

## THÀNH PHẦN LOÀI VÀ ĐỘC TỔ MICROCYSTIN CỦA VI KHUẨN LAM *Microcystis* GÂY NỖ HOA NƯỚC Ở HỒ PHÚ VINH, TỈNH QUẢNG BÌNH

NGUYỄN LÊ ÁI VĨNH  
*Trường Đại học Vinh*

Chi Vi khuẩn lam *Microcystis* Kützing ex Lemmermann 1907 được nhiều người biết đến bởi vì một số loài (còn gọi là loài hình thái) phân bố toàn cầu, gây hiện tượng nở hoa nước trong các thủy vực nước ngọt và sinh độc tố gan microcystin. Ở Việt Nam, sự nở hoa nước do *Microcystis* ngày càng lan rộng trong các ao hồ và tác động xấu đến nguồn tài nguyên nước ngọt. Tuy nhiên, số lượng công trình nghiên cứu liên quan đến vi khuẩn lam *Microcystis*, đặc biệt là về độc tố microcystin thì chưa nhiều và chỉ mới tập trung ở một số địa phương (Hummert *et al.*, 2001; Nguyen L. T. T. *et al.*, 2007; Dao T. S. *et al.*, 2010; Nguyen V. L. A. *et al.*, 2012).

Hồ Phú Vinh nằm trên địa bàn phường Đồng Sơn, thành phố Đồng Hới, tỉnh Quảng Bình. Đây là hồ chứa nước quan trọng vì nó không chỉ cung cấp nước tưới tiêu mà còn cung cấp hơn 80% lượng nước sinh hoạt cho thành phố Đồng Hới. Vấn đề đáng lo ngại đối với hồ này là vi khuẩn lam *Microcystis* phát triển mạnh vào một số thời điểm trong năm và có thể đe dọa đến chất lượng nguồn nước. Bài báo này nhằm trình bày kết quả nghiên cứu về thành phần loài và một số độc tố microcystin của vi khuẩn lam *Microcystis* gây nở hoa nước ở hồ Phú Vinh.

### I. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Thành phần loài *Microcystis* ở hồ Phú Vinh được định loại từ các mẫu thô thu ngày 04/01/2009, 15/02/2009, 05/04/2009, 31/01/2010 và 23/05/2013 dựa vào khóa phân loại của Desikachary (1959), Dương Đức Tiến (1996) và Komárek et Anagnostidis (1998). Các chủng *Microcystis* phân lập từ hồ Phú Vinh để phân tích độc tố microcystin đã được mô tả trong nghiên cứu trước đây (bảng 1; Nguyen V. L. A. *et al.*, 2012).

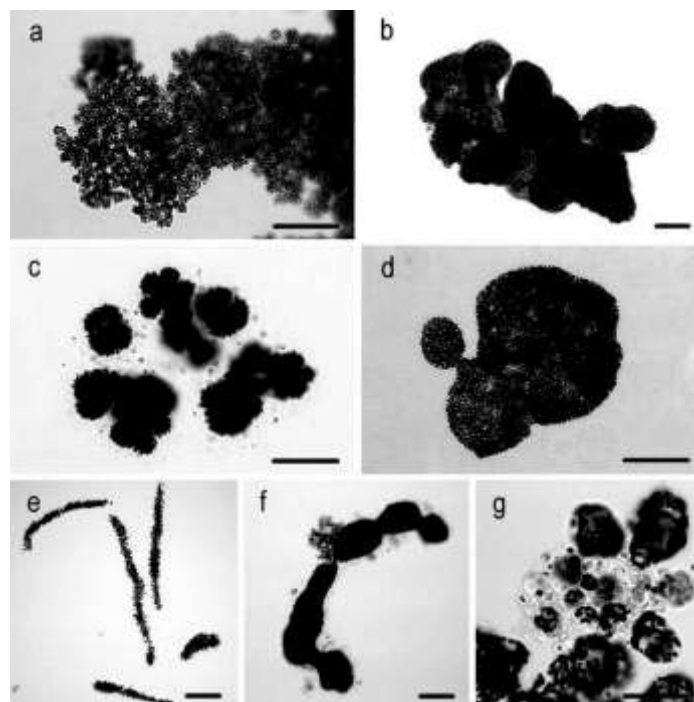
Microcystin được tách chiết từ 10mL dịch nuôi (bao gồm cả sinh khối) của mỗi chủng *Microcystis*. Sau 15 đến 18 ngày nuôi, dịch nuôi được thêm 0,5ml axit axetic, Lắc đều bằng tay, phá vỡ tế bào bằng sóng siêu âm trong 5 phút và ly tâm với tốc độ 3.000 vòng/phút trong 15 phút. Phần dịch trong được tách sang ống nghiệm mới và thêm nước cất đến vạch 15ml. Phần dịch này được chạy qua cột InertSep RP-1 (GL Sciences, Tokyo, Nhật Bản). Cột tiếp tục được rửa bằng 1ml methanol 20%. Sau đó, tách microcystin ra khỏi cột bằng 0,5ml methanol 80%.

Phân tích microcystin được tiến hành bằng hệ thống sắc ký lỏng ghép khối phổ (LC-MS) Agilent 6224 TOF/LCMS (Agilent Technologies, Santa Clara, Hoa Kỳ) với giao diện ion hóa ESI. Chế độ ESI là kiểu quét ion dương, khí mang N<sub>2</sub> (10 L/phút). Khối phổ được quét từ m/z 100 đến m/z 2000 ở chế độ quét liên tục. Điều kiện của sắc ký lỏng là: Cột Zorbax Extend C18 (50mm × 2,1mm, i.d. 1,8µm); pha động gồm sự tăng dần nồng độ methanol từ 45% đến 80% trong 20 phút, sau đó duy trì methanol 80% trong 10 phút; tốc độ dòng 0,2ml/phút; nhiệt độ cột 40°C; dung tích bơm 5µl. Phân tích có sử dụng microcystin-LR và microcystin-RR chuẩn (Wako Pure Chemicals, Osaka, Nhật Bản). Các loại microcystin khác được xác định dựa vào các kết quả nghiên cứu của Hummert *et al.* (2001) và Neffling *et al.* (2009).

## II. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

### 1. Thành phần loài *Microcystis* gây nở hoa nước ở hồ Phú Vinh

Hiện tượng nở hoa nước của *Microcystis* ở hồ Phú Vinh thường xảy ra trong khoảng thời gian từ tháng 10 năm trước đến tháng 4 năm sau. Các kiểu hình thái tập đoàn *Microcystis* trong các mẫu thô được phân loại thành 7 loài là: *M. aeruginosa* (Kützing) Lemmermann, *M. ichthyoblabe* Kützing, *M. novacekii* (Komárek) Compère, *M. panniformis* Komárek *et al.*, *M. pseudofilamentosa* Crow, *M. ramosa* Bharadwaja và *M. wesenbergii* (Komárek) Komárek in Kondratieva (hình 1).



Hình 1. Một số hình thái tập đoàn vi khuẩn lam *Microcystis* trong hồ Phú Vinh

(a) *M. aeruginosa* (b) *M. ichthyoblabe* (c) *M. novacekii* (d) *M. panniformis*,  
(e) *M. pseudofilamentosa* (f) *M. ramosa* và (g) *M. wesenbergii*; Thước tỷ lệ = 100 $\mu$ m.

Trong số các loài trên đây, hai loài là *M. aeruginosa* và *M. ichthyoblabe* là thành phần chủ yếu trong các mẫu nở hoa nước ở hồ Phú Vinh; các loài khác chỉ gặp ở một vài mẫu được thu vào những thời điểm khác nhau. *M. pseudofilamentosa* và *M. ramosa* là những loài nhiệt đới (Desikachary, 1959; Komárek *et al.*, 1998) nhưng chưa từng được tìm thấy trong các thủy vực khác ở Việt Nam (Dương Đức Tiến, 1996; Nguyen L. T. T. *et al.*, 2007; Dao T. S. *et al.*, 2010).

### 2. Kết quả phân tích microcystin của các chủng *Microcystis* phân lập từ hồ Phú Vinh

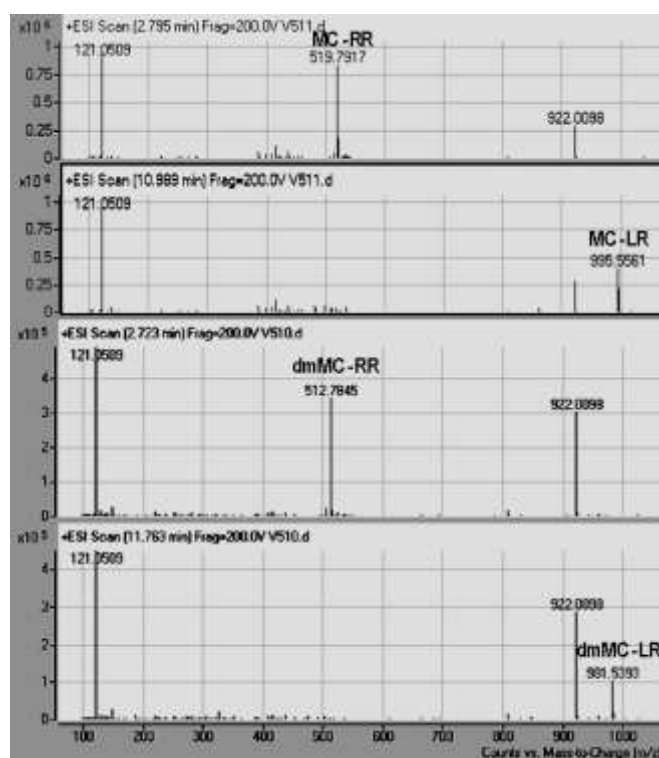
Trong nghiên cứu trước đây (Nguyen V. L. A. *et al.*, 2012), có 9 chủng *Microcystis* được phân lập từ hồ Phú Vinh thuộc 7 loài nêu trên (bảng 1). Kết quả phân tích bằng LC-MS cho thấy chỉ có 4 chủng thuộc 3 loài (*M. aeruginosa*, *M. pseudofilamentosa* và *M. ramosa*) là có khả năng sinh độc tố microcystin. Trong đó, demethyl microcystin-RR (dmMC-RR) và demethyl microcystin-LR (dmMC-LR) được tìm thấy ở chủng *M. aeruginosa* VN510 và *M. aeruginosa*

VN515; microcystin-RR (MC-RR) và microcystin-LR (MC-LR) được tìm thấy ở chủng *M. pseudofilamentosa* VN511 và *M. ramosa* VN519 (bảng 1, hình 2). Đối chiếu với các kết quả nghiên cứu trước đây (Hummert C. *et al.*, 2001; Nguyen L.T.T. *et al.*, 2007; Dao T. S. *et al.*, 2010) cho thấy đây là lần đầu tiên dmMC-RR và dmMC-LR được ghi nhận có trong mẫu vi khuẩn lam *Microcystis* phân bố ở Việt Nam. Cho đến nay, danh mục các loại microcystin được phát hiện ở Việt Nam gồm MC-RR, MC-LR, MC-LY, MC-YR, MC-WR, dmMC-RR và dmMC-LR.

Bảng 1

**Khả năng sinh microcystin của các chủng *Microcystis* phân lập từ hồ Phú Vinh**

| TT | Tên chủng                         | Ngày thu mẫu | Microcystin      |
|----|-----------------------------------|--------------|------------------|
| 1  | <i>M. aeruginosa</i> VN510        | 04.01.2009   | dmMC-RR, dmMC-LR |
| 2  | <i>M. aeruginosa</i> VN515        | 15.02.2009   | dmMC-RR, dmMC-LR |
| 3  | <i>M. ichthyoblabe</i> VN512      | 15.02.2009   | -                |
| 4  | <i>M. novacekii</i> VN517         | 05.04.2009   | -                |
| 5  | <i>M. panniformis</i> VN516       | 05.04.2009   | -                |
| 6  | <i>M. pseudofilamentosa</i> VN511 | 04.01.2009   | MC-RR, MC-LR     |
| 7  | <i>M. ramosa</i> VN519            | 31.01.2010   | MC-RR, MC-LR     |
| 8  | <i>M. wessenbergii</i> VN514      | 04.01.2009   | -                |
| 9  | <i>M. wessenbergii</i> VN518      | 31.01.2010   | -                |



Hình 2. Tỷ lệ giữa khối lượng và điện tích ( $m/z$ ) được xác định bằng LC-MS

Ghi chú: Tương ứng với 4 loại microcystin:  $M/z = 519,8$ : Microcystin-RR;  $m/z = 995,5$ : Microcystin-LR;  $m/z = 512,8$ : Demethyl microcystin-RR;  $m/z = 981,5$ : Demethyl microcystin-LR.

### III. KẾT LUẬN

Thành phần các loài vi khuẩn lam *Microcystis* phân bố ở hồ Phú Vinh được ghi nhận là *M. aeruginosa*, *M. ichthyoblabe*, *M. novacekii*, *M. panniformis*, *M. pseudofilamentosa*, *M. ramosa* và *M. wesenbergii*. Những loại microcystin sinh ra bởi một số dòng tế bào *Microcystis* phân lập từ hồ Phú Vinh được xác định là microcystin-RR, microcystin-LR, demethyl microcystin-RR và demethyl microcystin-LR.

### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Dao T. S., Cronberg G., Nimptsch J., Do H. L. C., Wiegand C., 2010. *Nova Hedwigia*, 90: 433-448.
2. Desikachary T. V., 1959. Cyanophyta. New Delhi: Indian Council of Agriculture Research.
3. Dương Đức Tiến, 1996. Phân loại vi khuẩn lam ở Việt Nam. NXB. Nông nghiệp, Hà Nội.
4. Hummert C., Dahlmann J., Reinhardt K., Dang H. Ph. H., Dang D. K., Luckas B., 2001. *Chromatographia*, 54: 569-575.
5. Komárek J., Anagnostidis K., 1998. Band 19-Cyanoprokaryota, Part 1-Chroococcales. In Freshwater flora of Central Europe., p. 224-236. Edited by H. Ettl, J. Gerloff, H. Heynig, D. Mollenhauer. Heidelberg: Spektrum Akademischer Verlag.
6. Neffling M. R., Spooft L., Meriluoto J., 2009. *Analitica Chimica Acta*, 653: 234-241.
7. Nguyen L. T. T., Cronberg G., Annadotter H., Larsen J., 2007. *Nova Hedwigia*, 85: 35-49.
8. Nguyen V. L. A., Tanabe Y., Matsuura H., Kaya K., Watanabe M. M., 2012. *Phycological Research*, 60: 208-222.

### MORPHOSPECIES COMPOSITION AND MICROCYSTINS OF WATER-BLOOM-FORMING *Microcystis* (Cyanobacteria) IN PHU VINH RESERVOIR, QUANG BINH PROVINCE

NGUYEN LE AI VINH

### SUMMARY

Phu Vinh reservoir is an important water resource for drinking water supply and irrigation in Dong Hoi city, Quang Binh province. However, the water bloom of *Microcystis* is threatening its water quality. This paper aims to identify *Microcystis* morphospecies occurring in Phu Vinh reservoir and determine microcystins that were produced by *Microcystis* strains isolated from this reservoir. The results showed that the morphospecies composition of *Microcystis* in Phu Vinh reservoir consists of *M. aeruginosa*, *M. ichthyoblabe*, *M. novacekii*, *M. panniformis*, *M. pseudofilamentosa*, *M. ramosa* and *M. wesenbergii*. Of them, *M. aeruginosa* and *M. ichthyoblabe* are the main factors causing the water bloom. The study also indicated that *Microcystis* population in Phu Vinh reservoir can produce microcystin-RR, microcystin-LR, demethyl microcystin-RR and demethyl microcystin-LR.