

## Density and de-nitrifying potential of indigenous bacterial assemblage in mangrove and seagrass in the North of Vietnam

Le Thanh Huyen<sup>1</sup>, Dao Thi Anh Tuyet<sup>2</sup>, Le Minh Hiep<sup>2</sup>, Nguyen Tien Dat<sup>2</sup>, Ha Thi Binh<sup>2</sup>,  
Do Trung Sy<sup>3</sup>, Do Manh Hao<sup>1,2,\*</sup>

<sup>1</sup>Graduate University of Science and Technology, VAST, Vietnam

<sup>2</sup>Institute of Marine Environment and Resources, VAST, Vietnam

<sup>3</sup>Institute of Chemistry, VAST, Vietnam

\*E-mail: [haodm@imer.vast.vn](mailto:haodm@imer.vast.vn)

Received: 28 October 2020; Accepted: 9 January 2021

©2021 Vietnam Academy of Science and Technology (VAST)

### Abstract

This study assessed the density and de-nitrification potential of indigenous microorganisms in mangroves and seagrass beds in northern Vietnam through two mangrove ecosystems in Tien Yen - Quang Ninh and Bang La - Hai Phong and three seagrass beds in Ha Coi and Dam Ha - Quang Ninh and Tam Giang - Thua Thien Hue. The analysis results of 4 sampling times in rainy and dry seasons during 2017–2019 showed that the density of de-nitrifying bacteria ranged from  $(1.0 \times 10^2)$ – $(4.6 \times 10^3)$  MPN/mL, averaging  $1.1 \pm 0.3 \times 10^3$  MPN/mL. The density in mangroves was higher than that in seagrass ( $\alpha = 0.05$ ). De-nitrification rates ranged from 0.0  $\mu\text{gN/wet}$  to 69.0  $\mu\text{gN/wet soil g/hour}$ , averaging  $18.4 \pm 7.4 \mu\text{gN/wet soil g/hour}$ . The rate at the experiments added 0.5 mgN/L in seagrass was higher than that in the mangrove. The density and rate of de-nitrification were significantly correlated with many environmental factors, especially density of sulfur-oxidizing bacteria, the density of nitrifying bacteria, pH, Eh, Nts, N-NH<sub>4</sub>, P- PO<sub>4</sub> and BOD<sub>5</sub>.

**Keywords:** De-nitrifying bacteria, de-nitrification rate, mangrove, seagrass bed, environmental factor, north of Vietnam.

## Mật độ và tiềm năng phản nitrat hoá của hệ vi khuẩn bản địa trong rừng ngập mặn và thảm cỏ biển phía bắc Việt Nam

Lê Thanh Huyền<sup>1</sup>, Đào Thị Ánh Tuyết<sup>2</sup>, Lê Minh Hiệp<sup>2</sup>, Nguyễn Tiến Đạt<sup>2</sup>, Hà Thị Bình<sup>2</sup>, Đỗ Trung Sỹ<sup>3</sup>, Đỗ Mạnh Hào<sup>1,2,\*</sup>

<sup>1</sup>Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, Việt Nam

<sup>2</sup>Viện Tài nguyên và Môi trường biển, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, Việt Nam

<sup>3</sup>Viện Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, Việt Nam

\*E-mail: haodm@imer.vast.vn

Nhận bài: 28-10-2020; Chấp nhận đăng: 9-1-2021

### Tóm tắt

Mật độ và tiềm năng phản nitrat hoá của hệ vi sinh vật bản địa trong rừng ngập mặn (RNM) và thảm cỏ biển (TCB) ven biển phía bắc Việt Nam được đánh giá thông qua 02 hệ sinh thái RNM ở khu vực Tiên Yên - Quảng Ninh và Bàng La - Hải Phòng và 03 hệ sinh thái TCB ở khu vực Hà Cối và Đầm Hà - Quảng Ninh và Tam Giang - Thừa Thiên Huế. Kết quả phân tích được thực hiện trong 4 đợt thu mẫu vào mùa khô và mùa mưa trong giai đoạn 2017-2019 cho thấy mật độ vi khuẩn phản nitrat hóa dao động lớn từ  $(1,0 \times 10^2)$ – $(4,6 \times 10^3)$  MPN/mL, trung bình  $1,1 \pm 0,3 \times 10^3$  MPN/mL. Mật độ nhóm vi khuẩn này trong RNM cao hơn trong TCB ( $\alpha = 0,05$ ). Tốc độ phản nitrat hóa dao động từ 0,0–69,0  $\mu\text{gN/g}$  ước/giờ, trung bình  $18,4 \pm 7,4$   $\mu\text{gN/g}$  ước/giờ. Tốc độ phản nitrat khi cơ chất bổ sung 0,5 mg/L trong TCB cao hơn trong RNM ( $\alpha = 0,05$ ). Mật độ và tốc độ phản nitrat hóa có mối tương quan với nhiều yếu tố môi trường, đặc biệt là với mật độ vi khuẩn oxy hóa sulfur, vi khuẩn nitrat hóa, pH, Eh, Nts, N-NH<sub>4</sub>, P-PO<sub>4</sub> và BOD<sub>5</sub>.

**Từ khoá:** Vi khuẩn phản nitrat, tốc độ phản nitrat hóa, yếu tố môi trường, rừng ngập mặn, thảm cỏ biển, bắc Việt Nam

### MỞ ĐẦU

Trong các vực nước cửa sông, ven biển, các hợp chất nitơ vô cơ (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, NH<sub>3</sub>, NO<sub>2</sub><sup>-</sup> và NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) được tích lũy do sự phát thải trực tiếp và quá trình vô cơ hóa các hợp chất hữu cơ giàu ni tơ từ lục địa mang ra. Đây là các tác nhân dẫn đến tình trạng phú dưỡng ở nhiều hệ sinh thái ven biển. Trong khi amoni tổng (TAN) và nitrit là độc tố đối với sinh vật biển bởi nó có thể gây ra hiệu ứng cấp tính và kinh niên dẫn đến giảm khả năng đề kháng bệnh và giảm sự sinh trưởng của sinh vật biển [1, 2] thì nitrat không gây độc trực tiếp cho đối tượng nuôi nhưng sự có mặt với nồng độ cao sẽ kích thích sự nở hoa của tảo và qua đó ảnh hưởng đến sinh trưởng vật nuôi

do thiếu hụt ôxy và độc tố tảo độc [3, 4]. Do vậy, việc nghiên cứu đưa ra các giải pháp nhằm kiểm soát nồng độ amoni, nitrit và nitrat không chỉ là điều kiện tiên quyết ảnh hưởng đến năng suất sinh học của hệ sinh thái mà còn góp phần giảm thiểu tác động tiêu cực của nguồn nước thải đến môi trường sinh thái ven biển.

Vi sinh vật đóng vai trò quan trọng trong quá trình chuyển hoá nitơ trong các thủy vực. Trong điều kiện hiếu khí, vi khuẩn nitrat hoá chuyên hoá amoni (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) thành nitrit (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>) và tiếp theo thành nitrat (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>), trong khi đó ở điều kiện kỵ khí, vi khuẩn phản nitrat hoá chuyên hoá NO<sub>2</sub><sup>-</sup> và NO<sub>3</sub><sup>-</sup> thành khí N<sub>2</sub>O, N<sub>2</sub> và một phần thành NH<sub>4</sub><sup>+</sup> [5]. Thông qua hai

quá trình này, các chất ô nhiễm nitơ vô cơ tích lũy trong quá trình nuôi trồng sẽ được loại bỏ một phần (quá trình tự làm sạch). Do đó, việc nghiên cứu đánh giá mật độ và tiềm năng chuyên hoá các chất ô nhiễm nitơ vô cơ và các yếu tố nào kiểm soát tốc độ chuyên hoá các chất ô nhiễm này có ý nghĩa khoa học và thực tiễn cao. Đây sẽ là cơ sở khoa học để đưa ra giải pháp nâng cao khả năng tự làm sạch các chất ô nhiễm nitơ vô cơ. Hiện nay, mặc dù đã có một số nghiên cứu đánh giá tiềm năng phản nitrat hoá ở một số vùng biển như vịnh Hiroshima, Nhật Bản [4], cửa sông Douro, Bồ Đào Nha [6] nhưng vẫn còn chưa có nghiên cứu nào đánh giá tiềm năng phản nitrat hoá ở khu vực rừng ngập mặn (RNM) và thảm cỏ biển (TCB). Do vậy, nghiên cứu này tập trung nghiên cứu nhóm vi khuẩn này trong hệ sinh thái RNM và TCB tiêu biểu khu vực phía bắc Việt Nam.

## VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### Thời gian và địa điểm và thu mẫu

Mẫu được thu tại 5 khu vực đại diện cho các hệ sinh thái RNM (Tiên Yên-Quảng Ninh và Bàng La - Hải Phòng) và TCB (Hà Cối, Đầm Hà - Quảng Ninh và Tam Giang - Thừa Thiên Huế) tiêu biểu vùng ven biển phía bắc Việt Nam (hình 1). Tại mỗi khu vực, mẫu được thu ở 9 điểm trên 3 mặt cắt (3 điểm/1 mặt cắt) trong 4 đợt (cụ thể thời gian từng đợt) trong thời gian 3 năm (2017–2019) theo mùa khô (tháng 4) và mùa mưa (tháng 8).

### Phương pháp thu và bảo quản mẫu

Mẫu nước tầng đáy được thu thập bằng Bathomet và bảo quản trong chai thủy tinh vô trùng dung tích 1 L. Mẫu trầm tích được thu bằng cốc lấy mẫu chuyên dụng, sau đó dùng thìa inox vô trùng lấy lớp trầm tích bề mặt (khoảng 5 cm trên cùng) cho vào túi nylon. Các mẫu trầm tích và nước được bảo quản tạm thời trong tủ đá lạnh trước khi mang về phòng thí nghiệm.

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

#### Mẫu nước

pH, Eh và độ muối được đo nhanh bằng máy đo chất lượng môi trường đa chỉ tiêu

(WQC-22A, TOA, Nhật Bản). Xác định nhu cầu oxi hóa học (COD) bằng phương pháp oxy hoá với  $K_2Cr_2O_7$  trong môi trường axit theo TCVN 6491-1999 [7]. Nhu cầu oxi sinh học ( $BOD_5$ ) được phân tích bằng phương pháp chuẩn độ iod theo TCVN6001-2:2008 [8]. Xác định muối dinh dưỡng hoà tan  $P-PO_4$  bằng phương pháp thiếc II clorua, nitrit ( $NO_2$ ) bằng phương pháp Griss, nitrat ( $NO_3$ ) bằng phương pháp cột khử cadmi mạ đồng và thuốc thử Giss và TAN bằng phương pháp phenat, sử dụng quang phổ kế AP1101 (Apel, Nhật Bản) để đọc kết quả [9]. Nitơ tổng (Nts) được phân tích theo TCVN 6643:2000 [10], Phospho tổng (Pts) được phân tích bằng phương pháp so màu theo TCVN8940:2011 [11].

Mật độ vi khuẩn tổng số được xác định bằng phương pháp đếm khuẩn lạc, mẫu được nuôi cấy trên môi trường dị dưỡng ở điều kiện  $37^\circ C$  trong 24 giờ. Mật độ vi khuẩn nitrat hoá và vi khuẩn oxy hoá sulfur được phân tích bằng phương pháp pha loãng tìm giới hạn phát triển [12].

### Phương pháp phân tích mật độ vi khuẩn phản nitrat hóa

Mật độ vi khuẩn phản nitrat hoá được phân tích bằng phương pháp pha loãng tìm giới hạn phát triển. Cây dịch pha loãng đất vào các ống môi trường chọn lọc có ống Durham và nuôi cấy tại nhiệt độ  $25-30^\circ C$  trong vòng 2 tuần. Quan sát sự phát triển của vi khuẩn phản nitrat hoá bằng cách xem có sự xuất hiện bọt khí  $N_2$  hay không [12]. Tính mật độ vi khuẩn bằng sử dụng bảng thống kê Mac Crady theo tiêu chuẩn TCVN9716:2013 [13].

### Chuẩn bị nước nuôi cấy cho thí nghiệm mô phỏng

Mẫu nước ngay sau khi mang về phòng thí nghiệm được lọc qua màng  $0,2 \mu m$  và chia vào 03 bình tam giác mỗi bình 150 ml. Để chuẩn bị cho thí nghiệm phân tích tốc độ phản nitrate hoá,  $N-NO_3^-$  được bổ sung vào các bình tam giác này để có nồng độ cuối cùng tăng so với ban đầu là  $0,1 \text{ mgN/l}$  và  $0,5 \text{ mgN/l}$ .

Cân chính xác  $0,3 \text{ g}$  đất ướt cho vào mỗi lọ peni dung tích 50 ml, dùng ống định mức đong 30 ml nước ù đã chuyển bị ở trên cho vào các bình peni, mỗi thí nghiệm làm lặp lại 3 lần, đậy nút cao su và gắn xi nhôm.

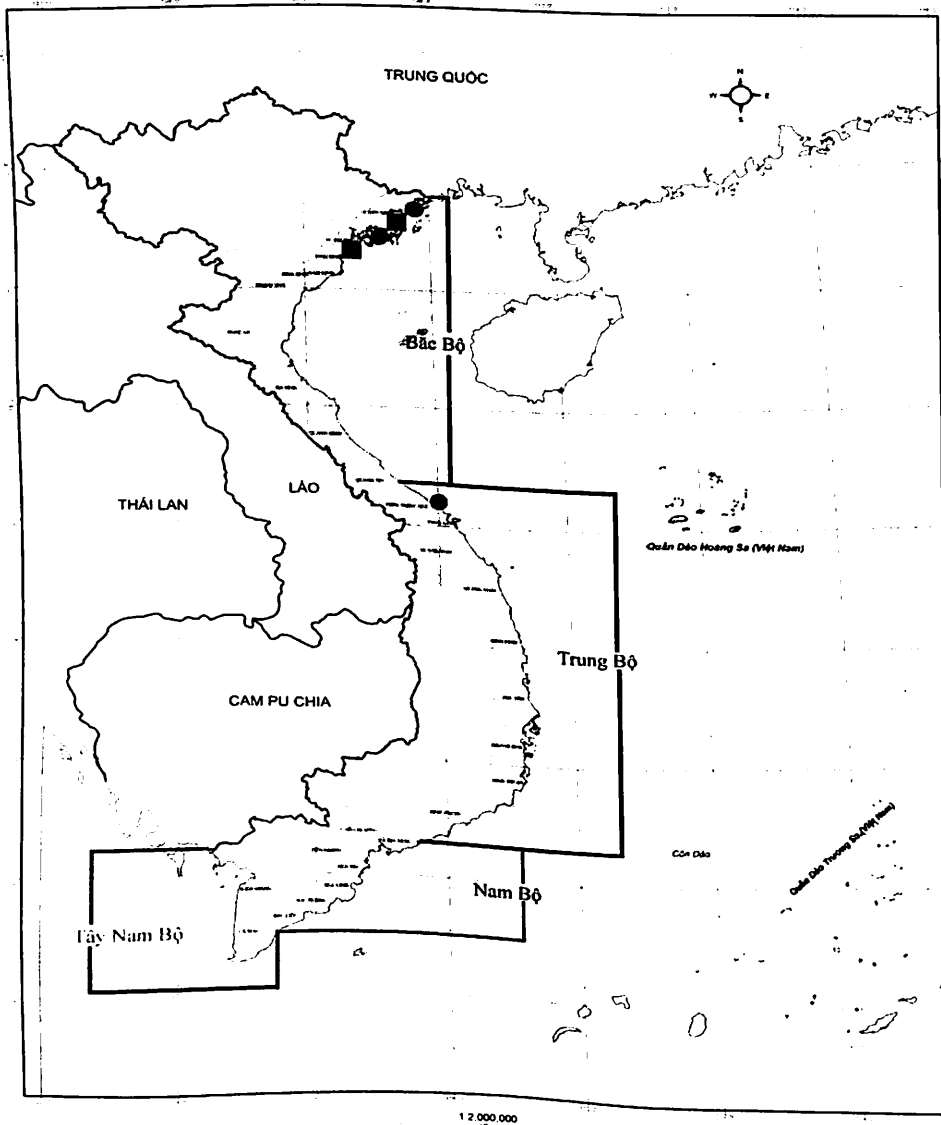
### Phương pháp xác định tiềm năng phản nitrat hoá

Tốc độ phản nitrat hoá được xác định bằng phương pháp ức chế acetylene theo mô tả của Sørensen (1978) [14]. Cân 0,3 g bùn cho vào lọ thủy tinh dung tích 50ml, bổ sung 30 ml nước ủ vào bình đã có chứa bùn. Bình thủy tinh được đậy bằng nắp cao su và ép chặt bằng xi nhôm. Dùng khí CO<sub>2</sub> để đẩy hết khí oxy ra ngoài. Bơm khí acetylene vào bình với một lượng thể tích 20% (vol:vol). Sau khi đã hoàn thành bổ sung khí acetylene vào các bình nuôi cấy sẽ tiến hành thu mẫu tại thời điểm 0h để

phân tích nồng độ (NO<sub>2</sub><sup>-</sup> + NO<sub>3</sub><sup>-</sup>). Mẫu còn lại được ủ 4 h trong tối tại nhiệt độ 30°C có lắc. Tốc độ khử nitrat hoá bằng lượng (NO<sub>2</sub><sup>-</sup> + NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) mất đi tại thời điểm 4h so với thời điểm 0 h.

### Phương pháp xử lý số liệu

Đánh giá biến động theo thời gian và không gian của các chỉ tiêu môi trường và vi sinh vật bằng phương pháp T-Test và đánh giá mối tương quan giữa các yếu tố nghiên cứu bằng hệ số tương quan (Pearson, R) trên phần mềm Microsoft Excel 2010.



Hình 1. Sơ đồ địa điểm nghiên cứu. Trong đó: ■: Rừng ngập mặn; ●: Thảm cỏ biển

## KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### Chất lượng môi trường nước

Chất lượng môi trường nước được thống kê trong bảng 1. Qua đó thấy là pH dao động từ 7,30–8,20, trung bình  $7,70 \pm 0,20$ . Mặc dù không có sự khác nhau pH giữa mùa mưa và mùa khô trong TCB nhưng trong RNM, pH mùa khô cao hơn mùa mưa. Theo HST, pH trong RNM thấp hơn trong TCB ở cả 2 mùa ( $\alpha = 0,05$ ).

Độ muối dao động từ 0–27‰, trung bình  $11,8 \pm 7,5\%$ . Độ muối biến động theo mùa nhưng lại không có sự biến động giữa các HST. Độ muối trung bình trong mùa khô thường cao hơn trong mùa mưa ( $\alpha = 0,05$ ).

BOD<sub>5</sub> dao động từ 0,8 đến 2,6 mg/L, trung bình  $1,6 \pm 0,4$  mg/L. BOD<sub>5</sub> trong RNM vào mùa mưa cao hơn mùa khô nhưng vào mùa khô BOD<sub>5</sub> trong TCB cao hơn RNM ( $\alpha = 0,05$ ).

COD dao động từ 0,3 đến 7,2 mg/L, trung bình  $2,9 \pm 1,3$  mg/L. COD biến động theo mùa và theo HST trừ trường hợp vào mùa khô giữa RNM và TCB ( $\alpha = 0,05$ ).

TAN dao động từ 0–110  $\mu\text{gN/L}$ , trung bình  $45,1 \pm 28,9$   $\mu\text{gN/L}$  (Bảng 2). TAN không có sự biến động theo mùa và theo HST ( $\alpha = 0,05$ ).

Nitrit dao động từ 0–30  $\mu\text{gN/L}$ , trung bình  $7,8 \pm 8,2$   $\mu\text{gN/L}$ . Nitrit không có sự biến động theo mùa nhưng lại có sự biến động theo HST, hàm lượng nitrit trong TCB cao hơn RNM trong cả mùa mưa và mùa khô ( $\alpha = 0,05$ ).

Nitrat dao động từ 1,0–80,0  $\mu\text{gN/L}$ , trung bình  $11,3 \pm 8,2$   $\mu\text{gN/L}$ .  $\text{NO}_3^-$  biến động theo mùa và theo HST trừ trường hợp vào mùa mưa hàm lượng  $\text{N-NO}_3^-$  giữa RNM và TCB không có sự khác nhau rõ rệt ( $\alpha = 0,05$ ).

Phosphat dao động từ 10–50  $\mu\text{gP/L}$ , trung bình  $24,8 \pm 9,9$   $\mu\text{gP/L}$ . Hàm lượng  $\text{P-PO}_4^{3-}$  biến động theo mùa và theo HST ( $\alpha = 0,05$ ). Theo mùa, hàm lượng  $\text{P-PO}_4^{3-}$  trong RNM cao hơn trong TCB. Trong khi đó, theo HST thì hàm lượng  $\text{P-PO}_4^{3-}$  trong mùa mưa cao hơn mùa khô.

Chlorophyll a dao động từ 1,2–3,7  $\mu\text{g/L}$ , trung bình  $2,3 \pm 0,6$   $\mu\text{g/L}$ . Hàm lượng chlorophyll a không có sự khác biệt theo mùa và theo HST, trừ trường hợp vào mùa mưa hàm lượng Chlorophyll a trong TCB cao hơn RNM ( $\alpha = 0,05$ ).

Đánh giá chất lượng nước theo các giá trị giới hạn (GTGH) qui định trong các qui chuẩn với mục đích nuôi trồng thủy sản và bảo tồn thủy sinh (bảng 1) thấy là giá trị pH, BOD<sub>5</sub>, COD, nitrit, nitrat và chlorophyll a ở tất cả các trạm quan trắc đều thỏa mãn các GTGH. Trong khi TAN đã cao hơn GTGH tại khu vực TCB Hà Cối, phosphat tại hầu hết các điểm quan trắc đều vượt ngưỡng GHCP trừ trường hợp khu vực Tam Giang - Cầu Hai và Bàng La - Hải Phòng. Tuy nhiên nếu theo QCVN 10-MT:2015/BTNMT thì TAN và phosphat đều thấp hơn các GTGH (100  $\mu\text{gN/L}$  đối với TAN và 200  $\mu\text{gP}$  đối với phosphat).

Mật độ trung bình của nhóm vi khuẩn tổng số trong nước là  $1,4 \pm 0,9 \times 10^6$  CFU/mL và dao động từ  $6,0 \times 10^4$  đến  $8,0 \times 10^6$  CFU/mL. Trong đó, mật độ trung bình của nhóm vi khuẩn tổng số trong hệ sinh thái RNM là  $1,89 \pm 1,1 \times 10^6$  CFU/mL, mật độ trung bình của nhóm vi khuẩn tổng số trong hệ sinh thái TCB là  $1,0 \pm 0,7 \times 10^6$  CFU/mL. Theo thời gian, mật độ vi khuẩn tổng số trong mùa mưa cao hơn mùa khô ở cả 2 HST ( $\alpha = 0,05$ ). Theo không gian, mật độ vi khuẩn tổng số ở HST RNM cao hơn HST TCB trong cả 2 mùa ( $\alpha = 0,05$ ).

Mật độ trung bình của nhóm vi khuẩn nitrat hóa là  $4,6 \pm 1,8 \times 10^2$  MPN/mL và dao động trong khoảng từ 0– $1,5 \times 10^3$  MPN/mL. Trong đó, mật độ trung bình của vi khuẩn nitrate hóa trong RNM là  $5,5 \pm 1,8 \times 10^2$  MPN/mL và trong TCB là  $3,7 \pm 1,9 \times 10^2$  MPN/mL. Theo thời gian, mật độ trung bình vi khuẩn nitrate hóa trong TCB vào mùa mưa cao hơn mùa khô nhưng lại không có sự khác biệt rõ ràng trong RNM ( $\alpha = 0,05$ ). Theo không gian, mật độ trung bình vi khuẩn nitrate hóa trong RNM cao hơn trong TCB ở cả 2 mùa ( $\alpha = 0,05$ ).

Mật độ trung bình của nhóm vi khuẩn oxy hóa sulfur đạt  $4,6 \pm 0,9 \times 10^2$  MPN/mL và dao động trong khoảng từ  $3,6 \times 10^1$  MPN/mL đến  $1,1 \times 10^3$  MPN/mL. Theo thời gian, mật độ trung bình vi khuẩn oxy hóa sulfur trong mùa khô cao hơn trong mùa mưa ở cả HST RNM và TCB ( $\alpha = 0,05$ ). Theo không gian, mật độ trung bình vi khuẩn oxy hóa sulfur trong RNM cao hơn trong TCB ở cả 2 mùa ( $\alpha = 0,05$ ).

**Bảng 1.** Giá trị trung bình các thông số môi trường nước

Thông số	Mùa Khô		Mùa Mưa		GTGH
	RNM	TCB	RNM	TCB	
pH	7,60	7,80	7,60	7,80	6,50-8,50 <sup>(1)</sup>
Độ muối (‰)	12,5	14,4	9,1	10,5	
BOD <sub>5</sub> (mg/L)	1,4	1,7	1,6	1,8	4 <sup>(2)</sup>
COD (mg/L)	2,6	3,0	2,4	3,3	10 <sup>(2)</sup>
N-NH <sub>4</sub> (µg/l)	45,6	46,4	44,5	43,7	70 <sup>(3)</sup>
N-NO <sub>2</sub> (µg/L)	4,0	10,4	3,9	10,5	55 <sup>(3)</sup>
N-NO <sub>3</sub> (µg/L)	106,9	146,9	88,6	98,1	60 <sup>(3)</sup>
P-PO <sub>4</sub> (µg/L)	26,4	21,4	30,4	23,5	15 <sup>(3)</sup>
Chl. a (µg/L)	1,5	1,9	1,2	1,9	10 <sup>(4)</sup>
Vi khuẩn tổng số	1,40E+06	8,12E+05	2,39E+06	1,24E+06	
Vi khuẩn nitrat hoá	5,06E+02	3,30E+02	5,87E+02	4,02E+02	
Vi khuẩn oxy sulfur	7,26E+02	2,87E+02	5,72E+02	2,47E+02	

Ghi chú: <sup>(1)</sup>: QCVN 10-MT:2015/BTNMT; <sup>(2)</sup>: QCVN 08-MT:2015/BTNMT; <sup>(3)</sup>: Quy chuẩn của ASEAN [15]; <sup>(4)</sup>: Tiêu chuẩn chất lượng nước Hồng Kông [16].

**Chất lượng môi trường trầm tích**

Chất lượng môi trường trầm tích được thống kê trong bảng 2. Qua đó thấy là pH dao động từ 7,1–8,5, trung bình  $7,5 \pm 0,3$ . pH mùa mưa lớn hơn mùa khô trong RNM và TCB ( $\alpha = 0,05$ ), trong khi đó pH trong TCB cao hơn RNM vào mùa khô nhưng vào mùa mưa thì không có sự khác biệt rõ ràng.

Eh dao động trong khoảng từ -236,0 mV đến 22,0 mV, trung bình  $-56,1 \pm 39,1$  mV. Giá trị Eh trung bình trong cả RNM và TCB không có sự khác nhau giữa mùa mưa và mùa khô ( $\alpha = 0,05$ ) và giữa HST RNM và TCB ( $\alpha = 0,05$ ).

Nts dao động từ 0,97–4,32 g/kg khô, trung bình  $2,08 \pm 0,76$  g/kg khô. Nts trong RNM không có sự khác biệt giữa mùa mưa và mùa khô nhưng Nts vào mùa khô lớn hơn mùa mưa trong TCB. Theo HST, Nts vào mùa khô trong TCB cao hơn RNM, trong khi đó lại không có sự khác biệt giữa TCB và RNM trong mùa mưa.

Pts dao động từ 0,35–1,97 g/kg khô, trung bình  $1,20 \pm 0,48$  g/kg khô. Giá trị Pts không có sự khác biệt giữa mùa mưa và mùa khô và giữa HST RNM và TCB ( $\alpha = 0,05$ ).

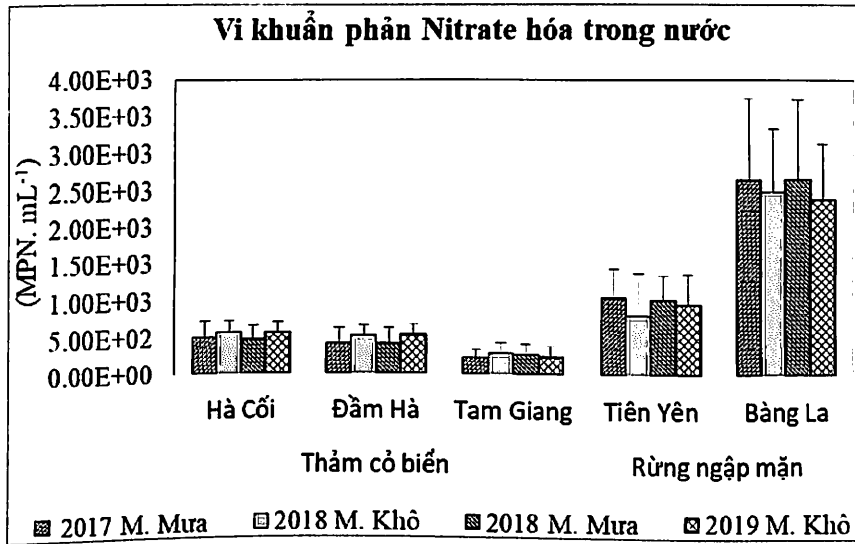
**Bảng 2.** Giá trị trung bình các thông số môi trường trầm tích

Thông số	Mùa Khô		Mùa Mưa	
	RNM	TCB	RNM	TCB
pH	7,4	7,5	7,5	7,6
Eh (mV)	-65,3	-49,6	-61,3	-49,1
Nts (mg/kg khô)	1808,8	2634,3	1861,5	2048,1
Pts (mg/kg khô)	1059,2	1297,3	1293,9	1139,0

**Mật độ vi khuẩn phản nitrat hóa**

Mật độ trung bình nhóm vi khuẩn phản nitrat hóa là  $1,1 \pm 0,3 \times 10^3$  MPN/mL và dao động lớn trong khoảng từ  $1,0 \times 10^2$  MPN/mL đến  $4,6 \times 10^3$  MPN/mL. Mật độ trung bình của nhóm vi khuẩn phản nitrat hóa trong hệ sinh thái RNM là  $1,8 \pm 0,5 \times 10^3$  MPN/mL và trong TCB là  $4,3 \pm 1,0 \times 10^2$  MPN/mL (hình 2).

Theo thời gian, mật độ trung bình vi khuẩn phản nitrat hóa trong TCB vào mùa khô lớn hơn mùa mưa nhưng trong RNM, mật độ trung bình vi khuẩn phản nitrat hóa không có sự khác nhau giữa mùa mưa và mùa khô ( $\alpha = 0,05$ ). Theo không gian, mật độ trung bình vi khuẩn phản nitrat hóa trong RNM cao hơn trong TCB ở cả mùa mưa và mùa khô ( $\alpha = 0,05$ ).



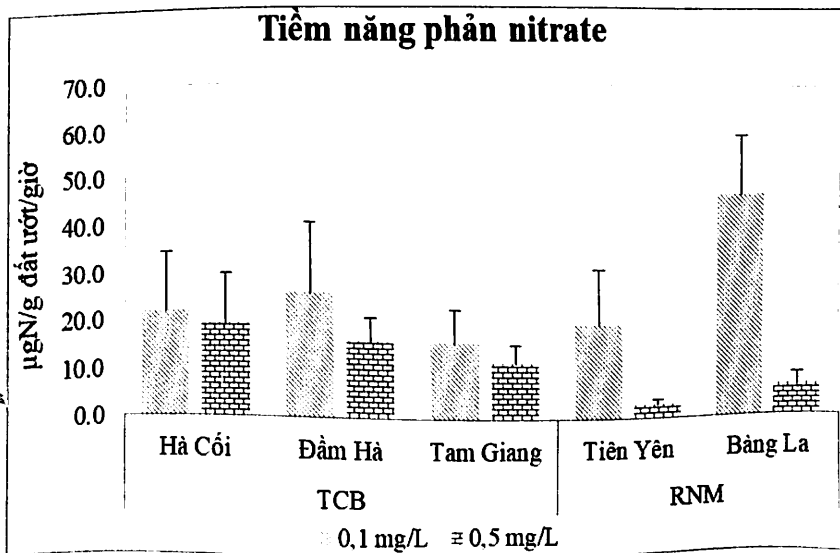
Hình 2. Mật độ vi khuẩn phản nitrat hóa trong khu vực nghiên cứu

### Tiềm năng phản nitrat hóa

Tốc độ phản nitrat hóa tại các trạm dao động từ 0,0  $\mu\text{gN/g}$  đến 69,0  $\mu\text{gN/g}$  ướ/giờ. Tốc độ phản nitrat hóa đạt giá trị thấp nhất tại Tiên Yên mùa khô năm 2018 khi bổ sung cơ chất 0,5 mg/L và đạt giá trị cao nhất tại trạm Bàng La mùa khô năm 2019 khi bổ sung cơ chất là 0,1 mg/L. Tốc độ trung bình tại thời điểm nghiên cứu là  $18,4 \pm 7,4$   $\mu\text{gN/g}$  đất ướ/giờ. Trong đó, tốc độ phản nitrat hóa trung bình trong mùa khô là  $17,5 \pm 7,2$   $\mu\text{gN/g}$  đất ướ/giờ và trong mùa mưa là  $19,3 \pm 7,6$   $\mu\text{gN/g}$  đất ướ/giờ (hình 3).

Tại nồng độ cơ chất được bổ sung 0,1 mg/L, không có sự khác biệt về tốc độ phản nitrat theo thời gian và theo không gian. Ngoại trừ vào mùa khô, tốc độ phản nitrat hóa trong RNM cao hơn so với TCB ( $\alpha = 0,05$ ).

Tại nồng độ cơ chất được bổ sung 0,5 mg/L, tốc độ phản nitrat hóa trung bình thay đổi theo thời gian và không gian. Ngoại trừ trường hợp trong TCB, tốc độ phản nitrat hóa trung bình không có sự khác biệt giữa mùa mưa và mùa khô ( $\alpha = 0,05$ ).



Hình 3. Tiềm năng phản nitrat hóa của hệ vi sinh vật trong RNM và TCB

Tốc độ phản nitrat hóa trung bình tại nồng độ cơ chất được bổ sung 0,1 mg/L ( $25,8 \pm 8,1 \mu\text{gN/g đất ướt/giờ}$ ) cao hơn tốc độ phản nitrat hóa tại nồng độ cơ chất được bổ sung 0,5 mg/L ( $11,0 \pm 4,1 \mu\text{gN/g đất ướt/giờ}$ ) ( $\alpha = 0,01$ ). Kết quả nghiên cứu cho thấy, tốc độ phản nitrat hóa có thể bị ức chế khi cơ chất được bổ sung tại nồng độ cao.

**Tương quan giữa vi khuẩn phản nitrat hóa với các yếu tố môi trường**

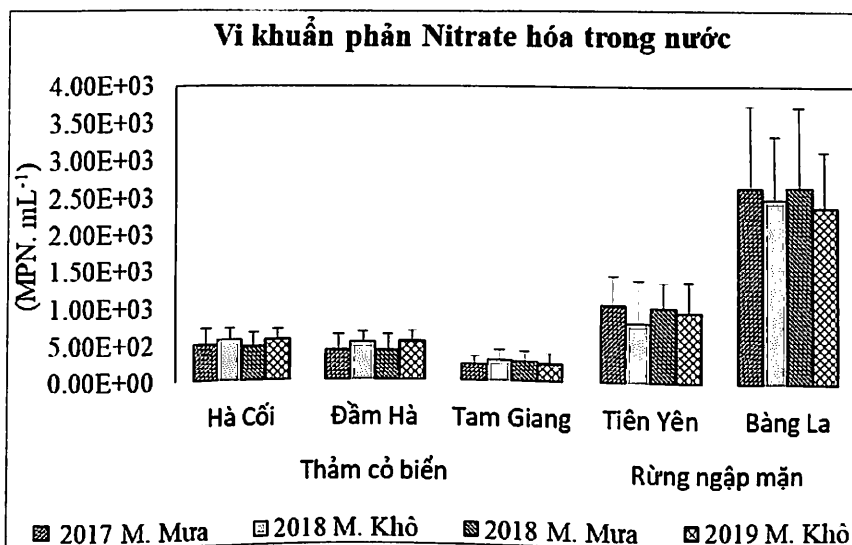
Tương quan giữa vi khuẩn phản nitrat hóa với các yếu tố môi trường được trình bày trong bảng 3. Từ đó thấy là mật độ vi khuẩn phản nitrat hóa trong nước có mối tương quan ý nghĩa với 16/19 thông số môi trường khảo sát trừ N-NO<sub>3</sub>, và COD. Mật độ vi khuẩn phản nitrat hóa có hệ số tương đồng cao với mật độ vi khuẩn oxy hóa sulfur, mật độ vi khuẩn nitrat hóa và tốc độ phản nitrat hóa tại nồng độ cơ chất bổ sung 0,1 mg/L. Mật độ vi khuẩn phản nitrat hóa có mối tương quan trung bình với các

thông số Eh trầm tích, P-PO<sub>4</sub>, pH, tốc độ nitrat hóa tại nồng độ cơ chất bổ sung 0,1 mg/L, tốc độ phản nitrat hóa tại nồng độ cơ chất bổ sung 0,5 mg/L, nồng độ TAN, độ muối, Nts, pH trầm tích. Mật độ vi khuẩn nitrat hóa có mối tương quan yếu với các yếu tố tốc độ nitrat hóa tại nồng độ cơ chất bổ sung 1,0 mg/L, Chlorophyll a, BOD<sub>5</sub>, N-NO<sub>2</sub>, vi khuẩn tổng số và Pts.

Tốc độ phản nitrat hóa tại nồng độ cơ chất bổ sung 0,1 mg/L có mối tương quan ý nghĩa với 15/19 thông số nghiên cứu. Ba thông số không có mối tương quan là N-NO<sub>2</sub>, N-NO<sub>3</sub> và COD. Tốc độ phản nitrat tại nồng độ cơ chất này có mối tương quan cao với mật độ vi khuẩn phản nitrat hóa và Pts, tương quan trung bình với Eh, mật độ vi khuẩn oxy hóa sulfur mật độ vi khuẩn tổng số, pH trầm tích, P-PO<sub>4</sub>, BOD, tương quan yếu với các thông số N-NH<sub>4</sub>, Nts, pH trong nước, độ muối, Chl. a, mật độ vi khuẩn nitrat hóa và tốc độ phản nitrat hóa tại nồng độ cơ chất bổ sung 0,5 mg/L.

*Bảng 3. Hệ số tương quan (R) giữa mật độ vi khuẩn và tốc độ phản nitrat với các yếu tố môi trường*

	Thông số	Vi khuẩn phản nitrat	Tốc độ phản nitrat hoá khi bổ sung +0,1 mgN/L	Tốc độ phản nitrat hoá khi bổ sung +0,5 mgN/L
1	pH trầm tích	-0,33 (n = 180)	-0,35 (n = 60)	-0,08 (n = 60)
2	Eh trầm tích (mV)	-0,49 (n = 180)	-0,47 (n = 60)	0,02 (n = 60)
3	Nts (g/kg khô)	-0,34 (n = 80)	0,26 (n = 60)	0,18 (n = 60)
4	Pts (g/kg khô)	-0,19 (n = 80)	0,50 (n = 60)	-0,12 (n = 60)
5	pH nước	-0,41 (n = 180)	-0,28 (n = 60)	0,23 (n = 60)
6	Độ muối (đơn vị)	-0,35 (n = 180)	-0,25 (n = 60)	0,04 (n = 60)
7	BOD <sub>5</sub> (mg/L)	0,27 (n = 180)	0,32 (n = 60)	0,36 (n = 60)
8	COD (mg/L)	0,04 (n = 180)	-0,02 (n = 60)	0,20 (n = 60)
9	NH <sub>4</sub> (μgN/l)	0,35 (n = 180)	0,29 (n = 60)	0,33(n = 60)
10	NO <sub>2</sub> (μgN/L)	-0,21 (n = 180)	0,02 (n = 60)	0,52 (n = 60)
11	NO <sub>3</sub> (μgN/L)	0,00 (n = 180)	0,06 (n = 60)	0,03 (n = 60)
12	PO <sub>4</sub> (μgP/L)	0,45 (n = 180)	0,35 (n = 60)	0,18 (n = 60)
13	Chl. a (μg/L)	-0,27 (n = 180)	-0,20 (n = 60)	0,21 (n = 60)
14	VK tổng số	0,20 (n = 180)	0,36 (n = 60)	-0,14 (n = 60)
15	VK Nitrat	0,59 (n = 180)	0,20 (n = 60)	-0,18 (n = 60)
16	VK OXH sulfur	0,71 (n = 180)	0,43 (n = 60)	-0,43 (n = 60)
17	VK Phản nitrat	1,00 (n = 180)	0,50 (n = 60)	-0,37 (n = 60)
18	Tốc độ phản nitrat hoá khi bổ sung+0,1 mgN/L	0,50 (n = 60)	1,00 (n = 60)	0,14 (n = 60)
19	Tốc độ phản nitrat hoá khi bổ sung+0,5 mgN/L	-0,37 (n = 60)	0,14 (n = 60)	1,00 (n = 60)



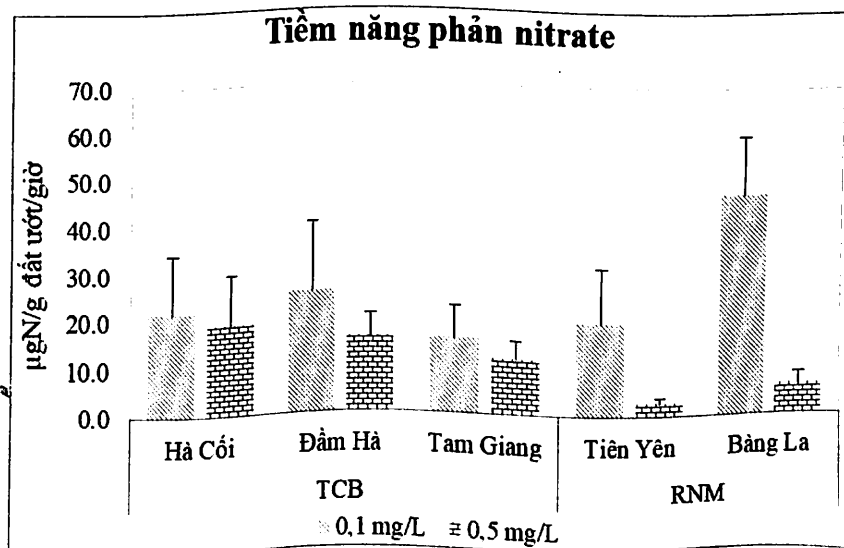
Hình 2. Mật độ vi khuẩn phản nitrat hóa trong khu vực nghiên cứu

### Tiềm năng phản nitrat hóa

Tốc độ phản nitrat hóa tại các trạm dao động từ 0,0  $\mu\text{gN/g}$  đến 69,0  $\mu\text{gN/g}$  ướ/giờ. Tốc độ phản nitrat hóa đạt giá trị thấp nhất tại Tiên Yên mùa khô năm 2018 khi bổ sung cơ chất 0,5 mg/L và đạt giá trị cao nhất tại trạm Bàng La mùa khô năm 2019 khi bổ sung cơ chất là 0,1 mg/L. Tốc độ trung bình tại thời điểm nghiên cứu là  $18,4 \pm 7,4$   $\mu\text{gN/g}$  đất ướ/giờ. Trong đó, tốc độ phản nitrat hóa trung bình trong mùa khô là  $17,5 \pm 7,2$   $\mu\text{gN/g}$  đất ướ/giờ và trong mùa mưa là  $19,3 \pm 7,6$   $\mu\text{gN/g}$  đất ướ/giờ (hình 3).

Tại nồng độ cơ chất được bổ sung 0,1 mg/L, không có sự khác biệt về tốc độ phản nitrat theo thời gian và theo không gian. Ngoại trừ vào mùa khô, tốc độ phản nitrat hóa trong RNM cao hơn so với TCB ( $\alpha = 0,05$ ).

Tại nồng độ cơ chất được bổ sung 0,5 mg/L, tốc độ phản nitrat hóa trung bình thay đổi theo thời gian và không gian. Ngoại trừ trường hợp trong TCB, tốc độ phản nitrat hóa trung bình không có sự khác biệt giữa mùa mưa và mùa khô ( $\alpha = 0,05$ ).



Hình 3. Tiềm năng phản nitrat hóa của hệ vi sinh vật trong RNM và TCB

Tốc độ phản nitrat hóa trung bình tại nồng độ cơ chất được bổ sung 0,1 mg/L ( $25,8 \pm 8,1 \mu\text{gN/g đất ướt/giờ}$ ) cao hơn tốc độ phản nitrat hóa tại nồng độ cơ chất được bổ sung 0,5 mg/L ( $11,0 \pm 4,1 \mu\text{gN/g đất ướt/giờ}$ ) ( $\alpha = 0,01$ ). Kết quả nghiên cứu cho thấy, tốc độ phản nitrat hóa có thể bị ức chế khi cơ chất được bổ sung tại nồng độ cao.

**Tương quan giữa vi khuẩn phản nitrat hóa với các yếu tố môi trường**

Tương quan giữa vi khuẩn phản nitrat hóa với các yếu tố môi trường được trình bày trong bảng 3. Từ đó thấy là mật độ vi khuẩn phản nitrat hóa trong nước có mối tương quan ý nghĩa với 16/19 thông số môi trường khảo sát trừ  $\text{N-NO}_3$ , và COD. Mật độ vi khuẩn phản nitrat hóa có hệ số tương đồng cao với mật độ vi khuẩn oxy hóa sulfur, mật độ vi khuẩn nitrat hóa và tốc độ phản nitrat hóa tại nồng độ cơ chất bổ sung 0,1 mg/L. Mật độ vi khuẩn phản nitrat hóa có mối tương quan trung bình với các

thông số Eh trầm tích,  $\text{P-PO}_4$ , pH, tốc độ nitrat hóa tại nồng độ cơ chất bổ sung 0,1 mg/L, tốc độ phản nitrat hóa tại nồng độ cơ chất bổ sung 0,5 mg/L, nồng độ TAN, độ muối, Nts, pH trầm tích. Mật độ vi khuẩn nitrat hóa có mối tương quan yếu với các yếu tố tốc độ nitrat hóa tại nồng độ cơ chất bổ sung 1,0 mg/L, Chlorophyll a,  $\text{BOD}_5$ ,  $\text{N-NO}_2$ , vi khuẩn tổng số và Pts.

Tốc độ phản nitrat hóa tại nồng độ cơ chất bổ sung 0,1 mg/L có mối tương quan ý nghĩa với 15/19 thông số nghiên cứu. Ba thông số không có mối tương quan là  $\text{N-NO}_2$ ,  $\text{N-NO}_3$  và COD. Tốc độ phản nitrat tại nồng độ cơ chất này có mối tương quan cao với mật độ vi khuẩn phản nitrat hóa và Pts, tương quan trung bình với Eh, mật độ vi khuẩn oxy hóa sulfur mật độ vi khuẩn tổng số, pH trầm tích,  $\text{P-PO}_4$ ,  $\text{BOD}_5$ , tương quan yếu với các thông số  $\text{N-NH}_4$ , Nts, pH trong nước, độ muối, Chl. a, mật độ vi khuẩn nitrat hóa và tốc độ phản nitrat hóa tại nồng độ cơ chất bổ sung 0,5 mg/L.

*Bảng 3. Hệ số tương quan (R) giữa mật độ vi khuẩn và tốc độ phản nitrat với các yếu tố môi trường*

	Thông số	Vi khuẩn phản nitrat	Tốc độ phản nitrat hoá khi bổ sung +0,1 mgN/L	Tốc độ phản nitrat hoá khi bổ sung +0,5 mgN/L
1	pH trầm tích	-0,33 (n = 180)	-0,35 (n = 60)	-0,08 (n = 60)
2	Eh trầm tích (mV)	-0,49 (n = 180)	-0,47 (n = 60)	0,02 (n = 60)
3	Nts (g/kg khô)	-0,34 (n = 80)	0,26 (n = 60)	0,18 (n = 60)
4	Pts (g/kg khô)	-0,19 (n = 80)	0,50 (n = 60)	-0,12 (n = 60)
5	pH nước	-0,41 (n = 180)	-0,28 (n = 60)	0,23 (n = 60)
6	Độ muối (đơn vị)	-0,35 (n = 180)	-0,25 (n = 60)	0,04 (n = 60)
7	$\text{BOD}_5$ (mg/L)	0,27 (n = 180)	0,32 (n = 60)	0,36 (n = 60)
8	COD (mg/L)	0,04 (n = 180)	-0,02 (n = 60)	0,20 (n = 60)
9	$\text{NH}_4$ ( $\mu\text{gN/l}$ )	0,35 (n = 180)	0,29 (n = 60)	0,33(n = 60)
10	$\text{NO}_2$ ( $\mu\text{gN/L}$ )	-0,21 (n = 180)	0,02 (n = 60)	0,52 (n = 60)
11	$\text{NO}_3$ ( $\mu\text{gN/L}$ )	0,00 (n = 180)	0,06 (n = 60)	0,03 (n = 60)
12	$\text{PO}_4$ ( $\mu\text{gP/L}$ )	0,45 (n = 180)	0,35 (n = 60)	0,18 (n = 60)
13	Chl. a ( $\mu\text{g/L}$ )	-0,27 (n = 180)	-0,20 (n = 60)	0,21 (n = 60)
14	VK tổng số	0,20 (n = 180)	0,36 (n = 60)	-0,14 (n = 60)
15	VK Nitrat	0,59 (n = 180)	0,20 (n = 60)	-0,18 (n = 60)
16	VK OXH sulfur	0,71 (n = 180)	0,43 (n = 60)	-0,43 (n = 60)
17	VK Phản nitrat	1,00 (n = 180)	0,50 (n = 60)	-0,37 (n = 60)
18	Tốc độ phản nitrat hoá khi bổ sung+0,1 mgN/L	0,50 (n = 60)	1,00 (n = 60)	0,14 (n = 60)
19	Tốc độ phản nitrat hoá khi bổ sung+0,5 mgN/L	-0,37 (n = 60)	0,14 (n = 60)	1,00 (n = 60)

Tốc độ phản nitrat hóa tại nồng độ cơ chất bổ sung 0,5 mg/L có mối tương quan ý nghĩa với 14/19 thông số nghiên cứu. Bốn yếu tố không có mối tương quan là N-NO<sub>3</sub>, độ muối, pH và Eh trầm tích. Tốc độ phản nitrat hóa có mối tương quan cao với nồng độ N-NO<sub>2</sub>, tương quan trung bình với BOD<sub>5</sub>, N-NH<sub>4</sub>, pH nước, Chl. a, COD, P-PO<sub>4</sub>, Nts, vi khuẩn nitrat hóa, tốc độ phản nitrat hóa tại nồng độ cơ chất bổ sung 0,1 mg/L, mật độ vi khuẩn tổng số và Pts.

## KẾT LUẬN

Mật độ vi khuẩn phản nitrat hóa dao động lớn trong khoảng từ  $(1,0 \times 10^2)$ – $(4,6 \times 10^3)$  MPN/mL, trung bình  $1,1 \pm 0,3 \times 10^3$  MPN/mL. Theo thời gian, mật độ nhóm vi khuẩn trong TCB mùa khô lớn hơn so với mùa mưa nhưng không khác nhau rõ rệt trong RNM ( $\alpha = 0,05$ ). Theo không gian, mật độ vi khuẩn trong RNM lớn hơn trong TCB ở cả 2 mùa ( $\alpha = 0,05$ ). Mật độ vi khuẩn phản nitrat hóa có mối tương quan với nhiều yếu tố môi trường, đặc biệt là các nhóm vi khuẩn oxy hóa sulfur, vi khuẩn nitrat hóa, pH, Eh, Nts, N-NH<sub>4</sub>, P-PO<sub>4</sub> và BOD<sub>5</sub>.

Tốc độ phản nitrat hóa dao động trong khoảng từ 0,0 - 69,0  $\mu\text{gN/g}$  đất ướt/giờ, trung bình  $18,4 \pm 7,4 \mu\text{gN/g}$  đất ướt/giờ. Tốc độ phản nitrat hóa khi bổ sung cơ chất 0,5 mg/l trong TCB cao hơn trong RNM ( $\alpha = 0,05$ ). Tốc độ phản nitrat tại nồng độ cơ chất bổ sung 0,1 mg/L cao hơn tại nồng độ cơ chất bổ sung 0,5 mg/L ( $\alpha = 0,01$ ). Tốc độ phản nitrat hóa có mối tương quan với nhiều yếu tố môi trường, đặc biệt là với mật độ các nhóm vi khuẩn nitrat hóa, oxy hóa sulfur, pH, Eh, Pts và P-PO<sub>4</sub>.

**Lời cảm ơn:** Bài báo này là một phần kết quả nghiên cứu của nhiệm vụ hợp phần nhánh số 5 thuộc đề án 47, mã số VAST.ĐA47.12/16-19. Nhóm tác giả xin chân thành cảm ơn sự hỗ trợ tài chính của Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam (VAST) và sự cộng tác của các đồng nghiệp tại Viện Tài nguyên và Môi trường biển (IMER).

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Gross, A., Abutbul, S., and Zilberg, D., 2004. Acute and Chronic Effects of Nitrite on white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, cultured in low-salinity brackish water. *Journal of the World Aquaculture Society*, 35(3), 315–321. <https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.2004.tb00095.x>
- [2] Schuler, D. J., 2008. Acute toxicity of ammonia and nitrite to white shrimp (*L. vannamei*) at low salinities. *Master thesis, Virginia Polytechnic Institute and State University*.
- [3] Muir, P. R., Sutton, D. C., and Owens, L., 1991. Nitrate toxicity to *Penaeus monodon* protozoa. *Marine Biology*, 108(1), 67–71. <https://doi.org/10.1007/BF01313472>
- [4] Kim, D. H., Matsuda, O., and Yamamoto, T., 1997. Nitrification, denitrification and nitrate reduction rates in the sediment of Hiroshima Bay, Japan. *Journal of Oceanography*, 53, 317–324.
- [5] Watson, S. W., Bock, E., Harms, H., Koops, H. P., and Hooper, A. B., 1989. Nitrifying bacteria. In “*Bergey’s Manual of Systematic Bacteriology*” (ed. by JT Staley, J. T., Bryant, M. P., Pfenning, N., and Holt, J. G.), Vol. 3, pp. 1808–1834.
- [6] Magalhães, C. M., Joye, S. B., Moreira, R. M., Wiebe, W. J., and Bordalo, A. A., 2005. Effect of salinity and inorganic nitrogen concentrations on nitrification and denitrification rates in intertidal sediments and rocky biofilms of the Douro River estuary, Portugal. *Water Research*, 39(9), 1783–1794. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2005.03.008>
- [7] TCVN6491-1999. Chất lượng nước - xác định nhu cầu oxi hoá học.
- [8] TCVN6001-2:2008. Chất lượng nước - xác định nhu cầu oxi sinh hoá sau n ngày - Phần 2: Phương pháp dùng cho mẫu không pha loãng.
- [9] Đoàn Bộ, 2001. Hoá học biển: Các phương pháp phân tích hoá học nước biển. *Nxb. Đại học Quốc gia Hà Nội*, 131 tr.
- [10] TCVN6643:2000. Chất lượng đất - xác định nitơ nitrat, nitơ amoni và tổng nitơ hoà tan trong đất được làm khô trong không khí sử dụng dung dịch canxiclorua làm dung môi chiết.
- [11] TCVN8940:2011. Chất lượng đất - xác định phospho tổng số - phương pháp so màu.

- [12] Nguyễn Lâm Dũng, Đoàn Xuân Mượn, Nguyễn Phùng Tiên, Đặng Đức Trạch và Phạm Văn Ty, 1972. Một số phương pháp nghiên cứu Vi sinh vật học. Tập 2. *Nxb. Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội*. 430 tr.
- [13] TCVN9716:2013. Chất lượng nước - hướng dẫn chung về đếm vi sinh vật bằng nuôi cấy.
- [14] Sørensen, J., 1978. Denitrification rates in a marine sediment as measured by the acetylene inhibition technique. *Applied and Environmental Microbiology*, 36(1), 139–143. <https://doi.org/10.1128/aem.36.1.139-143.1978>
- [15] ASEAN Marine Water Quality, 2007. Management Guidelines, Appendix 2: Estuarine and Marine Report Card Calculations.
- [16] Trạm Quan trắc và phân tích môi trường biển ven bờ miền Bắc, 2019. Báo cáo tổng kết kết quả quan trắc và phân tích môi trường biển ven bờ miền Bắc. 120 tr.