

PHÂN HẠNG MỨC ĐỘ NỞ HOA CỦA VI KHUẨN LAM Ở HỒ TRỊ AN DỰA VÀO MẬT ĐỘ TẾ BÀO VÀ HÀM LƯỢNG CHLOROPHYLL-A

Phạm Thanh Lưu¹, Lê Thị Trang², Trương Văn Thân³,
Bùi Mạnh Hà⁴, Phạm Nguyễn Kim Tuyền⁴

¹*Viện Sinh học Nhiệt đới,*

Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

²*Trường Đại học Nông Lâm TP Hồ Chí Minh*

³*Trung tâm dịch vụ phân tích thí nghiệm TP. Hồ Chí Minh*

⁴*Đại học Sài Gòn*

Vi khuẩn lam (VKL) là một trong những sinh vật xuất hiện đầu tiên trên trái đất cách đây hàng tỷ năm và tồn tại cho đến ngày nay. Tuy nhiên VKL chủ yếu hiện diện trong các thủy vực như ao hồ, sông suối có dòng chảy chậm. Cùng với vi tảo, VKL đóng một vai trò quan trọng trong sinh thái thủy vực như cung cấp nguồn năng lượng sơ cấp cho các chuỗi thức ăn trong thủy vực, đồng thời giải phóng một lượng oxy vào không khí thông qua quá trình quang hợp. Tuy nhiên, bên cạnh những đóng góp tích cực thì hiện tượng tăng trưởng bùng phát hay còn gọi là nở hoa của VKL gây nhiều hệ lụy lên chất lượng môi trường nước, tài nguyên thủy sản và cân bằng hệ sinh thái. Trong đó một số loài VKL có khả năng sản sinh độc tố như neurotoxin (độc tố thần kinh) và hepatotoxin (độc tố gan). Độc tố VKL tác động nguy hiểm tới sinh vật thủy sinh và sức khỏe con người. Sự cố nghiêm trọng làm chết 76 người ở thành phố Caruaru, Braxin do sử dụng nguồn nước uống có chứa độc tố VKL. Tổ chức Y tế thế giới (WHO) quy định nồng độ giới hạn trong nước uống là 1 µg/L (Duy và cs., 2000).

Ở nước ta, hiện tượng VKL nở hoa và độc tố của chúng thường xuyên hiện diện trong các thủy vực nước ngọt. Hồ Trị An là hồ chứa nước nhân tạo có chức năng như ngăn lũ, cấp nước sinh hoạt, tưới tiêu, rửa mặn, cải thiện chất lượng nước và nuôi trồng thủy sản. Là nguồn cung cấp trực tiếp hoặc gián tiếp nước sinh hoạt và tưới tiêu cho hàng triệu dân ở Đồng Nai và TP. Hồ Chí Minh. Các nghiên cứu gần đây đã cho thấy hiện tượng VKL nở hoa tại đây ngày càng nghiêm trọng. Trong đó nhiều loài có khả năng sản sinh độc tố gây nguy hiểm cho sức khỏe con người (Phạm và cs., 2015) Bài viết này nhằm cung cấp một số thông tin cơ bản về hiện tượng nở hoa của VKL, đồng thời cung cấp công cụ phân hạng và đánh giá nhanh sự nở hoa của VKL thông qua hai thông số cơ bản là mật độ tế bào của VKL và tổng hàm lượng chlorophyll-a.

I. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Địa điểm nghiên cứu

Mẫu được thu từ tháng 6 đến tháng 11 năm 2016 (là giai đoạn VKL phát triển mạnh và thường gây nở hoa ở hồ Trị An) tại 4 vị trí kí hiệu TA1-TA4 ở hồ Trị An (Hình 1).

2. Phương pháp thu mẫu

Mẫu định tính VKL được thu bằng lưới vớt thực vật phiêu sinh kiểu Juday hình nón với kích thước mắt lưới là 25 µm. Mẫu định lượng VKL và mẫu phân tích chlorophyll-a được thu ở tầng mặt trong can nhựa 2-L. Mẫu được cố định ngay tại hiện trường bằng dung dịch formaline, nồng độ formaline cuối cùng trong mẫu vào khoảng 4%. Mẫu VKL nở hoa được thu trong can nhựa 2-L và giữ lạnh ở 4°C.



Hình 1: Bản đồ và vị trí các điểm thu mẫu ở hồ Trị An

3. Phương pháp phân tích

Phương pháp định danh các loài VKL dựa vào hình thái, sử dụng kính hiển vi quang học Olympus BX51 ở độ phóng đại 100–400× theo khóa phân loại VKL của các tác giả trong và ngoài nước như Desikachary (1959) và Dương Đức Tiên (1996).

Mẫu định lượng (0.1–0.5L) được để lắng trong ống đong 48h, sau đó làm đông đặc còn lại khoảng 5 mL. Mật độ tế bào trong 1–5 mL mẫu được xác định bằng buồng đếm Sedgewick Rafter theo phương pháp của Sournia (1978).

Để phân tích hàm lượng chlorophyll-a, khoảng 50–300 mL mẫu được lọc qua giấy lọc GF/C. Chlorophyll-a được tách chiết bằng dung dịch acetone 90% qua đêm trong điều kiện nhiệt độ phòng và không có ánh sáng. Mẫu sau đó được ly tâm ở 400 rpm, 20 phút để loại bỏ cặn bã. Phần dịch chiết chứa chlorophyll-a được phân tích bằng máy UV-DR-500 (Hach, USA).

Để phân tích tổng sinh khối khô VKL, khoảng 50–300 mL mẫu VKL nở hoa được lọc qua giấy lọc GF/C. Mẫu sau đó được sấy trong tủ ấm ở 50°C qua đêm. Sinh khối VKL trong mẫu được xác định bằng cách cân trên cân điện tử.

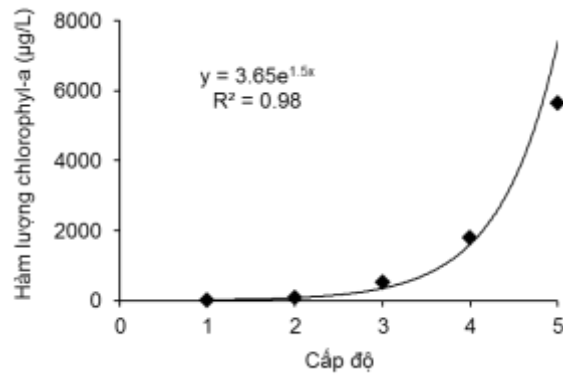
4. Phương pháp xử lý số liệu

Các thông số được kiểm tra phân phối chuẩn bằng phương pháp Levene's test. Trong trường hợp không đạt phân phối chuẩn số liệu được chuyển hoá bằng hàm $\log(X+1)$ để đạt phân phối chuẩn. Phương pháp phân tích phương sai một và hai yếu tố (one- and two-way ANOVA) và phân tích hậu kiểm (Tukey's HSD test) nhờ phần mềm SPSS (IBM Corp., Armonk, NY, Mỹ) được sử dụng để kiểm tra sự khác biệt của các thông số đo đạc giữa các điểm và giữa các đợt thu mẫu.

II. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

1. Hàm lượng chlorophyll-a

Hàm lượng chlorophyll-a tương ứng với 5 mức độ nở hoa của VKL được trình bày ở bảng 1, hình 2. Ở mức độ I không thấy xuất hiện VKL trên mặt nước bằng mắt thường hàm lượng chlorophyll-a vào khoảng 13 $\mu\text{g/L}$. Hàm lượng chlorophyll-a tăng dần theo hàm $y = 3.65e^{1.5x}$ và đạt trên 5500 $\mu\text{g/L}$ ở mức V (Hình 2).

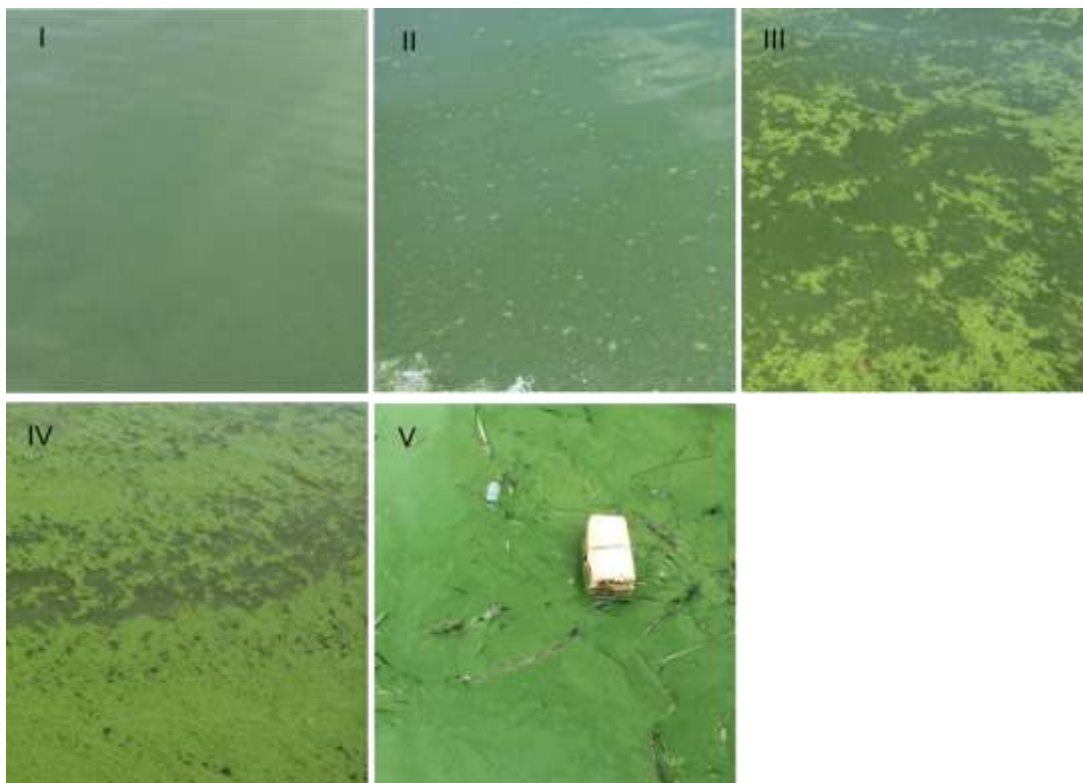


Hình 2: Hàm lượng chlorophyll-a ứng với 5 cấp độ nở hoa

Bảng 1

Hàm lượng chlorophyll-a tương ứng với 5 cấp độ nở hoa của vi khuẩn lam

Cấp độ	Mô tả	Hàm lượng chlorophyll-a (µg/L)
I	Không thấy VKL trên mặt nước	13.34±5.45
II	VKL lấm tấm trên mặt nước	77.97±12.31
III	VKL tạo ván mỏng trên mặt nước	517.54±172.56
IV	VKL tạo ván dày trên mặt nước	1798.14±342.36
V	VKL tạo ván phủ kín mặt nước	5635.145±772.96



Hình 3: Hình ảnh 5 cấp độ nở hoa của vi khuẩn lam

Tất cả các mẫu nở hoa và không nở hoa được phân thành 5 nhóm kí hiệu I, II, III, IV và V, tương ứng với 5 mức đánh giá bằng mắt thường là: không thấy VKL, VKL lấm tấm trên mặt nước, VKL tạo ván mỏng trên mặt nước, VKL tạo ván dày trên mặt nước, VKL tạo ván phủ kín mặt nước (Bảng 1, hình 3).

2. Mật độ tế bào và sinh khối vi khuẩn lam

Mật độ tế bào được phân làm 5 nhóm (Anova, $p < 0.01$) tương ứng với 5 cấp độ nở hoa của VKL được trình bày ở bảng 2 và hình 4A. Ở cấp độ I tương ứng với $24-645 \times 10^3$ tế bào/L và cấp độ V tương ứng với $2.146.680-3.468.590 \times 10^3$ tế bào/L.

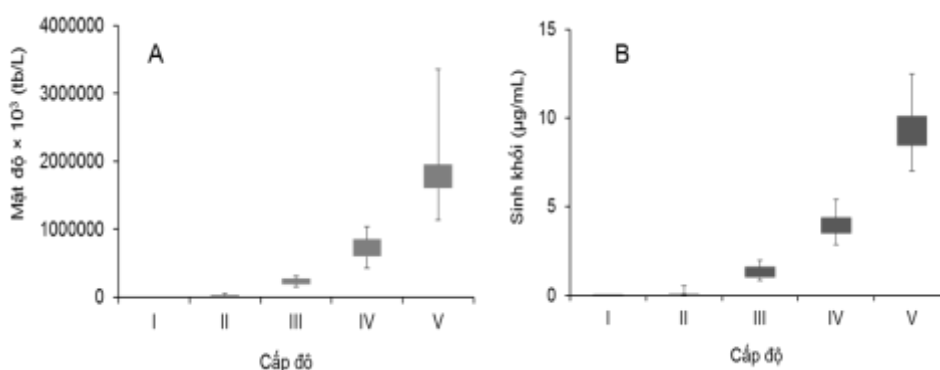
Bảng 2

Mật độ tế bào ứng với 5 cấp độ nở hoa của vi khuẩn lam

Cấp độ	Mật độ tế bào (tb/L)	Sinh khối ($\mu\text{g/mL}$)
I	$24-645 \times 10^3$	0.005 ± 0.001
II	$1.125-62.798 \times 10^3$	0.35 ± 0.087
III	$157.769-508.790 \times 10^3$	2.07 ± 0.41
IV	$839.560-1.098.770 \times 10^3$	4.57 ± 1.35
V	$2.146.680-3.468.590 \times 10^3$	10.24 ± 4.57

Sinh khối VKL tương ứng với 5 cấp độ nở hoa được trình bày ở bảng 2 và hình 4B. Ở cấp độ I có ít VKL nhất tương ứng với sinh khối là $0.005 \pm 0.001 \mu\text{g/mL}$, ở cấp độ V tương ứng với mức sinh khối VKL cao nhất là $10.24 \pm 4.57 \mu\text{g/mL}$.

Các nhóm VKL chính cấu thành nên sinh khối VKL ở hồ Trị An bao gồm *Microcystis*, *Dolichospermum* (*Anabaena*) và *Oscillatoria*. Ngoài ra một số nhóm VKL khác như *Aphanizomenon*, *Arthrospira*, *Cylindrospermopsis*, *Pseudanabaena* và *Phormidium* cũng xuất hiện với mật độ và sinh khối thấp. Mặc dù bên cạnh sự hiện diện của nhiều nhóm VKL khác nhau, nhóm *Microcystis* luôn luôn chiếm ưu thế ở tất cả các tháng từ tháng 6 đến tháng 10, đặc biệt là loài *M. aeruginosa*. Đây là loài phát triển mạnh nhất và gây hiện tượng nở hoa ở hồ Trị An từ tháng 6 đến tháng 11. Chúng cũng xuất hiện phổ biến và gây ra hiện tượng nở hoa ở nhiều quốc gia khác trên thế giới. Nhiều nghiên cứu cho thấy 75% trường hợp nở hoa của tảo lam có khả năng sản sinh ra độc tố (Chorus và Bartram, 1999). Loài này cũng đã được báo cáo là loài VKL gây nở hoa và sinh độc tố microcystins ở hồ Dầu Tiếng, hồ Trị An, hồ Núi Cốc và hồ Thành Công (Pham và cs., 2015).



Hình 4: Mật độ tế bào $\times 10^3$ tb/L và sinh khối khô ($\mu\text{g/mL}$) ứng với các cấp độ nở hoa của vi khuẩn lam

Phương pháp sử dụng mật độ tế bào và hàm lượng chlorophyll-a đã được sử dụng nhiều để đo đạc và đánh giá VKL trong các thủy vực (Chorus và Bartram, 1999). Tuy nhiên chưa có các thông tin liên quan giữa mật độ tế bào, hàm lượng chlorophyll-a và sự xuất hiện của vẩn tảo nở hoa trên bề mặt nước hồ ngoài tự nhiên. Cấp độ nở hoa của vi khuẩn lam thường chỉ được báo cáo ở ba cấp độ: không có vẩn tảo, phân tầng và có vẩn tảo (Kenne và cs., 2013). Trên thế giới đã có một số phương pháp nhận diện và phân loại VKL nở hoa (Kenne và Merwe, 2013; Groetsch và cs., 2014; Oyama và cs., 2015). Trong đó điển hình là sử dụng ảnh viễn thám và các chỉ số như chỉ số VCI (Visual cyanobacterial index), chỉ số FAI (Floating algae index) để phân hạng mức độ nở hoa của VKL (Oyama và cs., 2015). Mỗi phương pháp có những ưu điểm và nhược điểm nhất định. Đối với công cụ ảnh viễn thám đòi hỏi phải có ảnh chụp liên tục ở khu vực nghiên cứu và quá trình giải đoán ảnh đôi khi tốn kém và mất khá nhiều công sức nhưng kết quả mang lại có thể không đúng với thực tế. Chỉ số VCI được Aizaki và cs. (1995) đề nghị áp dụng để quan trắc VKL nở hoa cho một số thủy vực ở Nhật Bản. Theo chỉ số VCI, sự nở hoa của VKL ở hồ Nishiura (Nhật Bản), được phân thành 6 mức độ từ 1–6 tương ứng với sự xuất hiện của VKL ít đến nhiều khi quan sát bằng mắt thường (Oyama và cs., 2015). Chỉ số này có thể mạnh là mọi người đều dễ dàng quan sát và phân loại VKL nở hoa mà không cần kiến thức chuyên môn.

Nghiên cứu này đề xuất phân loại mức độ VKL nở hoa dựa vào 3 thông số là mật độ tế bào, sinh khối và hàm lượng chlorophyll-a, ngoài ra cũng có thể quan sát và phân loại trực tiếp bằng mắt thường. Phương pháp này có thể áp dụng dễ dàng cho các nhà khoa học đang nghiên cứu VKL nở hoa.

III. KẾT LUẬN

Mức độ nở hoa của VKL có thể phân thành 5 cấp độ từ I–V dựa vào mật độ tế bào, sinh khối VKL và hàm lượng chlorophyll-a. Sự phân chia này được sử dụng để đánh giá nhanh mức độ nở hoa của VKL một cách đơn giản với chi phí thấp trong công tác quản lý tảo gây hại nở hoa ở hồ Trị An nói riêng và ở các thủy vực nước ngọt nội địa nói chung.

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.04-2015.72”.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Duy T., Lam P. S., Shaw G., Connell D.,** 2000. Toxicology and risk assessment of freshwater cyanobacterial (blue-green algal) toxins in water. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 163: 113–185.
2. **Pham T. L., Dao T. S., Shimizu K., Do H. L. C., Utsumi M.,** 2015. Isolation and characterization of microcystin-producing cyanobacteria from Dau Tieng Reservoir, Vietnam. *Nova Hedwigia*, 101 (1-2): 3-20
3. **Desikachary T. V.,** 1959. *Cyanophyta*. New Delhi, Indian Council of Agricultural.
4. **Dương Đức Tiên,** 1996. *Phân loại Vi khuẩn lam ở Việt nam*. Nxb. Nông nghiệp, Hà Nội.
5. **Sournia A.,** 1978. *Phytoplankton manual*, published by UNESCO.
6. **Chorus I., Bartram J.,** 1999. Toxic cyanobacteria in water: A guide to their public health consequences, monitoring and management. Published on behalf of WHO, Spon Press, London, 416 pp.

7. **Kenne G., Merwe D.**, 2013. Classification of toxic cyanobacterial blooms by Fourier-Transform Infrared Technology (FTIR). *Advances in Microbiology*, 6A, 1-8.
8. **Groetsch P. M. M., Simis S. G. H., Eleveld M. A., Peters, S. W. M.**,2014. Cyanobacterial bloom detection based on coherence between ferrybox observations. *Journal of Marine Systems*, 140: 50-58.
9. **Oyama Y., Fukushima T., Matsushita B., Matsuzaki H., Kamiya K. and Kobinata H.**,2015. Monitoring levels of cyanobacterial blooms using the visual cyanobacteria index (VCI) and floating algae index (FAI). *International Journal of Applied Earth Observation and Geoinformation*,38: 335-348.
10. **Aizaki M., Fukushima T., Takagi H., Kitamura H.**, 1995. Evaluation of lake Kasumigaura, Japan, using a landscape index for cyanobacterial bloom. In: Aizaki M., Fukushima T. (Eds.), Aoko (Water-blooms of Blue-green Algae); Measurement, occurrence, and factors on its growth. National Institute for Environmental Studies, Tsukuba, Japan, pp. 33–39 (in Japanese).

CLASSIFICATION OF CYANOBACTERIAL BLOOM USING CELL DENSITY AND CHLOROPHYLL-A CONCENTRATION

**Pham Thanh Luu, Le Thi Trang, Truong Van Than,
Bui Manh Ha, Pham Nguyen Kim Tuyen**

SUMMARY

Cyanobacterial bloom is an environmental problem in inland waters. In this study, we propose a method for monitoring levels of cyanobacterial blooms based on cell density, biomass and chlorophyll-a concentration. Six fieldtrips were carried out at Tri An Lake, Dong Nai province, from June to November 2016. The visual cyanobacterial bloom was classified into five levels (I, II, III, IV, V). The results showed that cell density, biomass and chlorophyll-a concentrations differed significantly at the respective bloom levels. This indicated that cell density, biomass and chlorophyll-a concentrations could be used to differentiate the levels of cyanobacteria that forms surface scum.