

Khảo sát sự hiện diện của vi sinh vật phân giải cellulose trong dạ dày còng *Perisesarma eumolpe* tại khu vực gãy đổ thuộc rừng ngập mặn Cần Giờ

Trần Ngọc Diễm My, Nguyễn Trọng Nhân

Tóm tắt—Nghiên cứu thực hiện nhằm xác định sự hiện diện vi sinh vật phân giải cellulose trong dạ dày còng *Perisesarma eumolpe*. Còng *P. eumolpe* được thu mẫu ở khu vực gãy đổ của rừng ngập mặn Cần Giờ do bão Durian năm 2006. Nghiên cứu đã phân lập được 520 mẫu vi sinh vật từ 30 mẫu dạ dày còng *Perisesarma eumolpe*. Vi sinh vật phân giải cellulose được phân lập trên ba loại môi trường như: cao thịt – peptone, Gause và Czapek – Dok có bổ sung CMC làm nguồn carbon duy nhất. Trong 520 mẫu vi sinh vật có 496 mẫu vi khuẩn hiếu khí, 24 mẫu xạ khuẩn và không ghi nhận thấy có nấm mốc. Số lượng mẫu vi sinh vật phân giải cellulose chiếm 46% tổng số mẫu vi sinh vật phân lập được từ dạ dày còng (240 mẫu). Nghiên cứu cũng ghi nhận được hình thái và đặc điểm khuẩn lạc của 24 chủng vi khuẩn hiếu khí và 5 chủng xạ khuẩn xuất hiện trong dạ dày còng. Mật độ vi sinh vật trung bình ở mỗi dạ dày còng từ $0,66 \times 10^5$ đến $6,6 \times 10^5$ tế bào/mL. Kết quả này cũng cho thấy nhóm vi sinh phân giải cellulose có thể góp phần quan trọng vào việc phân giải nguồn thức ăn chứa nhiều cellulose được tiêu thụ bởi còng *P. eumolpe* trong quá trình sống của chúng ở rừng ngập mặn.

Từ khóa—dạ dày, *Perisesarma eumolpe*, rừng ngập mặn Cần Giờ, vi sinh vật phân giải cellulose, xạ khuẩn

1. GIỚI THIỆU

Rừng ngập mặn Cần Giờ là bãi bồi vùng cửa sông Sài Gòn – Đồng Nai, trong đó cây đước *Rhizophora apiculata* chiếm ưu thế [4]. Rừng ngập mặn là nơi sinh sống, cư trú và kiếm ăn của

các loài thủy sinh vật, trong đó có nhóm cua còng [2, 4-7]. Năm 2006, bão Durian đã làm gãy đổ hơn 10 ha rừng ngập mặn Cần Giờ, để lại nhiều khoảng trống trong hệ sinh thái này. Những loài còng thuộc họ Sesarmidae được xem là “keystone organism” – sinh vật đóng vai trò then chốt trong rừng ngập mặn [2, 5-8]. Nhóm còng ăn thực vật này giúp phân cắt lá thành những mảnh nhỏ thông qua con đường tiêu hoá và thải ra ở dạng phân. Những mảnh nhỏ từ phân còng dễ dàng được vi sinh vật và các loài động vật khác tiêu thụ hơn so với vật rụng thô [2, 5-8]. Theo Trần Ngọc Diễm My, quần thể còng *P. eumolpe* ở khu vực gãy đổ tiêu thụ chủ yếu các loại thức ăn giàu cellulose, khó tiêu hóa (gỗ mục, vỏ cây mục, lá rụng) [6]. Nhìn chung, loài còng này đã góp phần biến đổi thức ăn thô ở trên sàn rừng thành các vật liệu hữu cơ mịn hơn, góp phần làm giảm tỷ lệ C/N thông qua hệ tiêu hoá của chúng để phục vụ chính đời sống của các sinh vật đất khác và góp phần vào chu trình năng lượng của hệ sinh thái rừng ngập mặn [6-8]. Vì vậy, nhóm cua còng được xem là một trong những nhóm sinh vật giúp phục hồi môi trường sinh thái trong rừng ngập mặn. Từ những kết quả nghiên cứu về thức ăn của loài còng *P. eumolpe*, câu hỏi được đặt ra là có hay không có sự hỗ trợ từ vi sinh vật phân giải cellulose trong bao tử loài còng *P. eumolpe* để chúng tiêu hóa được hợp chất cellulose trong thức ăn từ vỏ cây mục, gỗ mục và lá rụng ở rừng ngập mặn. Từ những lý do trên, nghiên cứu “Khảo sát sự hiện diện vi sinh vật phân giải cellulose trong bao tử còng đổ *P. eumolpe* tại khu vực gãy đổ ở rừng ngập mặn Cần Giờ, Thành phố Hồ Chí Minh” được thực hiện qua 2 nội dung: (1) Xác định tổng số và mật độ vi sinh vật, (2) Số lượng và hình thái vi sinh vật phân giải cellulose. Nghiên cứu khảo sát các vi sinh vật có khả năng phân giải cellulose

Ngày nhận bản thảo 10-10-2017, ngày chấp nhận đăng 11-05-2018, ngày đăng 20-11-2018

Trần Ngọc Diễm My, Nguyễn Trọng Nhân – Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, ĐHQG-HCM

*Email: tndmy@hcmus.edu.vn

thuộc 3 nhóm vi sinh vật: vi khuẩn hiếu khí, xạ khuẩn và nấm mốc.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Vị trí nghiên cứu

Khu vực nghiên cứu được chọn là khu gầy đổ trong rừng ngập mặn Cần Giờ thuộc lô E10, khoảnh 8, tiểu khu 17. Tại đó chọn ra 3 điểm thu mẫu: 1 điểm rừng nguyên trạng (F), 1 điểm gầy đổ đã dọn bớt cây, chỉ còn lại ít rễ được mục và gốc cây mục (Hcut), 1 điểm gầy đổ còn nguyên hiện trạng, không có dọn cây (Hnat).

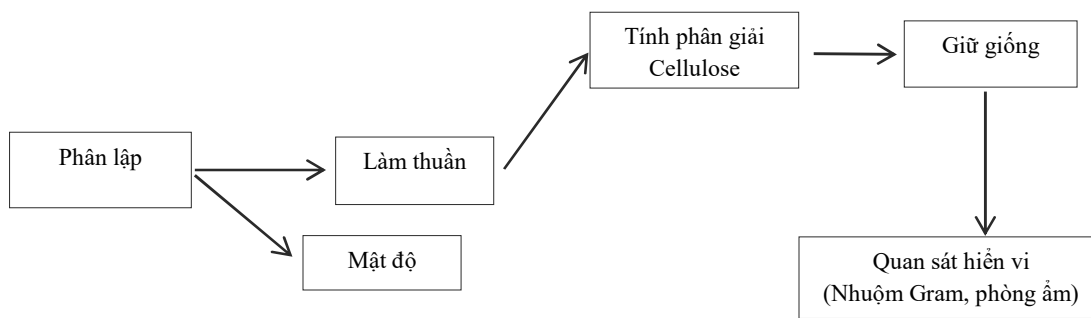
Thu mẫu còng và tách lấy dạ dày

Tại mỗi điểm thu mẫu (sinh cảnh), bắt ngẫu nhiên 10 cá thể còng *P. eumolpe*, lúc triều cạn. Mẫu thu được cho vào túi nylon kín, dán nhãn (ngày/địa điểm) và giữ mẫu ngay với đá lạnh

(khoảng 4 °C). Sau đó, mẫu còng được lưu trữ đông lạnh -20 °C cho đến khi tách lấy dạ dày. Tại phòng thí nghiệm, rã đông mẫu còng, đặt vào khay mổ, dùng kéo cắt bỏ phần mai để lộ nội quan, dùng kẹp gấp lấy dạ dày và bảo quản dạ dày còng trong ependoff chứa 1,5 mL glycerol 20% ở -30 °C [6-7].

Phân lập và đếm mật độ vi sinh vật trong dạ dày còng

Phân lập với 3 nhóm đối tượng: Nấm mốc, xạ khuẩn và vi khuẩn hiếu khí. Sử dụng môi trường Czapek – Dok đối với nấm, môi trường Gause đối với xạ khuẩn và cao thịt – peptone đối với vi khuẩn hiếu khí. Các bước thí nghiệm được thực hiện theo Hình 1.



Hình 1. Sơ đồ các bước thí nghiệm

Sau khi tiến hành pha loãng với nồng độ 10-1, 10-2, 10-3 và trải trên đĩa thạch, tiến hành đếm số khuẩn lạc rời của từng nhóm vi sinh vật ở mỗi nồng độ. Số khuẩn lạc rời chấp nhận được nằm trong khoảng 30–300 khuẩn lạc trên đĩa có nồng độ pha loãng tương ứng. Tính tổng số vi sinh vật theo công thức:

$$M = A \times 10 \times 10^n \text{ tế bào/mL hoặc CFU/mL}$$

A: Số khuẩn lạc đếm trung bình trên đĩa (trung bình của 3 đĩa).

n: số lần pha loãng.

10: thể tích đem trải trên đĩa thạch là 0,1 mL, nhân hệ số 10 để được số tế bào/mL.

Mật độ vi sinh vật được tính trên 1 mL dung dịch dạ dày còng. Mật độ tế bào vi sinh vật bao gồm mật độ tế bào nấm, xạ khuẩn và vi khuẩn hiếu khí. Mật độ vi sinh vật trung bình bằng trung bình cộng của các mật độ vi sinh vật trong 1 mL dung dịch dạ dày còng ở mỗi sinh cảnh [1, 3, 9].

Thí nghiệm khả năng phân giải cellulose

Sử dụng carboxymethylcellulose (CMC) làm nguồn carbon, một loại cellulose mạch ngắn. Bổ sung CMC vào môi trường cao thịt – peptone, môi trường Czapek – Dok. Khảo sát khả năng phân giải bằng phương pháp cấy điểm (vi khuẩn hiếu khí, nấm mốc) và cấy một đường thẳng giữa đĩa petri (xạ khuẩn). Sau 1–3 ngày, nhỏ lugol lên mặt thạch, vi sinh vật có phân giải CMC thì xung quanh khuẩn lạc xuất hiện vòng phân giải, màu sáng, không tạo màu với lugol [1, 3, 9].

Phương pháp quan sát vi sinh vật

Quan sát hình dạng tế bào vi khuẩn hiếu khí bằng phương pháp nhuộm Gram và quan sát dưới kính hiển vi quang học, vật kính 100X [1, 3, 9].

Tiêu bản nấm mốc: Nhỏ 1 giọt cotton blue lên miếng lame, dùng que cấy mốc lấy phần sợi nấm cho vào giọt cotton blue, đặt lamelle lại, dùng đầu bút chì đè ép và dàn mỏng mẫu. Quan sát cấu trúc sinh bào tử: cuống sinh bào tử, thể bình, bào tử [1, 3, 9].

Xạ khuẩn

Sử dụng phương pháp tiêu bản phòng ẩm để quan sát cấu trúc, cuống sinh bào tử và bào tử [1, 3, 9].

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Số lượng vi sinh vật trong dạ dày còng

Kết quả phân lập được 520 mẫu vi sinh vật từ 30 mẫu dạ dày còng *Perisesarma eumolpe* của 3 sinh cảnh: rừng nguyên trạng (F), gậy đổ có đụn cây (Hcut), gậy đổ không đụn cây (Hnat). Trong

520 mẫu vi sinh vật có 496 mẫu vi khuẩn hiếu khí, 24 mẫu xạ khuẩn và không có nấm mốc. Số lượng vi khuẩn hiếu khí chiếm tới 95% tổng số vi sinh vật phân lập được từ dạ dày còng ở cả 3 sinh cảnh. Số mẫu vi sinh vật phân giải cellulose chiếm 46% tổng số vi sinh vật phân lập được từ dạ dày còng. Tất cả xạ khuẩn đều có phân giải cellulose, 44% số vi khuẩn hiếu khí có phân giải cellulose phân lập được từ 30 dạ dày còng trên 3 sinh cảnh.

Bảng 1. Số lượng vi sinh vật phân lập được từ dạ dày còng ở mỗi sinh cảnh.

Sinh cảnh	Số vi khuẩn hiếu khí trung bình trong dạ dày	Số xạ khuẩn trung bình trong dạ dày	Số vi khuẩn hiếu khí phân giải cellulose trung bình trong dạ dày	Số xạ khuẩn phân giải cellulose trung bình trong dạ dày
F	21 ± 1,12	2 ± 1,01	9 ± 2,23	2 ± 1,02
Hcut	17 ± 2,03	1 ± 1,05	7 ± 2,16	1 ± 1,01
Hnat	16 ± 2,11	2 ± 1,16	6 ± 1,09	2 ± 1,01

Kết quả cho thấy số lượng vi khuẩn hiếu khí trung bình trong dạ dày của còng sống ở rừng nguyên trạng luôn cao hơn số lượng vi khuẩn hiếu khí trong dạ dày của còng sống ở các sinh cảnh gậy đổ ($p < 0,05$). Điều này có thể được giải thích do điều kiện môi trường rừng ẩm ướt, nhiều xác bã hữu cơ, thuận lợi cho sự sinh trưởng và phát triển của vi khuẩn hiếu khí. Tuy nhiên, số lượng vi khuẩn hiếu khí phân giải cellulose lại không khác biệt có ý nghĩa giữa 3 sinh cảnh sống của còng *P. eumolpe* ($p > 0,05$) (Bảng 1).

Mật độ vi sinh vật trong dạ dày còng

Trong dạ dày còng, nghiên cứu chỉ ghi nhận được vi khuẩn hiếu khí và xạ khuẩn, không ghi nhận được nấm mốc. Vì thế mật độ vi sinh vật trong dạ dày còng chính là mật độ của vi khuẩn hiếu khí và xạ khuẩn. Mật độ xạ khuẩn trong dạ dày còng (khoảng 10^3 tế bào/mL) thấp hơn nhiều so với mật độ vi khuẩn hiếu khí (10^5 tế bào/mL).

Bảng 2. Mật độ vi sinh vật trung bình trong dạ dày còng *Perisesarma eumolpe* (tế bào/mL)

Sinh cảnh	Mật độ vi khuẩn hiếu khí TB/dạ dày (10^5 tb/mL)	Mật độ xạ khuẩn TB/dạ dày (10^3 tb/mL)	Tổng mật độ vi sinh vật TB/dạ dày (10^5 tb/mL)
F	0,63 ± 0,28	0,78 ± 0,19	0,63 ± 0,28
Hcut	0,66 ± 0,3	3,6 ± 2,5	6,6 ± 3,1
Hnat	0,65 ± 0,4	0,36 ± 0,5	0,65 ± 0,48

Số lượng và hình thái vi khuẩn hiếu khí phân giải cellulose

Trong dạ dày còng ghi nhận được tổng mật độ vi sinh vật trung bình trong một dạ dày từ $0,66 \times 10^5$ đến $6,77 \times 10^5$ tế bào/mL, trong đó mẫu dạ dày ở sinh cảnh Hcut có mật độ vi sinh vật trung bình cao nhất ($6,77 \times 10^5$ tế bào/mL), nhiều gấp 10 lần so với tổng mật độ vi sinh vật trong dạ dày của còng ở sinh cảnh rừng nguyên trạng và gậy đổ không đụn cây. Mật độ vi khuẩn hiếu khí có trong dạ dày còng còn phụ thuộc vào việc ăn uống của còng. Thức ăn trên nền trầm tích bị dính bùn đất, thức ăn đang giai đoạn phân huỷ (lá nâu, gỗ mục, vỏ cây mục), chính những thức ăn đó có chứa sẵn một lượng vi sinh vật. Lượng vi sinh vật trong nền trầm tích là $5,7 \times 10^9$ tế bào trên mỗi mL và trong lá có $4,3 \times 10^6$ tế bào trên mỗi cm^2 [7]. Điều này cho thấy rằng mật độ vi sinh vật có thể thay đổi tùy theo lượng thức ăn hoặc bùn đất được tiêu thụ bởi con còng.

Từ những kết quả phân lập ban đầu trong 30 mẫu dạ dày còng ở 3 sinh cảnh (F, Hnat, Hcut), ta

thu được 240 mẫu vi sinh vật có phân giải cellulose (216 mẫu vi khuẩn hiếu khí và 24 mẫu xạ khuẩn) chiếm hơn 46% trong tổng số 520 mẫu vi sinh vật phân lập được. Thành phần thức ăn trong dạ dày còng *P. eumolpe* ở khu vực gậy đỏ của rừng ngập mặn Cần Giờ (mùa mưa, 10/2009) gồm có: lá, vỏ cây mục, gỗ mục, táo, mảnh vụn có nguồn gốc động vật, đất cát và loại không xác định được [6]. Trong đó, lá, vỏ cây mục, gỗ mục là những loại thức ăn được *P. eumolpe* tiêu thụ nhiều nhất. Kết quả này cho thấy nhóm vi sinh vật này có khả năng góp phần vào việc phân giải nguồn thức ăn khó tiêu do *P. eumolpe* tiêu thụ trong quá trình sống của chúng, sử dụng chính nguồn thức ăn này cho việc sinh trưởng và phát triển. Nhóm vi sinh vật nói chung và vi sinh vật phân giải cellulose không chỉ giúp cua còng sinh trưởng trong điều kiện môi trường khắc nghiệt với thức ăn chủ yếu là những loại thức ăn khó tiêu với tỉ lệ C/N cao mà còn góp phần vào sự chuyển hoá dinh dưỡng trong hệ sinh thái rừng ngập mặn [6-7].

Trong 240 mẫu vi sinh vật phân giải cellulose, nghiên cứu đã xác định được 5 chủng xạ khuẩn (X) và 24 chủng vi khuẩn hiếu khí (V) có phân giải cellulose.

Xạ khuẩn

Chủng X1, X2 và X3 được phân lập từ mẫu dạ dày còng thu ở sinh cảnh F. Chủng X4 và X5 được phân lập từ mẫu dạ dày còng thu ở sinh cảnh Hnat. Trong mẫu dạ dày còng ở sinh cảnh Hcut chỉ phân lập được X1. Ở rừng ngập mặn Cần Giờ đã phân lập được 55 chủng xạ khuẩn trong đất [3], điều này cho thấy rằng ở môi trường sống của loài còng *P. eumolpe* có xạ khuẩn và có thể xạ khuẩn đi vào dạ dày còng qua con đường tiêu hoá thức ăn. Xạ khuẩn là nhóm vi sinh vật có khả năng sản sinh nhiều loại enzyme ngoại bào (chitinase,

protease, cellulase, amylase) [3]. Như vậy xạ khuẩn cùng với vi khuẩn hiếu khí đã hỗ trợ tiêu hoá thức ăn cho còng, biến thức ăn giàu cellulose thành các hợp chất dinh dưỡng mà còng và vi sinh vật sử dụng được. Các chủng xạ khuẩn được mô tả ở Hình 2.

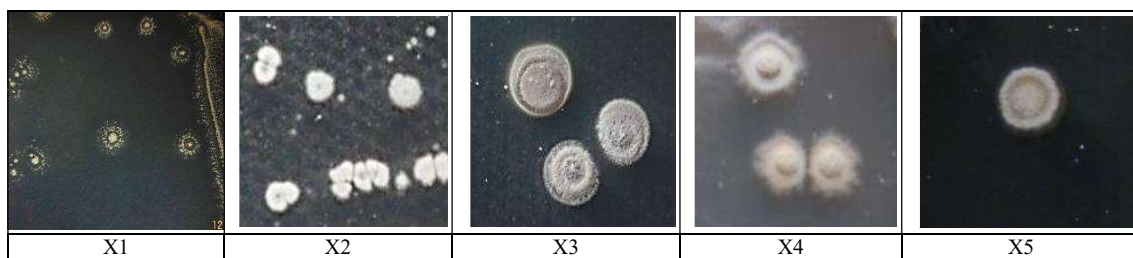
X1: Khuẩn ty khí sinh màu trắng hơi vàng, khuẩn ty khí sinh phát triển thành các vòng tròn đồng tâm, khuẩn lạc càng lớn khối ở tâm càng nhỏ, càng có nhiều vòng tăng trưởng, các vòng càng xa tâm càng mờ, chỉ thấy các chấm nhỏ màu trắng rời nhau. Có mùi đất, tiết sắc tố xám trong ống giữ giống. Khuẩn ty dạng gợn sóng, bào tử hình cầu.

X2: Khuẩn lạc tròn dẹt, rìa gợn sóng màu trắng, tâm màu xám. Lúc còn non phân màu trắng nhiều hơn màu xám hoặc hoàn toàn màu trắng. Khuẩn ty cơ chất màu xám đến nâu đỏ. Tiết sắc tố nâu đỏ, có mùi đất. Khuẩn ty gợn sóng hoặc thẳng, bào tử hình gần giống hình cầu.

X3: Khuẩn lạc tròn lõm, rìa trơn. Phần khuẩn ty khí sinh ở tâm màu xám chỉ có giọt tiết, phần giữa màu trắng bông, phần rìa màu trắng đục. Khuẩn ty cơ chất màu nâu. Có mùi đất. Khuẩn ty xoắn, bào tử hình cầu.

X4: Khuẩn lạc màu trắng vàng, rìa xê thủy. Phần tâm nhô cao, lúc nhỏ tâm chia 4 thủy, già hơn tâm loang lỗ, để lâu hơn khuẩn lạc như phủ một lớp tơ màu xám. Khuẩn ty cơ chất màu cam. Có mùi đất, không tiết sắc tố. Khuẩn ty xoắn, bào tử hình que.

X5: Khuẩn ty khí sinh màu trắng, có các vân xen kẽ từ tâm ra ngoài, rìa hơi gợn sóng. Lúc già khuẩn ty đổi màu xám, phân rìa trắng, có vân. Khuẩn ty cơ chất màu vàng. Có mùi đất, không tiết sắc tố. Khuẩn ty xoắn, bào tử hình cầu.



Hình 2. Hình dạng khuẩn lạc của các chủng xạ khuẩn phân giải cellulose ghi nhận được trong dạ dày còng *Perisesarma eumolpe*

Vi khuẩn hiếu khí

Số chủng vi khuẩn hiếu khí phân giải cellulose trong mẫu dạ dày công *Perisesarma eumolpe* ở sinh cảnh F, Hnat và Hcut lần lượt là 12, 10 và 11. Các chủng vi khuẩn hiếu khí được mô tả ở Hình 3.

V1: Khuẩn lạc màu trắng, hình tròn nhô cao mà lõm tâm (dạng núi lửa), nhiều nếp nhăn, rìa gợn sóng hoặc xẻ thùy. Tế bào hình que, kết chuỗi hoặc từng cặp tế bào dính nhau, Gram dương.

V2: Khuẩn lạc màu trắng đục, lõi dẹt, có nếp nhăn, rìa xẻ thùy. Tế bào hình que kết chuỗi, Gram dương

V3: Khuẩn lạc tròn, màu cam, lõi, rìa trơn và trong. Gram âm, tế bào hình que.

V4: Khuẩn lạc tròn, màu cam, lõi nhọn ở tâm, các nếp nhăn chụm ở tâm, rìa răng cưa. Gram âm, tế bào hình que.

V5: Khuẩn lạc tròn, màu trắng đục, lõi, lõm ở tâm, tâm có nếp nhăn, rìa răng cưa. Tế bào hình que, Gram dương.

V6: Khuẩn lạc màu trắng đục, tròn, dẹt, có nếp nhăn, rìa gợn sóng, dẻo và nhầy. Tế bào hình que.

V7: Khuẩn lạc tròn, rìa gợn sóng, có vành gần rìa, bề mặt trơn bóng, màu cam đến nâu. Tế bào hình que, kết chuỗi ngắn.

V8: Khuẩn lạc tròn, màu vàng, tâm sậm màu hơn phần rìa giống như có vân màu sáng tối, rìa trong răng cưa. Tế bào hình que, Gram dương.

V9: Khuẩn lạc tròn, lõi, màu vàng, rìa trơn. Gram dương. Tế bào hình cầu, xếp cụm 4 tế bào.

V10: Khuẩn lạc không tròn, nhăn chụm ở tâm, màu trắng đục, rìa xẻ thùy. Tế bào hình que, Gram dương, có bào tử.

V9: Khuẩn lạc tròn, màu vàng tươi, lõi, bề mặt trơn láng, rìa trơn. Tế bào hình cầu, cụm 4 tế bào, Gram dương.

V11: Khuẩn lạc nhô cao, nhăn, lõm tâm, màu vàng tươi. Tế bào hình cầu, cụm 4 tế bào. Gram dương.

V12: Khuẩn lạc tròn, màu vàng tươi, lõi, bề mặt mịn không trơn bóng. Tế bào hình cầu đôi, Gram dương.

V13: Khuẩn lạc màu trắng đục, rìa trơn, nhầy, đa hình dạng: dạng lõm tâm (phễu), một vài nếp nhăn hoặc phẳng dẹt. Tế bào hình cầu, Gram dương.

V14: Khuẩn lạc tròn, trơn bóng, màu trắng sữa rìa trơn. Tế bào hình que, Gram dương.

V15: Khuẩn lạc màu cam, tròn, trơn bóng, có nếp nhăn chụm ở tâm. Tế bào hình que, Gram dương.

V16: Khuẩn lạc màu trắng đục, tròn, trơn bóng, có nếp nhăn chụm ở tâm. Tế bào hình que, Gram dương.

V17: Khuẩn lạc màu vàng, tròn lõi, rìa răng cưa, khuẩn lạc có các vân màu sáng tối. Tế bào hình que, Gram dương.

V18: Khuẩn lạc tròn lõi, màu trắng hơi vàng, có độ trong, rìa trơn. Tế bào hình que, Gram dương.

V19: Khuẩn lạc tròn, màu trắng đục, phần tâm đậm màu hơn phần rìa, rìa răng cưa. Tế bào hình que kết chuỗi, Gram dương.

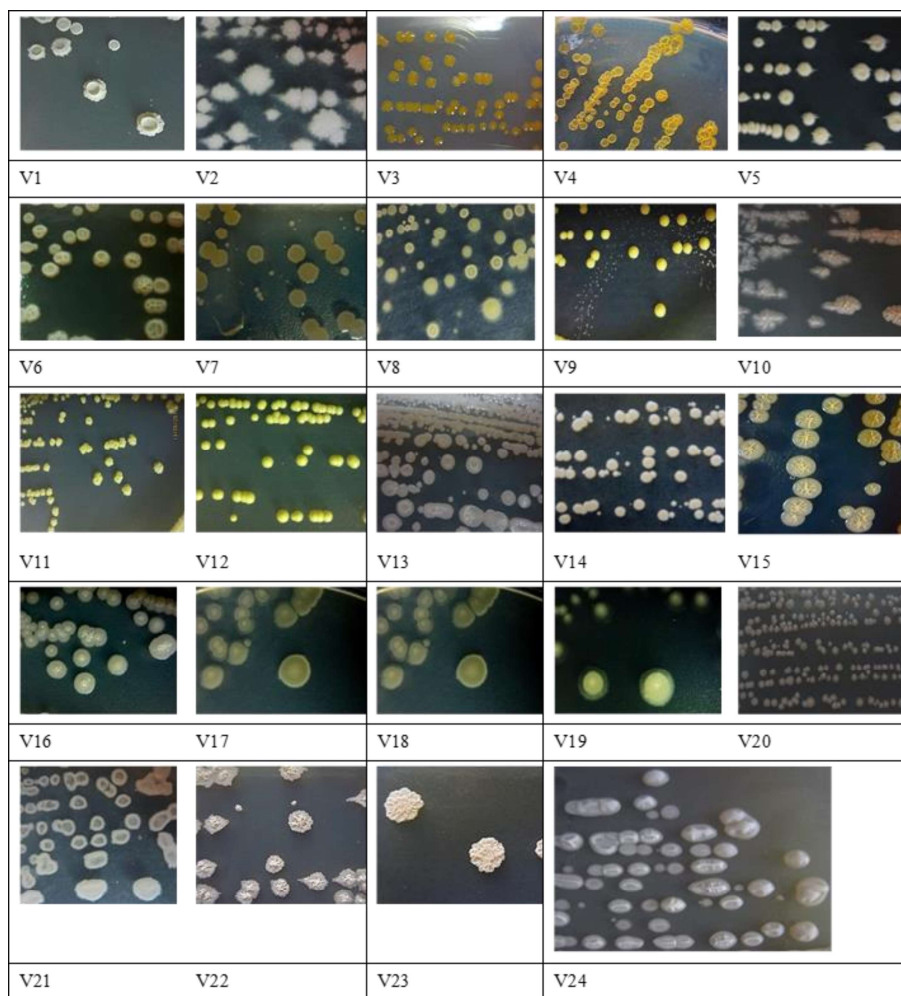
V20: Khuẩn lạc tròn, màu trắng đục, trơn bóng, rìa trơn. Tế bào hình que, Gram dương.

V21: Khuẩn lạc màu trắng đục, hình tròn hoặc bầu dục, lõm tâm hoặc tâm phồng méo mó, nhầy. Gram dương, tế bào hình que.

V22: Khuẩn lạc màu trắng, hình tròn, rìa xẻ thùy, nhăn chụm tâm, nếp nhăn gần giống dạng sợi, khuẩn lạc dính nhiều với thạch nên khó lấy sinh khối. Gram dương, tế bào hình cầu.

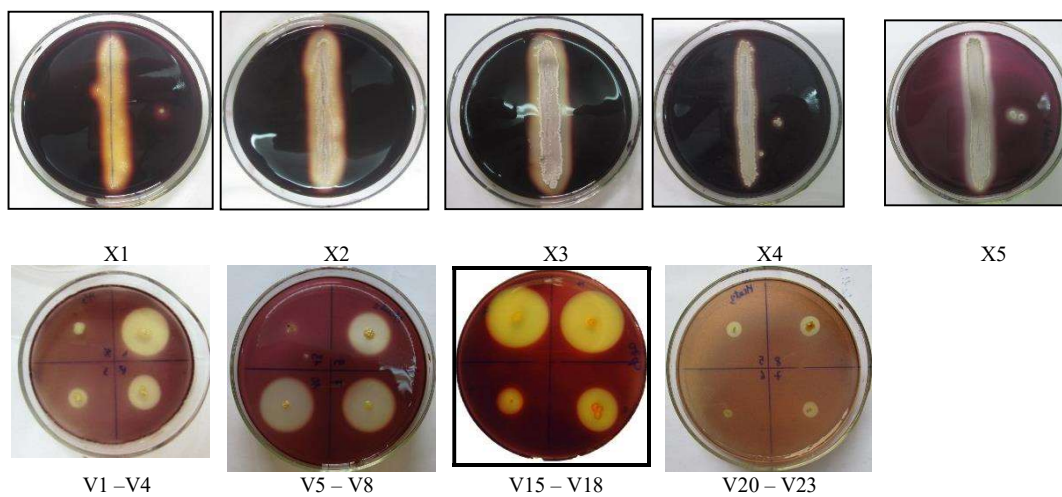
V23: Khuẩn lạc màu trắng, khuẩn lạc nhăn, nhiều nếp nhăn xếp gần nhau chia khuẩn lạc làm nhiều thùy, trong giống bông hoa. Gram dương, tế bào hình que.

V24: Khuẩn lạc màu trắng đục, hình dạng thay đổi (tròn, bầu dục), dạng phồng ở tâm hoặc có nếp nhăn chụm ở tâm, nhầy. Gram dương, tế bào hình que kết chuỗi.



Hình 3. Hình dạng khuẩn lạc của các chủng vi khuẩn hiếu khí phân giải cellulose ghi nhận được trong dạ dày công *Perisesarma eumolpe*

Vòng phân giải cellulose của một số mẫu vi sinh vật ghi nhận được



Hình 3. Vòng phân giải cellulose ghi nhận được của một số mẫu vi sinh vật phân lập được từ dạ dày công

Từ những kết quả khảo sát sự hiện diện của nhóm vi sinh vật có khả năng phân giải cellulose trên, nghiên cứu đã bước đầu cho thấy khả năng nhóm vi sinh vật này góp phần trong quá trình tiêu hoá của còng *P. eumolpe*, cung cấp được dinh dưỡng cho còng trong quá trình sinh trưởng và phát triển ở khu vực khắc nghiệt, không có sự lựa chọn thức ăn, buộc phải tiêu thụ nguồn thức ăn có tỷ lệ C/N cao (vỏ, gỗ mục, lá cây). Đây không phải nguồn thức ăn phù hợp cho nhóm động vật không xương sống phát triển, tỷ lệ C/N thích hợp cho sự phát triển của động vật không xương thường dưới 17... Ngoài ra, sự hiện diện của nhóm vi sinh vật phân giải cellulose nói riêng và vi sinh vật trong dạ dày còng nói chung còn giúp làm giảm tỷ lệ C/N của nguồn thức sau khi đi qua hệ thống tiêu hoá của còng, góp phần vào chu trình chuyển hoá dinh dưỡng cho sự phục hồi rừng ngập mặn tại đây. Chính vì thế, nghiên cứu ghi nhận sự hiện diện của vi sinh vật phân giải cellulose sẽ làm cơ sở nền tảng cho những hướng nghiên cứu sâu hơn về nhóm vi sinh vật này, góp phần giải thích cơ chế hoạt động và khả năng đóng góp vào quá trình phục hồi hệ sinh thái của nhóm cua còng trong rừng ngập mặn.

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu ghi nhận được 520 mẫu vi sinh vật trong đó có 496 mẫu hiếu khí, 24 mẫu xạ khuẩn và không có nấm mốc. Trong số đó có hơn 46% mẫu vi sinh vật có khả năng phân huỷ cellulose (240 mẫu). Ngoài ra, nghiên cứu bước đầu đã nhận diện các chủng vi khuẩn hiếu khí, xạ khuẩn dựa vào các hình thái, đặc điểm của khuẩn lạc xuất hiện trong các môi trường đặc trưng với 24 chủng vi khuẩn hiếu khí, 5 chủng xạ khuẩn. trong cả 3 sinh cảnh rừng nguyên trạng (F), gậy đổ có dụn cây (Hcut), gậy đổ không dụn cây (Hnat). Mật độ vi sinh vật trung bình trong một dạ dày từ $0,66 \times 10^5$ đến $6,6 \times 10^5$ tế bào/mL. Mật độ này ở những cá thể còng sống trong môi trường Hcut cao hơn 10 lần so với 2 môi trường còn lại. Mật độ xạ khuẩn trong dạ dày còng (khoảng 10^3 tế bào/mL) thấp hơn nhiều so với mật độ vi khuẩn hiếu khí (10^5 tế bào/mL). Giá trị mật độ này có thể thay đổi, tùy vào việc tiêu thụ thức ăn và thành phần thức ăn của còng.

Sự hiện diện của vi sinh vật (vi khuẩn hiếu khí, xạ khuẩn) phân giải cellulose trong dạ dày còng *P. eumolpe* đã giúp còng tiêu thụ và sử dụng được phần carbon trong thức ăn khó tiêu như gỗ mục, vỏ cây mục và lá. Khi thức ăn được sự hỗ trợ tiêu hoá từ vi sinh vật phân giải cellulose thì còng *P. eumolpe* có được nguồn dinh dưỡng để đáp ứng nhu cầu sinh trưởng và phát triển. Nghiên cứu này làm bước đầu cho những nghiên cứu về vai trò sinh thái của nhóm cua còng nói chung và *P. eumolpe* nói riêng đối với rừng ngập mặn.

Lời cảm ơn: để hoàn thành nghiên cứu này, chúng tôi gửi lời cảm ơn đến PTN Vi sinh thuộc Khoa Sinh học – CNSH đã hỗ trợ thực hiện phân tích.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] N.L. Dũng, “*Những phương pháp nghiên cứu vi sinh vật tập II*”, NXB Khoa học và kỹ thuật”, Hà Nội, 1976.
- [2] E.R. Gary, “Leaf litter processing by macrodetritivores in natural and restored neotropical mangrove forest”, PhD thesis. Louisiana State University, USA, 2004.
- [3] H.T. Hồng, N.N. Phương, “Phân lập và tuyển chọn chủng xạ khuẩn từ rừng ngập mặn Cần Giờ kháng nấm *Fusarium* sp.”, *Tạp chí Khoa học Đại học Sư phạm Thành phố Hồ Chí Minh*, no. 51, pp. 59–71, 2013.
- [4] P.N. Hồng, “*Vai trò của rừng ngập mặn Việt Nam, kỹ thuật trồng và chăm sóc*”, NXB Nông nghiệp, Hà Nội, 1997.
- [5] E. Kristensen, “Mangrove crabs as ecosystem engineers with emphasis on sediment processes”, *Journal of Sea Research*, vol 59, pp. 30–43, 2008.
- [6] T.N.D. My, “Thành phần loài và vai trò sinh thái của nhóm cua còng tại những điểm gây đổ trong rừng ngập mặn Cần Giờ Thành phố Hồ Chí Minh”, Luận án tiến sĩ sinh học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, ĐHQG-HCM, 2012.
- [7] I. Nordhaus, “Feeding ecology of the semi-terrestrial crab *Ucides cordatus* (Decapoda: Brachyura) in a mangrove forest in northern Brazil”, PhD thesis, Bremen University – Germany, 2003.
- [8] K. Sivasubramanian, S. Ravichandran and K. Rajan, “Isolation of gut associated bacteria from mangrove crabs collected from different mangrove regions of Tamil Nadu, South east coast of India”, *African Journal of Microbiology research*, vol. 11, no. 14, pp. 586–595, 2017.
- [9] T.L. Thuốc, “*Phương pháp phân tích vi sinh vật trong nước, thực phẩm và mĩ phẩm*”, Nhà xuất bản Giáo dục Việt Nam, 2003.

The presence of cellulose-degrading microorganisms in *Perisesarma eumolpe* crab's stomach at opened areas of Can Gio mangrove forest

Tran Ngoc Diem My, Nguyen Trong Nhan

University of Science, VNU-HCM
Corresponding author: tndmy@hcmus.edu.vn

Received: 10-10-2017; Accepted: 11-05-2018; Published: 20-11-2018

Abstract—The study was conducted to determine the presence of cellulose-degrading microorganisms which were living in the stomach of *Perisesarma eumolpe* crabs. *P. eumolpe* were collected in the gap of Can Gio mangrove caused by Durian typhoon in 2006. The study identified 520 microorganism samples from 30 stomach samples. Cellulose degrading microbacteria were isolated on three types of nutrient media: meat extract – peptone, Gause and Czapek – Dok with CMC. These 520 microbial samples included of 496 aerobic bacteria, 7 actinomycetes and 0 mold samples. The number of cellulose degrading microorganisms was also accounted for 46% of total (240 samples). Among

these, there were 24 bacteria strains and 5 actinomycetes strains which degraded cellulose based on the difference in the colony and the cell shape. The average microbial density per crab gut was approximately 0.66×10^5 to 6.6×10^5 cell/mL. In addition, the results showed that cellulose degrading microorganism groups have importantly contributed to the food sources for *P. eumolpe* during their living in the mangrove forest.

Keywords—actinomycetes, Can Gio mangrove forest, cellulose degrading microorganisms, *Perisesarma eumolpe*, stomach