

ĐIỀU KIỆN MÔI TRƯỜNG VÀ QUẦN XÃ VI KHUẨN TRONG DỊCH NHẢY SAN HỒ VEN ĐẢO CÁT BÀ VÀ LONG CHÂU, VIỆT NAM

Phạm Thế Thu^{1*}, Nguyễn Đăng Ngái¹, Bùi Thị Việt Hà²

¹Viện Tài nguyên và Môi trường biển-Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

²Trường Đại Học Khoa học Tự nhiên-Đại học Quốc gia Hà Nội

*Email: thuvt@imer.ac.vn

Ngày nhận bài: 28-5-2014

TÓM TẮT: Hệ sinh thái rạn san hô đã và đang bị suy giảm mạnh mẽ, trong đó, dịch bệnh cũng là một trong những nguyên nhân đang gây ảnh hưởng đến rạn san hô trên toàn thế giới. Việc xác định nguyên nhân gây bệnh san hô hiện vẫn gặp rất nhiều khó khăn, nên việc tìm hiểu về tác nhân và cơ chế gây bệnh, trong đó có vi sinh vật là rất quan trọng. Xác định sự tác động của điều kiện môi trường tới quần xã vi khuẩn trên san hô cũng là một trong những bước tìm hiểu điều kiện phát sinh bệnh san hô. Do vậy, dịch nhảy từ 12 loài san hô phân bố ở hai khu vực có sự khác biệt rõ rệt về điều kiện lý hóa môi trường (Cát Bà và Long Châu) đã được nghiên cứu. Các phương pháp nhuộm phân tử, đo dòng tế bào, đĩa sinh thái và điện di biến tính đã được sử dụng. Kết quả trong nghiên cứu này cho thấy rằng, đặc điểm của quần xã vi khuẩn (mật độ tế bào, tỉ lệ nhóm hình thái tế bào, mật độ nhóm vi khuẩn dị dưỡng và *Vibrio*) trong dịch nhảy san hô giữa khu vực Cát Bà và Long Châu chưa thấy sự khác biệt, nhưng hoạt động chức năng của chúng (hô hấp, hấp thụ chất hữu cơ) thì có tiềm năng bị tác động bởi điều kiện môi trường của hai vùng. Điều kiện môi trường nước trong nghiên cứu này chưa thấy được sự khác biệt về khả năng gây bệnh san hô của vi khuẩn. Kết quả này là cơ sở khoa học ban đầu giúp cho việc định hướng và thiết lập các nghiên cứu tiếp theo được hiệu quả hơn, xác thực hơn và cô đọng hơn trong đánh giá khả năng gây bệnh san hô ở các vùng có điều kiện môi trường khác nhau.

Từ khóa: San hô, chất nhảy, vi khuẩn, vi rút, bệnh san hô.

MỞ ĐẦU

Hệ sinh thái rạn san hô có sự đa dạng sinh học cao nhất trên trái đất, cung cấp thực phẩm cho hơn 500 triệu người [1]. Nhưng các hệ sinh thái rạn san hô đã và đang bị suy giảm rất mạnh do sự tác động từ thiên nhiên và con người [2]. Trong đó, dịch bệnh cũng là một trong những nguyên nhân chính đang gây ảnh hưởng đến rạn san hô trên toàn thế giới [3]. Việc xác định nguyên nhân dẫn đến bệnh san hô hiện vẫn gặp rất nhiều khó khăn và cần thiết phải tiếp tục có những nghiên cứu.

Trong số các bệnh san hô xuất hiện trong những năm gần đây, bệnh tẩy trắng là bệnh phổ

biến nhất [1]. Tuy nhiên, nguyên nhân của hiện tượng tẩy trắng hàng loạt xảy ra định kỳ ở hầu hết các rạn san hô trên toàn thế giới vẫn còn là vấn đề tranh luận. Đa số các nhà sinh học san hô cho rằng, tẩy trắng san hô là do sự mất zooxanthellae cộng sinh nội bào (*Symbiodinium* spp) của san hô do sự ảnh hưởng trực tiếp của tăng nhiệt độ kéo dài, xáo trộn vật lý hoặc hóa học của môi trường [4]. Tuy nhiên, một giả thuyết về vai trò của vi khuẩn trong sự xuất hiện và tiến triển của bệnh lý này đã được đưa ra, đã và đang được bàn luận trong khoảng mười năm qua. Mặc dù vi khuẩn đã được quan sát thấy trong nhiều loại bệnh khác nhau của san hô, như bệnh vành đen - black band [5],

bệnh vành trắng - white band [6], bệnh dải trắng - white flague [7], bệnh đốm trắng - white pox [8], ... Do vậy, những nghiên cứu về vi khuẩn san hô, đặc biệt có liên quan tới vai trò của chúng với đời sống và sức khỏe san hô là rất cần thiết.

Mặt khác, san hô cùng với nhiều sinh vật: vi khuẩn lam, nấm, vi tảo, vi khuẩn, vi rút ... tạo thành holobiont san hô [9]. Trong đó, việc duy trì sự cân bằng động giữa các thành phần trong holobiont san hô dưới điều kiện môi trường được xem là điều kiện tiên quyết đảm bảo cho sức khỏe của san hô, điều này được thể hiện qua thuyết "Coral probiotic" của Reshef và cộng sự [10]. Theo giả thuyết này, một số bệnh san hô có thể là kết quả của một sự thay đổi đột ngột về cấu trúc của quần xã vi khuẩn trong chất nhầy để phản ứng lại sự thay đổi của điều kiện môi trường (ví như nhiệt độ, chất dinh dưỡng, pH, ...). Sự thay đổi và tiếp đến là sự biến mất của các vi khuẩn cộng sinh quan trọng và tạo điều kiện cho sự hình thành một tập đoàn vi khuẩn cơ hội mới trong hệ, mà chúng có thể gây bệnh hoặc không, cuối cùng dẫn đến mất trạng thái cân bằng động giữa vi sinh vật và san hô và dẫn đến bệnh và gây chết cho san hô [11, 12]. Do vậy, xem xét sự tác động của điều kiện môi trường tới sự biến động của quần xã vi sinh vật nói chung và vi khuẩn

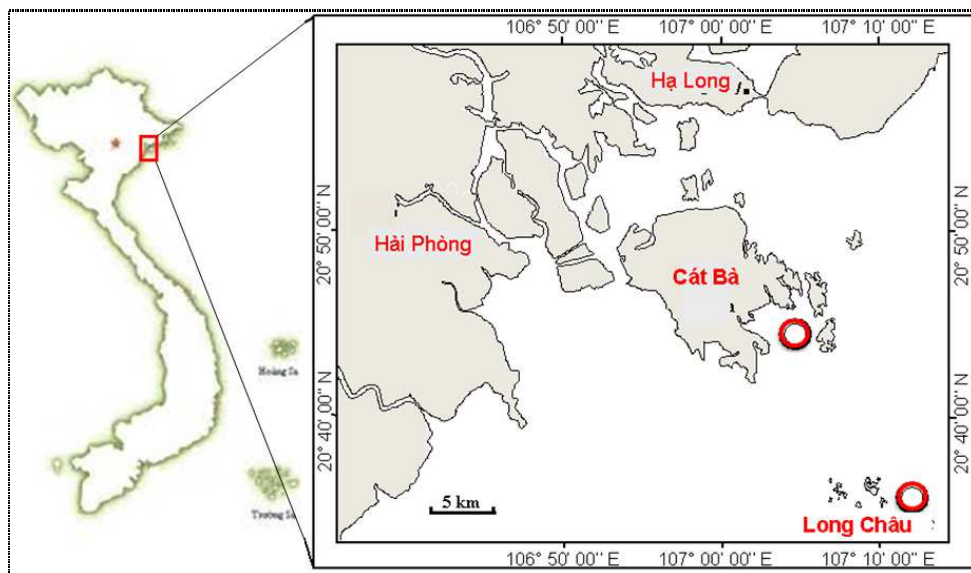
trong dịch nhầy san hô nói riêng là một trong những bước tìm hiểu điều kiện phát sinh bệnh san hô và là cơ sở cho đánh giá điều kiện môi trường có thể gây có nguy cơ gây bệnh tật đối với san hô trong các hệ sinh thái tự nhiên.

Xuất phát từ những lý do trên, bài báo này trình bày một số kết quả nghiên cứu ban đầu trong việc tìm hiểu sự khác biệt của điều kiện môi trường ở khu vực ven đảo Cát Bà và Long Châu tới quần xã vi khuẩn trong dịch nhầy san hô, góp phần cho hướng đánh giá khả năng gây bệnh san hô bởi vi khuẩn ở hai khu vực nghiên cứu.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Vật liệu nghiên cứu

Vật liệu nghiên cứu là các mẫu nước biển và dịch nhầy của 12 loài san hô được thu tại khu vực ven đảo Cát Bà và Long Châu (Việt Nam) vào thời điểm 10-15h 29-30/05/2012: *Pavona frondifera*, *P. decussata*, *Fungia fungites*, *Sandalithia robusta*, *Goniastrea pectinata*, *Lobophyllia flabelliformis*, *L. hemprichii*, *Acropora hyacinthus*, *A. pulchra*, *Echinopora lamellosa*, *Favites pentagona* và *Platygyra carnosus*. Với mỗi loài san hô và mẫu nước được thu lặp lại từ 3 đến 6 mẫu cho phân tích so sánh.



Hình 1. Sơ đồ khu vực thu mẫu (ven đảo Cát Bà và Long Châu, Hải Phòng)

Phương pháp nghiên cứu

Phương pháp thu mẫu ngoài hiện trường

Phương pháp lặn có khí tài (SCUBA) được sử dụng trong việc thu mẫu các loài san hô. Dịch nhầy san hô được thu theo phương pháp của Garren & Azam [13]: sau khi mẫu san hô đưa lên khỏi mặt nước sẽ được rửa qua bằng nước biển lọc (lỗ màng có ϕ là 0,2 μ m), nước và dịch nhầy nhiễm nước bên ngoài san hô sẽ chảy hết sau vài phút ngoài không khí, sau đó dịch nhầy nguyên chất chảy ra sẽ được thu. Các thông số môi trường nước được đo trực tiếp bằng máy CTD (Nhật Bản).

Phương pháp phân tích trong phòng thí nghiệm

Thông số hóa học nước: các chất dinh dưỡng phosphate (PO_4^{3-}), nitrite (NO_2^-), nitrate (NO_3^-), amoni (NH_4^+), COD được xác định bằng phương pháp so màu trên máy quang phổ kế DR/2000 (hãng HACH, Mỹ).

Thông số vi sinh vật: Định lượng vi khuẩn tổng số và hình thái vi khuẩn được thực hiện theo phương pháp của Amandine Leruste (2012) [14]. Số lượng vi khuẩn dị dưỡng và *Vibrio* được xác định trên môi trường nuôi cấy (Marine Agar và TCBS) lần lượt theo [15, 16]. Tỷ lệ vi khuẩn hoạt động hô hấp được xác định bằng phương pháp nhộm 5-cyano-2, 3-ditoly tetrazolium clorua (CTC, tebu-bio SAS; 5 mM) và nuôi 30 phút, sau đó được bảo quản và xác định bằng máy đo dòng - Flow Cytometry theo phương pháp của Combe Marine (2013) [17]. Khả năng hấp thụ chất hữu cơ của vi khuẩn được thí nghiệm trên đĩa sinh thái Biolog Ecoplate theo phương pháp của Christian & Lind (2006) [18], trung bình sự phát triển màu

(AWCD) được xác định theo công thức: $AWCD_{(t)} = [\Sigma(C_{(t)} - R_{(t)})]/31$, trong đó: t là thời gian nuôi, C là trung bình màu của mỗi cơ chất tại thời gian t; R là giá trị của giếng đối chứng. Sự đa dạng di truyền quần xã vi khuẩn được xác định bởi phương pháp điện di biến tính - DGGE) [17, 19].

Phương pháp xử lý số liệu

ANOVA một yếu tố được sử dụng để xác định sự khác biệt giữa các đặc điểm/yếu tố nghiên cứu ($p < 0,05$). Số liệu được cập nhật, tính toán và xây dựng đồ thị trên phần mềm Microsoft Excel.

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Đặc điểm về điều kiện môi trường khu vực Cát Bà và Long Châu

Các đặc điểm hóa lý nước môi trường tại hai khu vực nghiên cứu là Cát Bà và Long Châu có sự khác nhau rõ rệt (ANOVA, $p < 0,05$; bảng 1). Khu vực Cát Bà chịu sự tác động lớn từ các hoạt động nhân tác như hoạt động du lịch, nuôi trồng thủy sản, các chất thải từ dân cư...nên làm cho phần lớn các yếu tố môi trường như dinh dưỡng, độ đục, nhu cầu oxy hóa học đều cao hơn rất nhiều so với khu vực ven đảo Châu Long. Cụ thể, nồng độ chlorophyll a, nitrit, nitrat, amoni và phốt phát ở khu vực Cát Bà cao hơn so với khu vực Long Châu là 71%, 113%, 146%, 28% và 49% (bảng 1). Điều này có thể sẽ có sự ảnh hưởng và tác động tới hệ vi sinh vật nói chung và quần xã vi khuẩn trên san hô nói riêng ở hai khu vực, làm xáo trộn cấu trúc quần xã vi khuẩn cộng sinh san hô, là một trong những nguyên nhân dẫn đến bị bệnh cho san hô.

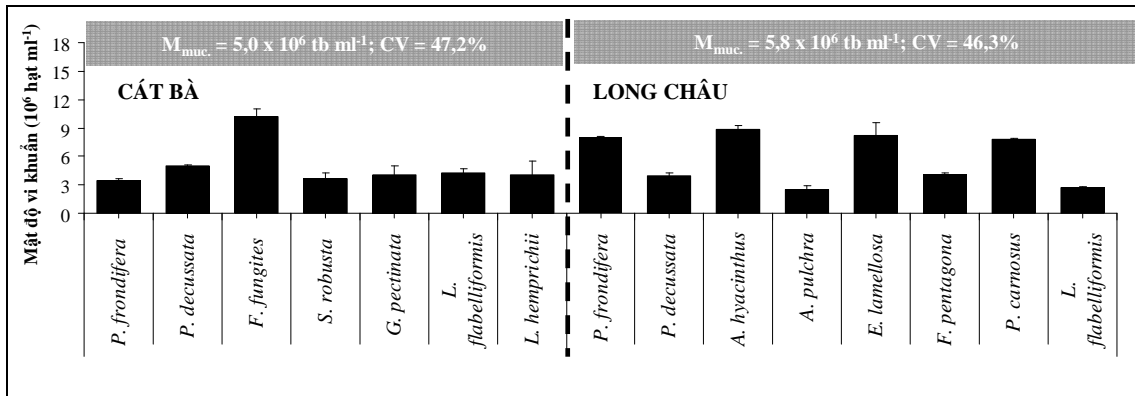
Bảng 1. Các thông số môi trường ở hai khu vực trong thời điểm nghiên cứu

Trạm thu mẫu	Cát Bà	Long Châu	Chỉ số % cao hơn giữa Cát Bà so với Long Châu
Nhiệt độ (°C)	30,1	29,0	3,79
Độ mặn (‰)	29,1	31,5	-7,62
Chl a (mg/l)	1,2	0,7	71,43
Độ đục (FTU)	1,5	0,7	114,29
COD (mg/l)	2,5	1,9	31,58
BOD ₅ (mg/l)	1,1	0,9	22,22
N-NO ₂ ⁻ (μg/l)	7,9	3,7	113,51
N-NO ₃ ⁻ (μg/l)	166,7	67,5	146,96
N-NH ₄ ⁺ (μg/l)	39,3	30,7	28,01
P-PO ₄ ³⁻ (μg/l)	20,2	13,6	48,53
Si- SiO ₃ ²⁻ (μg/l)	635,0	515,0	23,30

Mật độ vi khuẩn trong dịch nhầy san hô khu vực Cát Bà và Long Châu

Từ kết quả trong hình 2 cho thấy, mật độ vi khuẩn trong các mẫu chất nhầy san hô ở cả khu

vực Cát Bà và Long Châu đều không có sự chênh lệch nhiều giữa các loài san hô, đặc biệt không có sự khác nhau một cách có ý nghĩa thống kê giữa hai khu vực nghiên cứu (ANOVA, $p < 0,05$).

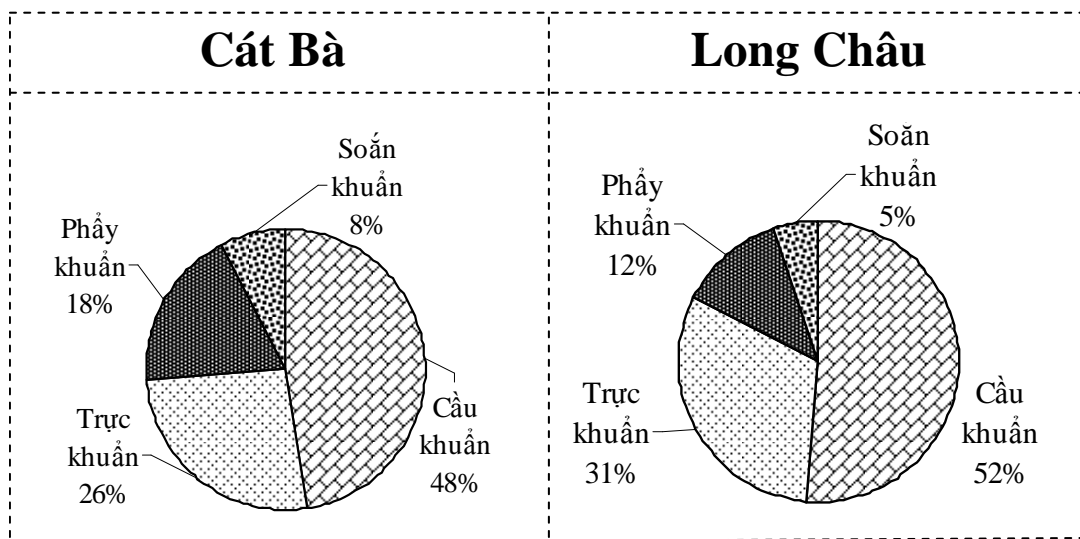


Hình 2. Mật độ vi khuẩn trong dịch nhầy san hô

Nhóm hình thái vi khuẩn trong dịch nhầy san hô ở Cát Bà và Long Châu

Với bốn nhóm hình thái tế bào vi khuẩn trong dịch nhầy san hô của (hình 3), không thấy

sự chênh lệch lớn nào của các nhóm hình thái vi khuẩn giữa hai khu vực nghiên cứu. Đặc biệt là không có sự khác nhau có ý nghĩa thống kê giữa hai khu vực (ANOVA, $p < 0,05$).

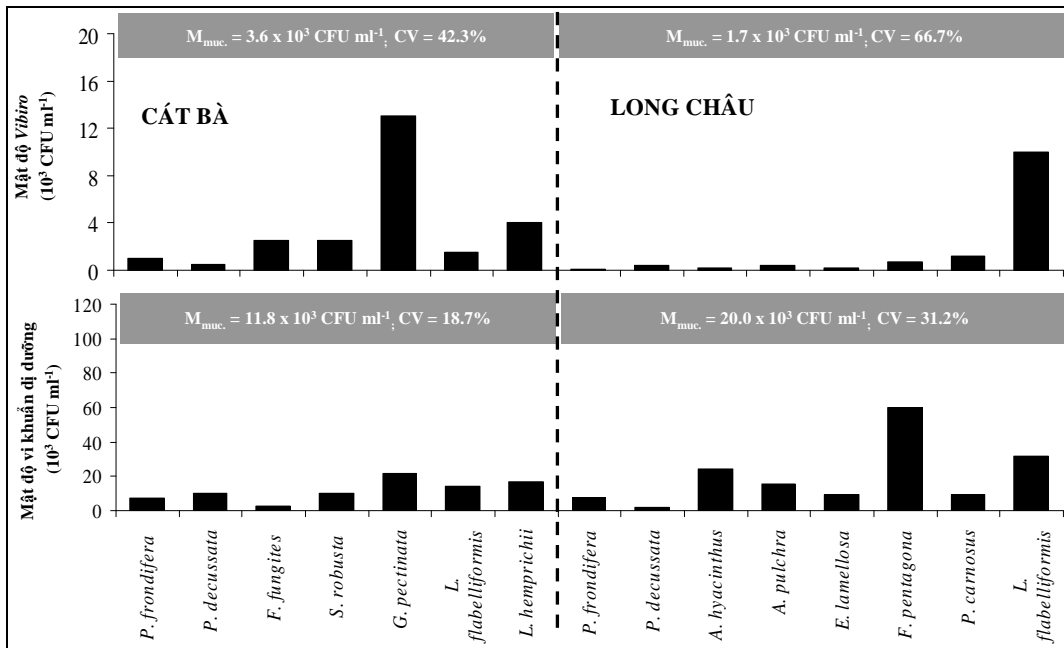


Hình 3. Tỷ lệ các nhóm hình thái vi khuẩn trong dịch nhầy san hô

Số lượng vi khuẩn dị dưỡng và Vibrio trong dịch nhầy san hô

Mặc dù điều kiện môi trường giữa Cát Bà và Long Châu có sự khác nhau (bảng 1), nhưng

mật độ của vi khuẩn dị dưỡng trong dịch nhầy san hô ở hai vùng (hình 4) cũng không thấy sự khác nhau lớn trừ *Vibrio* (ANOVA, $p < 0,05$).

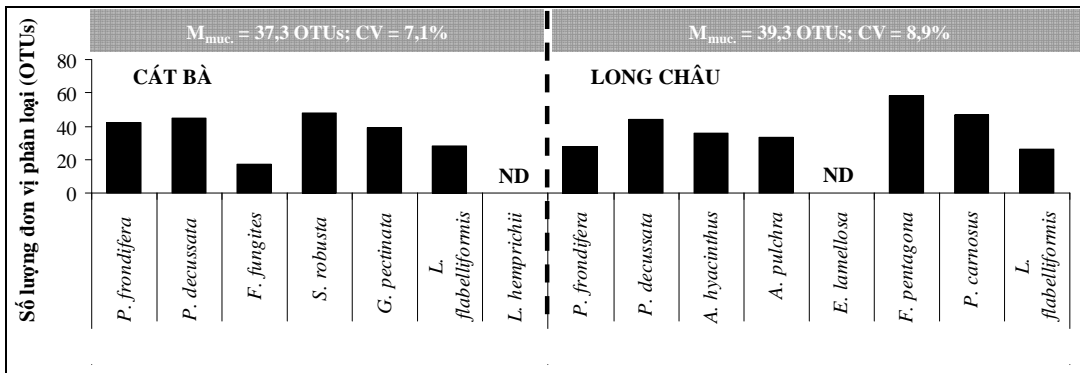


Hình 4. Mật độ vi khuẩn dị dưỡng và *Vibrio* trong dịch nhầy san hô

Đơn vị phân loại di truyền của quần xã vi khuẩn trong dịch nhầy san hô

Số lượng các đơn vị phân loại (OTUs) thu được qua phân tích DGGE trong môi trường dịch nhầy san hô (hình 5), không thấy sự khác biệt lớn của số lượng OTUs của quần xã vi

khuẩn giữa các loài san hô ở hai vùng nghiên cứu (OTUs trung bình đạt 37,3 ở Cát Bà và 39,3 ở Long Châu). Hơn nữa, qua phép kiểm định ANOVA một yếu tố cũng cho thấy, không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa hai khu vực (ANOVA, $p < 0,05$).

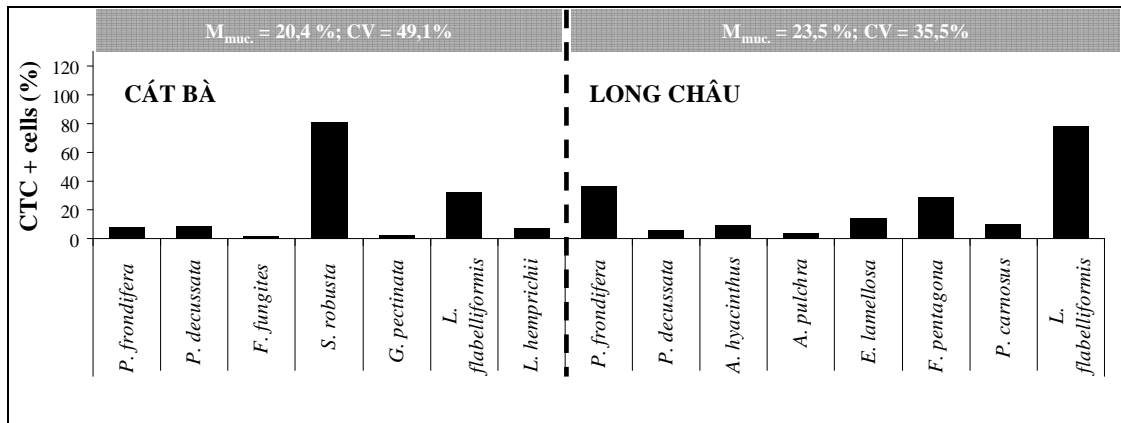


Hình 5. Đơn vị phân loại di truyền trong dịch nhầy san hô (ND - không xác định)

Tỷ lệ tế bào hoạt động hô hấp trong quần xã vi khuẩn của dịch nhầy san hô

Cũng như các thông số khác, thì tỷ lệ tế bào vi khuẩn hoạt động hô hấp trong quần xã vi khuẩn trên dịch nhầy san hô giữa hai vùng

(hình 6) cũng không có sự chênh lệch lớn, trung bình đạt 20,4% ở Cát Bà và 23,5% ở Long Châu. Kết quả kiểm định ANOVA một yếu tố cũng cho thấy, không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa hai khu vực Cát Bà và Long Châu (ANOVA, $p < 0,05$).

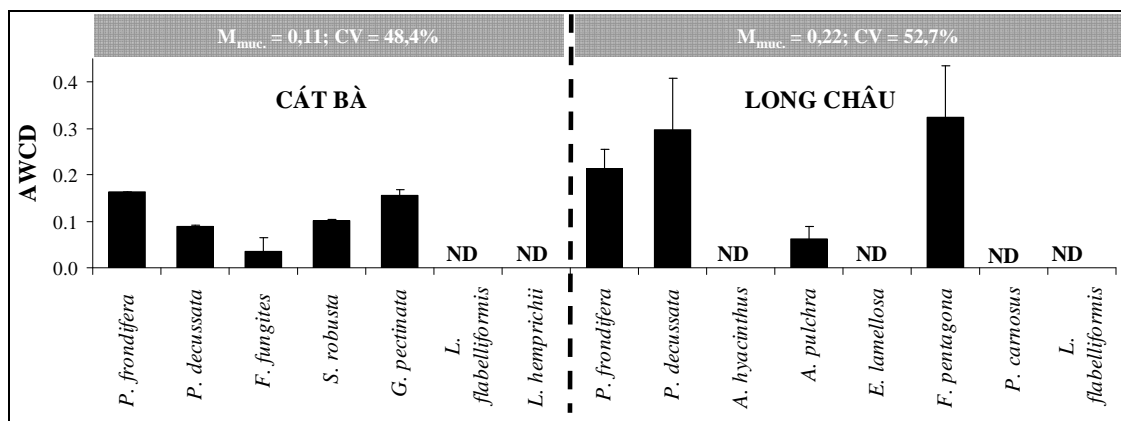


Hình 6. Tỷ lệ tế bào hấp trong quần xã vi khuẩn của dịch nhầy san hô

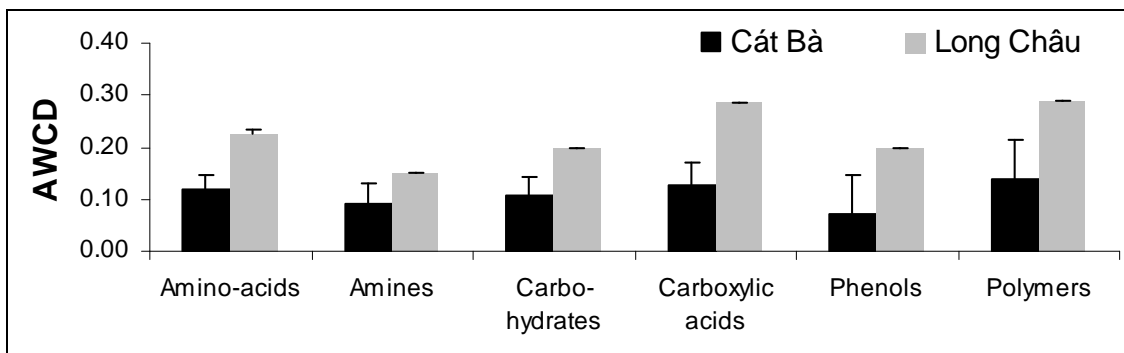
Khả năng hấp thụ chất hữu cơ của vi khuẩn trong dịch nhầy san hô

Xét theo các loài san hô nghiên cứu, khả năng hấp thụ chất hữu cơ của vi khuẩn trong dịch nhầy san hô (hình 7) cũng không có sự

khác nhau với ý nghĩa thống kê giữa hai vùng Cát Bà và Long Châu (ANOVA, $p < 0,05$). Nhưng xét với các nhóm chất hữu cơ thí nghiệm (hình 8) thì ngược lại, có sự khác nhau một cách có ý nghĩa thống kê giữa hai vùng Cát Bà và Long Châu (ANOVA, $p < 0,05$).



Hình 7. Khả năng hấp thụ chất hữu cơ (AWCD) của vi khuẩn dịch nhầy san hô



Hình 8. Khả năng hấp thụ từng nhóm chất hữu cơ của vi khuẩn dịch nhầy san hô

Thảo luận

Bảng 2. Kiểm định ANOVA của các yếu tố nghiên cứu giữa Cát Bà và Long Châu

ANOVA một yếu tố	Cát Bà / Long Châu	
	Giá trị P	Sự khác nhau ý nghĩa
Vi khuẩn tổng	0,174	Không
CTC +	0,810	Không
OTUs	0,803	Không
AWCD	0,127	Không
<i>Vibrio</i>	0,050	Có
Vi khuẩn dị dưỡng	0,604	Không
Cấu khuẩn (%)	0,088	Không
Trực khuẩn (%)	0,297	Không
Phẩy khuẩn (%)	0,885	Không
Soán khuẩn (%)	0,866	Không

Kết quả nghiên cứu đã cho thấy, các đặc điểm của quần xã vi khuẩn đều có sự biến động lớn giữa các loài san hô ở vùng nghiên cứu, nhưng xét giữa hai khu vực nghiên cứu (Cát Bà và Long Châu), phần lớn các đặc điểm đều không thấy sự khác biệt thống kê (ANOVA, $p < 0,05$; bảng 2) ngoại trừ xét khả năng hấp thụ 6 nhóm chất hữu cơ (hình 8). Mặc dù tất cả các thông số môi trường nước đo đạc đều cho thấy, có sự khác biệt rõ rệt giữa hai khu vực Cát Bà và Long Châu (ANOVA; $P < 0,05$; bảng 1). Điều này đã cho phép chúng ta nghĩ rằng, sự khác biệt của điều kiện môi trường nước ở hai vùng sẽ tác động, làm thay đổi đặc điểm, cấu trúc và hoạt động chức năng của quần xã vi khuẩn trong môi trường nước cũng như trong dịch nhầy san hô. Nhưng thực tế, kết quả trong nghiên cứu này lại chưa thấy có sự ảnh hưởng lớn hay chưa thấy sự khác biệt thống kê của các đặc điểm của quần xã vi khuẩn trong dịch nhầy san hô giữa khu vực Cát Bà và Long Châu (bảng 2). Kết quả nghiên cứu này có thể được giải thích bởi nhận định của Ceh và cộng sự (2011), quần xã vi khuẩn trên san hô có sự ổn định hơn so với trong môi trường nước xung quanh theo không gian địa lý [20]. Vì vậy, có thể cho rằng, quần xã vi khuẩn trong lớp chất nhầy san hô ít bị ảnh hưởng bởi các yếu tố vật lý, hóa học nước so với quần xã vi khuẩn trong môi trường nước xung quanh. Hơn nữa, chất nhầy san hô là môi trường giàu dinh dưỡng, với thành phần hóa học của dịch nhầy san hô có chứa các hợp chất như protein, chất béo, polysaccharide [21, 22], đặc biệt là

glycoprotein [23], riêng carbohydrate thường chiếm khoảng 80% [24, 25] và chúng là cơ chất sinh năng lượng cao qua sự phân hủy của vi khuẩn [26], nên nó là một trong những lý do mà vi khuẩn sống trong đó ít có nhu cầu dinh dưỡng từ môi trường bên ngoài, dẫn đến ít chịu ảnh hưởng bởi nồng độ các chất dinh dưỡng trong môi trường. Hơn nữa, chất nhầy san hô có tính kháng khuẩn với các cơ chế phòng vệ đặc biệt, với các vi khuẩn hữu ích trên lớp chất nhầy san hô có thể là tiết chất kháng sinh ngoại bào để ức chế các vi sinh vật ngoại lai xâm nhập, cạnh tranh dinh dưỡng, không gian sống [27] hoặc phối hợp với hoạt động của hệ vi rút qua quá trình ly giải và tiềm sinh như trong mô hình BAM của tác giả Barr và cộng sự (2013) [28, 29]. Do vậy, trong điều kiện bình thường thì quần xã vi khuẩn trong dịch nhầy san hô ít bị tác động bởi hệ vi khuẩn trong môi trường nước.

Mặt khác, trong điều kiện sống khác nhau, đặc biệt là có sự khác nhau về nồng độ chất dinh dưỡng (như giữa Cát Bà và Long Châu, bảng 1) thì cơ chế hấp thụ và sử dụng nguồn dinh dưỡng của san hô có thể là khác nhau, trong môi trường nghèo dinh dưỡng hơn (Long Châu, bảng 1) thì nguồn dinh dưỡng được cung cấp từ sự hoạt động chức năng của hệ vi sinh vật trên san hô sẽ có vai trò quan trọng hơn so với khu vực có môi trường giàu dinh dưỡng (Cát Bà), điều này có thể đúng bởi vì khả năng hấp thụ và chuyển hóa lượng chất hữu cơ của quần xã vi khuẩn trong dịch nhầy san hô ở khu vực Long Châu cao hơn hẳn so với ở khu vực Cát Bà (hình 8). Kết quả này cũng góp phần cung cấp thêm một minh chứng về vai trò của vi khuẩn đối với san hô. Như vậy, hệ vi khuẩn trên san hô nói chung và lớp chất nhầy nói riêng là có vai trò quan trọng trong sự sống của san hô. Điều kiện môi trường ở hai khu vực Cát Bà và Long Châu chưa thấy có ảnh hưởng lớn tới cấu trúc của hệ vi khuẩn trên san hô, nên khả năng gây bệnh cho san hô qua chức năng của vi khuẩn ở hai khu vực này là chưa có sự khác biệt.

Mặc dù để đánh giá khả năng gây bệnh cho san hô ở các khu vực có điều kiện môi trường khác nhau một cách chuẩn xác, thì cần thiết phải thực hiện thêm những nghiên cứu tiếp theo. Nhưng kết quả trong nghiên cứu này cũng là cơ sở khoa học ban đầu cho công tác thiết lập các

nghiên cứu tiếp theo được hiệu quả hơn, xác thực hơn và cô đọng hơn: như tăng tần xuất thu mẫu theo thời gian, không gian, tập trung vào các loài san hô có tính nhạy cảm với môi trường cũng như cần có thêm mẫu san hô nhiễm bệnh cho công tác phân tích so sánh.

KẾT LUẬN

Các bằng chứng từ kết quả nghiên cứu và cơ sở khoa học đã được phân tích, có thể kết luận rằng, đặc điểm của quần xã vi khuẩn trong dịch nhầy san hô ít chịu ảnh hưởng bởi điều kiện lý hóa môi trường nước xung quanh, nhưng hoạt động chức năng của chúng thì có tiềm năng phụ thuộc lớn. Môi trường nước ở Cát Bà và Long Châu trong nghiên cứu này chưa cho thấy sự khác biệt tới khả năng gây bệnh san hô của vi khuẩn ở hai khu vực.

Lời cảm ơn: Kinh phí thực hiện nghiên cứu này được tài trợ từ đề tài cấp Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, mã số: VAST 03-07/11-12.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Hoegh-Guldberg, O., Ortiz, J. C., and Dove, S., 2011. The future of coral reefs. *Science*, 334: 1494-1495; author reply 1495-1496.
2. Pandolfi, J. M., Connolly, S. R., Marshall, D. J., and Cohen, A. L., 2011. Projecting coral reef futures under global warming and ocean acidification. *Science*, 333(6041): 418-422.
3. Pollock, F. J., Morris, P. J., Willis, B. L., and Bourne, D. G., 2011. The urgent need for robust coral disease diagnostics. *PLoS pathogens*, 7(10): e1002183.
4. Hoegh-Guldberg, O., 2004. Coral reefs in a century of rapid environmental change. *Symbiosis*, 37(1): 1-31.
5. Bourne, D. G., Muirhead, A., and Sato, Y., 2010. Changes in sulfate-reducing bacterial populations during the onset of black band disease. *The ISME journal*, 5(3): 559-564.
6. Lentz, J. A., Blackburn, J. K., and Curtis, A. J., 2011. Evaluating patterns of a white-band disease (WBD) outbreak in *Acropora palmata* using spatial analysis: a comparison of transect and colony clustering. *PloS one*, 6(7): e21830.
7. Cárdenas, A., Rodríguez-R, L. M., Pizarro V., Cadavid, L. F., Arévalo-Ferro, C., 2012. Shifts in bacterial communities of two Caribbean reef-building coral species affected by white plague disease. *The ISME journal* 6(3): 502-512.
8. Alagely, A., Krediet, C. J., Ritchie, K. B., and Teplitski, M., 2011. Signaling-mediated cross-talk modulates swarming and biofilm formation in a coral pathogen *Serratia marcescens*. *The ISME journal*, 5(10): 1,609-1,620.
9. Rosenberg, E., Koren, O., Reshef, L., Efrony, R., and Zilber-Rosenberg, I., 2007. The role of microorganisms in coral health, disease and evolution. *Nature Reviews Microbiology*, 5(5): 355-362.
10. Reshef, L., Koren, O., Loya, Y., Zilber-Rosenberg, I., and Rosenberg, E., 2006. The coral probiotic hypothesis. *Environmental Microbiology*, 8(12): 2,068-2,073.
11. Krediet, C. J., Ritchie, K. B., Paul, V. J., and Teplitski, M., 2013. Coral-associated micro-organisms and their roles in promoting coral health and thwarting diseases. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 280(1755): 20122328.
12. Rosenberg, E., Kushmaro, A., Kramarsky-Winter, E., Banin, E., and Yossi, L., 2008. The role of microorganisms in coral bleaching. *The ISME journal*, 3(2): 139-146.
13. Garren, M., and Azam, F., 2010. New method for counting bacteria associated with coral mucus. *Applied and environmental microbiology*, 76(18): 6,128-6,133.
14. Leruste, A., Bouvier, T., and Bettarel, Y., 2012. Enumerating viruses in coral mucus. *Applied and environmental microbiology*, 78(17): 6,377-6,379.
15. Buck, J. D., and Cleverdon, R. C., 1960. The spread plate as a method for the enumeration of marine bacteria. *Limnol. Oceanogr*, 5(1): 78-80.

16. Pfeffer, C., and Oliver, J. D., 2003. A comparison of thiosulphate-citrate-bile salts-sucrose (TCBS) agar and thiosulphate-chloride-iodide (TCI) agar for the isolation of *Vibrio* species from estuarine environments. *Letters in applied microbiology*, **36**(3), 150-151.
17. Combe Marine, Bouvier Thierry, Pringault Olivier, Rochelle-Newall Emma, Bouvier Corinne, Agis Martin, Pham The Thu, Torreton Jean-Pascal, Chu Van Thuoc^c, Yvan Bettarel, 2013. Freshwater prokaryote and virus communities can adapt to a controlled increase in salinity through changes in their structure and interactions. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 133: 58-66.
18. Christian, B. W., and Lind, O. T., 2006. Key issues concerning Biolog use for aerobic and anaerobic freshwater bacterial community-level physiological profiling. *International review of hydrobiology*, **91**(3): 257-268.
19. Muyzer, G., De Waal, E. C., and Uitterlinden, A. G., 1993. Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction-amplified genes coding for 16S rRNA. *Applied and environmental microbiology*, **59**(3): 695-700.
20. Ceh, J., Van Keulen, M., and Bourne, D. G., 2011. Coral-associated bacterial communities on Ningaloo Reef, Western Australia. *FEMS microbiology ecology*, **75**(1): 134-144.
21. Brown, B. E., and Bythell, J. C., 2005. Perspectives on mucus secretion in reef corals. *Marine Ecology Progress Series*, 296, 291-309.
22. Tremblay, P., Weinbauer, M. G., Rottier, C., Guérardel, Y., Nozais, C., and Ferrier-Pagès, C., 2011. Mucus composition and bacterial communities associated with the tissue and skeleton of three scleractinian corals maintained under culture conditions. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, **91**(03): 649-657.
23. Jatar, A. A., Brown, B. E., Bythell, J. C., Guppy, R., Morris, N. J., and Pearson, J. P., 2010. Coral mucus: the properties of its constituent mucins. *Biomacromolecules*, **11**(4): 883-888.
24. Bansil, R., and Turner, B. S., 2006. Mucin structure, aggregation, physiological functions and biomedical applications. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, **11**(2): 164-170.
25. Ducklow, H. W., and Mitchell, R., 1979. Composition of Mucus Released by Coral-Reef Coelenterates. *Limnology and Oceanography*, 24: 706-714.
26. Wild, C., Naumann, M., Niggel, W., & Haas, A., 2010. Carbohydrate composition of mucus released by scleractinian warm- and cold-water reef corals. *Aquatic Biology*, **10**(1): 41-45.
27. Shnit-Orland, M., Sivan, A., and Kushmaro, A., 2012. Antibacterial activity of *Pseudoalteromonas* in the coral holobiont. *Microbial ecology*, **64**(4): 851-859.
28. Barr, J. J., Auro, R., Furlan, M., Whiteson, K. L., Erb, M. L., Pogliano, J., Stotland, A., Wolkowicz, R., Cutting, A. S., Doran, K. S., Salamon, P., Youle, M., and Rohwer, F., 2013. Bacteriophage adhering to mucus provide a non-host-derived immunity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **110**(26): 10,771-10,776.
29. Barr, J. J., Youle, M., and Rohwer, F., 2013. Innate and acquired bacteriophage-mediated immunity. *Bacteriophage* **3**(3).

ENVIRONMENTAL CONDITIONS AND THE BACTERIAL COMMUNITY IN CORAL MUCUS AT COAST OF CAT BA AND LONG CHAU ISLANDS, VIETNAM

Pham The Thu¹, Nguyen Dang Ngai¹, Bui Thi Viet Ha²

¹Institute of Marine Environment and Resources-VAST

²Ha Noi University of Science-VNU

ABSTRACT: *Coral reef ecosystems have been strongly reduced, in which disease is one of the causes affecting coral reefs in worldwide. The cause determination of coral disease still faces many difficulties. Understanding the causes and pathogenic mechanisms, including micro-organisms is very important. Determining the influence of environmental conditions on the change of coral-bacterial community characteristics is one of the steps to find out the conditions of coral disease outbreak. Therefore, mucus from 12 coral species in two areas with a big different of chemical and physical environmental conditions (Long Chau and Cat Ba) was studied. Molecular methods such as SYBR Gold staining, flow-cytometry, Biolog Ecoplate and denaturing gel electrophoresis were used. The study results showed that the characteristics of bacterial communities (cell density, morphology group rate, heterotrophic bacteria and Vibrio) in coral mucus between Cat Ba and Long Chau Island were not significantly different, but their functional activities (respiration, absorption of organic matter) were potential affected by environmental conditions. Environmental conditions in coast of Cat Ba and Long Chau Island in this study were not indicated the difference in bacterial pathogenicity for coral. This result is the initial scientific basis for the establishment of further research being more effective, more authentic and more concise to assess bacterial pathogenicity for coral at areas with different environmental conditions.*

Key words: *Bacteria, coral, coral disease, mucus, viruses.*