

**NGHIÊN CỨU SỰ PHÁT TRIỂN  
CỦA MỘT SỐ VI KHUẨN LAM DẠNG SỢI DƯỚI ẢNH HƯỞNG  
CỦA NHIỆT ĐỘ TRONG ĐIỀU KIỆN PHÒNG THÍ NGHIỆM**

**VÕ TRƯỜNG GIANG**

*Trường Đại học Khoa học tự nhiên,  
Đại học Quốc gia Tp. Hồ Chí Minh*

**ĐÀO THANH SƠN**

*Trường Đại học Bách khoa,  
Đại học Quốc gia Tp. Hồ Chí Minh*

Vi khuẩn lam (VKL) có mặt ở hầu hết các điều kiện môi trường trên Trái đất. Trong thủy vực, VKL giữ vai trò quan trọng và có ảnh hưởng đáng kể đến những quần xã sinh vật khác, đặc biệt khi VKL bùng phát (Chorus & Bartram, 1999). VKL và sự bùng phát của chúng trong tự nhiên là mối quan ngại của con người vì khả năng gây hại của chúng. Trong những năm gần đây, sự phú dưỡng của các thủy vực nội địa cùng với biến đổi khí hậu là nguyên nhân hiện tượng nở hoa của VKL ngày càng mở rộng về diện tích và gia tăng về quy mô trên toàn cầu (Paerl và Huisman, 2009).

Sự phát triển của VKL bị chi phối bởi nhiều yếu tố môi trường như cường độ ánh sáng, nhiệt độ, độ trong, hàm lượng các chất dinh dưỡng và các yếu tố sinh học trong thủy vực (Chorus & Bartram, 1999). Việc nghiên cứu quá trình phát triển của các loài VKL, đặc biệt là những loài có khả năng tiết độc tố rất có ý nghĩa thực tế và đang được quan tâm hàng đầu. Ảnh hưởng của nhiệt độ nước và tỉ lệ nitơ/phospho lên sự ưu thế của VKL ở hồ St. George miền đông Canada đã được McQueen và Lean (1987) khảo sát cũng cho thấy khi nhiệt độ nước trên 21<sup>o</sup>C và tỷ lệ tổng nitơ vô cơ/tổng phospho thấp hơn 5:1, thì khả năng xảy ra sự nở hoa của VKL là rất cao. Nhìn chung, nghiên cứu sự phát triển của VKL trước đây chủ yếu là ở VKL có nguồn gốc ôn đới hoặc chi phổ biến, tập đoàn, *Microcystis*. Sự phát triển của các chủng, loài VKL dạng sợi và có nguồn gốc nhiệt đới cho đến nay vẫn chưa được hiểu biết đầy đủ. Đồng thời, nghiên cứu về sự phát triển của VKL có nguồn gốc Việt Nam trong điều kiện phòng thí nghiệm cho đến nay vẫn chưa có công bố. Mục đích của đề tài này là (1) khảo sát sự phát triển của 4 chủng VKL gồm *Pseudanabaena mucicola*, *Planktothrix* sp., *Cylindrospermopsis curvispora* và *C. raciborskii* được phân lập từ thủy vực của Việt Nam, ở điều kiện phòng thí nghiệm (2) và bước đầu tìm kiếm mối liên hệ giữa nhiệt độ với tỷ lệ phát triển, giữa kích thước tế bào với tình trạng tăng trưởng của từng chủng VKL.

## **I. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU**

### **1. Đối tượng thí nghiệm**

Bốn chủng VKL sử dụng cho thí nghiệm được lấy từ nguồn VKL phân lập sẵn ở phòng thí nghiệm Độc học Môi trường, Viện Môi trường và Tài nguyên, Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh, gồm các chủng: *Pseudanabaena mucicola*, *Planktothrix* sp., *Cylindrospermopsis curvispora* và *C. Raciborskii* (hình 1). Trong đó chủng *C. curvispora* phân lập từ một ao nước ven đường Nguyễn Văn Linh, Quận 7, TP. HCM, ba chủng còn lại được phân lập từ hồ Dầu Tiếng, thuộc tỉnh Tây Ninh.

### **2. Thiết kế thí nghiệm**

Nuôi riêng lẻ từng chủng VKL bằng môi trường Z8 (Kotai, 1972) trong bình thủy tinh ở 3 nhiệt độ 20, 25 và 28<sup>o</sup>C. Mật độ ban đầu của từng chủng là *C. raciborskii* 6.045 sợi/mL (trung

đương 6,1 mg trọng lượng tươi/L), *C. curvispora* 52.154 sợi/mL (21,8 mg/L), *Planktothrix* sp. 2.932 sợi/mL (4,5 mg/L), và *P. mucicola* 266.708 sợi/mL (4,3mg/L). Tổng cộng có 9 bình (3 bình/ nhiệt độ x 3 mức nhiệt độ) được chuẩn bị cho từng chủng VKL (bảng 1).



Hình 1: Bốn chủng VKL sử dụng cho thí nghiệm (A) *Cylindrospermopsis raciborskii*, (B) *C. curvispora*, (C) *Pseudanabeana mucicola*, (D) *Planktothrix* sp.

Bảng 1

Tóm tắt thiết kế thí nghiệm với VKL

Chủng VKL nuôi cấy	Nhiệt độ (°C)	Số lượng bình/ nhiệt độ	Tổng số lượng bình	Thể tích mẫu/ bình
<i>Planktothrix</i> sp.	20, 25, 28	3	9	100 mL
<i>Pseudanabeana mucicola</i>	20, 25, 28	3	9	100 mL
<i>Cylindrospermopsis curvispora</i>	20, 25, 28	3	9	100 mL
<i>C.raciborskii</i>	20, 25, 28	3	9	100 mL

Theo dõi sự phát triển của các chủng VKL trong 3 tuần, tính định kỳ sinh khối VKL 3 ngày/1 lần. Cường độ ánh sáng buồng nuôi khoảng 1.500 Lux, đủ cho sự phát triển bình thường của các chủng VKL (Wiedner và cs., 2002). Chu kỳ sáng tối 12:12 được giữ ổn định bằng đồng hồ tự động điều chỉnh. Mẫu được nuôi trong điều kiện tĩnh và lắc nhẹ 1 lần/ngày.

### 3. Tính toán sinh khối và sinh trưởng của vi khuẩn lam

Định kỳ mỗi 3 ngày, mẫu VKL trong các bình nuôi được xác định mật độ bằng buồng đếm Sedgewick Rafter, kích thước sợi VKL đo trên kính hiển vi (Olympus, BX 51, kết nối với máy chụp ảnh kỹ thuật số DP71). Trước khi đếm, cần lắc đều bình nuôi để VKL phân bố đều trong bình, sau đó dùng micropipet hút 1,5 mL sinh khối VKL cho vào ống eppendorf 2 mL. Nhỏ thêm một giọt lugol trung tính để cố định mẫu. Bổ sung 1,5 mL môi trường Z8 vào bình nuôi để đảm bảo thể tích môi trường nuôi không thay đổi. Tổng số sợi cần đếm tối thiểu đối với từng chủng là 400 sợi. Chụp hình và đo kích thước từng sợi, từ đó tính kích thước trung bình một sợi ( $n \geq 30$ ). Sinh khối VKL được tính toán dựa vào thể tích hình học của tế bào (Ollrik và cs., 1998). Kết quả thu được sẽ được dùng để lập biểu đồ đường cong tăng trưởng của VKL trong 21 ngày.

## II. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

### 1. Sự thay đổi kích thước của các chủng VKL

Trong suốt quá trình thí nghiệm ở ba điều kiện nhiệt độ khác nhau, kích thước của các sợi VKL có sự thay đổi không giống nhau. Hai chủng *P. mucicola* và *C. curvispora* hầu như không thay đổi về chiều dài và đường kính của sợi. Đối với *P. mucicola*, trung bình chiều dài là 8, 9  $\mu\text{m}$ , chiều rộng là 1,5  $\mu\text{m}$ . Đối với *C. curvispora* trung bình chiều dài và chiều rộng tương ứng là 18,9  $\mu\text{m}$  và 3  $\mu\text{m}$ . Hai chủng *Planktothrix* sp. và *C. raciborskii* giữ ổn định về chiều rộng của sợi, lần lượt là 3,4 và 3,9  $\mu\text{m}$ . Tuy nhiên, sự thay đổi kích thước chiều dài của hai chủng này thì khác nhau

Chu kỳ phát triển của VKL luôn đi kèm với sự phân chia tế bào, mật độ, kích thước sợi VKL sau các lần phân chia sẽ quyết định sinh khối đạt được cũng như tỉ lệ tăng trưởng của VKL. Dựa vào chiều dài của từng sợi, có thể đánh giá được tình trạng phát triển của một số loài VKL. Sự thay đổi kích thước chủng VKL *Planktothrix* sp. và *C. raciborskii* ở điều kiện 20<sup>0</sup>C và 25<sup>0</sup>C là giống nhau. Với chủng *Planktothrix* sp., ở điều kiện 25<sup>0</sup>C, sợi đạt chiều dài trung bình 657,6  $\mu\text{m}$  vào ngày thứ 18, dài hơn khá nhiều so với nuôi ở 28<sup>0</sup>C. Đây cũng là giai đoạn phát triển bùng phát của *Planktothrix* sp. Sau giai đoạn này, kích thước sợi giảm hẳn và bắt đầu tàn lụi. Chiều dài của *Planktothrix* sp và *C. raciborskii* thay đổi trong suốt chu kỳ phát triển và có mối tương quan tỷ lệ thuận giữa chiều dài và tình trạng phát triển, sợi dài thể hiện sự phát triển tốt và phản ánh điều kiện môi trường thuận lợi cho sự sinh trưởng và phát triển của chúng

Sự nở hoa của *Planktothrix* sp và *C. raciborskii* đã được ghi nhận khá nhiều trong các thủy vực ở Việt Nam và trên thế giới. Quá trình nở hoa của loài *C. raciborskii* nguồn gốc Việt Nam có tiết độc tố ra môi trường (Nguyễn Thị Thu Liên và cs., 2010). Xác định kích thước trung bình là rất cần thiết trong việc theo dõi và kiểm soát sự phát triển của VKL dạng sợi, do đó kết quả xác định lần đầu tiên kích thước trung bình của sợi *Planktothrix* sp. và *C. raciborskii* trong các giai đoạn phát triển của chúng ở nghiên cứu này đã cung cấp thêm các thông tin hữu ích.

### 2. Sự phát triển ở 3 nhiệt độ 20, 25 và 28<sup>0</sup>C của các chủng VKL

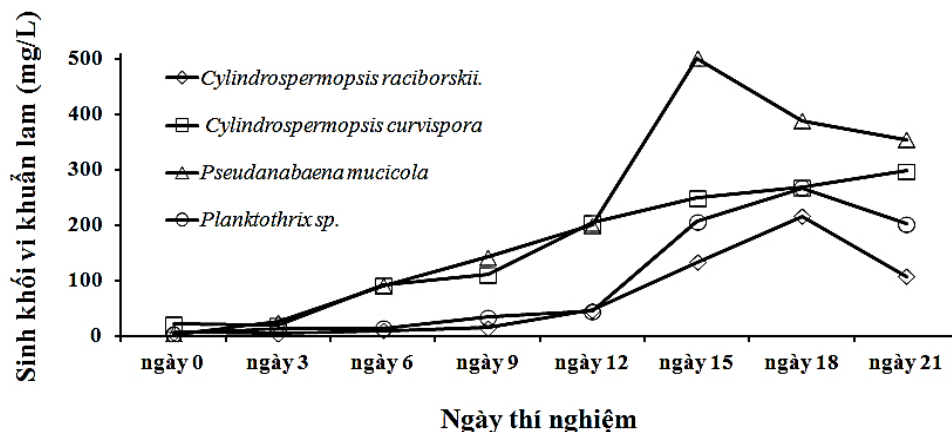
Đối với từng điều kiện nhiệt độ, sự phát triển của 4 chủng VKL không giống nhau, nhưng lượng sinh khối đạt được cao nhất của 4 chủng này đều ở 25<sup>0</sup>C.

Ở 20<sup>0</sup>C, khả năng sinh trưởng của quần thể *P. mucicola* cao hơn khi đạt tỉ lệ tăng trưởng và sinh khối tối đa cao hơn nhiều so với 3 quần thể còn lại. Tăng trưởng của *P. mucicola* bắt đầu sớm hơn, sau ngày thứ 3 sinh khối đã tăng 7,6 lần, thời gian đạt sinh khối tối đa vào ngày thứ 15, nhanh hơn so với quần thể *C. raciborskii* và *Planktothrix* sp., đạt sinh khối tối đa vào ngày thí nghiệm thứ 18.

Xu hướng sinh trưởng của quần thể *Planktothrix* sp. và *C. raciborskii* tương đối giống nhau, tốc độ tăng trưởng của hai quần thể này đều tăng lên đáng kể sau ngày thứ 15 và đạt tối đa vào ngày 18 (hình 2). Tuy nhiên tỷ lệ tăng trưởng tối đa của quần thể *Planktothrix* sp. là 60,9 cao hơn so với quần thể *C. raciborskii* (35). Đối với quần thể *C. curvispora*, lượng sinh khối đạt được là khá cao so với các quần thể khác, tuy nhiên tỷ lệ tăng trưởng của quần thể này thấp hơn rất nhiều so với 3 quần thể VKL còn lại.

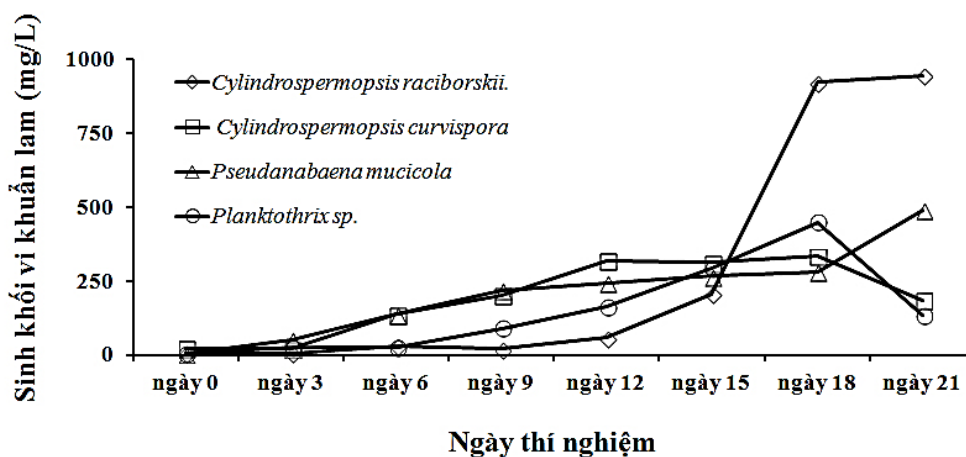
Ở 25<sup>0</sup>C, tốc độ tăng trưởng của 4 chủng trong 15 ngày đầu khá ổn định, quần thể *P. mucicola* vẫn có tỷ lệ tăng trưởng cao nhất (lượng sinh khối đạt được gấp 76,6 so với ngày đầu tiên), tiếp theo lần lượt là các quần thể *Planktothrix* sp (66,7), *C. raciborskii* (33,5) và *C. curvispora* (14,3; hình 3). Sau ngày thí nghiệm thứ 15, tỷ lệ này có sự biến động khá lớn giữa các quần thể. Ở ngày thí nghiệm thứ 18, tỷ lệ tăng trưởng của quần thể *Planktothrix* sp. đạt cực đại (102,2) và

cao hơn so với quần thể *P. mucicola* (80,7). Tuy nhiên, sau ngày thí nghiệm thứ 18, tốc độ tăng trưởng của quần thể *P. mucicola* tăng mạnh và đạt được lượng sinh khối cao hơn so với quần thể *Planktothrix* sp.



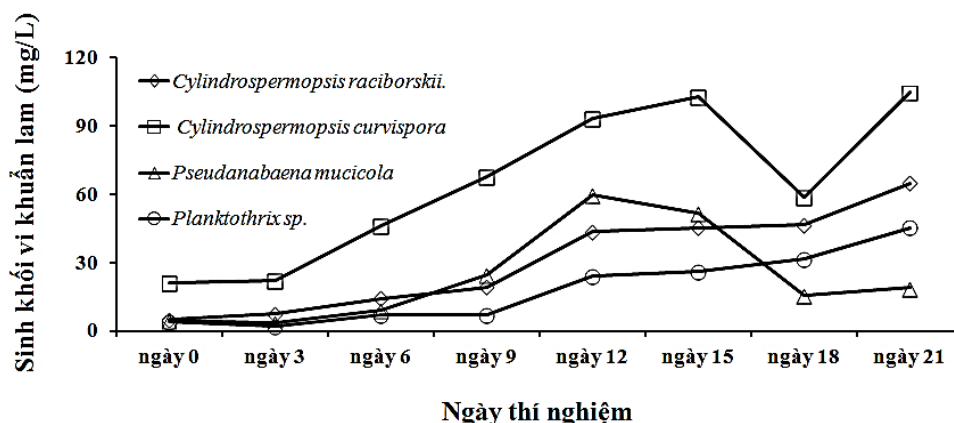
Hình 2: Đường cong tăng trưởng của 4 chủng VKL ở 20°C

Quần thể *C. raciborskii* có tỷ lệ tăng trưởng trong 12 ngày đầu thấp nhất. Tuy nhiên sau ngày thứ 12, quần thể bắt đầu tăng trưởng mạnh đột biến, đến ngày thứ 18 chúng đạt lượng sinh khối cao hơn rất nhiều so với 3 quần thể còn lại. Tỷ lệ tăng trưởng của quần thể *C. curvispora* đạt cao nhất trong khoảng thời gian từ ngày thứ 6 đến ngày thứ 12 và cao hơn tỷ lệ tăng trưởng của quần thể *C. raciborskii* ở cùng giai đoạn (hình 4), nhưng tăng không đáng kể so với 3 quần thể còn lại trong cùng điều kiện.



Hình 3: Đường cong tăng trưởng của 4 chủng VKL ở 25°C

Ở 28°C, quần thể *P. mucicola* có tốc độ tăng trưởng nhanh nhất, đạt sinh khối tối đa vào ngày thứ 12, cao hơn nhiều so với 3 quần thể còn lại ở cùng thời điểm. Quần thể *C. curvispora* cũng đạt sinh trưởng cực đại vào ngày thứ 18, nhưng tỉ lệ tăng trưởng không cao và lượng sinh khối cực đại thấp nhất. Quần thể *C. raciborskii* và *Planktothrix* sp. có xu hướng tăng trưởng tương đối giống nhau, có tốc độ tăng trưởng mạnh sau ngày thứ 9 và vẫn còn tăng trưởng vào thời gian kết thúc thí nghiệm (21 ngày). Tỷ lệ tăng trưởng của quần thể *C. raciborskii* cao hơn so với quần thể *Planktothrix* sp. (hình 4).



Hình 4: Đường cong tăng trưởng của 4 chủng VKL ở 28°C

Các loài VKL có kích thước nhỏ sinh trưởng sẽ nhanh hơn các loài có kích thước lớn. Kết quả trên (từ hình 2-4) cũng chứng minh được điều này khi tỷ lệ tăng trưởng và kích thước của 3 chủng VKL dạng sợi có tương quan tỉ lệ nghịch với nhau ở cả ba điều kiện nhiệt độ. Nhiều nghiên cứu cho thấy tầm quan trọng của mối quan hệ giữa kích thước của các loài VKL và các thông số môi trường (Margalef, 1955, 1969). Theo đó, các loài VKL kích thước nhỏ có ưu thế trong quần xã thực vật phù du ở các hồ nghèo dinh dưỡng và kích thước của VKL chiếm ưu thế thường gia tăng trong hồ màu mỡ hơn. Một số phân tích năng suất quang hợp của thực vật phù du được thực hiện ở nhiều thủy vực cho thấy các loại tảo và VKL có kích thước nhỏ có tỷ lệ năng suất tổng được lớn hơn các loài có kích thước lớn (Wetzel, 1965). Ví dụ, các loài thực vật phù du siêu nhỏ (0,2-2 µm) thường đóng góp hơn 60% của tổng số chất diệp lục và từ 10% - 50% tổng năng suất sơ cấp ở hồ (Fahnenstiel và cs., 1986).

### III. KẾT LUẬN

Quá trình tăng trưởng của VKL phụ thuộc nhiều vào sự thay đổi của nhiệt độ. Bốn chủng VKL *P. mucicola*, *C. curvispora*, *Planktothrix sp.*, *C. raciborskii* đều có khả năng phát triển ở cả ba điều kiện nhiệt độ 20, 25 và 28°C. Tuy nhiên, ở 25°C thì bốn chủng này phát triển tốt nhất. Chủng *C. raciborskii* phát triển tốt và đạt được lượng sinh khối cao nhất trong bốn chủng được khảo sát. Chủng *C. curvispora* đạt được lượng sinh khối tương đối cao, nhưng tốc độ tăng trưởng kém hơn rất nhiều so với ba chủng còn lại.

Chiều dài sợi của 2 chủng *C. raciborskii* và *Planktothrix sp.* có sự biến thiên theo điều kiện sống và theo các giai đoạn phát triển của chúng. Ở điều kiện thuận lợi, kích thước sẽ tăng và đứt gãy nhiều khi môi trường trở nên bất lợi.

*Lời cảm ơn:* Nghiên cứu này được tài trợ bởi Quỹ phát triển khoa học và công nghệ quốc gia (NAFOSTED) trong đề tài mã số: 106-NN.04-2014.69.

### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Chorus, I., J. Bartram,** 1999. Toxic cyanobacteria in water: a guide to their public health consequences, monitoring, and management. E & FN Spon, London, New York.
2. **Fahnenstiel, G. L., T. B. Bridgeman, G. A. Lang, M. J., McCormic, T. F. Nalepa,** 1995. Phytoplankton productivity in Saginwa Bay, Lake Huron: Effect of zebra mussel (*Dreissena polymorpha*) colonization. J. Great Lake Res. 21:465 – 475.

3. **Kotai, J.**, 1972. Instructions for preparation on modified nutrient solution Z8 for algae. Norwegian Institute for Water Research, Oslo B-11/69, 1-5.
4. **Margalef, R.**, 1969. Size of centric diatoms as an ecological indicator. Mitt. Internat. Verein. Licturemnol. 17: 202 -210.
5. **McQueen, D. J., D. R. S. Lean**, 1987. Influence of water temperature and nitrogen to phosphorus ratios on the dominance of blue-green algae in lake sr. George, Ontario. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 44: 598-604.
6. **Nguyễn Thị Thu Liên, Nguyễn Thị Cảnh, Lê Thị Trân Nhi**, 2010. Tạp chí Công nghệ Sinh học 8(1), 103-108.
7. **Olrik, K., P. Blomqvist, P. Brettum, G. Cronberg, P. Eloranta**, 1998. Methods for quantitative assessment of phytoplankton in freshwater, part 1: sampling, processing and application in freshwater environmental monitoring programmes. Naturvardsverket Forlag, Stockholm. p. 1-86.
8. **Paerl, H. W., J. Huisman**, 2009. Environmental Microbiology Reports 1 (1): 27-37.
9. **Wetzel, R. G.**, 1965. Nutritional aspects of algal productivity in marl lakes with particular reference to enrichment bioassays and their interpretation. Mem. Ist. Ital. Idrobiol. 18: 137 – 157.
10. **Wiedner, C., P. M. Visser, J. Fastner, J. S. Metcalf, G. A.Codd, L. R. Mur**, 2002. Applied and Environmental Microbiology, 69: 1475–1481.

## **A STUDY OF TEMPERATURE EFFECTS ON THE GROWTH OF SOME FILAMENTOUS CYANOBACTERIA IN THE LABORATORY CONDITIONS**

**VO TRUONG GIANG, DAO THANH SON**

### **SUMMARY**

The aim of this study are (1) to elucidate the growth of four cyanobacterial strains *Pseudanabaena mucicola*, *Planktothrix* sp., *Cylindrospermopsis curvispora* and *Cylindrospermopsis raciborskii* at three levels of temperature 20, 25 and 28°C in laboratory conditions, and (2) the relationship between temperature and the growth rate, cell size with growth status of each cyanobacterial strain based on the density and the average length of the cyanobacterial trichome.

The results showed that most cyanobacterial strains well developed at 25°C. The strain *Cylindrospermopsis curvispora* strain has just recorded in Vietnam and this strain had the lowest growth rate at all three temperature levels compared to the other three strains. Our experiment also showed that, the two cyanobacterial strains *C. raciborskii* and *Planktothrix* sp. changed their trichome size. This alteration reflected the healthy status of the cyanobacterial strains, related to cyanobacterial biomass, and correlated with the different living conditions. Besides, these results also contributed to new insights on the ecology of some cyanobacterial strains originated from Vietnam. Especially, the growth of *Pseudanabaena mucicola* and *Cylindrospermopsis curvispora* at the three temperature levels in the laboratory conditions was firstly observed and redorded.