó là giai đoạn tạo bào tử (spores). Bào tử là giai đoạn sinh lý khá đặc trưng ở vi sinh vật nói chung. Bào tử chỉ được tạo ra ở những vi sinh vật đặc trưng chứ không phải tất cả vi sinh vật đều có khả năng tạo bào tử. Vi khuẩn có khả năng tạo bào tử thường gặp ở Clostridium, Bacillus… Bào tử được hình thành như 1 phương thức để vi khuẩn vượt qua những giai đoạn khó khăn nhất định. Khi gặp những điều kiện thuận lợi các bào tử lại phát triển thành những tế bào vi khuẩn và duy trì nòi giống của mình. So với tế bào sinh dưỡng, bào tử có khả năng chịu nhiệt cao hơn rất nhiều (Nguyễn Đức Lượng & Nguyễn Thị Thùy Dương, 2003).

Trong thiên nhiên nhiệt độ thường thay đổi, nếu thay đổi trong khoảng nhiệt độ phát triển của vi sinh vật thì chính nhiệt độ là yếu tố thuận lợi, nó sẽ kích thích các hoạt động sống của vi sinh vật và làm tăng tốc độ phản ứng hóa học, sinh học trong vi sinh vật. Các vi khuẩn dị dưỡng thường rất nhạy cảm với nhiệt độ. Thời gian phân cắt của vi khuẩn thường chịu ảnh hưởng của nhiệt độ, nếu ở nhiệt độ gần với các điểm cực tiểu, cực đại của nhiệt độ phát triển thì vi sinh vật có sự thay đổi hình thái rất rõ rệt. Và khi nhiệt độ tăng thường làm ngắn lại thời gian phân cắt, tăng nhanh quá trình trao đổi chất, đồng thời còn tăng nhanh quá trình tự phân của vi sinh vật (Nguyễn Đức Lượng & Nguyễn Thị Thùy Dương, 2003).

Bảng 2: Ảnh hưởng của nhiệt độ đến thời gian phân cắt của vi sinh vật (Nguyễn Đức Lượng và Nguyễn Thị Thùy Dương, 2003)

STT	Nhiệt độ (^{0}C)	Thời gian phân cắt (giờ)
1	0	18.4
2	6	7.0
3	12	2.71
4	25	0.773
5	30	0.695

- Ảnh hưởng của nồng độ hydro

Nồng độ hydro có ảnh hưởng rất mạnh đến sự phát triển và sinh sản của tất cả vi sinh vật. Đa số các vi sinh vật phát triển ở pH=4 đến 9. Trong thiên nhiên cũng có vi sinh vật phát triển ở pH=3 và pH=10, nhưng số này thường rất ít. Đa số vi khuẩn phát triển ở pH trung tính. Điểm tối ưu của đa số vi khuẩn thủy vực nằm giữa pH 6,5 và 8,5. Ở pH xa điểm pH tối ưu của từng loài, các vi sinh vật không chỉ bị thay đổi sinh lý mà còn có những thay đổi về hình thái (Kiều Hữu Ánh & Ngô Tự Thành, 1985).

- Ảnh hưởng của hàm lượng muối

Hàm lượng muối có trong nước ngọt và nước biển khác nhau rất lớn, chính sự khác nhau này tạo nên hệ sinh thái nước ngọt và hệ sinh thái biển, chúng có những đặc điểm rất khác nhau và sự khác nhau này chủ yếu do NaCl tạo ra. Nồng độ NaCl tương đối cao của nước biển đã dẫn đến sự hình thành các sinh vật biển và sinh vật nước ngọt khác nhau về sinh lý. Chỉ có tương đối ít cơ thể có thể phát triển được cả ở nước ngọt cũng như ở biển. Ở những vùng nước có hàm lượng muối quá cao, các vi sinh vật thường khó phát triển, khi đó các tế bào của vi sinh vật thường có kích thước nhỏ hơn mức độ bình thường. Các vi sinh vật trong môi trường như thế chỉ cố gắng tồn tại chứ không thể phát triển mạnh. Nhiều vi sinh vật nếu ở điều kiện bình thường thì chúng có hình que hoặc hình gậy, nhưng nếu chúng phát triển trong môi trường nước biển thì tế bào kéo dài ra và tạo thành hình sợi (Nguyễn Đức Lượng & Nguyễn Thị Thùy Dương,

2003). Đa số vi khuẩn sinh trưởng tốt trong môi trường có nồng độ muối thấp hơn 2%, nhưng cũng có một số loại vi khuẩn sinh trưởng tốt trong môi trường chứa nồng độ muối trên 30%, đó là các vi khuẩn ưa muối (Nguyễn Lân Dũng *et al*., 2000).

- Ảnh hưởng của các chất hữu cơ

Các chất hữu cơ thường nằm ở trạng thái hòa tan hoặc không hòa tan. Cả 2 trạng thái này của chất hữu cơ đều là môi trường rất lý tưởng đối với sinh vật dị dưỡng carbon. Các chất hữu cơ hòa tan và lơ lửng trong nước trước hết có ý nghĩa là thức ăn của vi sinh vật dị dưỡng carbon. Độ lớn và thành phần loài của quần thể vi khuẩn ở thủy vực phụ thuộc đáng kể vào nồng độ và thành phần của các chất hữu cơ (Kiều Hữu Ánh & Ngô Tự Thành, 1985).

Nước suối và nước mưa đều chứa rất ít chất hữu cơ, do đó sự có mặt của các vi sinh vật trong các nguồn nước này thường rất ít và chúng khó phát triển vì thiếu năng lượng. Trong nước biển đặc biệt thường thiếu nguồn hữu cơ. Nguồn hữu cơ nếu có ở nước biển thường là xác động thực vật, số lượng này lại không tập trung như vùng đất liền. Do đó, nhiều vi sinh vật biển đã sử dụng các chất vô cơ như nguồn năng lượng và dinh dưỡng cho chúng. Nước thải, nước sông không chảy, nước ao hồ tù đọng là nơi chứa nhiều chất hữu cơ, nhưng không phải ở đâu có nhiều chất hữu cơ là ở đó có nhiều vi sinh vật. Lượng vi sinh vật nhiều hay ít phụ thuộc vào khả năng đồng hóa các chất hữu cơ đó, chất hữu cơ có quá nhiều sẽ làm tăng áp suất thẩm thấu, vi sinh vật rất khó hấp thu và như vậy làm giảm khả năng tăng trưởng của chúng. Mặc khác, chất hữu cơ nhiều làm giảm khả năng hòa tan của oxy trong nước, chính vì thế chất hữu cơ cũng là 1 nhân tố giới hạn sự phát triển của vi sinh vật (Kiều Hữu Ánh & Ngô Tự Thành, 1985).

- Ảnh hưởng của các chất vô cơ

Trong nước, ngoài NaCl thường gặp còn tồn tại rất nhiều các chất vô cơ. Các chất vô cơ này tác động rất phức tạp đến sinh lý của mọi sinh vật, trong đó các loại vi sinh vật lại chịu tác động mạnh nhất, 2 chất quan trọng nhất là photpho và nitơ vô cơ. Photpho tham gia vào thành phần màng sinh học, vào hợp chất cao năng ATP (Adenozil TriPhotphat). Nitơ là nguyên tố có mặt ở hầu hết các thành phần có trong tế bào của vi sinh vật. Như vậy muốn cho vi sinh vật phát triển bình thường, 2 chất vô cơ này bắt buộc phải có trong môi trường nước. Ở vùng nước cuối các con sông thường có nhiều chất vô cơ chứa nitơ và photpho, do đó ở những lưu vực này số lượng vi sinh vật thường rất lớn. Ngoài 2 chất vô cơ trên, trong quá trình phát triển của vi sinh vật còn cần rất nhiều chất khác như các vi lượng, các chất điều hòa sinh trưởng, điều hòa pH của môi trường (Nguyễn Đức Lượng & Nguyễn Thị Thùy Dương, 2003).

- Ảnh hưởng của các khí hòa tan

Trong môi trường nước luôn tồn tại một lượng khí hòa tan rất nhỏ. Tuy số lượng các chất khí này không cao nhưng chúng có ảnh hưởng rất lớn đến sự phát triển của các vi sinh vật có trong môi trường nước (Nguyễn Đức Lượng & Nguyễn Thị Thùy Dương, 2003).

Nhu cầu oxy của các vi khuẩn trong nước hoàn toàn không giống nhau. Có những loài cần ít oxy, có những loài cần nhiều oxy và cũng có những loài không cần oxy để sống. Theo Kiều Hữu Ánh & Ngô Tự Thành (1985), vi sinh vật được chia thành các nhóm khác nhau tùy theo nhu cầu oxy trong quá trình phát triển của chúng:

+Nhóm hiếu khí bắt buộc: chỉ phát triển với sự có mặt của oxy.

+Nhóm hiếu khí không bắt buộc (hoặc kỵ khí không bắt buộc): sinh trưởng cả trong điều kiện có hoặc không có oxy.

+Nhóm kỵ khí bắt buộc: chỉ phát triển khi không có oxy.

1.4.4 Một số vai trò của vi khuẩn trong các thủy vực

- Vi khuẩn tham gia vào sự tuần hoàn vật chất của các thủy vực

Với chức năng tham gia vào quá trình phân hủy xác bã hữu cơ, vi khuẩn là yếu tố trung gian quan trọng trong dòng chảy năng lượng ở hệ sinh thái thủy vực (Gulis & Suberkropp, 2003).Vi khuẩn có vai trò quan trọng trong vòng tuần hoàn vật chất của các thủy vực. Mặc dù sự tham gia của chúng vào việc tạo thành chất hữu cơ là nhỏ song chúng có ý nghĩa rất lớn đối với việc tái vô cơ hóa những chất này. Thực tế chúng có thể tấn công tất cả các chất hữu cơ được hình thành một cách tự nhiên, trong những điều kiện thuận lợi thì có thể phân hủy thành những chất ban đầu, tức là thành cacbondioxyt, nước và một số muối vô cơ (Kiều Hữu Ánh & Ngô Tự Thành, 1985).

Theo Trần Cẩm Vân (2001), các nhóm vi khuẩn tham gia quá trình chuyển hóa các hợp chất carbon đã góp phần khép kín vòng tuần hoàn vật chất, giữ cân bằng vật chất trong thiên nhiên. Tinh bột là chất dự trữ quan trọng của nhiều thực vật, thường có mặt trong các thủy vực nội địa và ở biển, vi khuẩn có khả năng phân hủy tinh bột nhờ các enzym ngoại bào amylase. Trong các thủy vực thoáng khí, sự phân hủy tinh bột thường xảy ra nhờ các loài *Pseudomonas, Bacillus*…, trong điều kiện kỵ khí tinh bột chủ yếu bị phân hủy bởi các loài *Clostridium*. Cellulose là chất cơ bản của đa số thực vật, có nhiều ở các thủy vực nội địa và ở biển. Cellulose được phân hủy bởi các enzym ngoại bào cellulase. Các nhóm vi khuẩn có khả năng phân hủy cellulose là *Cytophaga, Pseudomonas, Cellulomonas, Clostridium*… Quá trình nitrat hóa cũng là 1 khâu quan trọng trong vòng tuần hoàn nitơ. Vi khuẩn có khả năng tham gia vào quá trình nitrat hóa gồm *Nitrosomonas, Nitrobacter, Pseudomonas, Corynebacterium*…

- Vai trò làm sạch nước

Quá trình tự làm sạch sinh học có vai trò quyết định đối với sự tự làm sạch của các nguồn nước, quá trình này xảy ra thường xuyên và mạnh mẽ nhất, quyết định mức độ tự làm sạch toàn diện của nước. Quá trình tự làm sạch sinh học xảy ra do động vật, thực vật và cả vi sinh vật, trong đó vi khuẩn và nấm giữ vai trò chủ đạo. Chúng có thể phân giải các hợp chất hữu cơ tồn tại dưới dạng thể rắn hoặc nằm trong dung dịch nước và trong những điều kiện thuận lợi có thể tạo thành CO_2, H_2O và một số muối vô cơ. Nói cách khác, trong các điều kiện thích hợp chúng có khả năng tái khoáng hóa một cách trọn vẹn nhiều chất bẩn hữu cơ (Kiều Hữu Ánh & Ngô Tự Thành, 1985).

Trong thiên nhiên, không thể có 1 loài vi sinh vật nào có khả năng chuyển hóa toàn diện tất cả vật chất có trong môi trường. Trước tiên, vi sinh vật sẽ chuyển hóa vật chất dễ chuyển hóa trước. Sau đó sẽ chuyển hóa những vật chất khó chuyển hóa. Mặt khác các quá trình chuyển hóa này thường xảy ra do 1 loạt các vi sinh vật khác nhau, do đó nếu trong môi trường thiếu 1 giống hoặc 1 nhóm vi sinh vật nào đó, quá trình sẽ bị cắt quãng và sự chuyển hóa sẽ bị ngưng lại ở giai đoạn đó và như thế môi trường sẽ bị ô nhiễm (Nguyễn Đức Lượng & Nguyễn Thị Thùy Dương, 2003).

- Vi khuẩn trong chuỗi dinh dưỡng của thủy vực

Vi khuẩn có vai trò quan trọng trong lưới thức ăn của hệ sinh thái thủy vực. Các nhóm vi khuẩn đa dạng, có nhiều kiểu dinh dưỡng và nguồn năng lượng phong phú. Chúng có thể sử dụng vật chất hữu cơ hòa tan, chuyển hóa thành sinh khối vi khuẩn và cung cấp cho các bậc dinh dưỡng cao hơn. Khả năng hấp thụ của vi khuẩn đối với những nồng độ chất hữu cơ rất nhỏ, do đó những chất hữu cơ mà thông thường gần như không được sử dụng do nồng độ quá thấp, qua sự trao đổi chất của vi khuẩn chúng cũng được đưa vào chuỗi dinh dưỡng của hệ sinh thái (Samuel, 2000).

Vi khuẩn cũng được xem như nguồn dinh dưỡng trong môi trường nước đối với các sinh vật khác. Chúng là 1 mắc xích quan trọng trong các chuỗi thực phẩm của thiên nhiên. Vi khuẩn không chỉ là sinh vật sử dụng các chất có trong cơ thể động vật và thực vật để duy trì sự phát triển mà chúng còn là nguồn dinh dưỡng cho 1 số sinh vật khác. Một số sinh vật sử dụng sinh khối vi sinh vật như là nguồn dinh dưỡng chính của mình. Điều rất quan trọng là các tế bào vi sinh vật chứa đầy đủ các chất dinh dưỡng cần thiết cho các sinh vật khác, quan trọng hơn là trong tế bào vi sinh vật, hàm lượng protein thường chiếm tỷ lượng rất cao (Nguyễn Đức Lượng & Nguyễn Thị Thùy Dương, 2003).

1.5 CƠ SỞ VI SINH VẬT HỌC CỦA CÁC QUÁ TRÌNH CHUYỂN HÓA VẬT CHẤT

1.5.1 Dinh dưỡng vi sinh vật

Theo Trần Cẩm Vân (2001), dinh dưỡng vi sinh vật là cơ sở vi sinh vật học của các quá trình chuyển hóa vật chất thực hiện bởi các nhóm vi sinh vật khác nhau. Một cơ thể vi sinh vật rất nhỏ bé nhưng lại có khả năng chuyển hóa một lượng vật chất gấp nhiều lần nó trong một thời gian ngắn. Vi sinh vật là những cơ thể sống, nó thường xuyên sinh trưởng, phát triển và chết đi. Chu trình sống của vi sinh vật rất nhanh, đặc biệt là vi khuẩn, cứ vài chục phút lại cho ra một thế hệ. Mỗi thế hệ của nó lại tiếp tục sinh sôi nảy nở theo cấp số nhân. Bởi vậy trong quá trình sống, vi sinh vật sử dụng một khối lượng chất dinh dưỡng khổng lồ thông qua quá trình dinh dưỡng.

1.5.2 Nhu cầu về các chất dinh dưỡng ở vi sinh vật

Tùy theo đặc điểm của từng nhóm vi sinh vật mà các nhóm có nhu cầu về các chất dinh dưỡng khác nhau. Nhóm vi khuẩn tự dưỡng quang năng có khả năng sử dụng trực tiếp năng lượng mặt trời thì đòi hỏi của nó đối với chất dinh dưỡng rất đơn giản. Trong khi đó, nhóm vi khuẩn dị dưỡng lại đòi hỏi nhiều loại chất dinh dưỡng khác nhau. Theo Trần Cẩm Vân (2001), các chất dinh dưỡng chính nằm trong nhu cầu của đa số các loại vi sinh vật bao gồm:

- *Nước*

Nhu cầu của vi sinh vật đối với nước rất cao vì nước chiếm 80-90% trọng lượng tế bào vi sinh vật. Tất cả các quá trình sinh hóa xảy ra trong tế bào đều cần có nước. Mỗi vi sinh vật thích hợp với một độ ẩm môi trường nhất định. Vi khuẩn thường đòi hỏi độ ẩm cao (93-99%). Ở điều kiện khô hạn, vi sinh vật chết hoặc ở trạng thái tiềm sinh.

- *Nguồn dinh dưỡng carbon*

Vi sinh vật có khả năng sử dụng các nguồn dinh dưỡng carbon khác nhau. Chỉ trừ một số dạng carbon thuần khiết, hầu như các hợp chất carbon có trong thiên nhiên đều được các nhóm vi sinh vật khác nhau sử dụng, ngay cả các hợp chất cao phân tử bền vững như cellulose. Nhiều nhóm vi sinh vật còn có khả năng đồng hóa nguồn carbon từ các chất đạm hữu cơ như protein, pepton, acid amin. Các chất này được vi sinh vật sử dụng cả phần carbon và phần nitơ trong hợp chất.

- *Nguồn dinh dưỡng nitơ*

Vi sinh vật có khả năng hấp thụ nhiều nguồn dinh dưỡng nitơ khác nhau. Tùy theo đặc điểm dinh dưỡng của từng loài mà nó đòi hỏi các dạng nitơ khác nhau. Dạng nitơ vô cơ như NH_3, NH_4^+, NO_3^- là các nguồn dinh dưỡng đối với nhóm vi sinh vật tự dưỡng amin. Chúng có khả năng đồng hóa các nguồn nitơ ở dạng các hợp chất vô cơ như

trên, từ đó tổng hợp nên các acid amin của cơ thể. Trong các hợp chất đó, dễ hấp thụ nhất đối với vi khuẩn là NH_3, NH_4^+, các dạng hợp chất này dễ dàng thâm nhập vào tế bào và tạo nên các nhóm amin (Nguyễn Như Thanh *et al*.,1990). Dạng nitơ hữu cơ như protein, polypeptit, acid amin là nguồn dinh dưỡng đối với nhóm vi sinh vật dị dưỡng amin, chúng không có khả năng tự tổng hợp các acid amin của tế bào từ các hợp chất nitơ vô cơ. Vi sinh vật không có khả năng hấp thụ trực tiếp phân tử protein mà phải phân hủy chúng thành các polypeptit nhờ men protease. Thường chỉ những polypeptit không quá 5 acid amin mới được vi sinh vật hấp thụ. Có những loài vi sinh vật đòi hỏi phải có sẵn những acid amin nhất định trong môi trường nuôi cấy, các acid amin cần thiết đó khác nhau tùy theo loài vi sinh vật. Các dạng nitơ hữu cơ không những là nguồn dinh dưỡng nitơ mà còn là nguồn dinh dưỡng carbon cho vi sinh vật. Ngoài ra, nguồn dinh dưỡng khoáng và các chất sinh trưởng cũng rất cần thiết đối với vi sinh vật (Trần Cẩm Vân, 2001).

1.5.3 Các kiểu dinh dưỡng ở vi sinh vật

Vi sinh vật có thể sử dụng các nguồn cơ chất rất khác nhau để tồn tại và phát triển. Theo Trần Cẩm Vân (2001), vi sinh vật được chia thành nhiều kiểu dinh dưỡng khác nhau:

- Dựa vào nguồn dinh dưỡng: vi sinh vật được chia thành các kiểu dinh dưỡng:

  + Dinh dưỡng carbon gồm tự dưỡng carbon và dị dưỡng carbon.

  + Dinh dưỡng nitơ gồm tự dưỡng amin và dị dưỡng amin.

- Dựa vào nguồn năng lượng: vi sinh vật được chia thành các kiểu dinh dưỡng:

  + Dinh dưỡng quang năng gồm dinh dưỡng quang năng vô cơ và dinh dưỡng quang năng hữu cơ

  + Dinh dưỡng hóa năng gồm dinh dưỡng hóa năng vô cơ và dinh dưỡng hóa năng hữu cơ

1.6 VI KHUẨN TRONG HỆ SINH THÁI RỪNG NGẬP MẶN

1.6.1 Vai trò phân hủy của vi khuẩn dị dưỡng trong rừng ngập mặn

Theo Aksornkoae (1993), vi khuẩn cùng với nấm là những sinh vật quan trọng nhất tham gia vào quá trình phân hủy vật rụng của cây ngập mặn. Trong thời gian phân hủy lá, sinh khối của nấm giảm trong khi sinh khối vi khuẩn ổn định hoặc tăng trong suốt giai đoạn phân hủy (Weyers & Suberkropp, 1996). Hieber & Gessner (2002) cho rằng thời gian tạo ra thế hệ mới của vi khuẩn ngắn hơn so với nấm nên sinh khối vi khuẩn tạo ra là rất lớn, vì vậy vi khuẩn có vai trò to lớn khi tham gia vào quá trình phân hủy xác thực vật. Vi khuẩn dị dưỡng là nhóm có số lượng nhiều nhất trong các nhóm vi sinh vật có vai trò chủ chốt trong quá trình phân hủy vật chất hữu cơ, khép kín chu

trình sinh địa hóa hệ sinh thái RNM (Agate & Panchnadikar, 1992). Chúng tham gia phân hủy xác động thực vật và chất rơi rụng trong RNM tạo nguồn thức ăn phế liệu phong phú cung cấp cho các loài động vật ăn phế liệu. Chúng cũng tham gia phân hủy các hợp chất hữu cơ tạo nguồn thức ăn khoáng cho cây ngập mặn trong hệ sinh thái. Bản thân vi khuẩn cũng là nguồn thức ăn giàu đạm cho nhiều loài động vật nhỏ và ấu trùng của một số loài (Vũ Trung Tạng, 2000).

Khả năng phân hủy các hợp chất hữu cơ thường gặp trong hệ sinh thái RNM của các chủng vi khuẩn dị dưỡng phân lập từ đất RNM mới phục hồi cũng như RNM tự nhiên là tương đối cao. Tất cả các hợp chất như tinh bột, CMC (cacboxyl metyl cellulose), casein, gelatin, chitin đều bị vi khuẩn dị dưỡng phân lập từ hệ sinh thái này phân hủy ở các mức độ khác nhau (Nguyễn Thị Thu Hà *et al*., 2002c)

1.6.2 Khả năng tham gia phân hủy lá cây ngập mặn của vi khuẩn dị dưỡng từ đất rừng ngập mặn

Vi khuẩn dị dưỡng phân lập từ đất RNM có vai trò quan trọng trong việc phân hủy lá cây ngập mặn – thành phần chủ yếu của chất rơi rụng RNM. Tốc độ phân hủy lá trang *Kandelia candel* trong RNM huyện Nghĩa Hưng cao nhất vào thời gian đầu ngâm mẫu, đặc biệt là trong tháng đầu tiên, khối lượng lá bị phân hủy đạt 30-40% tổng khối lượng khô, sau đó chậm dần. Trong thời gian đầu ngâm mẫu lá trang trong nước biển, khi được bổ sung một số chủng vi khuẩn phân lập từ đất RNM, tốc độ phân hủy lá tăng lên đáng kể so với mẫu đối chứng (Nguyễn Thị Thu Hà, 2002)

1.6.3 Mật số vi khuẩn dị dưỡng trong đất rừng ngập mặn và lá cây đang phân hủy

Theo Nguyễn Thị Thu Hà (2002a), mật số vi khuẩn phân hủy trong RNM phụ thuộc theo mùa. Vào mùa thu, sự phong phú của chất rơi rụng từ RNM, các chất thải và xác động vật thủy sinh tại chỗ, cũng như các chất hữu cơ từ sông đổ ra và thủy triều mang lại làm cho hàm lượng các chất dinh dưỡng trong đất tăng lên nên vi khuẩn dị dưỡng trong đất RNM có mật độ cao nhất. Đối với lá đang phân hủy, hàm lượng chất dinh dưỡng cao nên mật số vi khuẩn dị dưỡng trong lá đang phân hủy cũng cao hơn rất nhiều so với trong đất RNM (Nguyễn Thị Thu Hà, 2002).

1.6.4 Tính chất và phân loại vi khuẩn dị dưỡng trong rừng ngập mặn

Trong số vi khuẩn dị dưỡng phân lập từ đất RNM, có rất nhiều chủng là vi khuẩn hiếu khí không bắt buộc, chúng có thể sinh trưởng và phát triển tốt trong cả điều kiện môi trường có oxy và thiếu oxy. Chúng có vai trò không nhỏ trong quá trình phân hủy xác động thực vật RNM, bên cạnh nấm và các sinh vật phân hủy khác, khi những sinh vật này chỉ có thể phát triển tốt trong điều kiện môi trường có sẵn oxy tự do. Đại đa số vi khuẩn dị dưỡng ở đất RNM và trong lá đang phân hủy có hình que, có khả năng di

động và số vi khuẩn Gram âm (-) chiếm tỷ lệ tương đối lớn (Nguyễn Thị Thu Hà *et al*., 2002b). Phần lớn chúng là vi khuẩn chịu mặn và ưa ấm. Nhiệt độ sinh trưởng tối ưu từ 22-37^{o}C, khi độ mặn trong môi trường nuôi cấy lên đến 5% thì đa số các chủng bị ức chế sinh trưởng (Đinh Quang Dũng & Lê Thị Xinh, 2002).

CHƯƠNG 2: PHƯƠNG TIỆN VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 VẬT LIỆU VÀ DỤNG CỤ THÍ NGHIỆM

2.1.1 Vật liệu thí nghiệm

- Nước được lấy từ vòi, để một đêm, đun sôi và trữ lại trong thùng có nắp đậy kín. Thùng chứa và nắp được rữa sạch trước đó và để khô. Tráng thùng và nắp 3 lần bằng nước sôi trước khi trữ nước.

- Lá đước vàng, còn trên cây, được hái cho vào bịt ny lon sạch và mang về phòng thí nghiệm trong vòng 12 giờ. Lá được cắt bỏ phần cuống và rửa nhẹ dưới vòi nước để loại bỏ bụi và vật bám trên bề mặt lá, sau đó tráng lại bằng nước đun sôi để nguội. Để lá ráo nước trong điều kiện phòng.

- Nước biển được mang về từ hệ thống tôm - rừng ở Vĩnh Châu – Sóc Trăng.

- Thức ăn CP 40% prôtêin được sử dụng làm nguồn cung cấp đạm cho nước ngâm ủ lá đước.

2.1.2 Dụng cụ thí nghiệm

- Chậu sứ dùng để ngâm ủ lá đước có dung tích 10 lít. Châu được rửa sạch, úp xuống cho khô nước. Trước khi bố trí thí nghiệm, các chậu được tráng 3 lần bằng nước sôi và thấm khô nước bằng giấy thấm đã tiệt trùng. Dán nhãn các chậu để phân biệt các nghiệm thức.

- Hệ thống sục khí được phân bố vào từng chậu. Các viên sục khí cũng được tiệt trùng trước khi cho vào các chậu.

2.2 BỐ TRÍ THÍ NGHIỆM

2.2.1 Thời gian và địa điểm thí nghiệm

- *Thời gian thí nghiệm*

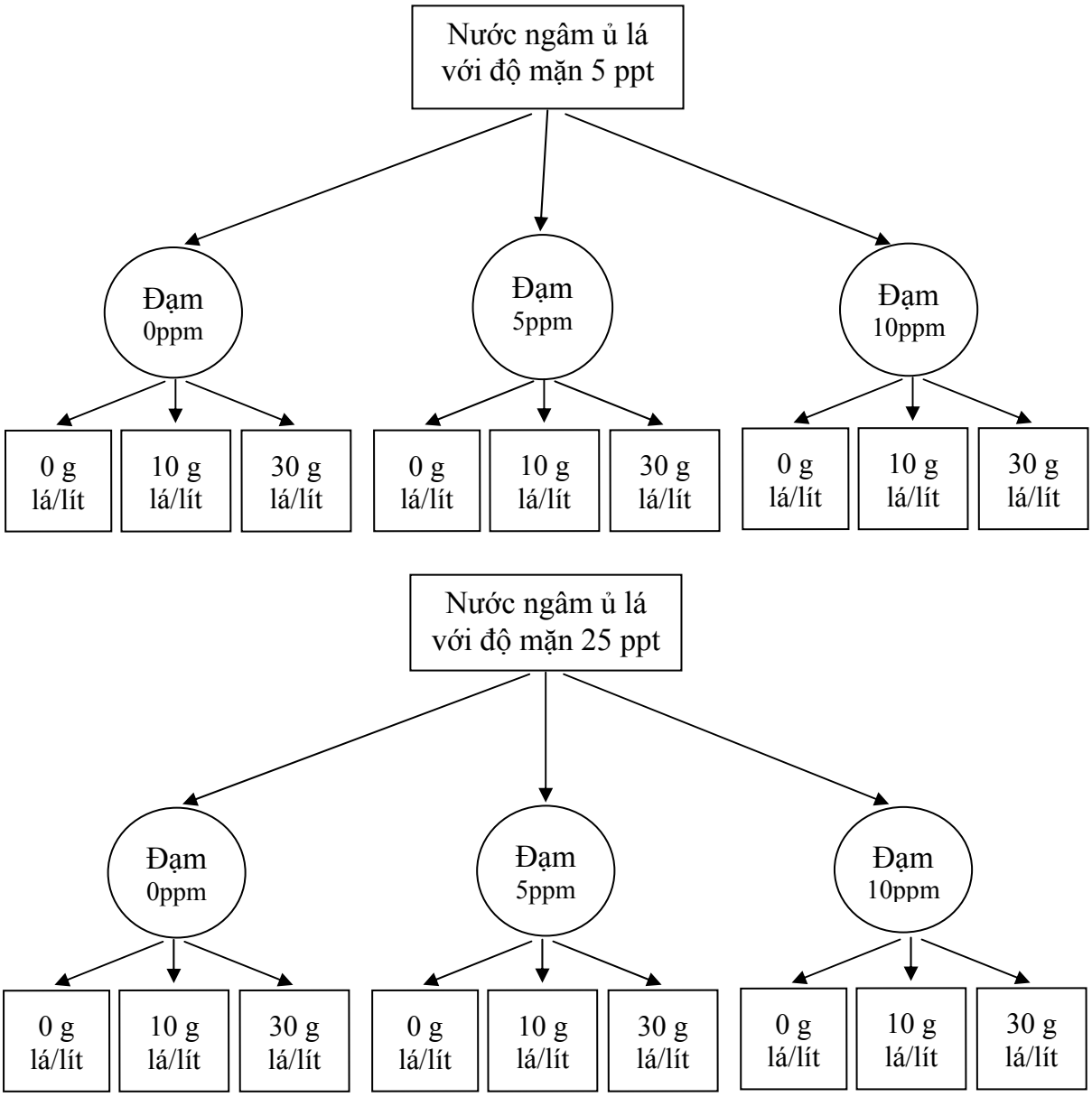
Thí nghiệm được bố trí trong thời gian từ 01/06/2006 đến 20/12/2006.

- *Địa điểm thí nghiệm*

Thí nghiệm được bố trí ở phòng thí nghiệm Bộ môn Môi trường và Quản lý Tài nguyên Thiên nhiên, Đại học Cần Thơ. Khu vực thí nghiệm được che một tấm vải ở trên để hạn chế bụi rơi vào các chậu thí nghiệm.

2.2.2 Phương pháp bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm được bố trí theo kiểu thừa số 3 nhân tố hoàn toàn ngẫu nhiên 3 lần lặp lại. Ba nhân tố trong thí nghiệm là độ mặn, nồng độ đạm và lượng lá ngâm ủ (Hình 1; Hình 2).



Hình 1: Sơ đồ bố trí các nghiệm thức

Hình 2: Khu vực bố trí thí nghiệm

-Độ mặn

Hai mức độ mặn là 5 ppt và 25 ppt được khảo sát. Độ mặn của nước biển được kiểm tra bằng máy piONneer 30. Sau đó thêm nước đun sôi để nguội vào cho đến khi đạt được độ mặn 5 ppt và 25 ppt. Nước biển sau khi pha được được phân bố vào các nghiệm thức với dung tích cho mỗi chậu là 5 lít.

- Nồng độ đạm

Ba mức độ đạm thí nghiệm là 0 ppm, 5 ppm và 10 ppm. Các nồng độ đạm này được cung cấp từ thức ăn CP có hàm lượng protein thô chiếm 40% (đạm chiếm 6,25%), 1 số chỉ tiêu hóa học khác trong thức ăn CP như hàm lượng lipid thô: 6-8%; hàm lượng tro: 14%; hàm lượng xơ thô: 3%; hàm lượng canxi: 2,3%; hàm lượng NaCl: 2,5% và 1 số chất khác. Thức ăn CP chỉ cho vào các nghiệm thức có nồng độ đạm 5ppm và 10ppm.

- Lượng lá được dùng ngâm ủ

Ba mức độ lá được bố trí là 0 g/lít, 10g/lít và 30 g/lít.

Bảng 3: Lượng lá được cho vào các nghiệm thức tương ứng với các mức độ lá ngâm ủ trong thí nghiệm

Hàm lượng lá thí nghiệm	Lượng lá	Đơn vị
0 g/lít	0	g/chậu
10 g/lít	50	g/chậu
30 g/lít	150	g/chậu

- Tổng số nghiệm thức có 2 * 3 * 3 = 18 nghiệm thức.

- Sau khi để lá vào từng chậu, cho hệ thống sục khí hoạt động.

- Bố trí thêm 12 nghiệm thức có lá dành riêng cho việc thu mẫu lá đem sấy và tính trọng lượng khô.

- Thí nghiệm được lặp lại 3 lần.

- Sau khi bố trí thí nghiệm, các chỉ tiêu t^o, pH, DO, độ mặn được đo và ghi nhận hàng ngày. Các nghiệm thức được thêm nước mỗi ngày để duy trì độ mặn như ban đầu.

2.3 THU MẪU

- Mẫu lá và mẫu nước được thu lần đầu trước khi cho lá vào chậu.

- Sau đó, mẫu được thu vào mỗi buổi sáng hàng tuần.

2.3.1 Thu mẫu lá

- Mẫu lá để phân tích vi sinh vật

Dùng kẹp dài 18 cm đã tiệt trùng lấy ngẫu nhiên một lá ở mỗi chậu có lá. Lấy lá lên khỏi mặt nước, chờ một thời gian cho nước trên lá nhỏ xuống chậu (khoảng 1 phút). Sau đó nhẹ nhàng cho lá vào bịt ny lon mới và sạch. Sau mỗi lần lấy mẫu lá, kẹp được làm sạch bằng giấy thấm, tiếp theo là sát trùng bằng cồn và lau lại bằng giấy thấm rồi mới thu mẫu lá ở chậu tiếp theo.

Thời gian cho nước trên mỗi mẫu lá nhỏ xuống chậu là như nhau. Các mẫu lá thu được đem cân, trừ đi trọng lượng bịt ny lon ta được trọng lượng tươi của mẫu phân tích vi sinh (mẫu nghiền).

- Mẫu lá để sấy

Mẫu lá sấy được thu ở 12 chậu bố trí thêm để lấy mẫu sấy. Thao tác thu mẫu lá sấy cũng giống như thu mẫu lá phân tích vi sinh. Mẫu lá sấy được cho vào bao giấy, sau đó đem cân và trừ đi trọng lượng bao giấy ta được trọng lượng tươi của mẫu sấy ở mỗi nghiệm thức.

- Xử lý mẫu sấy

Chuyển tất cả mẫu cần sấy vào tủ sấy liên tục trong 24 giờ ở 105^{o}C để xác định trong lượng khô của mẫu (Houba *et al*., 1995). Mẫu lấy ra khỏi tủ sấy được cho vào bình hút ẩm, sau 1.5 giờ thì cân và trừ đi trọng lượng của bao giấy sau khi sấy sẽ được trọng lượng khô của mẫu sấy ở mỗi nghiệm thức. Trọng lượng khô của mẫu nghiền được tính từ trọng lượng khô của mẫu sấy ở nghiệm thức tương ứng.

2.3.2 Thu mẫu nước

- Mẫu nước để phân tích vi sinh

Chai chứa mẫu nước để phân tích vi sinh phải được khử trùng nhiệt ướt trước một ngày để nguội. Nắp mỗi chai có dán nhãn ký hiệu mẫu. Mang bao tay sạch để thu mẫu. Mở nắp chai, nhúng chai thu mẫu vào chậu để lấy nước ở 3 vị trí khác nhau ở độ sâu khoảng 3 - 4 cm. Sau đó dùng nắp đậy kín chai chứa mẫu vừa thu. Thay bao tay và tiếp tục thu mẫu tiếp theo. Mẫu nước được thu sau mẫu lá, thể tích mẫu nước lấy ở mỗi chậu khoảng 50 - 60 ml.

- Mẫu nước để phân tích tổng đạm (TN), tổng lân (TP)

Mẫu nước phân tích TN, TP được lấy sau khi thu mẫu nước cho phân tích vi sinh nhưng thao tác thu mẫu thì tương tự. Thể tích mẫu nước lấy ở mỗi chậu khoảng 90-100 ml.

2.4 VẬT LIỆU VÀ THIẾT BỊ PHÂN TÍCH MẪU

Vật liệu thí nghiệm, các hóa chất và dụng cụ được sử dụng để tiến hành thí nghiệm được trình bày chi tiết ở bảng 4.

Bảng 4: Vật liệu, hóa chất, thiết bị, dụng cụ phân tích mẫu

Chỉ tiêu phân tích	Vật liệu / Hóa chất	Thiết bị / Dụng cụ
Mật số vi khuẩn dị dưỡng	Nước muối sinh lý 8,5‰ Nước cất. Môi trường R2A agar. Dầu khoáng.	Tủ sấy Nồi Autoclave Tủ cấy Tủ ủ vi sinh vật Kính nhìn nổi Cối chày sứ Kéo, Kẹp Đĩa petri, Ống nghiệm Một số dụng cụ thủy tinh khác
Đặc tính vi khuẩn dị dưỡng	Phẩm nhuộm crystalviolet. Dung dịch iod. Dung dịch cồn và aceton. Dung dịch fuchsin.	Kính hiển vi. Thị kính có thước trắc vi. Lam, lame. Các dụng cụ khác.
Định tính vi khuẩn sử dụng tinh bột	Môi trường Marine agar Tinh bột tan. Vi khuẩn dị dưỡng của mẫu lá và mẫu nước.	Tủ cấy. Các thiết bị khác.
Định tính vi khuẩn phân hủy cellulose	Môi trường cellulose-Congo red agar. Vi khuẩn dị dưỡng của mẫu lá và mẫu nước.	Tủ cấy. Các thiết bị khác.
Định tính vi khuẩn nitrat hóa	Môi trường phân lập nhóm vi khuẩn nitrat hóa. Vi khuẩn dị dưỡng của mẫu lá và mẫu nước.	Tủ cấy. Một số dụng cụ thủy tinh khác.
Xác định nhóm vi khuẩn tạo bào tử	Môi trường R2A agar. Vi khuẩn dị dưỡng của mẫu lá và mẫu nước.	Tủ ủ. Các thiết bị khác.
Đạm tổng	H_2SO_4 Hỗn hợp Se-$CuSO_4$ Dung dịch H_3PO_3 Dung dịch NaOH Chỉ thị Tasiro	Bộ chưng cất Kjeldahl Một số dụng cụ khác
Lân tổng	Dung dịch chuẩn PO_4	Máy so màu U-2800 UV/VIS Một số dụng cụ khác

2.5 PHƯƠNG PHÁP PHÂN TÍCH VI SINH

2.5.1 Chuẩn bị môi trường cấy vi khuẩn dị dưỡng

- Môi trường được sử dụng để đếm mật số vi khuẩn dị dưỡng là môi trường R2A agar. Môi trường này cho phép khả năng phát hiện mật số vi khuẩn cao hơn so với các môi trường agar khác (Reasoner & Geldreich, 1985). Thành phần của môi trường R2A agar được trình bày ở bảng 5.

Bảng 5: Công thức môi trường R2A agar (Reasoner và Geldreich, 1985)

Thành phần	Số lượng	Đơn vị
Yeast extract	500	mg
Polypeptone	500	mg
Casamino acids	500	mg
Glucose	500	mg
Soluble starch	500	mg
Dipotassium hydrogen phosphate	300	mg
Magnesium sulphate heptahydrate	50	mg
Sodium pyruvate	300	mg
Agar	12	g
Nước cất	1000	ml

- Điều chỉnh pH môi trường về khoảng 7.2. Môi trường được khử trùng nhiệt ướt ở 121^0C bằng nồi Autoclave khoảng 15 phút. Chờ hỗn hợp agar giảm nhiệt độ còn khoảng 40-45^0C, cho thêm vào Cyclohexamide 100 mg/lít để hạn chế sự phát triển của nấm, lắc đều và phân phối vào đĩa petri đã sấy tiệt trùng thể tích khoảng 15-20 ml/đĩa. Để đĩa môi trường nguội và đặc, lật ngược đĩa và cất vào bịt ny long kín.

- Môi trường R2A agar được chuẩn bị trước khi sử dụng một ngày.

2.5.2 Lựa chọn phương pháp xác định mật số vi khuẩn dị dưỡng

- Sự hiện diện của vi sinh vật có thể được định lượng bằng nhiều phương pháp khác nhau như đếm số lượng tế bào trực tiếp trên kính hiển vi, định lượng gián tiếp thông qua mức độ cản ánh sang (độ đục), đếm số khuẩn lạc mọc trên một môi trường nhất định, định lượng một cách thống kê bằng phương pháp số khả hữu (phương pháp MPN) (Trần Linh Thước, 2002).

- Ở đây chúng tôi chọn phương pháp đếm sống. Phương pháp này cho phép xác định số lượng tế bào vi sinh vật còn sống hiện diện trong mẫu. Tế bào sống là tế bào có khả năng phân chia tạo thành khuẩn lạc trên môi trường. Do vậy phương pháp này có tên gọi là phương pháp đếm khuẩn lạc (colony count) hay đếm đĩa (plate count). Trong phương pháp đếm sống, cần thực hiện pha loãng mẫu thành nhiều độ pha loãng bậc 10

liên tiếp sao cho có độ pha loãng với mật độ tế bào thích hợp để xuất hiện các khuẩn lạc riêng lẻ trên bề mặt thạch với số lượng đủ lớn để hạn chế sai số khi đếm và tính toán. Mật số tế bào quá lớn làm các khuẩn lạc chồng chéo lên nhau.

Số lượng khuẩn lạc xuất hiện trên đĩa phụ thuộc vào lượng mẫu sử dụng, môi trường và điều kiện ủ. Các tế bào trên đĩa không tăng trưởng và hình thành khuẩn lạc với tốc độ như nhau, do vậy nhiều tế bào chưa kịp hình thành khuẩn lạc nếu thời gian ủ không đủ dài. Thông thường các đĩa sau khi ủ cần có số khuẩn lạc xuất hiện từ 20-200 khuẩn lạc/đĩa. Kết quả đếm và mật độ tế bào thường được trình bày bằng số đơn vị hình thành khuẩn lạc CFU/ml thay vì số tế bào/ml (Trần Linh Thước, 2002).

- Phương pháp đếm khuẩn lạc cho phép định lượng vi sinh vật ở mật độ thấp trong mẫu, cũng là phương pháp tốt nhất để xác định mật độ tế bào sống nên được sử dụng rộng rãi trong việc xác định mật số vi sinh vật trong các loại mẫu cần kiểm nghiệm (Trần Linh Thước, 2002).

2.5.3 Xác định mật số vi khuẩn dị dưỡng trong mẫu nước ngâm ủ lá đước

- *Pha loãng mẫu theo dãy thập phân*

Mẫu nước được pha loãng tuần tự thành dãy các nồng độ thập phân 1/10, 1/100, 1/1000…. Mỗi bậc pha loãng là 1/10 được thực hiện bằng cách dùng pipetman với đầu tip vô trùng chuyển 1 ml dịch mẫu vào ống nghiệm chứa 9 ml nước cất vô trùng. Trộn mẫu trong ống nghiệm cho đồng nhất bằng máy rung. Dung dịch mẫu này có độ pha loãng là 10^{-1}. Sau đó, sử dụng pipetman với đầu tip vô trùng khác chuyển 1 ml dịch mẫu này vào ống nghiệm thứ 2 chứa 9 ml nước cất vô trùng và thao tác tương tự để có dịch mẫu với độ pha loãng 10^{-2}. Tiếp tục thực hiện tương tự để có các độ pha loãng thập phân tiếp theo cho đến độ pha loãng 10^{-5}.

- *Cấy mẫu lên môi trường R2A agar*

Đĩa petri chứa môi trường R2A agar được chia thành 4 phần bằng nhau. Một nồng độ pha loãng của mẫu sẽ được cấy vào 1/4 đĩa môi trường. Một đĩa môi trường sẽ cấy được 4 nồng độ pha loãng của mẫu.

Chọn 4 độ pha loãng liên tiếp dự kiến chứa không quá 100 tế bào vi khuẩn trong 5 µl dịch mẫu để cấy lên đĩa môi trường R2A agar. Dùng micropipette với đầu tip vô trùng chuyển 5 µl dịch mẫu pha loãng đã chọn vào đĩa petri. Mỗi 1/4 đĩa môi trường có thể chứa 6 giọt (5 µl/giọt) tương ứng với 6 lần lặp lại của 1 độ pha loãng của 1 mẫu. Mỗi mẫu được cấy vào 2 đĩa, 1 đĩa ủ ở điều kiện hiếu khí và 1 đĩa ủ ở điều kiện kỵ khí (Hình 3).

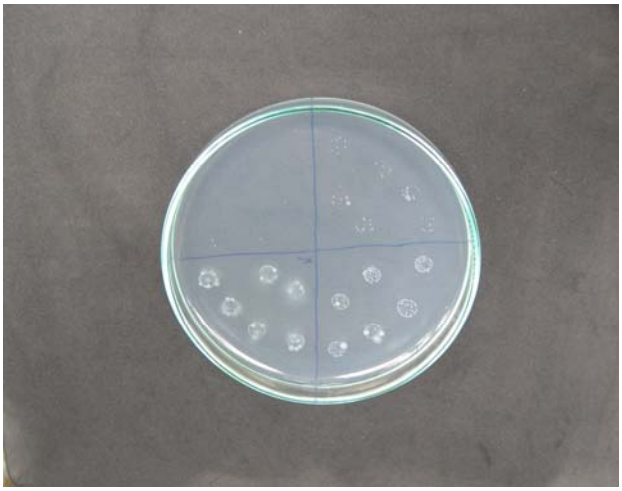
Hình 3: Cấy dịch mẫu lên môi trường R2A agar

Chờ cho dịch mẫu khô, lật ngược đĩa và ủ trong tủ ủ ở nhiệt độ 30^0C.

Để xác định mật số vi khuẩn phân hủy lá đước trong điều kiện ủ kỵ khí, trước khi ủ, cho vào đĩa có chứa dịch mẫu đã khô 16 ml dầu khoáng đã khử trùng và để nguội.

- *Tính mật số vi khuẩn dị dưỡng*

Đếm và ghi nhận các khuẩn lạc xuất hiện ở mỗi giọt mẫu trên đĩa môi trường sau khi ủ hiếu khí và kỵ khí trong 40 giờ (Hình 4).



Hình 4: Khuẩn lạc phát triển trên môi trường R2A agar ở các dịch mẫu pha loãng khác nhau

Mật số vi khuẩn được tính bằng số CFU (colony form unit) trong 1 ml mẫu theo công thức:

$$Y = x * 200 * 10^a$$

Trong đó:

- Y: số CFU trong 1 ml mẫu nước.
- x: trng bình CFU trong 5 µl dung dịch mẫu đã pha loãng.
- 10^a: số lần pha loãng mẫu.

2.5.4 Xác định mật số vi khuẩn dị dưỡng trên mẫu lá đước phân hủy

- Trước khi tiến hành phân tích, thực hiện việc đồng nhất mẫu như sau

Mẫu lá đước được cắt nhỏ bằng kéo và nghiền nhuyễn bằng cối chày sứ với 25 ml nước muối sinh lý 8,5‰ để thu lấy nước trích từ lá đước ngâm ủ. Dung dịch mẫu nước trích thu được có độ pha loãng là 10^0. Tất cả các dụng cụ như kéo, cối chày sứ, các dụng cụ có liên quan và nước muối sinh lý đều phải được tiệt trùng trước đó. Sau mỗi lần cắt mẫu lá, kéo được sát trùng bằng cồn rồi mới cắt mẫu lá tiếp theo.

- Dịch mẫu đồng nhất được pha loãng theo dãy thập phân, tiếp tục cấy lên đĩa môi trường R2A agar, sau đó ủ ở điều kiện hiếu khí và kỵ khí tương tự như đối với mẫu nước ngâm ủ lá đước.

- Mật số vi khuẩn dị dưỡng trên mẫu lá đước phân hủy được tính bằng số CFU trong 1 gam trọng lượng khô của mẫu đã nghiền theo công thức:

$$Y = \frac{x * 200 * 10^a * b}{W}$$

Trong đó:

- Y: số CFU trong 1 g trọng lượng khô của mẫu lá.
- x: trung bình CFU trong 5 µl dung dịch mẫu đã pha loãng.
- 10^a: số lần pha loãng mẫu.
- b: thể tích nước muối nghiền mẫu lá (25ml).
- W: trọng lượng khô của mẫu đem nghiền.

2.5.5 Xác định đặc tính vi khuẩn

- Trữ các khuẩn lạc vi khuẩn (của mẫu lá đước phân huỷ và mẫu nước ủ lá) vào ống nghiệm. Quan sát hình dạng vi khuẩn trên kính hiển vi quang học. Kích thước vi khuẩn được đo bằng kính hiển vi (Nguyễn Hữu Hiệp & Cao Ngọc Điệp, 2002).

- Xác định Gram của vi khuẩn bằng phương pháp nhuộm theo Christian Gram (Đan Mạch) đề xướng năm 1884 (Nguyễn Thành Đạt & Mai Thị Hằng, 2001).

- Mục đích của việc nhuộm Gram nhằm giúp ta xác định được mẫu vật nghiên cứu là G^- hay G^+.

Các giai đoạn nhuộm Gram được trình bày tóm tắt ở bảng 6.

Bảng 6: Tóm tắt các giai đoạn của phương pháp nhuộm Gram

Giai đoạn	G^+	G^-
1. Crystal violet	Tế bào nhuộm tím xanh	Tế bào nhuộm tím xanh
2. Dung dịch iod	Iod dán crystal violet vào vách tế bào	Crystal violet vẫn không bám chặt vào vách tế bào.
3. Rửa bằng cồn + aceton	Không tẩy được Crystal violet	Tẩy Crystal violet ra khỏi vách tế bào
4. Fuchsin	Vách tế bào còn Crystal violet nên có màu tím xanh.	Vách tế bào không còn Crystal violet nên có màu hồng của fuchsin.

2.5.6 Định tính vi khuẩn sử dụng tinh bột

Vi khuẩn sử dụng tinh bột có khả năng tạo ra enzym amylase.

Theo Mahasneh (2002), môi trường Marine agar với 2% (w/v) tinh bột được dùng để tìm ra nhóm vi khuẩn tạo enzym amylase. Các vi khuẩn từ khuẩn lạc trên môi trường R2A agar nếu phát triển được trên môi trường Marine agar với 2% tinh bột được xem là nhóm có khả năng sử dụng tinh bột. Thành phần của môi trường Marine agar được thể hiện ở bảng 7.

Bảng 7: Thành phần môi trường Marine agar (Atlas, 1995)

Hóa chất	Đơn vị	Khối lượng (trong 1 lít môi trường)
NaCl	g	19.45
Agar	g	15.0
$MgCl_2$	g	8.8
Peptone	g	5.0
Na_2SO_3	g	3.24
$CaCl_2$	g	1.8
Yeast extract	g	1.0
KCl	g	0.55
$NaHCO_3$	g	0.16
Ferric citrate	g	0.1
KBr	g	0.08
$SrCl_2$	g	0.03
H_3BO_3	g	0.02
Na_2HPO_4	mg	8.0
Na_2SiO_3	mg	4.0
NaF	mg	2.4
NH_4NO_3	mg	1.6

pH 7.6 ± 0.2

2.5.7 Xác định nhóm vi khuẩn sử dụng cellulose

- Môi trường được sử dụng để xác định nhóm vi khuẩn sử dụng cellulose là Cellulose-Congo red agar (Hendricks *et al*., 1995). Thành phần môi trường Cellulose-Congo red agar được thể hiện ở bảng 8.

Bảng 8: Thành phần môi trường Cellulose-Congo red agar (Hendricks et al., 1995)

Thành phần	Số lượng	Đơn vị
K_2HPO_4	0.50	g
$MgSO_4$	0.25	g
Cellulose powder	1.88	g
Congo red	0.20	g
Noble agar	5.00	g
Gelatin	2.00	g
Tap water	1000	ml

Hỗn hợp các thành phần (trừ agar và gelatin) được hòa tan trong nước, dùng NaOH 1.0 N để chỉnh pH của môi trường về 7.0. Sau đó cho thêm vào agar và gelatin rồi đem khử trùng nhiệt ướt ở 121^0C trong 20 phút.

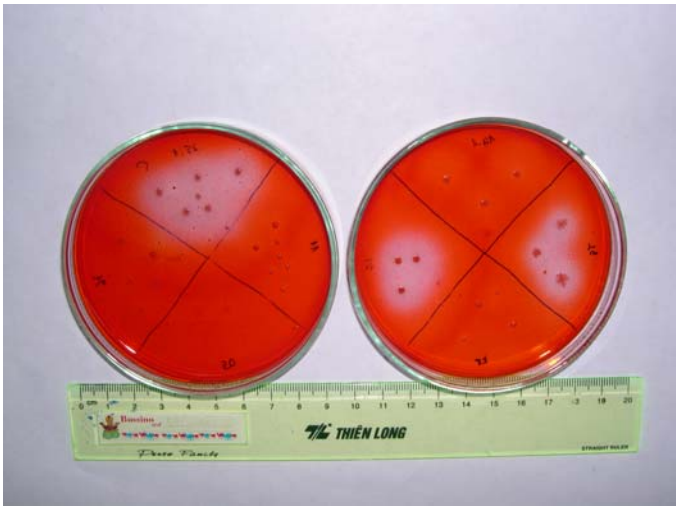
Dung dịch môi trường sau khi làm nguội đươc bổ sung chất kháng nấm Cyclohexamide 100 mg/lít và phân phối vào đĩa petri đã được tiệt trùng.

- Nguồn vi khuẩn sử dụng là vi khuẩn dị dưỡng được lấy khi chúng phát triển trên môi trường R2A agar. Các vi khuẩn này được nuôi cấy lại trước khi xác định khả năng sử dụng cellulose.

- Cấy vi khuẩn dị dưỡng lên môi trường Cellulose-Congo red agar. Ủ trong 7 ngày ở điều kiện nhiệt độ 25^0C.

- Trên nền môi trường màu đỏ, vi khuẩn sử dụng cellulose được nhận biết bởi vùng màu trắng xung quanh khuẩn lạc (Hình 5).

- Tỉ lệ vi khuẩn sử dụng cellulose được tính dựa vào tỉ lệ các dạng khuẩn lạc được ghi nhận trước đó.



Hình 5: Vùng trắng xung quanh khuẩn lạc của vi khuẩn có khả năng phân hủy cellulose trên môi trường Cellulose-Congo red agar

2.5.8 Định tính nhóm vi khuẩn nitrat hóa

Bảng 9: Môi trường nuôi cấy vi khuẩn nitrat hóa (Page *et al*., 1982)

Hóa chất	Nồng độ dung dịch ban đầu	Thể tích dung dịch ban đầu cho 1 lít môi trường	
		Nhóm nitrit hóa	Nhóm nitrat hóa
	g/100ml	ml	
$(NH_4)_2SO_4$	5.0	10.0	--
KNO_2	0.85	--	1.0
$CaCl_2.2H_2O$	1.34	1.0	1.0
$MgSO_4.7H_2O$	4.0	1.0	5.0
Bromothymol blue	0.04	5.0	--
K_2HPO_4	3.48	--	4.0
KH_2PO_4	2.72	7.5	1.0
Chelated iron		1.0	1.0
$FeSO_4.7H_2O$	0.246		
EDTA disodium	0.331		
Trace elements		1.0	1.0
$NaMoO_4.2H_2O$	0.01		
$MnCl_2$	0.02		
$CoCl_2.6H_2O$	0.0002		
$ZnSO_4.7H_2O$	0.01		
$CuSO_4.5H_2O$	0.002		

$CaCl_2.2H_2O$ và $MgSO_4.7H_2O$ khử trùng riêng sau đó cho vào môi trường trong điều kiện vô trùng.

Môi trường lỏng riêng biệt dành cho nhóm nitrit hóa và nhóm nitrat hóa được chuẩn bị vào các ống nghiệm và tiệt trùng để nguội.

Chủng vi khuẩn từ các khuẩn lạc vào 2 loại môi trường trên. Ủ trong tối 30 ngày, sau đó cấy trở lại lên môi trường đặc. Sự phát triển của các khuẩn lạc chứng tỏ nhóm vi khuẩn đó vẫn sống được trong môi trường phân lập và đó là nhóm vi khuẩn nitrat hóa.

2.5.9 Xác định nhóm vi khuẩn có khả năng tạo bào tử

Vi khuẩn từ các khuẩn lạc được chủng vào môi trường R2A lỏng và ủ ở nhiệt độ 80^{o}C trong thời gian 20 phút (Mahasneh, 2002). Sau đó cấy trở lại lên môi trường R2A agar. Nhóm vi khuẩn vẫn phát triển bình thường chính là nhóm tạo được bào tử.

2.6 PHƯƠNG PHÁP XÁC ĐỊNH CÁC CHỈ TIÊU HÓA HỌC TRONG MÔI TRƯỜNG NƯỚC NGÂM Ủ LÁ ĐƯỚC

2.6.1 pH

Đo bằng máy piONneer 10

2.6.2 Nhiệt độ, DO, độ mặn

Đo bằng máy piONneer 30

2.6.3 Tổng đạm

Tổng đạm được phân tích bằng phương pháp Kjeldahl. Phương pháp này dựa trên nguyên tắc dùng H_2SO_4 đậm đặc đun nóng để oxy hóa hoàn toàn các dạng đạm hữu cơ và vô cơ có trong mẫu thành dạng đạm ammonium (Standard Methods, 2000).

2.6.4 Tổng lân

Tổng lân được phân tích theo phương pháp Ascorbic acid. Quy trình công phá mẫu bằng persulfate trong môi trường acid để chuyển tất cả các hợp chất của phosphate thành orthophosphate (Standard Methods, 2000).

2.6.5 BOD_5

Đo bằng thiết bị WTW TS 606-G/2.

2.7 XỬ LÝ SỐ LIỆU

Sử dụng phần mềm Excel để vẽ đồ thị và phần mềm SPSS 10.0 được sử dụng để xử lý số liệu. Phép thử Duncan được dùng để kiểm tra mức độ khác biệt giữa các nghiệm thức ở độ ý nghĩa 5%.

CHƯƠNG 3: KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 MẬT SỐ VI KHUẨN PHÂN HỦY LÁ ĐƯỚC

3.1.1 Vi khuẩn hiếu khí và vi khuẩn kỵ khí

Dựa vào nhu cầu oxy vi khuẩn được phân thành nhóm vi khuẩn hiếu khí hay vi khuẩn kỵ khí. Kết quả thí nghiệm cho thấy nhóm vi khuẩn hiếu khí luôn chiếm tỷ lệ cao hơn nhóm vi khuẩn kỵ khí (Bảng 10). Trong đó nhóm vi khuẩn hiếu khí và kỵ khí bám trên lá có mật số trung bình lần lượt là $4,7x10^8$ CFU/gDW và $1,8x10^8$ CFU/gDW, nhóm vi khuẩn hiếu khí và kỵ khí trong nước ngâm ủ có mật số trung bình lần lượt là $8,5x10^4$ CFU/ml và $2,0 \times 10^4$ CFU/ml. Nhóm vi khuẩn kỵ khí có số lượng cao là do đa số vi khuẩn sống trong các thủy vực thuộc nhóm kỵ khí không bắt buộc, điều này đặc biệt đúng đối với vi khuẩn sống trong nước lợ cũng như trong nước biển. Vi khuẩn kỵ khí không bắt buộc trong thủy vực sống được trong cả 2 điều kiện có oxy và không có oxy nhưng khi có oxy thì chúng phát triển mạnh hơn (Nguyễn Đức Lượng & Nguyễn Thị Thùy Dương, 2003).

Bảng 10: Trung bình mật số vi khuẩn hiếu khí và kỵ khí trên lá (CFU/gDW) và trong nước ngâm ủ lá đước (CFU/ml)

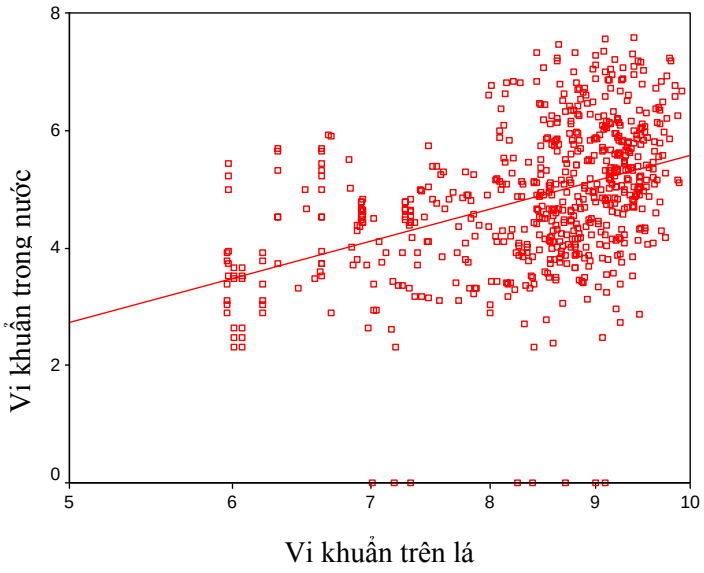
Nhóm vi khuẩn	Hiếu khí	Kỵ khí	Trung bình	CV %
Vi khuẩn trên lá	$4,7 \times 10^8$	$1,8 \times 10^8$	$2,9 \times 10^8$	5,6
Vi khuẩn trong nước	$8,5 \times 10^4$	$2,0 \times 10^4$	$4,1 \times 10^4$	18,0

Trong 56 ngày phân hủy lá đước, mật số vi khuẩn hiếu khí trên lá là $4,7 \times 10^8$ CFU/gDW cao hơn mật số vi khuẩn kỵ khí trên lá ($1,8 \times 10^8$ CFU/gDW) khoảng 2.6 lần. Trong khi đó mật số vi khuẩn hiếu khí trong môi trường nước ngâm ủ là 8.5×10^4 CFU/ml nhiều hơn mật số vi khuẩn kỵ khí trong nước ($2,0 \times 10^4$ CFU/ml) khoảng 4.3 lần. Như vậy tỷ lệ nhóm vi khuẩn kỵ khí trên lá phân hủy cao hơn so với trong nước ngâm ủ. Bùi Thị Nga *et al*. (2005) cho thấy sự phân hủy của lá tiêu thụ nhiều oxy nên khi lá phân hủy điều kiện kỵ khí có thể cao hơn so với trong môi trường nước, vì vậy vi khuẩn bám trên lá phân hủy thuộc nhóm kỵ khí nhiều hơn vi khuẩn sống trong nước.

3.1.2 Vi khuẩn bám trên lá đước phân hủy và vi khuẩn trong môi trường nước ngâm ủ

Theo Kiều Hữu Ánh & Ngô Tự Thành (1985), vi khuẩn trong các nguồn nước có thể sống tự do trong nước hoặc bám vào các cơ chất rắn trong thủy vực. Tuy nhiên phần lớn vi khuẩn lại có xu hướng sống bám trên những hạt phù sa đủ chất dinh dưỡng, bởi vì ở đó chúng có điều kiện dinh dưỡng thuận lợi hơn so với ở trong nước (Trần Cẩm Vân, 2001).

Kết quả Bảng 10 cho thấy vi khuẩn bám trên lá có mật số trung bình khoảng 2,9x10^8 CFU/gDW, vi khuẩn sống trong nước ngâm ủ có mật số trung bình khoảng 4,1 x 10^4 CFU/ml. Sự phong phú về số lượng vi khuẩn dị dưỡng trên lá là do lá đang phân hủy có hàm lượng chất dinh dưỡng cao, đảm bảo cho nhu cầu phát triển của vi khuẩn (Nguyễn Thị Thu Hà, 2002). Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cũng phù hợp với nghiên cứu của Haglund (2004), tác giả cũng đã tìm thấy vi khuẩn sống bám trên lá phân hủy có mật số nhiều hơn vi khuẩn sống tự do trong nước ngâm ủ. Điều này có thể giải thích là do nguồn dinh dưỡng từ xác thực vật phân hủy thì sẵn sàng để hỗ trợ cho việc sử dụng của vi khuẩn sống bám trên đó. Bùi Thị Nga *et al*. (2005) cho rằng hàm lượng chất hữu cơ trong lá đước rất cao khoảng 70-90% vì vậy nhóm vi khuẩn sống bám trên lá phân hủy có lợi thế về mặt dinh dưỡng nhiều hơn so với vi khuẩn sống tự do trong nước. Sự tập trung về số lượng của vi khuẩn dị dưỡng trên lá cây ngập mặn đang phân hủy làm cho những giá thể này trở thành nguồn thức ăn hấp dẫn cho các thủy sinh vật tại chỗ. Mặc dù bản thân vi khuẩn không phải là loại thức ăn cung cấp năng lượng và nguồn carbon cơ bản cho các sinh vật ăn xác bã thực vật nhưng chúng có thể cung cấp những chất dinh dưỡng cần thiết cho sự phát triển chung của cơ thể sinh vật như acid béo, acid amin, vitamin và các enzym khác. Lá cây mới rụng không thích hợp làm thức ăn cho các sinh vật ăn xác thực vật nhưng khi chúng bị phân hủy, có vi khuẩn bám vào thì có thể được xem là loại thức ăn đảm bảo tương đối đầy đủ các yêu cầu của 1 khẩu phần ăn cho các sinh vật tiêu thụ (Blum *et al*., 1988). Nghiên cứu của Bano *et al*. (1997) chỉ ra rằng vi khuẩn bám vào xác hữu cơ trong quá trình phân hủy làm cho mùn bã hữu cơ có nhiều hàm lượng đạm, lân. Thông qua lưới thức ăn, mùn bã hữu cơ có vi khuẩn bám vào trở nên rất hữu dụng cho hầu hết thủy sinh vật trong khu vực, trong đó có cả những sinh vật ở các mức độ dinh dưỡng cao trong lưới thức ăn, một số loài có giá trị thương mại như cá, tôm…

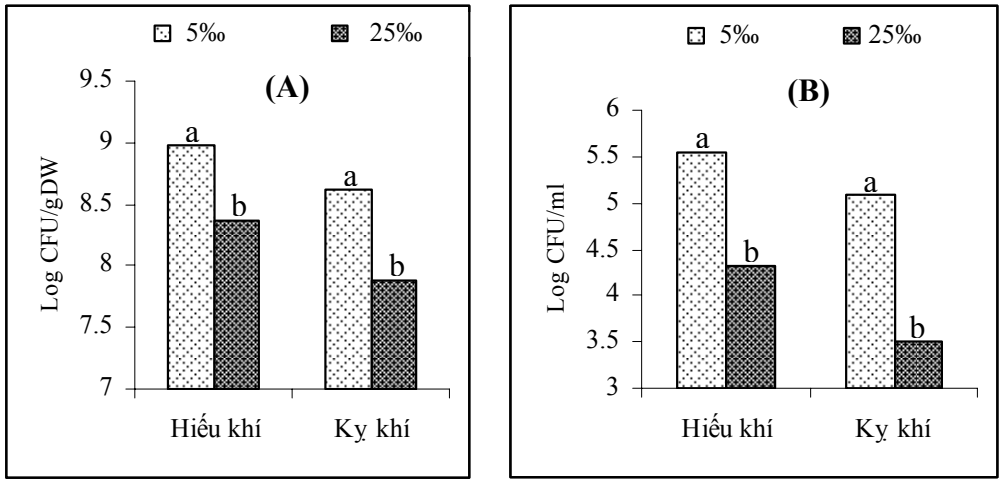


Hình 6: Tương quan giữa mật số vi khuẩn trên lá (CFU/gDW) và vi khuẩn trong nước ngâm ủ lá đước (CFU/ml)

Qua kết quả thí nghiệm chúng tôi tìm thấy sự tương quan giữa mật số vi khuẩn dị dưỡng bám trên lá đước phân hủy với mật số vi khuẩn dị dưỡng trong môi trường ngâm ủ lá đước (r = 0,42; P <0,01; N = 648) (Hình 6). Kết quả này cũng giống với nghiên cứu của Mahasneh (2002) về sự tương quan giữa mật số vi khuẩn dị dưỡng trên lá và trong nước phân hủy lá mắm.

3.1.3 Ảnh hưởng của độ mặn đến vi khuẩn dị dưỡng trong môi trường phân hủy lá đước

Ở độ mặn 5‰ mật số vi khuẩn trên lá đước phân hủy cao hơn có ý nghĩa thống kê so với mật số vi khuẩn trên lá đước phân hủy ở độ mặn 25‰ (p<0,01). Kết quả này giống nhau ở cả 2 nhóm vi khuẩn hiếu khí và vi khuẩn kỵ khí. Kết quả tương tự cũng được tìm thấy đối với nhóm vi khuẩn sống trong nước ngâm ủ lá đước. Vi khuẩn trong môi trường nước ngâm ủ ở nồng độ muối 5‰ có số lượng nhiều hơn ở môi trường nước ngâm ủ có nồng độ muối 25‰ (p<0,01) (Hình 7).



Hình 7: Mật số vi khuẩn hiếu khí và kỵ khí trên lá (A) và trong nước (B) ở độ mặn 5‰ và 25‰

Những mẫu tự khác nhau trên mỗi đầu cột biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa (p<0.01).

Kết quả nghiên cứu của Bùi Thị Nga *et al*. (2004a) cho thấy tốc độ phân hủy của lá đước ở độ mặn 5‰ cao hơn tốc độ phân hủy lá đước ở độ mặn 25‰. Kết quả thí nghiệm chúng tôi tìm thấy mật số vi khuẩn phân hủy lá đước ở môi trường có độ mặn 5‰ cao hơn so với ở môi trường có độ mặn 25‰, điều này có thể là 1 trong những nguyên nhân giải thích tốc độ phân hủy của lá đước ở độ mặn 5‰ cao hơn so với ở độ mặn 25‰. Vi khuẩn dị dưỡng sống được trong nước biển vì có khả năng thích nghi với điều kiện độ mặn trong nước, chúng cần Na^+ để phát triển vì đây là yếu tố cần thiết để duy trì áp suất thẩm thấu trong tế bào, bảo vệ tế bào được nguyên vẹn (Das *et al*., 2006). Theo Kiều Hữu Ánh & Ngô Tự Thành (1985), vi khuẩn trong thủy vực có thể có nhiều nguồn gốc khác nhau, chúng đến từ các vùng đất hoặc các nguồn nước khác nhau vì vậy khả năng chịu đựng đối với các nồng độ mặn cũng không giống

nhau. Nguyễn Như Thanh *et al*. (1990) cho rằng đa số vi khuẩn thích ứng ở dung dịch có nồng độ muối < 20‰. Tuy nhiên có một số ít vi khuẩn chịu mặn vẫn phát triển được ở nồng độ muối từ 25-30‰ (Mai Thị Hằng & Trần Thị Mỹ Hạnh, 2004). Kiều Hữu Ánh & Ngô Tự Thành (1985) có ghi nhận nồng độ muối tối ưu cho sự phát triển của vi khuẩn trong các vùng ven biển nước lợ ở khoảng 5-20‰, các vi khuẩn nước lợ thường hay bị ức chế sinh trưởng ở các nồng độ muối trên 30‰. Khi hàm lượng muối cao vượt quá mức độ sinh trưởng tối ưu, thời gian phân cắt của một số nhóm vi khuẩn có thể bị kéo dài, trong điều kiện này, vi khuẩn có xu hướng cố gắng tồn tại hơn là phát triển mạnh, đây là ghi nhận của Nguyễn Đức Lượng & Nguyễn Thị Thùy Dương (2003).

3.1.4 Ảnh hưởng của các nồng độ đạm đến vi khuẩn dị dưỡng trong môi trường phân hủy lá đước

Mật số vi khuẩn trên lá đước phân hủy cũng như trong nước ngâm ủ lá đước ở các nồng độ đạm 0ppm, 5ppm và 10ppm khác biệt không có ý nghĩa (Bảng 11).

Bảng 11: Trung bình mật số vi khuẩn hiếu khí và kỵ khí trên lá (CFU/gDW) và trong nước (CFU/ml) ở các nồng độ đạm khác nhau

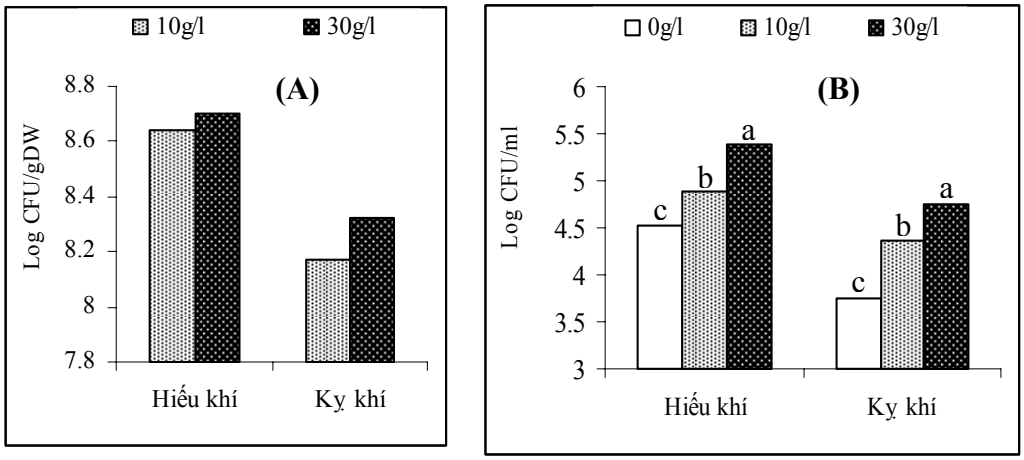
Nhóm vi khuẩn	Nồng độ đạm			CV %
	0ppm	5ppm	10ppm	
Hiếu khí trên lá	$4,2 \times 10^8$	$4,8 \times 10^8$	$5,1 \times 10^8$	11,0
Kỵ khí trên lá	$1,7 \times 10^8$	$1,8 \times 10^8$	$1,8 \times 10^8$	11,6
Hiếu khí trong nước	$9,2 \times 10^4$	$8,5 \times 10^4$	$7,9 \times 10^4$	20,7
Kỵ khí trong nước	$2,1 \times 10^4$	$1,6 \times 10^4$	$2,3 \times 10^4$	33,3

Kết quả từ Bảng 11 cho thấy ở các nồng độ đạm khác nhau vi khuẩn trên lá dao động từ $4,2x10^8 – 5,1x10^8$ CFU/g DW đối với nhóm hiếu khí, từ $1,7x10^8 – 1,8x10^8$ CFU/g DW đối với nhóm kỵ khí. So với vi khuẩn trên lá đước phân hủy, mật số vi khuẩn trong nước ngâm ủ lá đước biến động lớn hơn và dao động từ $7,9x10^4 – 9,2x10^4$ CFU/ml đối với nhóm hiếu khí và từ $1,6x10^4 – 2,3x10^4$ CFU/ml đối với nhóm vi khuẩn kỵ khí. Theo Alavandi (1990), sự phân bố của vi khuẩn trong môi trường phụ thuộc vào sự thay đổi của nhiệt độ nước, độ mặn và một số yếu tố hóa lý. Trong đó nguồn thức ăn của vi khuẩn cũng là nhân tố không kém phần quan trọng ảnh hưởng đến mật số vi khuẩn dị dưỡng trong môi trường nước. Siuda & Chróst (2002) khẳng định rằng các hạt hữu cơ (POM) và hữu cơ hòa tan (DOM) là chất dinh dưỡng được phóng thích từ quá trình phân hủy xác thực vật, đây cũng là nguồn năng lượng có ý nghĩa quan trọng cho vi khuẩn trong thủy vực. DOM phóng thích vào môi trường nhiều thì số lượng vi khuẩn dị dưỡng tăng. Bên cạnh đó, mật số vi khuẩn còn liên

quan đến sự ổn định của các yếu tố trong môi trường nước. Môi trường ít dao động thì vi khuẩn có mật số cao. Các vi khuẩn sống tự do trong nước thường chịu ảnh hưởng của sự biến động các yếu tố môi trường lớn hơn so với vi khuẩn sống bám vào các giá thể trong thủy vực (Haglund, 2004). Do vậy vi khuẩn trong nước ngâm ủ có mật số thấp và ít ổn định hơn vi khuẩn trên lá phân hủy.

3.1.5 Ảnh hưởng của khối lượng lá ngâm ủ đến vi khuẩn dị dưỡng trong môi trường phân hủy lá đước

Ở 2 lượng lá ngâm ủ 10g/L và 30g/L, mật số vi khuẩn hiếu khí cũng như kỵ khí bám trên lá đước khác biệt không có ý nghĩa (Hình 8 (A)).



Hình 8: Mật số vi khuẩn hiếu khí và kỵ khí trên lá (A) và trong nước (B) ở các lượng lá ngâm ủ khác nhau

Những mẫu tự khác nhau trên mỗi đầu cột biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa ($p<0.05$).

Vi khuẩn dị dưỡng trên lá đước phân hủy ở lượng lá ngâm ủ 10g/L và 30g/L có mật số trung bình tính theo hệ số log lần lượt là 8,6 CFU/gDW và 8,7 CFU/gDW đối với nhóm hiếu khí; ở nhóm kỵ khí là 8,2 CFU/gDW và 8,3 CFU/gDW. Theo nghiên cứu của Haglund (2004), có nhiều xác thực vật trong thủy vực sẽ tạo ra nhiều bề mặt cho vi khuẩn bám vào giúp chúng phát triển nhanh và có số lượng cao trong môi trường, đây cũng là nhóm vi khuẩn có tầm quan trọng to lớn đối với sự tuần hoàn carbon của thủy vực. Mặc dù số lượng vi khuẩn dị dưỡng có trong môi trường ngâm ủ ở lượng lá 30g/L nhiều hơn ở lượng lá ngâm ủ 10g/L, nhưng mật số vi khuẩn bám trên bề mặt diện tích lá thì cao hơn không đáng kể.

Ngược lại với nhóm vi khuẩn dị dưỡng bám trên lá đước, số lượng vi khuẩn dị dưỡng hiếu khí, kỵ khí sống trong nước ngâm ủ lá đước ở các khối lượng lá 0g/L, 10g/L và 30g/L rất khác biệt nhau ($p<0,01$). Khối lượng lá đước ngâm ủ nhiều thì vi khuẩn trong nước ngâm ủ có mật số cao (Hình 8 (B)). Vi khuẩn hiếu khí trong nước ngâm ủ lá đước ở các lượng lá 0g/L, 10g/L và 30g/L có mật số trung bình tính theo hệ số log lần lượt là 4,5 CFU/ml; 4,9 CFU/ml và 5,4 CFU/ml; vi khuẩn kỵ khí trong nước ngâm

ủ ở các lượng lá 0g/L, 10g/L và 30g/L có mật số trung bình tính theo hệ số log lần lượt là 3,8 CFU/ml; 4,4 CFU/ml và 4,8 CFU/ml. Mặc dù khả năng tăng trưởng của vi khuẩn trong môi trường nghèo dinh dưỡng khá hiệu quả nhưng trong môi trường ít chất dinh dưỡng, sinh khối và khả năng sản xuất của vi khuẩn được tìm thấy thấp hơn ở môi trường có nhiều chất dinh dưỡng (Rath *et al*., 1993). del Gior & Scarborough (1995) cũng cho rằng tỉ lệ vi khuẩn hoạt động tăng theo nồng độ chất dinh dưỡng, sự cung cấp các dưỡng chất vào môi trường có tầm quan trọng đối với sự phát triển mật số của vi khuẩn trong thủy vực. Bùi Thị Nga *et al*. (2004a) chỉ ra rằng sự phân hủy của lá đước phóng thích lượng đạm và lân đáng kể vào môi trường phân hủy. Kết quả thí nghiệm của chúng tôi cho thấy hàm lượng tổng đạm và tổng lân trong nước của lá đước phân hủy tăng theo hàm lượng của lá đước ngâm ủ (Bảng 12). Kết quả này cũng phù hợp với nghiên cứu của Nguyễn Thị Trang (2002). Do vậy với môi trường nước ngâm ủ có nhiều lá đước, chất dinh dưỡng và chất hữu cơ phóng thích vào môi trường ngâm ủ nhiều hơn vì vậy vi khuẩn dị dưỡng trong môi trường nước ngâm ủ lá đước cũng có mật số cao hơn.

Bảng 12: Trung bình hàm lượng tổng đạm (TN) và tổng lân (TP) trong môi trường ngâm ủ lá đước ở các lượng lá khác nhau

Khối lượng lá ngâm ủ (g/L)	TN (mg/L)	TP (mg/L)
0	2,5 [b]	0,6 [b]
10	2,8 [b]	0,6 [b]
30	3,5 [a]	0,8 [a]
CV%	17,3	10,3

Những giá trị có mẫu tự khác nhau thì khác biệt nhau về mặt thống kê ở mức ý nghĩa 5% theo phép thử Duncan.

Chúng tôi tìm thấy sự tương tác giữa lượng lá ngâm ủ và nồng độ đạm có ảnh hưởng đến số lượng vi khuẩn dị dưỡng trong nước ngâm ủ lá đước. Trung bình mật số vi khuẩn trong nước ngâm ủ ở nghiệm thức có lượng lá 30g/L nhiều hơn so với ở lượng lá 10g/L và thấp nhất là ở nghiệm thức không có ngâm lá. Tuy nhiên ở nồng độ đạm cao (10ppm) thì mật số vi khuẩn trong nước ở nghiệm thức có lượng lá 10g/L và nghiệm thức không có ngâm lá khác biệt không đáng kể, ngược lại ở nghiệm thức có nồng độ đạm thí nghiệm 0ppm và 5ppm thì vi khuẩn có mật số càng cao ở nghiệm thức có lượng lá ngâm ủ càng nhiều (Bảng 13).

Bảng 13: Trung bình mật số vi khuẩn trong nước ngâm ủ lá đước (CFU/ml) ở các nồng độ đạm và khối lượng lá ngâm ủ khác nhau

Nồng độ đạm	Khối lượng lá ngâm ủ			CV %
	0g/L	10g/L	30g/L	
0ppm	$1,3 \times 10^{4\,c}$	$4,2 \times 10^{4\,b}$	$1,5 \times 10^{5\,a}$	26,9
5ppm	$9,9 \times 10^{3\,c}$	$4,6 \times 10^{4\,b}$	$1,1 \times 10^{5\,a}$	27,5
10ppm	$2,1 \times 10^{4\,b}$	$3,7 \times 10^{4\,b}$	$9,9 \times 10^{4\,a}$	24,9

Những giá trị có mẫu tự khác nhau thì khác biệt nhau về mặt thống kê ở mức ý nghĩa 5% theo phép thử Duncan.

Mật số vi khuẩn trong nước chịu ảnh hưởng nhiều bởi hàm lượng chất dinh dưỡng có trong môi trường (Siuda & Chróst, 2002). Lá đước phân hủy phóng thích đạm vào môi trường ngâm ủ, đồng thời lượng đạm cung cấp cho môi trường ngâm ủ tỷ lệ thuận với khối lượng lá ngâm ủ, điều này được kiểm chứng bởi nghiên cứu của Nguyễn Thị Trang (2002). Bảng 14 thể hiện kết quả hàm lượng tổng đạm có trong nước ngâm ủ ở các nồng độ đạm thí nghiệm với các khối lượng lá ngâm ủ khác nhau.

Bảng 14: Trung bình hàm lượng đạm tổng trong nước ngâm ủ lá đước (mg/L) ở các nồng độ đạm và khối lượng lá ngâm ủ khác nhau

Nồng độ đạm	Khối lượng lá ngâm ủ		
	0g/L	10g/L	30g/L
0ppm	$1,3^{\,b}$	$1,6^{\,b}$	$2,6^{\,a}$
5ppm	2,5	3,1	3,4
10ppm	3,5	3,7	4,3

CV = 17,3%

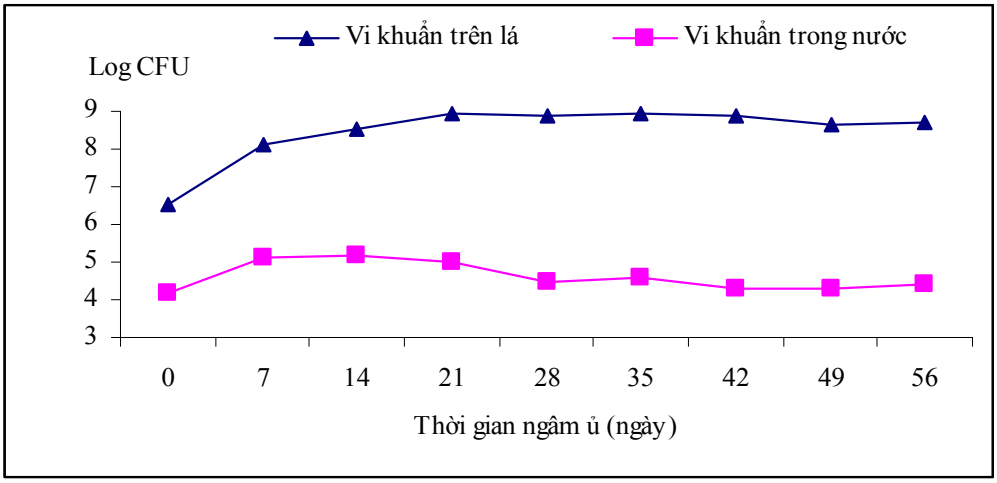
Những giá trị có mẫu tự khác nhau thì khác biệt nhau về mặt thống kê ở mức ý nghĩa 5% theo phép thử Duncan.

Khi so sánh lượng đạm có trong nước giữa nghiệm thức không có ngâm lá (0g/L) và nghiệm thức có lượng lá ngâm ủ 10g/L trong cùng 1 nồng độ đạm thí nghiệm chúng tôi nhận thấy: trung bình hàm lượng đạm trong nước ở nghiệm thức có lượng lá ngâm ủ 10g/L cao hơn hàm lượng đạm trong nước ở nghiệm thức không có ngâm lá 1,2 lần đối với ở nồng độ đạm 0ppm, 1,2 lần đối với ở nồng độ đạm 5ppm và 1,1 lần đối với ở nồng độ đạm 10ppm. Vậy khi môi trường có nồng độ đạm cao thì đạm từ lá phóng thích vào nước ngâm ủ ít hơn ở môi trường có hàm lượng đạm thấp. Do đó ở môi trường ngâm ủ có nồng độ đạm cao (10ppm), nghiệm thức có khối lượng lá ngâm ủ 10g/L phóng thích hàm lượng đạm không đáng kể vào môi trường nước nên mật số vi khuẩn trong nước ngâm ủ cũng không cao hơn nhiều so với ở nghiệm thức không có ngâm lá.

Kết quả từ bảng 11 và bảng 13 cho thấy khi ngâm ủ lá đước với lượng lá càng nhiều thì vi khuẩn trong môi trường ngâm ủ có mật số càng cao, kể cả khi môi trường ngâm ủ không được bổ sung thêm đạm. Mật số vi khuẩn cao có thể sẽ là yếu tố làm tăng tốc độ phân hủy của lá đước ở nghiệm thức có lượng lá ngâm ủ nhiều.

3.1.6 Ảnh hưởng của thời gian ngâm ủ đến vi khuẩn dị dưỡng trong môi trường phân hủy lá đước

Nhìn chung mật số vi khuẩn dị dưỡng bám trên lá đước tăng dần theo thời gian ngâm ủ và đạt giá trị cao nhất từ ngày 21-42, sau đó mật số vi khuẩn trên lá phân hủy ở ngày 49 giảm xuống và có giá trị không khác biệt so với mật số vi khuẩn trên lá phân hủy ở ngày 56. Vi khuẩn trong nước ngâm ủ lá đước cũng tăng theo thời gian và đạt giá trị cao nhất từ ngày 7-21 (Hình 9).

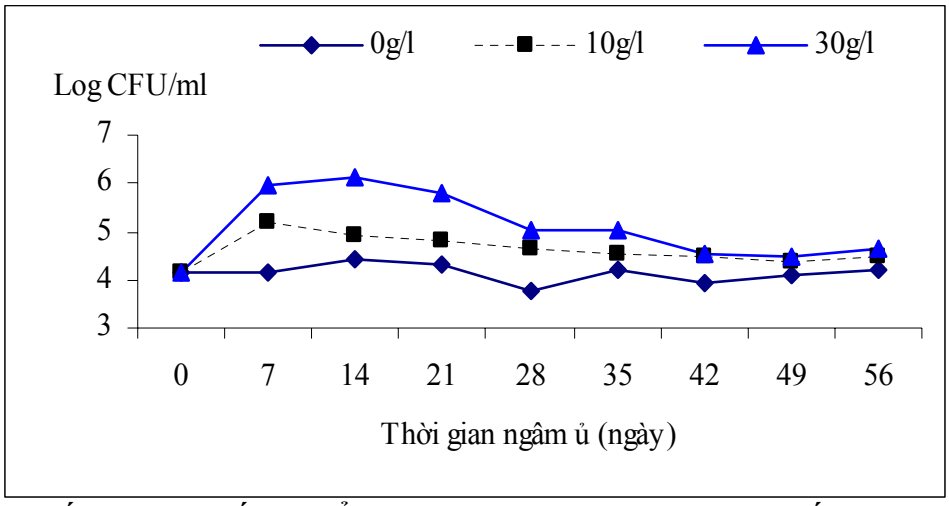


Hình 9: Biến động mật số vi khuẩn trên lá (LogCFU/gDW) và vi khuẩn trong nước (LogCFU/ml) theo thời gian ngâm ủ lá đước

Trong thời gian thí nghiệm của chúng tôi, so với nhóm vi khuẩn bám trên lá, vi khuẩn trong nước đạt giá trị cực đại sớm hơn (ngày thứ 7 ở vi khuẩn trong nước, ngày thứ 21 ở vi khuẩn trên lá) nhưng thời gian duy trì giá trị đại cũng ngắn hơn (14 ngày đối với vi khuẩn trong nước và 21 ngày đối với vi khuẩn trên lá). Một số nghiên cứu trước đây cũng tìm thấy mật số vi khuẩn trên lá phân hủy tăng dần theo thời gian ngâm ủ (Komínková *et al*., 2000; Mahasneh, 2001; Gulis & Suberkropp, 2003). Mahasneh (2001) ghi nhận mật số phong phú của vi khuẩn trên lá phân hủy duy trì đến 108 ngày, sau đó số lượng vi khuẩn giảm xuống và ổn định từ sau 256 ngày ngâm ủ lá. Vi khuẩn sống bám trên lá phân hủy sử dụng chất dinh dưỡng có trong giá thể để sinh trưởng và phát triển. Trong thời gian đầu ngâm ủ, chất hữu cơ và chất dinh dưỡng trong lá chưa kịp phóng thích nhiều vào môi trường, chúng còn được giữ lại trong lá (Chale, 1993), đây là nguồn năng lượng sẵn sàng cho vi khuẩn bám trên lá sử dụng và tăng nhanh mật số. Vi khuẩn dị dưỡng trong môi trường nước ngâm ủ cũng sử dụng chất hữu cơ và chất dinh dưỡng phóng thích từ lá đước phân hủy. Theo Blum & Mills (1991),

những chất dễ hòa tan được phóng thích vào nước trong giai đoạn đầu của quá trình phân hủy xác thực vật hầu hết là những chất không bền, vi khuẩn có thể sẵn sàng tiêu thụ. Các chất này nhanh chóng bị biến đổi thành sinh khối của vi khuẩn, trở thành năng suất thứ cấp, đi vào chuỗi thức ăn của thủy vực thông qua các mắc xích ở bậc dinh dưỡng cao hơn. Khi bị ngâm trong nước, các chất hữu cơ và chất dinh dưỡng từ lá phóng thích vào môi trường rất nhanh (Kenworthy *et al*., 1989), do đó nguồn thức ăn của vi khuẩn trong nước ngâm ủ lá đước cũng nhanh chóng bị cạn kiệt. Vì vậy vi khuẩn trong nước ngâm ủ lá đước có mật số cao nhanh đồng thời cũng giảm sớm hơn mật số vi khuẩn trên lá đước phân hủy.

Theo thời gian thí nghiệm, số lượng vi khuẩn trong nước ngâm ủ lá đước có xu hướng giảm dần. Trong suốt 56 ngày ngâm ủ, nghiệm thức có khối lượng lá 30g/L luôn có mật số vi khuẩn trong nước cao hơn so với nghiệm thức có khối lượng lá 10g/L, nghiệm thức không có ngâm lá luôn có số lượng vi khuẩn thấp nhất (Hình 10). Lượng lá ngâm ủ cao thì có nhiều chất hữu cơ, chất dinh dưỡng giải phóng vào môi trường ngâm ủ, vi khuẩn dị dưỡng trong nước có nhiều thức ăn nên có mật số cao hơn ở lượng lá ngâm ủ thấp và khi không có ngâm ủ lá.



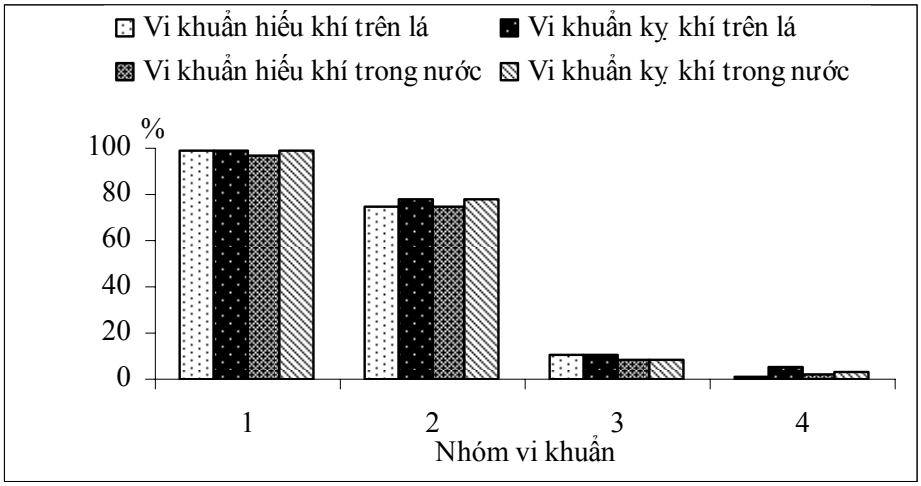
Hình 10: Biến đông mật số vi khuẩn trong nước (Log CFU/ml) ở các khối lượng lá ngâm ủ theo thời gian thí nghiệm

Kết quả hình 9 cho thấy mật số vi khuẩn trong nước gia tăng trong 30 ngày đầu thí nghiệm ở các nghiệm thức có lá, mật số vi khuẩn cao nhất được tìm thấy ở nghiệm thức có lượng lá 30g/L. Sau 30 ngày ngâm ủ trở đi, mật số vi khuẩn có khuynh hướng giảm ở hầu hết các nghiệm thức và không khác biệt nhau từ ngày thứ 42-56. Bui Thi Nga (2004) chỉ ra rằng động thái phân hủy của lá đước trong phòng thí nghiệm và ngoài đồng có cùng khuynh hướng, mà ở đó tốc độ phân hủy cao nhất vào thời điểm 30 ngày ngâm ủ, sự phân hủy giảm nhanh ở tháng kế tiếp và giảm dần dần vào những tháng sau đó. Kết quả thí nghiệm chúng tôi cho thấy vi khuẩn trong nước ngâm ủ lá đước có mật số cao nhất trong khoảng 30 ngày đầu ngâm ủ và giảm dần trong thời

gian sau đó. Đây có thể là 1 lý do để giải thích sự khác biệt về tốc độ phân hủy lá đước ở các thời gian ngâm ủ trong nghiên cứu của Bui Thi Nga (2004).

3.2 TỶ LỆ CÁC LOẠI VI KHUẨN THAM GIA PHÂN HỦY LÁ ĐƯỚC

Khi kiểm tra tỷ lệ các nhóm vi khuẩn phân hủy tinh bột, vi khuẩn tham gia quá trình nitrat hóa, vi khuẩn có khả năng phân hủy cellulose và vi khuẩn tạo bào tử trong tổng số vi khuẩn dị dưỡng có trong môi trường phân hủy lá đước chúng tôi nhận thấy vi khuẩn phân hủy tinh bột có tỷ lệ cao nhất (98,6%), vi khuẩn tham gia quá trình nitrat hóa có tỷ lệ 76,5%, vi khuẩn phân hủy cellulose chiếm tỷ lệ 9,6%, thấp nhất là tỷ lệ nhóm vi khuẩn tạo bào tử (2,7%) (Hình 11). Kết luận này giống với kết quả của các nghiên cứu trước đây của Mudryk, Z. & W. Donderski (1997), Mahasneh (2001).



Hình 11: Tỷ lệ % các nhóm vi khuẩn trong môi trường ngâm ủ lá đước

Ghi chú: (1): Vi khuẩn phân hủy tinh bột
(2): Vi khuẩn tham gia quá trình nitrat hóa
(3): Vi khuẩn có khả năng phân hủy cellulose
(4): Vi khuẩn tạo bào tử

Mặc dù có tỷ lệ cao thấp không giống nhau nhưng các nhóm vi khuẩn trong môi trường ngâm ủ lá cây ngập mặn đã góp phần tạo nên tính đa dạng của quần thể vi khuẩn trong rừng ngập mặn. Theo Das *et al*. (2006), trong rừng ngập mặn có nhiều nhóm vi khuẩn sử dụng xác bã hữu cơ từ cây ngập mặn, qua đó chúng đóng góp vai trò to lớn vào sự tuần hoàn dinh dưỡng trong hệ sinh thái rừng ngập mặn, một số nhóm vi khuẩn đó đi vào chuỗi thức ăn, mang lại lợi ích đáng kể cho ngành nuôi trồng thủy sản ven biển.

3.2.1 Vi khuẩn phân hủy tinh bột

- Ảnh hưởng của độ mặn

Vi khuẩn phân hủy tinh bột trên lá đước phân hủy có tỷ lệ cao hơn tỷ lệ vi khuẩn phân hủy tinh bột trong nước ngâm ủ. Tỷ lệ vi khuẩn phân hủy tinh bột trên lá đước phân

hủy biến động từ 98,5-99,5%, sự biến động này nhỏ hơn sự biến động của tỷ lệ vi khuẩn phân hủy tinh bột trong môi trường nước ngâm ủ (95,3-99,5%) (Bảng 15). Do sự dao động về hàm lượng chất dinh dưỡng trong môi trường ngâm ủ thường lớn hơn trên lá phân hủy nên vi khuẩn trong nước phân hủy tinh bột có tỷ lệ thấp hơn và biến động nhiều hơn tỷ lệ vi khuẩn phân hủy tinh bột trên lá phân hủy (Haglund, 2004).

Bảng 15: Trung bình tỷ lệ (%) nhóm vi khuẩn phân hủy tinh bột trong điều kiện ngâm ủ lá đước ở các độ mặn khác nhau

Nhóm vi khuẩn	Độ mặn		Trung bình
	5‰	25‰	
Hiếu khí trên lá	98,5	98,9	98,7 [b]
Kỵ khí trên lá	99,2	99,5	99,3 [a]
Hiếu khí trong nước	95,3	98,8	97,0 [c]
Kỵ khí trong nước	99,3	99,5	99,4 [a]
Trung bình	98,1	99,2	98,6 [**]

CV = 10,4 %

[a-b-c] So sánh trung bình theo cột. Những giá trị có mẫu tự khác nhau thì khác biệt nhau về mặt thống kê ở mức ý nghĩa 5% theo phép thử Duncan.

[**] So sánh trung bình theo hàng, biểu thị 2 giá trị trung bình khác biệt nhau về mặt thống kê ở mức ý nghĩa 1%.

Kết quả từ Bảng 15 cho thấy độ mặn tác động đến khả năng phân hủy tinh bột của vi khuẩn. Ở độ mặn 25‰, trung bình tỷ lệ vi khuẩn phân hủy tinh bột là 99,2% cao hơn có ý nghĩa so với tỷ lệ vi khuẩn phân hủy tinh bột ở độ mặn 5‰ (98,1%) ($p<0,01$). Bên cạnh đó, nhóm kỵ khí có tỷ lệ vi khuẩn phân hủy tinh bột là 99,4% cao hơn so với tỷ lệ vi khuẩn phân hủy tinh bột thuộc nhóm hiếu khí (97,9%). Mudryk & Donderski (1991) đã tìm thấy ảnh hưởng của nồng độ muối đến hoạt động trao đổi chất của vi khuẩn ở vùng cửa sông. Khi tăng độ mặn trong môi trường nước, vi khuẩn cần nhiều năng lượng để duy trì sự cân bằng nồng độ muối trong tế bào và ngoài môi trường, vì vậy chúng sẽ tăng cường hoạt động trao đổi chất. Ngoài ra, vi khuẩn trong nước thường hấp thu các chất dinh dưỡng trong điều kiện thiếu oxy, vì vậy sự trao đổi chất kỵ khí tùy ý là hình thức phổ biến của vi khuẩn sống trong nước biển nói riêng và vi khuẩn trong các thủy vực nói chung (Alonso & Pernthaler, 2004).

- Ảnh hưởng của nồng độ đạm

Theo Bảng 16, tỷ lệ vi khuẩn phân hủy tinh bột khá cao, ở các nồng độ đạm khác nhau, tỷ lệ vi khuẩn biến động từ 96,3-99,8 %. So sánh ở các nồng độ đạm, trung bình tỷ lệ vi khuẩn phân hủy tinh bột ở nồng độ đạm 0ppm là 99,0%, ở nồng độ đạm 5ppm là 97,9%, ở nồng độ đạm 10ppm là 99,0%.

Bảng 16: Trung bình tỷ lệ (%) nhóm vi khuẩn phân hủy tinh bột trong điều kiện ngâm ủ lá đước ở các nồng độ đạm khác nhau

Nhóm vi khuẩn	Nồng độ đạm			Trung bình
	0ppm	5ppm	10ppm	
Hiếu khí trên lá	99,1	98,0	99,1	98,7 [b]
Kỵ khí trên lá	99,7	98,6	99,7	99,3 [a]
Hiếu khí trong nước	97,5	96,3	97,4	97,0 [c]
Kỵ khí trong nước	99,8	98,7	99,8	99,4 [a]
Trung bình	99,0 [x]	97,9 [y]	99,0 [x]	

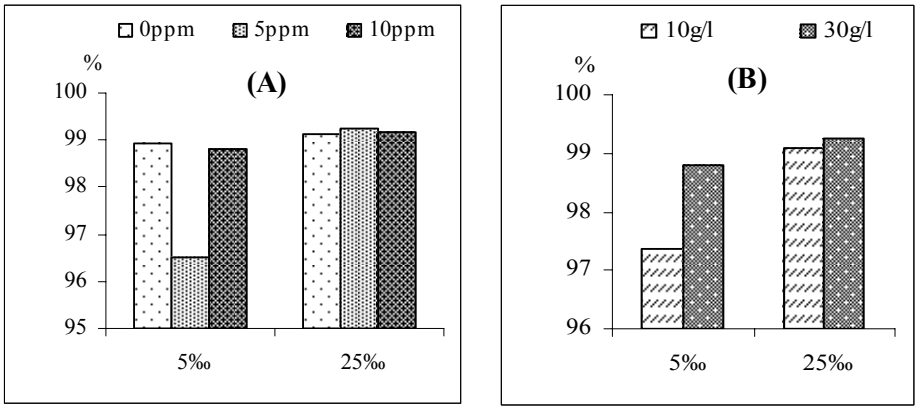
CV = 10.4 %

[a-b] So sánh theo cột

[x-y] So sánh theo hàng

Những giá trị có mẫu tự khác nhau thì khác biệt nhau về mặt thống kê ở mức ý nghĩa 5% theo phép thử Duncan.

Tỷ lệ vi khuẩn phân hủy tinh bột ở 0ppm và 10ppm không khác biệt nhau nhưng cao hơn so với vi khuẩn phân hủy tinh bột ở mức độ đạm 5ppm, thể hiện rõ hơn là ở độ mặn 5‰ (Hình 12 (A)).



Hình 12: Ảnh hưởng của nồng độ đạm (A) và lượng lá ngâm ủ (B) lên tỷ lệ vi khuẩn phân hủy tinh bột

- Ảnh hưởng của lượng lá ngâm ủ

Ở nghiệm thức có lượng lá 30g/L, vi khuẩn phân hủy tinh bột chiếm tỷ lệ cao hơn có ý nghĩa so với ở lượng lá 10g/L (Bảng 17).

Bảng 17: Trung bình tỷ lệ (%) nhóm vi khuẩn phân hủy tinh bột trong điều kiện ngâm ủ lá đước ở các lượng lá khác nhau

Nhóm vi khuẩn	Khối lượng lá		Trung bình
	10g/L	30g/L	
Hiếu khí trên lá	98,3	99,1	98,7 [b]
Kỵ khí trên lá	98,9	99,7	99,3 [a]
Hiếu khí trong nước	96,6	97,4	97,0 [c]
Kỵ khí trong nước	99,0	99,8	99,4 [a]
Trung bình	98,2	99,0	98,6[**]

CV = 10.4 %

[a-b-c] So sánh trung bình theo cột. Những giá trị có mẫu tự khác nhau thì khác biệt nhau về mặt thống kê ở mức ý nghĩa 5% theo phép thử Duncan.

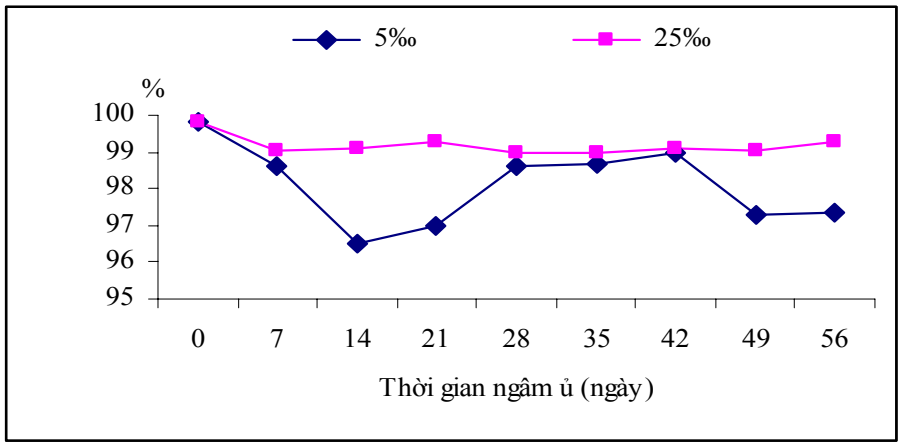
[**] So sánh trung bình theo hàng, biểu thị 2 giá trị trung bình khác biệt nhau về mặt thống kê ở mức ý nghĩa 1%.

Trong 4 nhóm vi khuẩn hiếu khí và kỵ khí trên lá đước phân hủy và trong nước ngâm ủ, nhóm vi khuẩn hiếu khí trong nước có tỷ lệ vi khuẩn phân hủy tinh bột là 97,0%, thấp hơn có ý nghĩa so với 3 nhóm còn lại. Đồng thời nhóm vi khuẩn hiếu khí trong nước cũng thể hiện sự khác biệt đáng kể về tỷ lệ vi khuẩn phân hủy tinh bột đối với các lượng lá ngâm ủ khác nhau, cụ thể là lượng lá ngâm ủ nhiều thì vi khuẩn hiếu khí trong nước phân hủy tinh bột cao (Bảng 17). Khối lượng lá phân hủy nhiều thì lượng chất hữu cơ cung cấp cho môi trường ngâm ủ cao, kéo theo là sự gia tăng về số lượng vi khuẩn dị dưỡng hiện diện trong môi trường ngâm ủ (Siuda & Chróst, 2002). Theo Holguin *et al*. (2001), quần thể vi khuẩn trong rừng ngập mặn có nhiều nhóm có khả năng phân hủy tinh bột, quá trình phân hủy xác cây ngập mặn tạo ra nhiều mùn bã hữu cơ giàu năng lượng, nơi diễn ra quá trình phân hủy có sự hiện diện của nhóm vi khuẩn phong phú và đa dạng về số lượng và thành phần loài cả trên xác thực vật và trong môi trường nước phân hủy.

Tương tự như ảnh hưởng của các nồng độ đạm trong sự tương tác với độ mặn, nồng độ muối 5‰ thể hiện sự khác biệt về tỷ lệ vi khuẩn phân hủy tinh bột ở các lượng lá ngâm ủ rõ hơn so với ở 25‰. Lượng lá phân hủy nhiều thì vi khuẩn phân hủy tinh bột có tỷ lệ cao hơn ($p<0,01$). Ở độ mặn 5‰, tỷ lệ vi khuẩn phân hủy tinh bột ở nghiệm thức có khối lượng lá ngâm ủ 10g/L là 97,4%, ở lượng lá ngâm ủ 30g/L là 98,8%. Trong khi đó, tỷ lệ vi khuẩn phân hủy tinh bột ở khối lượng lá ngâm ủ 10g/L và 30g/L khác biệt không đáng kể trong môi trường nước có độ mặn 25‰ (Hình 12 (B)).

- Ảnh hưởng của thời gian ngâm ủ

Trong suốt thời gian ngâm ủ lá đước, vi khuẩn phân hủy tinh bột luôn có tỷ lệ trên 90% tổng số vi khuẩn dị dưỡng tìm thấy trong môi trường phân hủy lá đước. Tỷ lệ vi khuẩn phân hủy tinh bột ở nghiệm thức có độ mặn 5‰ dao động từ 96,5-99,8%, ở độ mặn 25‰ tỷ lệ vi khuẩn sử dụng tinh bột dao động từ 99,0-99,8% (Hình 13). Nhìn chung sự biến động tỷ lệ vi khuẩn phân hủy tinh bột trong môi trường ngâm ủ lá đước ở độ mặn 5‰ cao hơn sự biến động tỷ lệ vi khuẩn phân hủy tinh bột trong môi trường ngâm ủ lá đước ở độ mặn 25‰.



Hình 13: Ảnh hưởng của độ mặn và thời gian ngâm ủ đến tỷ lệ vi khuẩn phân hủy tinh bột

3.2.2 Vi khuẩn có khả năng phân hủy cellulose

- Ảnh hưởng của độ mặn

Bên cạnh nấm, vi khuẩn cũng có vai trò quan trọng trong việc phân hủy cellulose trong thủy vực (Tanaka, 2004). So với quá trình phân hủy tinh bột, sự phân hủy các hợp chất cellulose trong nước diễn ra chậm hơn và thường không hoàn toàn (Kiều Hữu Ánh & Ngô Tự Thành, 1985). Cellulose là cơ chất khó bị phân hủy vì có cấu trúc rất bền và hoàn hoàn không tan trong cả nước nóng lẫn nước lạnh. Vi khuẩn có khả năng phân hủy cellulose vì chúng có thể tạo ra được 3 loại enzym phân giải được cellulose. Tuy nhiên không phải tất cả các vi khuẩn đều có khả năng cùng một lúc tổng hợp ra 3 loại enzym. Có loài tổng hợp ra enzym này nhiều, loài khác lại tổng hợp ra enzym khác nhiều hơn. Chính vì thế, sự phân hủy các hợp chất cellulose trong thiên nhiên đòi hỏi rất nhiều loài vi khuẩn khác nhau, thay phiên nhau phân hủy từng giai đoạn trong toàn bộ chuỗi chuyển hóa các chất chứa cellulose (Nguyễn Đức Lượng & Nguyễn Thị Thùy Dương, 2003).

So với nhóm vi khuẩn phân hủy tinh bột, vi khuẩn dị dưỡng có khả năng phân hủy cellulose trong môi trường ngâm ủ lá đước có tỷ lệ thấp hơn (Mudryk & Donderski, 1997; Mahasneh, 2001). Vi khuẩn phân hủy cellulose trên lá nhiều hơn vi khuẩn phân

hủy cellulose trong môi trường nước. Tỷ lệ vi khuẩn có khả năng phân hủy cellulose của nhóm vi khuẩn bám trên lá chiếm từ 8,7-12,3 % và trong nước từ 7,7-9,7% so với tổng số vi khuẩn tham gia phân hủy lá đước (Bảng 18). Yasuo & Yasuhiko (1982) cũng đã tìm thấy nhóm vi khuẩn sống bám trên các mảnh vụn hữu cơ trong thủy vực có tỷ lệ vi khuẩn phân hủy cellulose nhiều hơn so với nhóm vi khuẩn sống tự do trong nước.Ở độ mặn 25‰ trung bình tỷ lệ vi khuẩn có khả năng phân hủy cellulose là 10,4% cao hơn có ý nghĩa so với 8,9% là tỷ lệ vi khuẩn phân hủy cellulose ở độ mặn 5‰ (Bảng 18).

Bảng 18: Trung bình tỷ lệ (%) nhóm vi khuẩn có khả năng phân hủy cellulose trong điều kiện ngâm ủ lá đước ở các độ mặn khác nhau

Nhóm vi khuẩn	Độ mặn		Trung bình
	5‰	25‰	
Hiếu khí trên lá	8,7	12,3	10,5 [a]
Kỵ khí trên lá	10,6	10,4	10,5 [a]
Hiếu khí trong nước	7,7	9,7	8,7 [b]
Kỵ khí trong nước	8,6	9,0	8,8 [b]
Trung bình	8,9	10,4	9,6 [**]

CV = 27,2 %

[a-b] So sánh trung bình theo cột. Những giá trị có mẫu tự khác nhau thì khác biệt nhau về mặt thống kê ở mức ý nghĩa 5% theo phép thử Duncan.

[**] So sánh trung bình theo hàng, biểu thị 2 giá trị trung bình khác biệt nhau về mặt thống kê ở mức ý nghĩa 1%.

Kết quả từ Bảng 18 cũng cho thấy vi khuẩn có khả năng phân hủy cellulose bị chi phối bởi độ mặn trong nước. Ở độ mặn 5‰, nhóm vi khuẩn kỵ khí trên lá có tỷ lệ vi khuẩn phân hủy cellulose cao nhất (10,6%) nhưng ở độ mặn 25‰ thì vi khuẩn hiếu khí trên lá có tỷ lệ vi khuẩn phân hủy cellulose cao hơn (12,3%).

- Ảnh hưởng của nồng độ đạm

Nồng độ đạm trong nước không ảnh hưởng đến vi khuẩn phân hủy cellulose trong môi trường ngâm ủ lá đước. Ở các nồng độ đạm khác nhau, trung bình tỷ lệ vi khuẩn phân hủy cellulose khác biệt không có ý nghĩa (Bảng 19).

Bảng 19: Trung bình tỷ lệ (%) nhóm vi khuẩn có khả năng phân hủy cellulose trong điều kiện ngâm ủ lá đước ở các nồng độ đạm khác nhau

Nồng độ đạm	Nhóm vi khuẩn				Trung bình
	Hiếu khí trên lá	Kỵ khí trên lá	Hiếu khí trong nước	Kỵ khí trong nước	
0ppm	11,1[a]	9,2[b]	10,0[ab]	10,0[ab]	10,1
5ppm	10,4[a]	10,2[ab]	8,7[bc]	8,2[c]	9,4
10ppm	10,1[b]	12,1[a]	7,5[c]	8,3[c]	9,5

CV = 27,2 %

Những giá trị có mẫu tự khác nhau thì khác biệt nhau về mặt thống kê ở mức ý nghĩa 5% theo phép thử Duncan.

Kết quả Bảng 19 cho thấy nồng độ đạm có ảnh hưởng đến nhóm vi khuẩn có khả năng phân hủy cellulose trong môi trường phân hủy lá đước. Ở nồng độ đạm 5ppm thì vi khuẩn phân hủy cellulose thuộc nhóm hiếu khí trên lá có tỷ lệ cao nhất. Ở nồng độ đạm 10ppm thì nhóm kỵ khí trên lá có tỷ lệ vi khuẩn phân hủy cellulose cao hơn so với nhóm kỵ khí trong nước và nhóm hiếu khí. Nồng độ đạm cao thì vi khuẩn có khả năng phân hủy cellulose của nhóm kỵ khí trên lá tăng.

- *Ảnh hưởng của lượng lá ngâm ủ*

Ở các khối lượng lá ngâm ủ khác nhau, tỷ lệ vi khuẩn có khả năng phân hủy cellulose khác biệt nhau không có ý nghĩa. Trung bình tỷ lệ vi khuẩn phân hủy cellulose ở nghiệm thức có khối lượng lá 10g/L là 9,7%, nghiệm thức có khối lượng lá ngâm ủ 30g/L có vi khuẩn phân hủy cellulose chiếm tỷ lệ là 9,6% (Bảng 20).

Bảng 20: Trung bình tỷ lệ (%) nhóm vi khuẩn có khả năng phân hủy cellulose trong điều kiện ngâm ủ lá đước ở các khối lượng lá khác nhau

Khối lượng lá	Nhóm vi khuẩn				Trung bình
	Hiếu khí trên lá	Kỵ khí trên lá	Hiếu khí trong nước	Kỵ khí trong nước	
10g/L	9,7[ab]	11,0[a]	9,0[b]	9,0[b]	9,7
30g/L	11,4[a]	9,9[b]	8,4[c]	8,6[c]	9,6

CV = 27,2 %

Những giá trị có mẫu tự khác nhau thì khác biệt nhau về mặt thống kê ở mức ý nghĩa 5% theo phép thử Duncan.

Tuy nhiên, lượng lá ngâm ủ và các nhóm vi khuẩn ảnh hưởng đến sự khác biệt về tỷ lệ vi khuẩn có khả năng phân hủy cellulose. Ở nghiệm thức có khối lượng lá 10g/L, vi khuẩn phân hủy cellulose của nhóm kỵ khí trên lá chiếm tỷ lệ cao nhất nhưng ở 30g/L

thì nhóm hiếu khí trên lá có tỷ lệ vi khuẩn phân hủy cellulose cao hơn. Tóm lại khối lượng lá ngâm ủ tăng thì vi khuẩn có khả năng phân hủy cellulose của nhóm hiếu khí trên lá tăng (Bảng 20).

Bảng 21 thể hiện kết quả so sánh tỷ lệ vi khuẩn phân hủy cellulose trong tương tác giữa khối lượng lá ngâm ủ và độ mặn. Nghiệm thức có khối lượng lá 10 g/L thì tỷ lệ vi khuẩn có khả năng phân hủy cellulose ở 2 độ mặn không khác biệt về mặt thống kê. Trong khi đó ở lượng lá ngâm ủ cao (30g/L), tỷ lệ vi khuẩn phân hủy cellulose ở 25‰ là 10,7% cao hơn có ý nghĩa so với vi khuẩn phân hủy cellulose ở độ mặn 5‰ (8,5%) ($p<0.01$). Khối lượng lá ngâm ủ không ảnh hưởng lớn đến trung bình tỷ lệ vi khuẩn phân hủy cellulose (Bảng 20), nhưng độ mặn cao (25‰) có thể kích thích sự trao đổi chất của vi khuẩn (Mudryk và Donderski, 1991) làm chúng tăng cường phân hủy và sử dụng các chất hữu cơ, mặc dù đó là những chất khó phân hủy nhưng có nồng độ cao.

Bảng 21: Tỷ lệ (%) vi khuẩn có khả năng phân hủy cellulose ở các khối lượng lá ngâm ủ với các độ mặn khác nhau

Khối lượng lá ngâm ủ	Độ mặn		Trung bình
	5‰	25‰	
10g/L	9,3	10,1	9,7^{ns}
30g/L	8,5	10,7	9,6**

CV = 27,2 %

^{ns} So sánh trung bình theo hàng, biểu thị 2 giá trị trung bình khác biệt không có ý nghĩa về mặt thống kê.

** So sánh trung bình theo hàng, biểu thị 2 giá trị trung bình khác biệt nhau về mặt thống kê ở mức ý nghĩa 1%.

- Ảnh hưởng của thời gian ngâm ủ

Tỷ lệ vi khuẩn có khả năng phân hủy cellulose theo thời gian ngâm ủ lá đước khác biệt có ý nghĩa ($p<0,05$). Vi khuẩn phân hủy cellulose chiếm tỷ lệ cao hơn ở thời gian đầu trong quá trình phân hủy lá đước, khoảng từ ngày thứ 7-21, sau đó thì giảm dần (Bảng 22). So với tinh bột, cellulose là hợp chất khó bị phân hủy hơn. Theo Nguyễn Đức Lượng & Nguyễn Thị Thùy Dương (2003), vi sinh vật thường sử dụng chất hữu cơ dễ phân hủy trước, sau đó mới sử dụng chất hữu cơ khó phân hủy. Chất hữu cơ khó phân hủy thường gây bất lợi cho sự phát triển của phần lớn các vi sinh vật vì chúng cần có thời gian tổng hợp hệ enzim đủ để phân hủy cơ chất. Vi khuẩn phân hủy cellulose chiếm tỷ lệ cao trong khoảng thời gian từ ngày 7-21, đây cũng là khoảng thời gian cellulose phóng thích khỏi lá cây phân hủy nhiều nhất (Raghukumar và ctv., 1995). Valiela *et al*. (1984) cho rằng sau 21 ngày là giai đoạn phân hủy lignin, cellulose vẫn tiếp tục bị phân hủy mặc dù với tốc độ phân hủy chậm hơn giai đoạn trước, vì vậy vi khuẩn phân hủy cellulose vẫn đóng vai trò quan trọng trong môi

trường phân hủy nhưng với tỷ lệ thấp hơn giai đoạn phân hủy từ ngày 7-21. Tanaka (2004) đã tìm thấy số lượng vi khuẩn phân hủy cellulose và tỷ lệ phân hủy cellulose của xác thực vật tăng nhanh trong suốt tháng đầu tiên của quá trình ngâm ủ, ngược lại số lượng nấm phân hủy cellulose trong giai đoạn này là rất thấp.

Bảng 22: Trung bình tỷ lệ (%) nhóm vi khuẩn có khả năng phân hủy cellulose trong điều kiện ngâm ủ lá đước theo thời gian

Thời gian ngâm ủ (ngày)	Nhóm vi khuẩn				Trung bình
	Hiếu khí trên lá	Kỵ khí trên lá	Hiếu khí trong nước	Kỵ khí trong nước	
0	4,0	7,0	4,9	5,9	$5,5^{e}$
7	7,6	10,7	9,3	16,3	$11,0^{ab}$
14	9,8	15,1	8,6	12,4	$11,5^{a}$
21	11,7	19,5	6,8	7,7	$11,4^{a}$
28	11,6	9,3	11,0	7,7	$9,9^{bc}$
35	11,6	8,6	12,0	8,5	$10,2^{b}$
42	14,0	9,7	8,6	8,0	$10,1^{b}$
49	13,6	6,9	8,6	6,3	$8,8^{cd}$
56	10,8	7,4	8,7	6,6	$8,4^{d}$
Trung bình	$10,5^{x}$	$10,5^{x}$	$8,7^{y}$	$8,8^{y}$	

CV = 27,2 %

$^{a-b}$ So sánh theo cột

$^{x-y}$ So sánh theo hàng

Những giá trị có mẫu tự khác nhau thì khác biệt nhau về mặt thống kê ở mức ý nghĩa 5% theo phép thử Duncan.

Quần thể vi khuẩn trong rừng ngập mặn có nhiều nhóm có khả năng phân hủy cellulose, mặc dù có tỷ lệ thấp nhưng vi khuẩn phân hủy cellulose cũng là 1 thành phần của nhóm vi khuẩn dị dưỡng, chúng đóng góp vai trò to lớn trong việc khoáng hóa chất hữu cơ và tuần hoàn các chất dinh dưỡng trong hệ sinh thái rừng ngập mặn (Alongi, 1994; Holguin *et al*. 2001). Theo Karner *et al*. (1992), vi khuẩn dị dưỡng là nhóm vi sinh vật chủ yếu sử dụng các hợp chất hữu cơ như là nguồn thức ăn và năng lượng cần thiết cho hoạt động của chúng trong các thủy vực. Các nhóm vi khuẩn này có thể phân hủy các hợp chất hữu cơ ở nhiều dạng khác nhau thành các chất vô cơ, hữu cơ đơn giản để có thể đi vào chu trình tuần hoàn vật chất mới.

3.2.3 Vi khuẩn tham gia vào quá trình nitrat hóa

- Ảnh hưởng của độ mặn

Độ mặn ảnh hưởng đến vi khuẩn nitrat hóa. Ở độ mặn 5‰, trung bình tỷ lệ vi khuẩn tham gia vào quá trình nitrat hóa là 77,9% cao hơn có ý nghĩa so với 75,1% là tỷ lệ vi khuẩn tham gia quá trình nitrat hóa ở độ mặn 25‰ ($p<0,01$) (Bảng 23).

Bảng 23: Trung bình tỷ lệ (%) nhóm vi khuẩn tham gia quá trình nitrat hóa trong điều kiện ngâm ủ lá đước ở các độ mặn khác nhau

Nhóm vi khuẩn	Độ mặn		Trung bình
	5‰	25‰	
Hiếu khí trên lá	79,8	69,0	74,4[b]
Kỵ khí trên lá	78,9	77,8	78,3[a]
Hiếu khí trong nước	74,3	76,1	75,2[b]
Kỵ khí trong nước	78,8	77,4	78,1[a]
Trung bình	77,9	75,1	76,5[**]

CV = 10,7 %

[a-b] So sánh trung bình theo cột. Những giá trị có mẫu tự khác nhau thì khác biệt nhau về mặt thống kê ở mức ý nghĩa 5% theo phép thử Duncan.

[**] So sánh trung bình theo hàng, biểu thị 2 giá trị trung bình khác biệt nhau về mặt thống kê ở mức ý nghĩa 1%.

Vi khuẩn nitrat hóa thuộc nhóm kỵ khí có tỷ lệ trung bình từ 78,1-78,3% tổng vi khuẩn dị dưỡng trong môi trường phân hủy lá đước, tỷ lệ này cao hơn có ý nghĩa so với ở nhóm hiếu khí (từ 74,4-75,2%).

- Ảnh hưởng của nồng độ đạm

Nồng độ đạm không ảnh hưởng đến vi khuẩn tham gia quá trình nitrat hóa trong điều kiện thí nghiệm ngâm ủ lá đước của chúng tôi. Tỷ lệ trung bình của vi khuẩn nitrat hóa khoảng từ 76,1-76,9%, các tỷ lệ này khác biệt không đáng kể ở các nồng độ đạm trong thí nghiệm, thể hiện rõ ở bảng 24.

Bảng 24: Trung bình tỷ lệ (%) vi khuẩn tham gia quá trình nitrat hóa trong điều kiện ngâm ủ lá đước ở các nồng độ đạm và độ mặn khác nhau

Nồng độ đạm	Độ mặn		Trung bình
	5‰	25‰	
0ppm	76,6	76,3	76,5[ns]
5ppm	79,3	73,0	76,1[**]
10ppm	77,9	75,9	76,9[**]

CV = 10,7 %

[ns] So sánh trung bình theo hàng, biểu thị 2 giá trị trung bình khác biệt không có ý nghĩa về mặt thống kê.

[**] So sánh trung bình theo hàng, biểu thị 2 giá trị trung bình khác biệt nhau về mặt thống kê ở mức ý nghĩa 1%.

Kết quả Bảng 24 cũng thể hiện sự tương tác giữa nồng độ đạm và độ mặn ảnh hưởng đến tỷ lệ vi khuẩn tham gia quá trình nitrat hóa. Tỷ lệ vi khuẩn nitrat hóa ở 2 độ mặn 5‰ và 25‰ khác biệt không có ý nghĩa ở mức độ đạm 0ppm nhưng lại rất khác biệt ở nồng độ đạm 5ppm và 10ppm. Bổ sung thêm đạm thì độ mặn 5‰ có tỷ lệ vi khuẩn nitrat hóa cao hơn so với vi khuẩn nitrat hóa ở độ mặn 25‰ ($p<0,01$).

- Ảnh hưởng của lượng lá ngâm ủ

Ở 2 lượng lá ngâm ủ 10g/L và 30g/L, trung bình tỷ lệ vi khuẩn tham gia quá trình nitrat hóa trong môi trường ngâm ủ lá đước lần lượt là 76,6% và 76,4%, các tỷ lệ này khác biệt không có ý nghĩa thống kê (Bảng 25).

Bảng 25: Tỷ lệ (%) vi khuẩn tham gia quá trình nitrat hóa ở các khối lượng lá ngâm ủ với các độ mặn khác nhau

Độ mặn	Khối lượng lá ngâm ủ		Trung bình
	10g/L	30g/L	
5‰	78,7	77,2	77,9*
25‰	74,5	75,7	75,1ns
Trung bình	76,6	76,4	76,5ns

CV = 10,7 %

ns So sánh trung bình theo hàng, biểu thị 2 giá trị trung bình khác biệt không có ý nghĩa về mặt thống kê.

** So sánh trung bình theo hàng, biểu thị 2 giá trị trung bình khác biệt nhau về mặt thống kê ở mức ý nghĩa 5%.*

Tuy nhiên, kết quả từ Bảng 25 cho thấy ở độ mặn 5‰ thì nghiệm thức với lượng lá ngâm ủ 10g/L có tỷ lệ vi khuẩn nitrat hóa chiếm 78.7% cao hơn so với tỷ lệ vi khuẩn nitrat hóa ở nghiệm thức có lượng lá 30g/L (77,2%) ($p<0,05$). Sự khác biệt này không thể hiện ở các nghiệm thức có độ mặn cao, ở nồng độ muối 25‰, tỷ lệ vi khuẩn nitrat hóa trong nghiệm thức có khối lượng lá ngâm ủ 10g/L và 30g/L lần lượt là 74,5% và 75,7%. Như vậy ở độ mặn cao, lượng lá ngâm ủ trong thí nghiệm không ảnh hưởng đến vi khuẩn tham gia quá trình nitrat hóa.

- Ảnh hưởng của thời gian ngâm ủ

Trong suốt 56 ngày phân hủy lá đước, vi khuẩn tham gia quá trình nitrat hóa ở độ mặn 5‰ luôn có tỷ lệ cao hơn so với ở độ mặn 25‰ và đạt được tỷ lệ cao nhất ở khoảng từ ngày 28-35 (Bảng 26).

Bảng 26: Trung bình tỷ lệ (%) vi khuẩn tham gia quá trình nitrat hóa trong điều kiện ngâm ủ lá đước theo thời gian ở các độ mặn khác nhau

Thời gian ngâm ủ (ngày)	Độ mặn		Trung bình
	5‰	25‰	
0	72,7	72,8	72,8^{d}
7	77,6	72,2	74,9^{c}
14	76,3	73,8	75,0^{c}
21	79,4	76,6	78,0^{b}
28	81,2	77,2	79,2^{ab}
35	80,8	78,5	79,6^{a}
42	78,5	74,1	76,3^{c}
49	78,3	74,8	76,5^{c}
56	76,6	75,7	76,2^{c}

CV = 10,7 %

Những giá trị có mẫu tự khác nhau thì khác biệt nhau về mặt thống kê ở mức ý nghĩa 5% theo phép thử Duncan.

3.2.4 Vi khuẩn tạo bào tử

- Ảnh hưởng của độ mặn

Trong điều kiện ngâm ủ lá đước, độ mặn không ảnh hưởng đến vi khuẩn tạo bào tử. Trung bình tỷ lệ vi khuẩn tạo bào tử ở nồng độ muối 5‰ là 2,7%, ở nồng độ muối 25‰, vi khuẩn tạo bào tử chiếm tỷ lệ 2,7%. Tỷ lệ vi khuẩn tạo bào tử ở các độ mặn được trình bày ở bảng 27.

Bảng 27: Trung bình tỷ lệ (%) nhóm vi khuẩn tạo bào tử trong điều kiện ngâm ủ lá đước ở các độ mặn khác nhau

Nhóm vi khuẩn	Độ mặn		Trung bình
	5‰	25‰	
Hiếu khí trên lá	1,2	1,3	1,2^{c}
Kỵ khí trên lá	4,8	4,9	4,8^{a}
Hiếu khí trong nước	1,9	1,3	1,6^{c}
Kỵ khí trong nước	3,1	3,3	3,2^{b}
Trung bình	2,7	2,7	2,7^{ns}

CV = 8,6 %

$^{a-b}$ So sánh trung bình theo cột. Những giá trị có mẫu tự khác nhau thì khác biệt nhau về mặt thống kê ở mức ý nghĩa 5% theo phép thử Duncan.

^{ns} So sánh trung bình theo hàng, biểu thị 2 giá trị trung bình khác biệt không có ý nghĩa về mặt thống kê.

Trong các nhóm vi khuẩn tham gia phân hủy lá đước, vi khuẩn tạo bào tử thuộc nhóm kỵ khí chiếm tỷ lệ cao hơn so với tỷ lệ vi khuẩn tạo bào tử ở nhóm hiếu khí, vi khuẩn tạo bào tử ở nhóm kỵ khí trên lá có tỷ lệ cao nhất (4,8%), thấp nhất là tỷ lệ vi khuẩn tạo bào tử ở nhóm vi khuẩn hiếu khí (1,2% trên lá; 1,6% trong nước) (Bảng 27).

- Ảnh hưởng của nồng độ đạm

Ở các nồng độ đạm khác nhau, tỷ lệ vi khuẩn tạo bào tử khác biệt có ý nghĩa ($p<0,05$). Vi khuẩn tạo bào tử ở độ đạm 10ppm có tỷ lệ 3,3% cao hơn so với ở mức độ đạm 0ppm (2,4%) và 5ppm (2,4%). Mức độ đạm ảnh hưởng đến vi khuẩn tạo bào tử, sự tác động này thể hiện rõ ở 2 nhóm có tỷ lệ vi khuẩn tạo bào tử cao đó là nhóm vi khuẩn kỵ khí trên lá và nhóm vi khuẩn kỵ khí trong nước (Bảng 28).

Bảng 28: Trung bình tỷ lệ (%) nhóm vi khuẩn tạo bào tử trong điều kiện ngâm ủ lá đước ở các nồng độ đạm khác nhau

Nồng độ đạm	Nhóm vi khuẩn				Trung bình
	Hiếu khí trên lá	Kỵ khí trên lá	Hiếu khí trong nước	Kỵ khí trong nước	
0ppm	1,2	4,0	1,7	2,9	2,4[b]
5ppm	1,2	4,1	1,6	2,6	2,4[b]
10ppm	1,3	6,4	1,6	4,1	3,3[a]

CV = 6,8 %

Những giá trị có mẫu tự khác nhau thì khác biệt nhau về mặt thống kê ở mức ý nghĩa 5% theo phép thử Duncan.

- Ảnh hưởng của lượng lá ngâm ủ

Khối lượng lá ngâm ủ khác nhau thì tỷ lệ vi khuẩn tạo bào tử cũng khác biệt nhau. Trung bình tỷ lệ vi khuẩn tạo bào tử ở nghiệm thức có khối lượng lá 10g/L là 2,9% cao hơn có ý nghĩa so với ở nghiệm thức có lượng lá 30g/L (2,5%). Sự khác biệt về tỷ lệ vi khuẩn tạo bào tử do ảnh hưởng của lượng lá ngâm ủ chỉ thể hiện ở độ mặn 25‰, ngược lại ở độ mặn 5‰ thì sự khác biệt này không có ý nghĩa (Bảng 29). Vậy độ mặn cao làm cho lượng lá ngâm ủ ảnh hưởng đến tỷ lệ vi khuẩn tạo bào tử.

Bảng 29: Tỷ lệ (%) vi khuẩn tạo bào tử ở các khối lượng lá ngâm ủ với các độ mặn khác nhau

Độ mặn	Khối lượng lá ngâm ủ		Trung bình
	10g/L	30g/L	
5‰	2,7	2,8	2,7[ns]
25‰	3,2	2,1	2,7[**]
Trung bình	2,9	2,5	2,7[*]

CV = 6,8 %

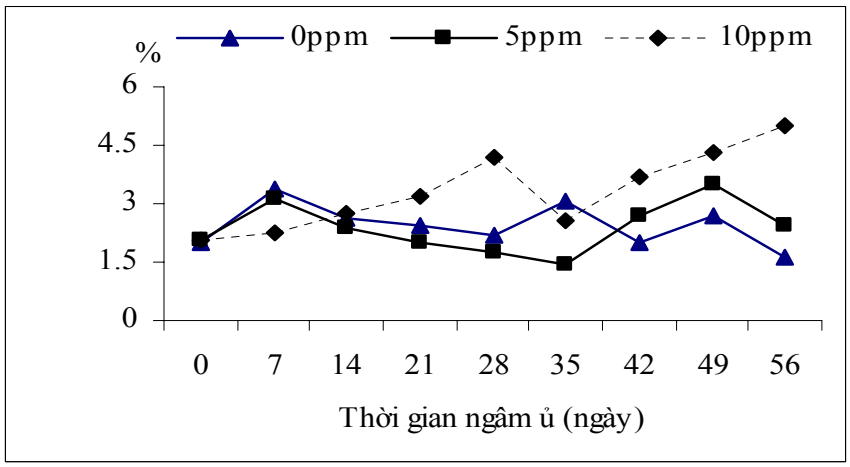
[ns] So sánh trung bình theo hàng, biểu thị 2 giá trị trung bình khác biệt không có ý nghĩa về mặt thống kê.

[*] So sánh trung bình theo hàng, biểu thị 2 giá trị trung bình khác biệt nhau về mặt thống kê ở mức ý nghĩa 5%.

[**] So sánh trung bình theo hàng, biểu thị 2 giá trị trung bình khác biệt nhau về mặt thống kê ở mức ý nghĩa 1%.

- Ảnh hưởng của thời gian ngâm ủ

Trung bình tỷ lệ vi khuẩn tạo bào tử không khác biệt theo thời gian phân hủy lá đước trong điều kiện thí nghiệm của chúng tôi. Trong 56 ngày ngâm ủ lá đước, tỷ lệ vi khuẩn tạo bào tử ở nồng độ đạm 10ppm luôn cao hơn so với ở nồng độ đạm 0ppm và 5ppm thể hiện rõ ở hình 14.

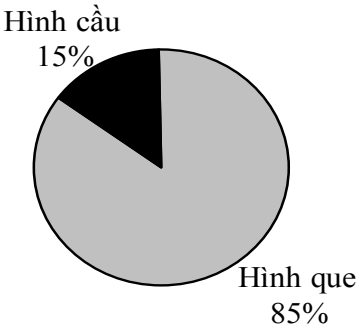


Hình 14: Tỷ lệ vi khuẩn tạo bào tử ở các nồng độ đạm khác nhau theo thời gian ngâm ủ lá đước

3.3 MỘT SỐ ĐẶC TÍNH CỦA VI KHUẨN THAM GIA PHÂN HỦY LÁ ĐƯỚC

3.3.1 Hình dạng của vi khuẩn

Theo Kiều Hữu Ánh & Ngô Tự Thành (1985), đa số vi khuẩn được tìm thấy trong nước biển là những sinh vật có tế bào hình que. Trong môi trường ngâm ủ lá đước ở thí nghiệm của chúng tôi, vi khuẩn hình que chiếm tỷ lệ 85%, cao hơn so với tỷ lệ vi khuẩn hình cầu (15%) (Hình 15). Vi khuẩn hình que chiếm tỷ lệ nhiều hơn vi khuẩn hình cầu, Nguyễn Thị Thu Hà *et al*. (2002a) cũng tìm thấy kết quả tương tự khi nghiên cứu hình thái vi khuẩn dị dưỡng trong đất và trong mẫu lá cây ngập mặn phân hủy ở một số vùng ven biển Nam Định và Thái Bình.



Hình 15: Đồ thị biểu diễn tỷ lệ vi khuẩn hình cầu và vi khuẩn hình que trong môi trường ngâm ủ lá đước

- Ảnh hưởng của độ mặn

Tỷ lệ vi khuẩn hình que ở các độ mặn trong thí nghiệm khác biệt không có ý nghĩa. Ở nồng độ muối 5‰ vi khuẩn hình que chiếm tỷ lệ trung bình là 84,7%, ở nồng độ muối 25‰ vi khuẩn hình que chiếm tỷ lệ trung bình là 85,7% (Bảng 30). Vậy 2 mức độ mặn trong thí nghiệm không ảnh hưởng đến hình dạng của vi khuẩn.

So sánh giữa các nhóm vi khuẩn trong môi trường phân hủy lá đước, vi khuẩn kỵ khí có tỷ lệ hình que cao hơn so với vi khuẩn hiếu khí. Chiếm tỷ lệ vi khuẩn hình que cao nhất là ở nhóm kỵ khí trong nước (93,0%), thấp nhất là ở nhóm hiếu khí trong nước (73,3%) (Bảng 30).

Bảng 30: Trung bình tỷ lệ (%) các nhóm vi khuẩn hình que trong điều kiện ngâm ủ lá đước ở các độ mặn khác nhau

Nhóm vi khuẩn	Độ mặn		Trung bình
	5‰	25‰	
Hiếu khí trên lá	83,9	82,9	83,4[c]
Kỵ khí trên lá	90,1	92,1	91,1[b]
Hiếu khí trong nước	72,0	74,7	73,3[d]
Kỵ khí trong nước	93,0	93,1	93,0[a]
Trung bình	84,7	85,7	85,2[ns]

CV = 15,3 %

[a-b] So sánh trung bình theo cột. Những giá trị có mẫu tự khác nhau thì khác biệt nhau về mặt thống kê ở mức ý nghĩa 5% theo phép thử Duncan.

[ns] So sánh trung bình theo hàng, biểu thị 2 giá trị trung bình khác biệt không có ý nghĩa về mặt thống kê.

- Ảnh hưởng của nồng độ đạm

Nồng độ đạm không ảnh hưởng đến hình dạng của vi khuẩn trong điều kiện phân hủy lá đước. Ở các nồng độ đạm 0ppm, 5ppm và 10ppm vi khuẩn hình que có tỷ lệ lần lượt là 84,4%; 85,8% và 85,4% (Bảng 31). Ở các mức độ đạm trong thí nghiệm, tỷ lệ vi khuẩn hình que khác biệt không đáng kể.

Bảng 31: Trung bình tỷ lệ (%) vi khuẩn hình que trong điều kiện ngâm ủ lá đước ở các nồng độ đạm và độ mặn khác nhau

Nồng độ đạm	Độ mặn		Trung bình
	5‰	25‰	
0ppm	84,1	84,8	84,4[ns]
5ppm	84,4	87,2	85,8[*]
10ppm	85,7	85,1	85,4[ns]

CV = 15,3 %

[ns] So sánh trung bình theo hàng, biểu thị 2 giá trị trung bình khác biệt không có ý nghĩa về mặt thống kê.

[*] So sánh trung bình theo hàng, biểu thị 2 giá trị trung bình khác biệt nhau về mặt thống kê ở mức ý nghĩa 5%.

Mặc dù độ mặn không ảnh hưởng đến tỷ lệ vi khuẩn hình que, nhưng tương tác giữa nồng độ muối và nồng độ đạm thì ảnh hưởng đến tỷ lệ vi khuẩn hình que trong thí nghiệm. Ở mức độ đạm 5ppm thì vi khuẩn hình que chiếm tỷ lệ 87,2% ở độ mặn 25‰ và cao hơn có ý nghĩa so với vi khuẩn hình que ở độ mặn 5‰ (84,4%). Sự khác biệt về tỷ lệ hình dạng vi khuẩn giữa độ mặn 5‰ và 25‰ không thể hiện ở nồng độ đạm thí nghiệm 0ppm và 10ppm (Bảng 31).

- Ảnh hưởng của lượng lá ngâm ủ

Tỷ lệ hình dạng của vi khuẩn khác biệt không có ý nghĩa ở các khối lượng lá 10g/L và 30g/L. Trung bình tỷ lệ vi khuẩn hình que ở các nghiệm thức có lượng lá ngâm ủ 10g/L và 30g/L lần lượt là 85,7% và 84,7%. Tuy nhiên có sự khác nhau về tỷ lệ vi khuẩn hình que trong tương tác giữa khối lượng lá và các nhóm vi khuẩn trong môi trường ngâm ủ lá đước. Đối với nhóm vi khuẩn trong nước, tỷ lệ vi khuẩn hình que ở khối lượng lá 10g/L cao hơn so với vi khuẩn hình que ở lượng lá 30g/L. Ngược lại, tỷ lệ vi khuẩn hình que trên lá có xu hướng tăng khi lượng lá ngâm ủ cao (30g/L). Tỷ lệ các nhóm vi khuẩn hình que trong điều kiện ngâm ủ lá đước ở các lượng lá khác nhau được trình bày ở bảng 32.

Bảng 32: Trung bình tỷ lệ (%) các nhóm vi khuẩn hình que trong điều kiện ngâm ủ lá đước ở các lượng lá khác nhau

Nhóm vi khuẩn	Khối lượng lá		Trung bình
	10g/L	30g/L	
Hiếu khí trên lá	83,0	83,7	83,4^{ns}
Kỵ khí trên lá	90,1	92,0	91,1*
Hiếu khí trong nước	75,1	71,5	73,3*
Kỵ khí trong nước	94,5	91,6	93,0*
Trung bình	85,7	84,7	85,2^{ns}

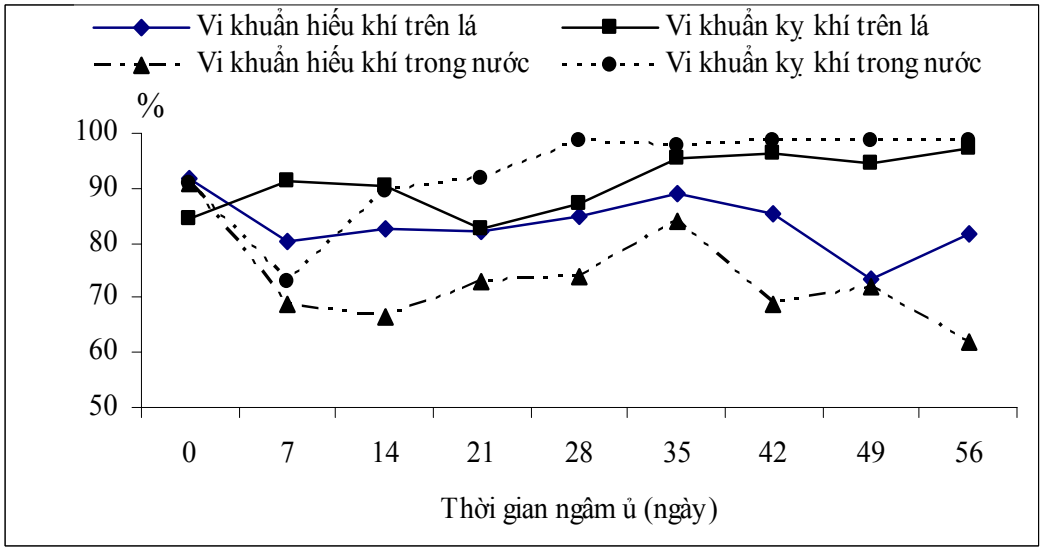
CV = 15,3 %

^{ns} So sánh trung bình theo hàng, biểu thị 2 giá trị trung bình khác biệt không có ý nghĩa về mặt thống kê.

* So sánh trung bình theo hàng, biểu thị 2 giá trị trung bình khác biệt nhau về mặt thống kê ở mức ý nghĩa 5%.

- Ảnh hưởng của thời gian ngâm ủ

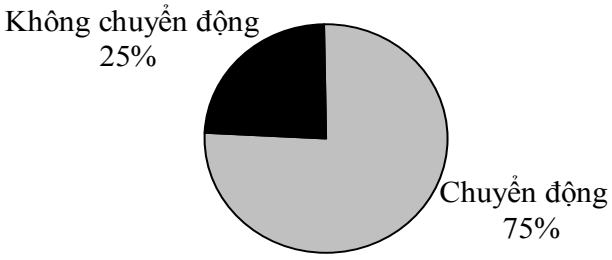
Hình 16 cho thấy tỷ lệ vi khuẩn hình que trong môi trường phân hủy lá đước bị biến động ở các thời gian ngâm ủ. Trong thời gian thí nghiệm, vi khuẩn kỵ khí trong nước và vi khuẩn kỵ khí trên lá luôn có tỷ lệ vi khuẩn hình que cao hơn so với vi khuẩn hiếu khí trên lá và vi khuẩn hiếu khí trong nước, tỷ lệ vi khuẩn hình que thấp nhất là ở nhóm hiếu khí trong nước.



Hình 16: Biến động tỷ lệ (%) các nhóm vi khuẩn hình que theo thời gian ngâm ủ lá đước

3.3.2 Khả năng chuyển động của vi khuẩn

Theo Kiều Hữu Ánh và Ngô Tự Thành (1985), vi khuẩn thường di động nhờ các chiên mao, một số di động bằng cách trườn trên cơ chất rắn. Trong môi trường ngâm ủ lá đước, vi khuẩn có khả năng chuyển động chiếm tỷ lệ 75%, cao hơn so với tỷ lệ vi khuẩn không có khả năng chuyển động (25%) (Hình 17). Nguyễn Thị Thu Hà (2002) cũng đã tìm thấy vi khuẩn có khả năng chuyển động chiếm đại đa số trong các chủng vi khuẩn dị dưỡng phân lập từ đất rừng ngập mặn và lá cây ngập mặn đang phân hủy. Nguyễn Đức Lượng & Nguyễn Thị Thùy Dương (2003) cũng ghi nhận rằng các vi khuẩn có khả năng chuyển động chiếm tỷ lệ cao hơn so với vi khuẩn không có khả năng chuyển động trong môi trường nước biển.



Hình 17: Đồ thị biểu diễn tỷ lệ vi khuẩn có khả năng chuyển động trong môi trường ngâm ủ lá đước

- Ảnh hưởng của độ mặn

Độ mặn không ảnh hưởng đến tỷ lệ vi khuẩn chuyển động và vi khuẩn không chuyển động. Ở 2 mức độ mặn, tỷ lệ vi khuẩn chuyển động khác biệt không có ý nghĩa. Trung bình tỷ lệ vi khuẩn có khả năng chuyển động ở nồng độ muối 5‰ là 75,7%, vi khuẩn chuyển động ở nồng độ muối 25‰ là 75,3% (Bảng 33). Tuy nhiên có sự khác nhau về tỷ lệ vi khuẩn chuyển động giữa độ mặn 5‰ và độ mặn 25‰ ở từng nhóm vi khuẩn trong môi trường phân hủy lá đước. Đối với nhóm vi khuẩn kỵ khí trên lá, tỷ lệ vi khuẩn chuyển động ở độ mặn 25‰ là 72,1%, cao hơn có ý nghĩa so với ở độ mặn 5‰ (67,3%) ($p<0,01$). Ngược lại đối với nhóm vi khuẩn kỵ khí trong nước, ở độ mặn 25‰ vi khuẩn chuyển động chiếm tỷ lệ 74,4% thấp hơn đáng kể so với ở độ mặn 5‰ (78,4%) ($p<0,05$). Tóm lại, độ mặn cao làm tăng khả năng chuyển động của vi khuẩn kỵ khí trên lá nhưng lại làm giảm tỷ lệ vi khuẩn kỵ khí chuyển động trong nước.

Bảng 33: Trung bình tỷ lệ (%) các nhóm vi khuẩn có khả năng chuyển động trong điều kiện ngâm ủ lá đước ở các độ mặn khác nhau

Nhóm vi khuẩn	Độ mặn		Trung bình
	5‰	25‰	
Hiếu khí trên lá	76,7	75,7	76,2^{ns}
Kỵ khí trên lá	67,3	72,1	69,7**
Hiếu khí trong nước	80,3	79,2	79,7^{ns}
Kỵ khí trong nước	78,4	74,4	76,4*
Trung bình	75,7	75,3	75,5^{ns}

CV = 14,6 %

^{ns} So sánh trung bình theo hàng, biểu thị 2 giá trị trung bình khác biệt không có ý nghĩa về mặt thống kê.

* So sánh trung bình theo hàng, biểu thị 2 giá trị trung bình khác biệt nhau về mặt thống kê ở mức ý nghĩa 5%.

** So sánh trung bình theo hàng, biểu thị 2 giá trị trung bình khác biệt nhau về mặt thống kê ở mức ý nghĩa 1%.

- Ảnh hưởng của nồng độ đạm

Nồng độ đạm trong nước tác động làm vi khuẩn có tỷ lệ chuyển động khác biệt đáng kể ($p<0,05$). Ở độ đạm 5ppm, tỷ lệ vi khuẩn có khả năng chuyển động chiếm 76,8% cao hơn so với tỷ lệ vi khuẩn có khả năng chuyển động ở độ đạm 0ppm (74,9%) và 10ppm (74,9%) (Bảng 34).

Kết quả từ Bảng 34 cũng cho thấy các nhóm vi khuẩn trong môi trường ngâm ủ lá đước có tỷ lệ chuyển động không giống nhau. Vi khuẩn trong nước có trung bình tỷ lệ chuyển động cao hơn so với vi khuẩn trên lá. Nhóm hiếu khí có tỷ lệ vi khuẩn chuyển động nhiều hơn so với ở nhóm kỵ khí.

Bảng 34: Trung bình tỷ lệ (%) nhóm vi khuẩn có khả năng chuyển động trong điều kiện ngâm ủ lá đước ở các nồng độ đạm khác nhau

Nồng độ đạm	Nhóm vi khuẩn				Trung bình
	Hiếu khí trên lá	Kỵ khí trên lá	Hiếu khí trong nước	Kỵ khí trong nước	
0ppm	75,9	68,8	77,7	77,1	74,9[b]
5ppm	76,8	73,0	81,7	75,6	76,8[a]
10ppm	75,8	67,3	79,8	76,5	74,9[b]
Trung bình	76,2[y]	69,7[z]	79,7[x]	76,4[y]	

CV = 14,6 %

[a-b] So sánh theo cột

[x-y] So sánh theo hàng

Những giá trị có mẫu tự khác nhau thì khác biệt nhau về mặt thống kê ở mức ý nghĩa 5% theo phép thử Duncan.

- Ảnh hưởng của lượng lá ngâm ủ

Trung bình tỷ lệ vi khuẩn có khả năng chuyển động khác biệt không có ý nghĩa ở khối lượng lá ngâm ủ 10g/L và 30g/L. Tuy nhiên khối lượng lá ngâm ủ nhiều có xu hướng làm tăng khả năng chuyển động của vi khuẩn trên lá. Nhóm vi khuẩn hiếu khí trên lá có tỷ lệ vi khuẩn chuyển động ở lượng lá ngâm ủ 30g/L là 77,8% cao hơn có ý nghĩa so với ở lượng lá 10g/L (74,6%). Bảng 35 thể hiện tỷ lệ các nhóm vi khuẩn có khả năng chuyển động trong điều kiện ngâm ủ lá đước ở các lượng lá khác nhau.

Bảng 35: Trung bình tỷ lệ (%) các nhóm vi khuẩn có khả năng chuyển động trong điều kiện ngâm ủ lá đước ở các lượng lá khác nhau

Nhóm vi khuẩn	Khối lượng lá		Trung bình
	10g/L	30g/L	
Hiếu khí trên lá	74,6	77,8	76,2[**]
Kỵ khí trên lá	69,9	69,5	69,7[ns]
Hiếu khí trong nước	79,5	80,0	79,7[ns]
Kỵ khí trong nước	77,8	75,0	76,4[ns]
Trung bình	75,4	75,6	75,5[ns]

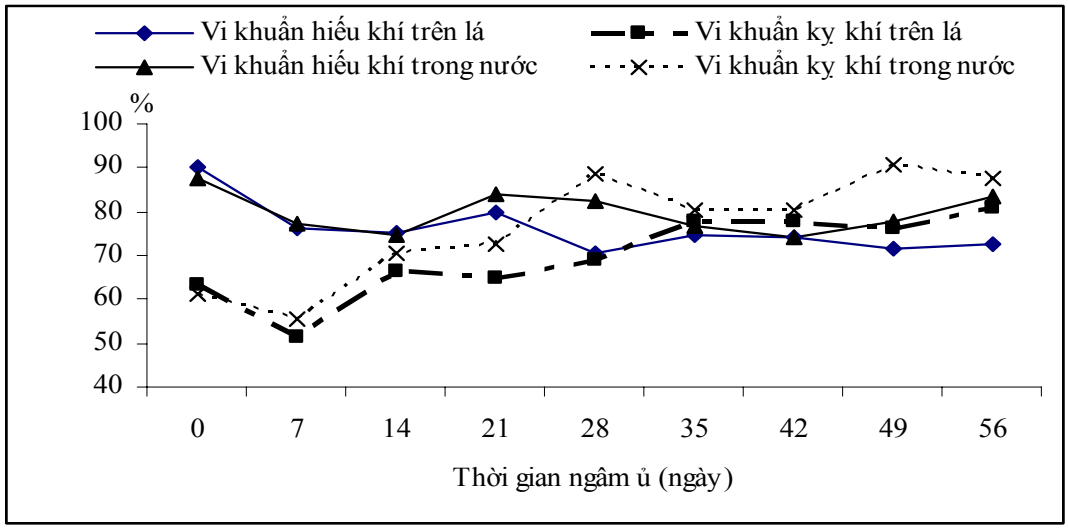
CV = 14,6 %

[ns] So sánh trung bình theo hàng, biểu thị 2 giá trị trung bình khác biệt không có ý nghĩa về mặt thống kê.

[**] So sánh trung bình theo hàng, biểu thị 2 giá trị trung bình khác biệt nhau về mặt thống kê ở mức ý nghĩa 1%.

- Ảnh hưởng của thời gian ngâm ủ

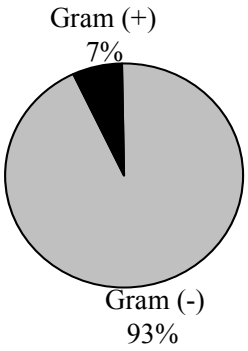
Thời gian ngâm ủ lá đước ảnh hưởng đến khả năng chuyển động của vi khuẩn (Hình 18). Vi khuẩn chuyển động ở cuối giai đoạn thí nghiệm chiếm tỷ lệ trung bình từ 79,0-81,2%, đạt giá trị cao nhất trong suốt 56 ngày ngâm ủ lá đước. Theo thời gian thí nghiệm, tỷ lệ vi khuẩn chuyển động của nhóm vi khuẩn kỵ khí tăng liên tục trong khi ở nhóm vi khuẩn hiếu khí thì không tăng.



Hình 18: Biến động tỷ lệ (%) các nhóm vi khuẩn có khả năng chuyển động theo thời gian ngâm ủ lá đước

3.3.3 Gram

Trong môi trường ngâm ủ lá đước, vi khuẩn Gram (-) chiếm tỷ lệ 93%, đạt giá trị cao hơn so với tỷ lệ vi khuẩn Gram (+) (7%) (Hình 19). Nghiên cứu của Nguyễn Thị Thu Hà *et al*. (2002a) cũng tìm thấy vi khuẩn Gram (-) chiếm tỷ lệ nhiều hơn so với vi khuẩn Gram (+) trong số các chủng phân lập được từ đất rừng ngập mặn và các mẫu lá cây ngập mặn đang phân hủy. Theo Das *et al*. (2006), trong môi trường nước biển 90% là vi khuẩn Gram (-) với nhiều đặc điểm khác nhau, vách tế bào vi khuẩn Gram (-) thích nghi tốt hơn so với vi khuẩn Gram (+), điều này cần thiết cho sự sống sót của vi khuẩn trong môi trường nước biển.



Hình 19: Đồ thị biểu diễn tỷ lệ vi khuẩn Gram (-) và vi khuẩn Gram (+) trong môi trường ngâm ủ lá đước

- Ảnh hưởng của độ mặn

Trung bình tỷ lệ vi khuẩn Gram (-) ở độ mặn 5‰ và 25‰ khác biệt không có ý nghĩa thể hiện ở bảng 36. Tuy nhiên sự khác biệt này thể hiện không giống nhau ở các nhóm vi khuẩn hiện diện trong môi trường ngâm ủ lá đước. Cụ thể là ở nhóm vi khuẩn hiếu khí trên lá, vi khuẩn Gram (-) ở độ mặn 25‰ chiếm tỷ lệ 94,5% cao hơn có ý nghĩa so với tỷ lệ vi khuẩn Gram (-) ở độ mặn 5‰ (92,5%).

Bảng 36: Trung bình tỷ lệ (%) các nhóm vi khuẩn Gram (-) trong điều kiện ngâm ủ lá đước ở các độ mặn khác nhau

Nhóm vi khuẩn	Độ mặn		Trung bình
	5‰	25‰	
Hiếu khí trên lá	92,5	94,5	93,5**
Kỵ khí trên lá	89,8	90,4	90,1ns
Hiếu khí trong nước	95,4	94,5	95,0ns
Kỵ khí trong nước	93,8	93,9	93,9ns
Trung bình	92,9	93,3	93,1ns

CV = 13,4 %

ns So sánh trung bình theo hàng, biểu thị 2 giá trị trung bình khác biệt không có ý nghĩa về mặt thống kê.

*** So sánh trung bình theo hàng, biểu thị 2 giá trị trung bình khác biệt nhau về mặt thống kê ở mức ý nghĩa 1%.*

- Ảnh hưởng của nồng độ đạm

Nồng độ đạm không ảnh hưởng đến tỷ lệ vi khuẩn Gram (-) trong môi trường ngâm ủ lá đước. Ở các nồng độ đạm 0ppm, 5ppm và 10ppm, vi khuẩn Gram (-) có tỷ lệ trung bình tương ứng là 93,3%; 92,9% và 93,1%. Các tỷ lệ này khác biệt không đáng kể và được trình bày ở bảng 37.

Bảng 37: Trung bình tỷ lệ (%) nhóm vi khuẩn Gram (-) trong điều kiện ngâm ủ lá đước ở các nồng độ đạm khác nhau

Nồng độ đạm	Nhóm vi khuẩn				Trung bình
	Hiếu khí trên lá	Kỵ khí trên lá	Hiếu khí trong nước	Kỵ khí trong nước	
0ppm	93,4	90,5	95,6	93,9	93,3
5ppm	93,6	89,5	94,2	94,5	92,9
10ppm	93,5	90,4	95,1	93,2	93,1
Trung bình	$93,5^{b}$	$90,1^{c}$	$95,0^{a}$	$93,9^{b}$	

CV = 13,4 %

Những giá trị có mẫu tự khác nhau thì khác biệt nhau về mặt thống kê ở mức ý nghĩa 5% theo phép thử Duncan.

Bảng 37 cũng thể hiện sự khác nhau về tỷ lệ vi khuẩn Gram (-) giữa các nhóm vi khuẩn trong môi trường phân hủy lá đước. Nhóm vi khuẩn hiếu khí có tỷ lệ vi khuẩn Gram (-) nhiều hơn so với nhóm kỵ khí. Vi khuẩn trong nước có tỷ lệ Gram (-) cao hơn so với vi khuẩn trên lá.

- Ảnh hưởng của lượng lá ngâm ủ

Khối lượng lá ngâm ủ khác nhau ảnh hưởng đến tỷ lệ vi khuẩn Gram (-) (Bảng 38).

Bảng 38: Trung bình tỷ lệ (%) vi khuẩn Gram (-) ở các khối lượng lá ngâm ủ với các độ mặn khác nhau

Độ mặn	Khối lượng lá ngâm ủ		Trung bình
	10g/L	30g/L	
5‰	93,1	92,7	$92,9^{ns}$
25‰	92,4	94,3	$96,3^{**}$
Trung bình	92,8	93,5	$93,1^{*}$

CV = 13,4 %

^{ns} So sánh trung bình theo hàng, biểu thị 2 giá trị trung bình khác biệt không có ý nghĩa về mặt thống kê.

* So sánh trung bình theo hàng, biểu thị 2 giá trị trung bình khác biệt nhau về mặt thống kê ở mức ý nghĩa 5%.

** So sánh trung bình theo hàng, biểu thị 2 giá trị trung bình khác biệt nhau về mặt thống kê ở mức ý nghĩa 1%.

Kết quả từ bảng 38 cho thấy ở nghiệm thức có lượng lá 30g/L, vi khuẩn Gram (-) có tỷ lệ trung bình là 93,5%, cao hơn có ý nghĩa so với ở lượng lá 10g/L (92,8%) ($p<0,05$). Sự khác biệt về tỷ lệ vi khuẩn Gram (-) ở lượng lá ngâm ủ 10g/L và 30g/L không thể hiện ở độ mặn 5‰. Ngược lại ở độ mặn 25‰, lượng lá ngâm ủ 30g/L có tỷ lệ vi khuẩn Gram (-) là 94,3%, khác biệt rất có ý nghĩa so với tỷ lệ vi khuẩn Gram (-) ở lượng lá ngâm ủ 10g/L (92,4%) ($p<0,01$). Tóm lại trong điều kiện thí nghiệm của chúng tôi, độ mặn cao và lượng lá ngâm ủ nhiều thì tỷ lệ vi khuẩn Gram (-) cao.

3.3.4 Kích thước vi khuẩn

Trong rừng ngập mặn có nhiều nhóm vi khuẩn tham gia phân hủy và sử dụng xác bã hữu cơ từ cây ngập mặn (Das *et al*., 2006). Nơi diễn ra quá trình phân hủy có sự hiện diện của nhóm vi khuẩn phong phú và đa dạng về số lượng và thành phần loài cả trên xác thực vật và trong môi trường nước phân hủy (Holguin *et al*., 2001), vì vậy đặc điểm hình thái của chúng cũng rất khác nhau. Trong điều kiện thí nghiệm chúng tôi tìm thấy vi khuẩn dị dưỡng hiếu khí có kích thước lớn hơn vi khuẩn kỵ khí. Cụ thể là vi khuẩn hiếu khí hình cầu có kích thước lớn hơn vi khuẩn kỵ khí hình cầu, vi khuẩn hiếu khí hình que ngắn hơn nhưng lớn hơn vi khuẩn kỵ khí hình que (Bảng 39). Nhìn chung, kích thước vi khuẩn ở các độ mặn, các nồng độ đạm và các lượng lá ngâm ủ khác biệt nhau không lớn (Bảng 40).

Bảng 39: Trung bình kích thước của các nhóm vi khuẩn (µm) trong môi trường ngâm ủ lá đước

Nhóm vi khuẩn	Hình que	Hình cầu
Hiếu khí trên lá	1,91-2,92 x 1,29-1,92	1,97-2,51
Kỵ khí trên lá	2,20-3,32 x 1,33-1,83	0,96-1,23
Hiếu khí trong nước	2,05-3,05 x 1,41-1,98	1,68-2,17
Kỵ khí trong nước	2,24-3,19 x 1,33-1,81	0,61-0,77

Bảng 40: Trung bình kích thước vi khuẩn (µm) ở các độ mặn, nồng độ đạm và lượng lá ngâm ủ khác nhau

Nghiệm thức		Hình que	Hình cầu
Độ mặn	5‰	2,07-3,11 x 1,33-1,88	1,30-1,67
	25‰	2,13-3,13 x 1,35-1,89	1,30-1,67
Nồng độ đạm	0ppm	2,11-3,14 x 1,33-1,90	1,34-1,74
	5ppm	2,10-3,09 x 1,35-1,88	1,41-1,80
	10ppm	2,10-3,13 x 1,34-1,88	1,39-1,77
Khối lượng lá	10g/L	2,12-3,15 x 1,34-1,90	1,35-1,74
	30g/L	2,08-3,08 x 1,34-1,87	1,41-1,80

Mặc dù vi khuẩn có kích thước tế bào nhỏ nhưng tỷ lệ giữa diện tích tiếp xúc của bề mặt trên thể tích tế bào lớn, điều này giúp tế bào trao đổi chất với môi trường một cách nhanh chóng làm cho tế bào sinh trưởng và sinh sản nhanh. Thông qua hiệu quả trao đổi chất cao, vi khuẩn tạo ra sinh khối đáng kể cho môi trường xung quanh (Azam & Hodson 1977).

3.4 SỰ BIẾN ĐỘNG MỘT SỐ CHỈ TIÊU HÓA HỌC TRONG NƯỚC NGÂM Ủ LÁ ĐƯỚC

3.4.1 Tổng đạm – TN (mg/L)

Trong nước biển đã có sẵn một hàm lượng đạm. Ở nghiệm thức không bổ sung đạm và không có lá thì trung bình hàm lượng tổng đạm dao động trong khoảng từ 0,9-1,9 mg/L và hàm lượng tổng đạm biến động không đáng kể theo thời gian (Bảng 42).Với nồng độ TN thấp và khá ổn định nên mật số vi khuẩn trong nước biển cũng dao động không nhiều theo thời gian, mật số trung bình của vi khuẩn hiếu khí trong nước biển khoảng $2,8x10^4$ CFU/ml, vi khuẩn kỵ khí khoảng $6,0x10^3$ CFU/ml (Bảng 41).

Bảng 41: Trung bình mật số vi khuẩn trong nước ngâm ủ lá đước ở các nghiệm thức không có ngâm lá

Nghiệm thức		Vi khuẩn hiếu khí			Vi khuẩn kỵ khí		
Nồng độ đạm (ppm)	Khối lượng lá (g/L)	Mật số	P	CV%	Mật số	P	CV%
0	0	$2,8 \times 10^4$	0,99	8,0	$6,0 \times 10^3$	0,91	21,9
5	0	$3,4 \times 10^4$	0,99	11,4	$2,9 \times 10^3$	0,72	21,0
10	0	$3,9 \times 10^4$	0,85	15,8	$1,1 \times 10^4$	0,92	22,8

P: Mức độ ý nghĩa về sự khác biệt của mật số vi khuẩn trong nước theo thời gian ngâm ủ.

Lá đước phân hủy cũng phóng thích đạm vào môi trường ngâm ủ. Bảng 42 cho thấy sau 7 ngày ngâm ủ khi được bổ sung lá ở nghiệm thức không thêm đạm thì TN trong nước tăng lên. Lượng lá ngâm ủ nhiều thì TN phóng thích vào nước có giá trị cao, điều này phù hợp với nghiên cứu của Nguyễn Thị Trang (2002). Hàm lượng TN trong nước đạt giá trị cao nhất từ sau 7-14 ngày ngâm lá, sau đó thì giảm dần cho đến gần bằng giá trị của hàm lượng TN trong nước biển. Lá đước ngâm ủ bổ sung hàm lượng đạm vào môi trường nước, đây là nguồn dinh dưỡng cho vi khuẩn sử dụng, vì vậy mật số vi khuẩn dị dưỡng trong nước tăng lên theo khối lượng lá ngâm ủ (Hình 8). Vi khuẩn trong nước đạt mật số cao nhất trong thời gian lá phân hủy từ ngày 7-14, sau đó thì giảm dần. Sự biến đổi mật số vi khuẩn trong nước tương ứng với sự thay đổi hàm lượng tổng đạm trong nước ngâm ủ lá đước. Do hàm lượng đạm trong nước được

cung cấp ở nghiệm thức có lượng lá ngâm ủ 30g/L nhiều hơn ở nghiệm thức có lượng lá ngâm ủ 10g/L nên mật số vi khuẩn trong nước ở nghiệm thức có khối lượng lá ngâm ủ 30g/L cao hơn so với ở lượng lá ngâm ủ 10g/L.

Bảng 42: Biến động trung bình hàm lượng TN (mg/L) ở các nghiệm thức theo thời gian ngâm ủ lá đước

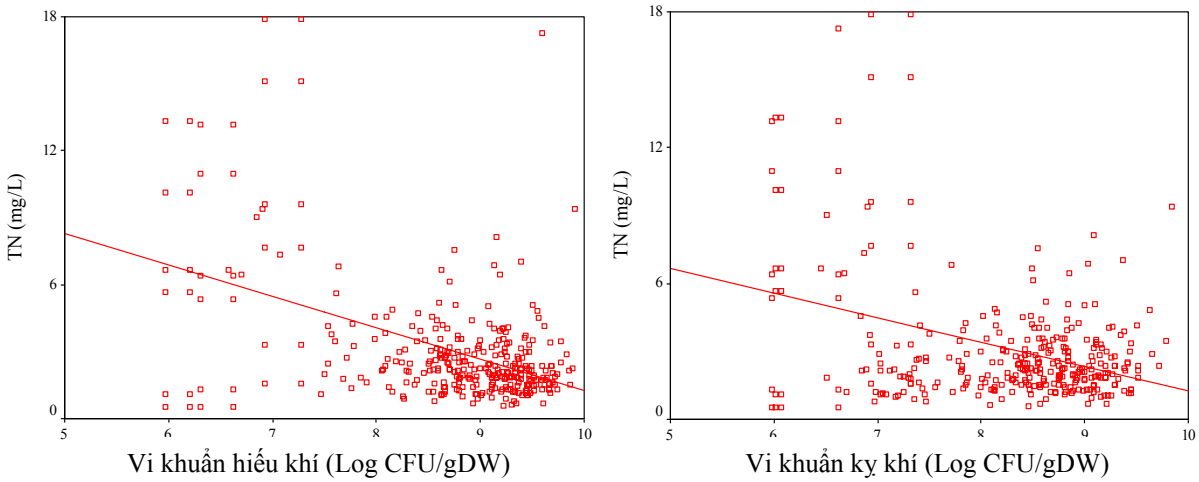
Nghiệm thức		Thời gian thí nghiệm (ngày)								
Nồng độ đạm (ppm)	Khối lượng lá (g/L)	0	7	14	21	28	35	42	49	56
0	0	1,4	1,9	1,3	1,3	1,4	1,4	1,3	0,9	1,1
0	10	1,4	2,5	2,1	1,9	1,5	1,5	1,5	1,2	1,2
0	30	1,4	4,1	4,4	3,4	2,8	2,6	1,6	1,6	1,7
5	0	6,9	4,2	1,7	1,9	2,5	1,6	1,3	1,5	1,3
10	0	13,4	7,2	2,4	1,5	1,7	1,6	1,3	1,4	1,3
5	10	6,9	3,7	2,5	2,0	2,1	2,2	2,2	4,3	1,9
5	30	6,9	5,3	3,9	4,0	2,9	2,5	1,2	2,1	2,2
10	10	13,4	5,1	3,2	2,3	2,3	1,9	1,8	1,9	1,6
10	30	13,4	5,6	4,0	3,8	3,1	2,3	2,1	2,3	2,1

CV = 17,3%

Hàm lượng TN trong thí nghiệm còn được bổ sung từ thức ăn CP. Theo kết quả bảng 42, nồng độ TN ở nghiệm thức chỉ bổ sung đạm mà không có lá cũng giảm theo thời gian đến gần bằng giá trị TN trong nước biển. Lượng đạm thêm vào càng nhiều thì tốc độ giảm TN trong nước càng nhanh. Nghiệm thức không có lá và bổ sung đạm ở nồng độ 5ppm thì TN giảm 39% sau 7 ngày, giảm 75% sau 14 ngày. Tỷ lệ TN giảm ở nghiệm thức không lá và bổ sung đạm với nồng độ 10ppm sau 7 ngày là 46%, sau 14 ngày là 81.9%. Mật số vi khuẩn trong nước ở nghiệm thức bổ sung đạm và không có lá thay đổi không đáng kể theo thời gian thí nghiệm, ở nghiệm thức có nồng độ đạm 5ppm vi khuẩn hiếu khí có mật số trung bình khoảng $3,4x10^4$ CFU/ml, vi khuẩn kỵ khí có mật số trung bình khoảng $2,9x10^3$ CFU/ml; ở nghiệm thức có nồng độ đạm 10ppm vi khuẩn hiếu khí có mật số trung bình khoảng $3,9x10^4$ CFU/ml, vi khuẩn kỵ khí có mật số trung bình khoảng $1,1x10^4$ CFU/ml (Bảng 41).

Hàm lượng TN ở nghiệm thức có bổ sung lá và bổ sung đạm cũng giảm theo thời gian ngâm ủ. Khi có lá thì TN trong nước sau 7 ngày giảm nhiều hơn khi không có ngâm lá. Tuy nhiên tốc độ giảm TN ở nghiệm thức có bổ sung đạm và có lá chậm hơn so với nghiệm thức bổ sung đạm và không có lá (Bảng 42). So sánh hàm lượng TN ở giai đoạn cuối thí nghiệm, nghiệm thức có lượng lá ngâm ủ 30g/L thì nồng độ TN trong nước còn lại có giá trị 2,1-2,2mg/L, cao hơn so với nghiệm thức có khối lượng lá

ngâm ủ 10g/L (1,6-1,9mg/L), nghiệm thức không ngâm lá (0g/L) có giá trị TN ở giai đoạn cuối thí nghiệm thấp nhất (1,3-1,3mg/L).



Hình 20: Tương quan giữa mật số vi khuẩn trên lá và hàm lượng TN trong nước ngâm ủ lá đước

Nhìn chung, hàm lượng TN trong nước phân hủy lá đước có xu hướng giảm theo thời gian. Ngược lại mật số vi khuẩn tăng theo thời gian lá đước phân hủy. Trong điều kiện thí nghiệm, chúng tôi tìm thấy sự tương quan nghịch có ý nghĩa giữa TN trong nước và mật số vi khuẩn trên lá. Hệ số tương quan r = -0,5 đối với vi khuẩn hiếu khí và r = -0,4 đối với vi khuẩn kỵ khí (N= 324; p<0,01) (Hình 20). Hệ số tương quan âm có nghĩa là khi vi khuẩn trên lá tăng mật số thì hàm lượng TN trong nước giảm. Theo Holmer & Olsen (2002), trong hoạt động trao đổi chất, vi khuẩn hấp thu đạm trong môi trường nước và tổng hợp thành đạm trong sinh khối của vi khuẩn. Nghiên cứu của Steinke & Charles (1986) cho thấy hàm lượng đạm trên lá tăng trong suốt thời gian phân hủy, điều này được giải thích là do vi khuẩn bám trên lá tăng mật số và tạo ra nhiều enzym ngoại bào để phân hủy xác thực vật, mà nitơ là 1 thành phần trong cấu tạo protein của tế bào vi khuẩn và cấu tạo các enzym do vi khuẩn tạo ra. Chale (1993) cho rằng hoạt động của vi khuẩn có thể làm phóng thích hoặc thay đổi hàm lượng chất dinh dưỡng trên lá phân hủy, hàm lượng đạm trên lá phân hủy gia tăng biểu thị rằng lá cây rừng ngập mặn có thể cung cấp bề mặt làm nơi thực hiện sự tổng hợp và tích trữ đạm trong quá trình phân hủy. Vi khuẩn bám vào các mẫu lá phân hủy làm cho chúng trở thành nguồn dinh dưỡng có hàm lượng protein cao, đây cũng là loại thức ăn hấp dẫn cho các loài ăn mùn bã hữu cơ như thân mềm, giun nhiều tơ và một số loài cá (Lê Huy Bá, 2000).

3.4.2 Tổng lân – TP (mg/L)

Hàm lượng TP trong nước biển khá ổn định theo thời gian, dao động từ 0,1-0,2 mg/L (Bảng 43). Theo Nguyễn Thị Trang (2002), lá đước phân hủy phóng thích đạm và lân vào môi trường ngâm ủ. Chúng tôi tìm thấy nồng độ TP trong nước ngâm ủ lá đước tăng lên sau 1 tuần khi được bổ sung lá. Lượng lá ngâm ủ nhiều thì TP trong nước ngâm ủ có giá trị cao và lượng TP do lá phóng thích vào nước giảm theo thời gian phân hủy của lá.

Đạm bổ sung vào các nghiệm thức không những làm tăng hàm lượng TN trong nước mà còn làm tăng hàm lượng TP. Tổng lân trong nước cao ở nghiệm thức bổ sung nhiều hàm lượng đạm. Tuy nhiên hàm lượng TN có từ đạm bổ sung thì giảm theo thời gian còn hàm lượng lân tổng có từ nguồn đạm bổ sung theo thời gian thì khác biệt không có ý nghĩa (Bảng 43).

Ở nghiệm thức có bổ sung đạm và có lá thì hàm lượng TP có xu hướng giảm theo thời gian ngâm ủ lá (kết quả từ bảng 43). Như vậy lá đước ngâm ủ không chỉ phóng thích lân vào môi trường nước trong thời gian đầu ngâm ủ mà cũng có tác dụng làm giảm 1 lượng lân trong nước có từ thức ăn CP. Hình 7 cho thấy mật số vi khuẩn dị dưỡng trong nước ở nghiệm thức có lá đước phân hủy cao hơn ở nghiệm thức không có ngâm lá. Trong quá trình phát triển, vi khuẩn hấp thu lân hòa tan trong nước tổng hợp thành sinh khối vi khuẩn, các hạt hữu cơ, xác thực vật phân hủy có vi khuẩn bám vào trở thành nguồn thức ăn giàu dinh dưỡng cho các sinh vật tiêu thụ sống trong môi trường phân hủy lá cây ngập mặn cũng như trong hệ sinh thái rừng ngập mặn, trong đó có cả các loài tôm cá có giá trị kinh tế cao (Bano *et al*.,1997).

Bảng 43: Biến động trung bình hàm lượng TP (mg/L) ở các nghiệm thức theo thời gian ngâm ủ lá đước

Nghiệm thức		Thời gian thí nghiệm (ngày)								
Nồng độ đạm (ppm)	Khối lượng lá (g/L)	0	7	14	21	28	35	42	49	56
0	0	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,1
0	10	0,2	0,3	0,3	0,3	0,2	0,2	0,2	0,1	0,1
0	30	0,2	0,6	0,7	0,5	0,6	0,6	0,4	0,3	0,2
5	0	0,6	0,6	0,6	0,7	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6
10	0	1,2	1,0	1,1	1,1	1,1	1,2	1,1	1,1	1,1
5	10	0,6	0,6	0,7	0,6	0,6	0,6	0,5	0,4	0,4
5	30	0,6	1,2	1,0	0,9	1,1	1,0	0,7	0,6	0,5
10	10	1,2	0,9	1,0	1,0	1,0	1,0	0,9	0,8	0,7
10	30	1,2	1,4	1,3	1,3	1,5	1,2	1,1	1,0	1,0

CV = 10,3%

Kết quả từ Bảng 43 cho thấy khối lượng lá đước ngâm ủ nhiều thì hàm lượng lân từ lá phóng thích vào nước có giá trị cao. Khi không có bổ sung đạm, nghiệm thức với lượng lá ngâm ủ 30g/L có trung bình hàm lượng lân trong nước cao hơn 2,3 lần so với hàm lượng lân trong nước ở nghiệm thức có lượng lá ngâm ủ 10g/L, vì vậy khối lượng lá ngâm ủ và khả năng giảm lân trong nước tỷ lệ nghịch với nhau. So sánh giữa thời gian ngày đầu và ngày cuối của quá trình thí nghiệm đối với các nghiệm thức có bổ sung đạm và có ngâm lá, hàm lượng TP giảm ở nghiệm thức có khối lượng lá ngâm ủ 10g/L là 37,7%, trong khi TP giảm ở nghiệm thức có khối lượng lá ngâm ủ 30g/L là 14,3%.

Mặc dù theo thời gian lá đước phân hủy, hàm lượng TP trong nước ngâm ủ có xu hướng giảm và vi khuẩn dị dưỡng có xu hướng tăng mật số nhưng kết quả chúng tôi không tìm thấy sự tương quan giữa hàm lượng TP trong nước ngâm ủ và mật số vi khuẩn dị dưỡng trong môi trường phân hủy lá đước.

3.4.3 Nhu cầu oxy sinh hóa – BOD (mg/L)

Do chất hữu cơ có từ nguồn đạm bổ sung, BOD ở ngày đầu thí nghiệm có giá trị rất cao. Lượng đạm bổ sung càng nhiều thì lượng oxy cần thiết để vi khuẩn phân hủy các chất hữu cơ càng cao. Sau 56 ngày ngâm ủ, BOD ở các nghiệm thức có nồng độ đạm khác nhau trở về những giá trị gần bằng nhau, dao động từ 6,5-9,3 mg/L. Giá trị BOD ở các nghiệm thức có khối lượng lá ngâm ủ khác nhau sau 56 ngày phân hủy dao động từ 7,2-9,3mg/L (Bảng 44).

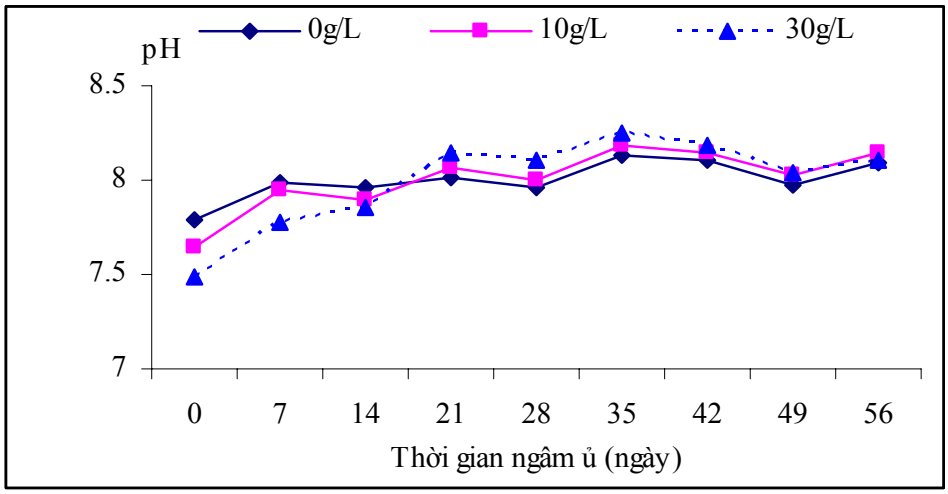
Bảng 44: Giá trị trung bình của BOD (mg/L) trong ngày đầu và ngày cuối thí nghiệm ở các nồng độ đạm và lượng lá ngâm ủ khác nhau

Thời gian ngâm ủ	Nồng độ đạm			Khối lượng lá ngâm ủ		
	0ppm	5ppm	10ppm	0g/L	10g/L	30g/L
Ngày đầu	2,8	55,0	104,6	54,1	54,1	54,1
Ngày cuối	9,0	8,6	6,5	7,2	7,6	9,3

CV = 33,9%

3.4.4 pH

Quá trình phân hủy lá cây ngập mặn làm tăng giá trị pH trong môi trường nước phân hủy (Steinke & Charles, 1986). Kết quả thí nghiệm cũng tìm thấy giá trị pH tăng theo thời gian phân hủy lá đước. Khối lượng lá ngâm ủ nhiều thì pH tăng nhiều, thể hiện ở hình 21.



Hình 21: Biến động giá trị pH theo thời gian phân hủy lá đước ở các khối lượng lá ngâm ủ khác nhau

Trong thời gian phân hủy lá đước, giá trị pH trong nước ngâm ủ dao động từ 7,48-8,25, khoảng giá trị này phù hợp cho sự phát triển của vi khuẩn trong môi trường nước (Nguyễn Đức Lượng & Nguyễn Thị Thùy Dương, 2003).

3.4.5 Nồng độ oxy hòa tan – DO , nhiệt độ

Trung bình nồng độ oxy hòa tan trong thời gian ngâm ủ lá đước được trình bày ở bảng 45. Nồng độ oxy hòa tan trong nước khá ổn định theo thời gian. Tuy nhiên, DO ở độ mặn 25‰ luôn thấp hơn DO ở độ mặn 5‰.

Bảng 45: Giá trị trung bình nồng độ oxy hòa tan và nhiệt độ ở các độ mặn khác nhau trong thời gian ngâm ủ lá đước

Thời gian ngâm ủ (ngày)	Oxy hòa tan (mg/L)		Nhiệt độ (^oC)	
	Độ mặn 5‰	Độ mặn 25‰	Độ mặn 5‰	Độ mặn 25‰
0	5,7	5,0	29,3	29,2
7	5,3	4,4	28,7	28,7
14	3,8	3,3	27,8	27,8
21	4,9	4,5	29,0	29,0
28	4,7	4,3	28,4	28,3
35	4,6	4,1	27,9	27,9
42	4,9	4,4	27,6	27,6
49	5,0	4,4	28,2	28,2
56	5,6	4,8	27,6	27,6
TB	4,9	4,4	28,3	28,3

Bảng 45 cho thấy nhiệt độ trong môi trường phân hủy lá đước biến động không nhiều và dao động trong khoảng từ 27,6-29,3^{o}C. Theo Nguyễn Đức Lượng & Nguyễn Thị Thùy Dương (2003), đa số vi khuẩn trong thủy vực thuộc nhóm ưa ấm. Mặc dù vi sinh vật được phân chia thành các nhóm tùy theo khả năng phát triển ở các nhiệt độ khác nhau, nhưng trong thực tế các nhóm này không tách biệt nhau mà gắn liền với nhau qua các dạng trung gian. Đồng thời trong thiên nhiên, vi khuẩn phát triển trong những điều kiện nhiệt độ thay đổi liên tục và chúng phát triển theo chiều hướng thích nghi rất rõ rệt. Nhiệt độ trong môi trường ngâm ủ lá đước nằm trong khoảng nhiệt độ thuận lợi cho sự phát triển của đa số vi khuẩn phân hủy lá đước. Sự biến động của nhiệt độ nằm trong khoảng nhiệt độ phát triển của vi khuẩn trở thành yếu tố thuận lợi cho vi khuẩn, sự biến động này sẽ kích thích các hoạt động sống, làm tăng tốc độ phản ứng hóa học, sinh học cho vi khuẩn (Nguyễn Đức Lượng & Nguyễn Thị Thùy Dương, 2003).

Nhiệt độ trung bình ở độ mặn 5‰ và 25‰ không khác biệt nhau (28,3^{o}C) và nằm trong khoảng nhiệt độ thích hợp cho sự phát triển của vi khuẩn ở môi trường nước (Nguyễn Đức Lượng & Nguyễn Thị Thùy Dương, 2003), do đó sự phát triển khác nhau của vi khuẩn ở 2 độ mặn không do ảnh hưởng của nhiệt độ trong nước.

Nhiệt độ trong môi trường phân hủy lá đước ở các lượng lá ngâm ủ khác nhau được trình bày ở bảng 46.

Bảng 46: Giá trị nhiệt độ trung bình (^{o}C) ở các lượng lá ngâm ủ khác nhau trong thời gian ngâm ủ lá đước

Thời gian ngâm ủ (ngày)	Lượng lá ngâm ủ (g/L)		
	0	10	30
0	29,3	29,3	29,2
7	28,7	28,7	28,7
14	27,8	27,8	27,7
21	29,1	29,0	29,0
28	28,3	28,3	28,3
35	28,0	27,9	27,8
42	27,6	27,6	27,6
49	28,3	28,2	28,1
56	27,6	27,6	27,5
TB	28,3	28,3	28,2

Kết quả theo dõi về nhiệt độ trong môi trường phân hủy lá đước cho thấy trong cùng thời gian ngâm ủ, nhiệt độ ở các nghiệm thức có lá và không có lá không khác biệt. Tuy nhiên mật số vi khuẩn trong nước ngâm ủ lá đước ở các lượng lá khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa. Điều này cho thấy, sự khác biệt về mật độ của vi khuẩn trong điều kiện thí nghiệm không bị chi phối bởi nhiệt độ của môi trường nước ngâm ủ, mà sự khác biệt này do bởi lượng dinh dưỡng có trong lá. Quá trình phân hủy lá đước làm cho lượng đạm và lân có trong lá đước tăng, đây là nguồn dinh dưỡng chủ yếu cho sự gia tăng mật số của vi khuẩn.

CHƯƠNG 4: KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

4.1 KẾT LUẬN

- Trong môi trường phân hủy lá đước, vi khuẩn hiếu khí có mật số cao hơn vi khuẩn kỵ khí. Đa số vi khuẩn có xu hướng bám trên lá phân hủy nhiều hơn sống tự do trong nước. Các mức độ đạm trong thí nghiệm không ảnh hưởng đến sự khác biệt về mật số vi khuẩn trong môi trường ngâm ủ lá đước nhưng các nồng độ muối và lượng lá ngâm ủ khác nhau thì vi khuẩn có mật số khác nhau. Vi khuẩn dị dưỡng tham gia phân hủy lá đước trên lá và trong nước ở độ mặn 5‰ có mật số cao hơn ở độ mặn 25‰. Khối lượng lá đước ngâm ủ càng nhiều thì vi khuẩn dị dưỡng trong nước ngâm ủ có mật số càng cao kể cả khi môi trường ngâm ủ không được bổ sung thêm đạm.

- Trong môi trường phân hủy lá đước có sự hiện diện của quần thể vi khuẩn phong phú về số lượng, đa dạng về khả năng trao đổi chất trên cả lá đước phân hủy và trong môi trường nước ngâm ủ. Vi khuẩn phân hủy tinh bột chiếm tỷ lệ đa số (98,6%), vi khuẩn tham gia quá trình nitrat hóa có tỷ lệ 76,5%, vi khuẩn có khả năng phân hủy cellulose chiếm tỷ lệ thấp (9,6%).

- Đa số các vi khuẩn trong môi trường phân hủy lá đước là các vi khuẩn hình que (85%), có khả năng chuyển động (75%), thuộc Gram âm (93%), khả năng tạo bào tử thấp (2,7%) và có nhiều kích thước khác nhau.

- Có sự tương quan giữa mật số vi khuẩn trên lá đước phân hủy với hàm lượng tổng đạm trong môi trường ngâm ủ ($r = -0,5$; $N = 324$; $p<0,01$) nhưng không có sự tương quan giữa mật số vi khuẩn và hàm lượng tổng lân trong nước ngâm ủ.

4.2 KIẾN NGHỊ

- Khảo sát mật số vi khuẩn dị dưỡng trong môi trường phân hủy lá đước ở thời gian lâu hơn để tìm hiểu sự biến động của quần thể vi khuẩn trong toàn bộ quá trình phân hủy lâu dài của lá đước.

- Cần tiến hành thêm các thí nghiệm để xác định cụ thể thành phần chủng loại các loại vi khuẩn có trong môi trường phân hủy lá đước.

DANH MỤC TÀI LIỆU THAM KHẢO

*** Tiếng Việt**

Bộ thủy sản (1996), Nguồn lợi thủy sản việt Nam, Nhà xuất bản nông nghiệp Hà Nội.

Bùi Lai, Đoàn Cảnh và Võ Quý (1979), Cơ sở sinh thái học, Nhà xuất bản Đại học và Trung học chuyên nghiệp Hà Nội.

Bùi Thị Nga, R. Roijackers và Đ. T. Tâm (2004a), "Sự phân hủy và cung cấp dưỡng chất của lá đước *(Rhizophora apiculata)*", Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ, (01), tr.30-39.

Bùi Thị Nga, Huỳnh Quốc Tịnh và M. Scheffer (2004b), "Rừng ngập mặn độ tuổi nhỏ cung cấp lượng lớn vật rụng giàu dưỡng chất cho thủy vực", Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ, (01), tr. 40-48.

Bùi Thị Nga, M. Scheffer và Trương Trọng Nghĩa (2005), "Ảnh hưởng của lá đước đang phân hủy đối với tôm sú giống Penaeus monodon", Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ, (03), tr.18-25.

Châu Thị Kim Thoa (2002), Xác định hàm lượng dinh dưỡng lá đước trong quá trình phân hủy trong điều kiện phòng thí nghiệm, Tiểu luận tốt nghiệp đại học chuyên ngành Môi Trường và QLTNTN, Trường Đại học Cần Thơ.

Dương Hữu Thời (1998), Cơ sở sinh thái học, Nhà xuất bản Đại học Quốc gia Hà Nội.

Đinh Quang Dũng và Lê Thị Xinh (2002), "Tìm hiểu một số đặc tính sinh thái của vi khuẩn dị dưỡng đất rừng ngập mặn", *Hội thảo khoa học về Đánh giá vai trò của vi sinh vật trong hệ sinh thái rừng ngập mặn*, Hà Nội, tr. 86-92.

Kiều Hữu Ánh và Ngô Tự Thành (1985), Vi sinh vật học của các nguồn nước, Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật Hà Nội.

Lê Bá Toàn (2005), "Rừng đước với môi trường và ảnh hưởng của nó đến năng suất tôm và đước trong hệ thống canh tác nuôi trồng kết hợp ở huyện Ngọc Hiển, tỉnh Cà Mau", *Hội thảo toàn quốc về vai trò của hệ sinh thái rừng ngập mặn và rạn san hô trong việc giảm nhẹ tác động của đại dương đến môi trường,* Hà Nội, tr.131-141.

Lê Huy Bá (2000), Môi trường, Nhà xuất bản Đại học Quốc gia Thành Phố Hồ Chí Minh.

Mai Thị Hằng và Trần Thị Mỹ Hạnh (2004), "Khảo sát nguồn gen *Bacillus thuringiensis* diệt côn trùng từ một số rừng ngập mặn Việt Nam", *Hệ sinh thái rừng ngập mặn vùng ven biển đồng bằng sông Hồng*, Đại học Quốc gia Hà Nội.

Nguyễn Đức Lượng và Nguyễn Thị Thùy Dương (2003), Công nghệ sinh học môi trường. Tập 1: Công nghệ xử lý nước thải, Nhà xuất bản Đại học Quốc gia TP Hồ Chí Minh.

Nguyễn Hoàng Trí (1999), Hệ sinh thái rừng ngập mặn, Nhà xuất bản Nông Nghiệp Hà Nội.

Nguyễn Hữu Hiệp và Cao Ngọc Điệp (2002), Giáo trình thực tập vi sinh vật đại cương.

Nguyễn Lân Dũng, Nguyễn Đình Quyến và Phạm Văn Ty (2000), Vi sinh vật học, Nhà xuất bản Giáo dục.

Nguyễn Như Thanh, Nguyễn Đường, Nguyễn Khắc Tuấn, Nguyễn Thị Bích Lộc và Nguyễn Bá Hiên (1990), Vi sinh vật học đại cương, Trường Đại học Nông Nghiệp Hà Nội, Bộ Giáo dục và Đào tạo.

Nguyễn Thành Đạt và Mai Thị Hằng (2001), Sinh học vi sinh vật, NXB Giáo dục, Bộ Giáo dục và Đào tạo.

Nguyễn Thị Hồng Hạnh và Mai Sỹ Tuấn (2005), "Sự tích tụ cacbon và nitơ trong mẫu phân hủy lượng rơi và trong đất rừng ngập mặn huyện Giao Thủy, tỉnh Nam Định", *Hội thảo toàn quốc về vai trò của hệ sinh thái rừng ngập mặn và rạn san hô trong việc giảm nhẹ tác động của đại dương đến môi trường*, Hà Nội, tr. 271-276.

Nguyễn Thị Thu Hà (2002), "Nghiên cứu vi khuẩn dị dưỡng hệ sinh thái rừng ngập mặn một số vùng thuộc Nam Định và Thái Bình", *Hội thảo khoa học về Đánh giá vai trò của vi sinh vật trong hệ sinh thái rừng ngập mặn*, Hà Nội, tr. 40-50.

Nguyễn Thị Thu Hà, Hà Thị Hường, Nguyễn Thùy Dương, Nguyễn Quang Đạt và Trần Quyết Thắng (2002a), "Nghiên cứu định lượng vi sinh vật đất rừng ngập mặn ở một số vùng ven biển Nam Định và Thái Bình", *Hội thảo khoa học về Đánh giá vai trò của vi sinh vật trong hệ sinh thái rừng ngập mặn*, Hà Nội, tr. 51-58.

Nguyễn Thị Thu Hà, Hoàng Thu Nga, Lê Thị Xinh, Nguyễn Ngọc Bình và Đào Văn Thái (2002b), "Tính chất của các chủng vi khuẩn dị dưỡng phân lập từ hệ sinh thái rừng ngập mặn một số vùng thuộc Nam Định và Thái Bình", *Hội thảo khoa học về Đánh giá vai trò của vi sinh vật trong hệ sinh thái rừng ngập mặn*, Hà Nội, tr. 62-67.

Nguyễn Thị Thu Hà, Nguyễn Thị Thu Lê, Nguyễn Thái Sơn, Phạm Thị Vui, Trần Thị Lan Anh và Bùi Tiến Trường (2002c), "Nghiên cứu sự tham gia phân hủy lá cây ngập mặn của vi khuẩn dị dưỡng trong hệ sinh thái của sông Hồng", *Hội thảo khoa học về Đánh giá vai trò của vi sinh vật trong hệ sinh thái rừng ngập mặn*, Hà Nội, tr. 76-83.

Nguyễn Thị Trang (2002), Biến động nồng độ đạm, lân trong quá trình phân hủy lá đước trong điều kiện phòng thí nghiệm, Tiểu luận tốt nghiệp đại học chuyên ngành Môi Trường và QLTNTN, Trường Đại học Cần Thơ.

Phạm Thành Hổ (2000), Sinh học đại cương, Nhà xuất bản Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh.

Phan Nguyên Hồng, Trần Văn Ba, Viên Ngọc Nam, Hoàng Thị Sản, Vũ Trung Tạng, Lê Thị Trễ, Nguyễn Hoàng Trí, Mai Sỹ Tuấn và Lê Xuân Tuấn (1999), Rừng ngập mặn Việt Nam, Nhà xuất bản Nông nghiệp Hà Nội.

Phan Nguyên Hồng và Mai Thị Hằng (2002), "Báo cáo tổng kết nghiên cứu của đề tài Đánh giá vai trò của vi sinh vật trong hệ sinh thái rừng ngập mặn", *Hội thảo khoa học về Đánh giá vai trò của vi sinh vật trong hệ sinh thái rừng ngập mặn*, Hà Nội, tr.1 – 12.

Phan Nguyên Hồng, Phan Hồng Anh và Quản Thị Quỳnh Dao (2005), "Mối quan hệ giữa hệ sinh thái rừng ngập mặn và nguồn lợi hải sản", *Hội thảo toàn quốc về vai trò của hệ sinh thái rừng ngập mặn và rạn san hô trong việc giảm nhẹ tác động của đại dương đến môi trường*, Hà Nội, tr. 93-103.

Primavera J. H., A. A. delos Reyes, J. P. Altamirano, C. R. Lavilla-Torres và J. H. L. Lebata (2005), "Xử lý nước thải đầm tôm ở vùng đất ngập nước rừng ngập mặn tự nhiên", *Hội thảo toàn quốc về vai trò của hệ sinh thái rừng ngập mặn và rạn san hô trong việc giảm nhẹ tác động của đại dương đến môi trường*, Hà Nội, tr. 91-95.

Thái Văn Trừng (1998), Những hệ sinh thái rừng nhiệt đới ở Việt Nam. NXB Khoa học và Kỹ thuật.

Trần Linh Thước (2002), Phương pháp phân tích vi sinh vật trong nước, thực phẩm và mỹ phẩm, NXB giáo dục.

Trần Cẩm Vân (2001), Giáo trình vi sinh vật học môi trường, Nhà xuất bản Đại học Quốc gia Hà Nội.

Vũ Trung Tạng (2000), Cơ sở sinh thái học, Nhà xuất bản Giáo dục Hà Nội.

***Tiếng Anh**

Agate A. D. and V. V. Panchnadikar (1992), Tropical ecosystems: Ecology and management, K. P.Singh and J. S. Singh (eds) pp.301-307, Dalhi India Wiley Eastern.

Aksornkoae S. (1993), Ecology and Management of Mangroves, IUCN.

Alavandi S. V. (1990), Relationship between heterotrophic bacteria and suspended particulate matter in the Arabian Sea (Cochin), Indian J Mar Sci 30, pp. 89-92.

Alongi D. M. (1994), The role of bacteria in nutrient recycling in tropical mangrove and other coastal benthic ecosystems, Hydrobiologia 285, pp. 19-32.

Alonso C. and J. Pernthaler (2004), Incorporation of Glucose under Anoxic Conditions by Bacterioplankton from Coastal North Sea Surface Waters, Applied and Environmental Microbiology 71, pp. 1709-1716.

Atlas R. M. (1995), Handbook of Media for Environmental Microbiology.

Azam F. and R. E. Hodson (1977), Size distribution and activity of marine microheterotrophs, Limnol Oceanogr 42, pp.1590-1600.

Bano N., M. Nisa, N. Khan, M. Saleem, P. J. Harrison, S. I. Ahmed, and F. Azam (1997), Significance of bacteria in the flux of organic matter in the tidal creeks of the mangrove ecosystem of the Indus River delta, Pakistan, Mar Ecol Prog Ser 157, pp.1-12.

Blum L. K., A. L. Mills, J. C. Zieman and R. T. Zieman (1988), Abundance of bacteria and fungi in seagrass and mangrove detritus, Mar Ecol Prog Ser 42, pp. 73-78.

Blum L. K. and A. L. Mills (1991), Microbial growth and activity during the initial stages of seagrass decomposition, Mar Ecol Prog Ser 70, pp. 73-82.

Bui Thi Nga (2004), *Penaeus monodon* post-larvae and their interaction with *Rhizophora apiculata*, PhD thesis, Wageningen University, The Netherlands.

Chale F. M. M. (1993), Degradation of mangrove leaf litter under aerobic conditions, Hydrobiology 257, pp.177-183.

Das S., P. S. Lyla and S. A. Khan (2006), Marine microbial diversity and ecology: importance and future perspectives, Current science 90, pp.1325-1335.

del Gior P. A. and G. Scarborough (1995), Increase in the proportion of metabolically active bacteria along gradients of enrichment in freshwater and marine plankton: implications for estimates of bacterial growth and production rates, J Plankton Res 17, pp.1905-1924.

Gulis V. and K. Suberkropp (2003), Leaf litter decomposition and microbial activity in nutrient-enriched and unaltered reaches of a headwater stream, Freshwater Biology 48, pp.123-134.

Haglund A-L. (2004), Attached Bacterial Communities in Lakes – Habitat-Specific Differences, PhD thesis, Acta Universitatis Upsaliensis.

Hendricks C. W., J. D. Doyle and B. Hugley (1995), A New Solid Medium for Enumetating Cellulose-Utilizing Bacteria in Soil, Applied and Environmental Microbiology 61, pp. 2016-2019.

Hieber M. and M. O. Gessner (2002), Contribution of stream detrivores, fungi and bacteria to leaf breakdown based on biomass estimates, Ecology 83, pp.1026-1038.

Holguin G., V. Patricia, and B. Yoav (2001), The role of sediment microorganisms in the productivity, conservation, and rehabilitation of mangrove ecosystems: an overview, Biol Fertil Soils 33, pp. 265-278.

Holmer M. and A. B. Olsen (2002), Role of decomposition of mangrove and seagrass detritus in sediment carbon and nitrogen cycling in a tropical mangrove forest, Marine ecology progress series 230, pp. 87-101.

Houba V. J. G., J. J. van der Lee and I. Novozamsky (1995), Soil Analysis Procedures Other Procedures, Wageningen Agricultural University.

Johnston D., N. V. Trong, T. T. Tuan and T. T. Xuan (2000), Shrimp seed recruitment in mixed shrimp and mangrove forestry farms in Ca Mau province, Sounthern Viet Nam. Aquaculture 184, pp. 89- 104.

Karner M., D. Fuks and G. J. Herndel (1992), Bacterial activity along a trophic gradient, Microb Ecol 24, pp. 243–257.

Kathiresan K. and B.L. Bingham (2001), Biology of Mangroves and Mangrove Ecosystems, Advances in Marine Biology 40, pp. 81-251.

Kenworthy W. J., C. A. Currin, M. S. Fonseca and G. Smith (1989), Production, decomposition and heterotrophic utilization of the seagrass Halophila decipiens in a submarine canyon, Mar Ecol Prog Ser 51, pp. 277-290.

Komínková D., K. A. Kuehn, N. Büsing, D. Steiner and M. O. Gessner (2000), Microbial biomass, growth, and respiration associated with submerged litter of Phragmites australis decomposing in a littoral reed stand of a large lake, Aquat Microb Ecol 22, pp. 271-282.

Mahasneh A. M. (2001), Bacterial Decomposition of Avicennia marina Leaf Litter from Al-khor (Qatar-Arabian Gulf), OnLine Journal of Biological Sciences 8, pp. 717-719.

Mahasneh A. M. (2002), Heterotrophic Marine Bacteria Attached to Leaves of *Avicennia marine* L. Along the Qatari Coast (Arabia Gulf), Online Journal of Biological Sciences 2, pp. 740-743.

Minh T. H., A.Yakupitiyage and D.J. Macintosh (2001), Management of the Integrated Mangrove-Aquaculture Farming Systems in the Mekong Delta of Vietnam, ITCZM Monograph No, pp. 1- 24.

Mudryk Z. and W. Donderski (1991), Effect of Sodium Chloride on the Metabolic Activity of Halophilic Bacteria Isolated From the Lake Gardno Estuary, Estuaries 14, pp. 495-498.

Mudryk Z. and W. Donderski (1997), The occurrence of heterotrophic bacteria decomposing some macromolecular compounds in shallow estuarine lakes, Hydrobiologia 342, pp. 71-78.

O'Connell A. M. (1988), Nutrients dynamics in decomposing litter in karri (*Eucalyptus diversicolor*) forest of South-western Australia, Journal of Ecology 76, pp. 1186-1203.

Paez-Osuna F., S. R. Guerrero-Galvan and A. C. Ruiz-Fernadez (1998), The Environmental impact of shrimp Aquaculture and the Coastal pollution in Mexico, Marine Pollution Bulletin 36, pp. 65-75.

Page A. L., R. H. Miller and D. R. Keeney (1982), Nitrifying Bacteria, In : Methods of Soil Analysis, Part 2. Chemical and Microbiological Properties. Madison, Wisconsin USA, pp: 1027-1041.

Pascoal C. and C. Fernanda (2004), Contribution of Fungi and Bacteria to Leaf Litter Decomposition in a Polluted River, Applied and Environmental Microbiology 70, pp. 5266-5273.

Raghukumar S., V. Sathe-Pathak, S. Sharma and C. Raghukumar (1995), Thraustochytrid and fungal component of marine detritus, III. Field studies on decomposition of leaves of the mangrove *Rhizophora apiculata*, Aquat microb Ecol 9, pp. 117-125.

Rath J., C. Schiller and G. J. Herndl (1993), Ectoenzymatic activity and bacterial dynamics along a trophic gradient in the Caribbean Sea, Mar Ecol Prog Ser 102, pp. 89-96.

Reasoner D. J. and E. E. Geldreich (1985), A New Medium for the Enumeration and Subculture of Bacteria from Potable Water, Applied and Environmental Microbiology 49, pp. 1-7.

Samuel P. M. (2000), Developments in aquatic microbiology, Internatl Microbiol 3, pp. 203-211.

Siuda W. and R. J. Chróst (2002), Decomposition and Utilization of Particulate Organic Matter by Bacteria in Lakes of Different Trophic Status, Polish Journal of Environmental Studies 1, pp. 53-65

Standard Methods (2000), Examination of Water and Wastewater, Apha.

Steinke T. D. and L. M. Charles (1986), In vitro rates of decomposition of leaves of the mangrove *Bruguiera gymnorrhiza* as affected by temperature and salinity, S Afr Tydskr Plantk 52, pp. 39-42.

Tanaka Y. (2004), Aerobic cellulolytic bacterial flora associated with decomposing Phragmites leaf litter in a seawater lake, Hydrobiologia (Springer Netherlands) 263, pp. 14-154

Valiela L., J. Wilson, R. Buchsbaum, C. Rietsma, D. Bryant, K. Foreman and J. Teal (1984), Importance of chemical composition of salt marsh litter on decay rates and feeding by detritivores, Bull Mar Sci 35, pp. 261-269.

Vazquez P., G. Holguin, M. E. Puente, A. Lopez-Cortes and Y. Bashan (2000), Phosphate-solubilizing microorganisms associated with the rhizosphere of mangroves in a semiarid coastal lagoon, Biol Fertil Soils 30, pp. 460-468.

Weyers H. S. and K. Suberkropp (1996), Fungal and bacteria production during the breakdown of yellow poplar leaves in 2 tream, J N Am Benthol Soc 15, pp. 408-420.

Yasuo T. and T. Yasuhiko (1982), Dynamics of detritus-attached and free-living bacteria during decomposition of phragmites communis powder in seawater, Bibliography 32, pp. 151-158.

Zhou H. (2001), Effects of leaf litter addition on meiofaunal colonization of azoic sediments in a subtropical mangrove in Hong Kong, J of Exp Mar Biol and Ecol 256, pp. 99-121.