

GHI NHẬN ĐẦU TIÊN VỀ ĐỘC TÍNH CỦA LOÀI VI KHUẨN LAM *Planktothrix rubescens* PHÂN LẬP TỪ AO NUÔI CÁ TỈNH SÓC TRĂNG

Đào Thanh Sơn^{1*}, Trần Phước Thảo²,
Nguyễn Thị Thu Liên³, Nguyễn Thanh Sơn⁴, Bùi Bá Trung⁴

¹Trường Đại học Bách Khoa thành phố Hồ Chí Minh, *dao.son@hcmut.edu.vn

²Sở Tài nguyên và Môi trường tỉnh Bạc Liêu

³Viện Công nghệ sinh học, Đại học Huế

⁴Viện Môi trường và Tài nguyên, thành phố Hồ Chí Minh

TÓM TẮT: Vi khuẩn lam (VKL) và độc tính của nó là một trong những mối quan ngại liên quan đến chất lượng môi trường và sức khỏe sinh thái. Nghiên cứu này nhằm mục tiêu xác định độc tính của loài VKL *Planktothrix rubescens* có ở Việt Nam. Mẫu VKL trong ao nuôi cá ở tỉnh Sóc Trăng được thu và mang về phòng thí nghiệm phục vụ việc định danh trên cơ sở hình thái học và phân lập để nuôi lấy sinh khối. Dịch chiết của loài *P. rubescens* được dùng để phân tích độc tố microcystins và dùng để thử nghiệm độc tính trên loài vi giáp xác *Daphnia magna*. Kết quả nghiên cứu này cung cấp thông tin khoa học về đa dạng sinh học, đặc tính sinh thái, hình ảnh và mô tả hình thái đầu tiên cho loài VKL *P. rubescens* ở Việt Nam. Phân tích bằng ELISA (Enzyme Linked Immunoabsorbent Assay) đã cho thấy cả 5 chủng thuộc loài *P. rubescens* đều có thể sản sinh độc tố microcystins với nồng độ từ 0,06-0,42 µg/g sinh khối khô. Phơi nhiễm mãn tính *D. magna* với dịch chiết của *P. rubescens*, chủng S1, được quan sát và sức sống của sinh vật bị suy giảm đáng kể. Độc tính của dịch chiết đối với *D. magna* cho thấy trong dịch chiết chắc phải chứa hợp chất thứ cấp khác có độc đối với vi giáp xác.

Từ khóa: *Daphnia magna*, *Planktothrix rubescens*, ao nuôi cá, dịch chiết vi khuẩn lam, microcystins.

MỞ ĐẦU

Vi khuẩn lam (Cyanobacteria, Cyanoprokaryota, Cyanophyta) là một trong những sinh vật xuất hiện đầu tiên trên trái đất cách đây khoảng 3,5 tỷ năm và tồn tại cho đến ngày nay [14]. Trong tự nhiên, vi khuẩn lam (VKL) khi gặp điều kiện thuận lợi sẽ phát triển mạnh, nhanh chóng gây nên sự nở hoa của nước. Đa số các trường hợp nước nở hoa do VKL gây ra thường đi kèm với sự sản sinh, tiết ra độc tố vào môi trường nước, gây nên những tác động xấu lên môi trường, thủy sinh vật và con người [5].

Cho đến nay, hàng chục loài VKL có độc tính đã được các nhà khoa học trên thế giới phát hiện [6]. Đồng thời, đã có đến hàng trăm đồng phân của các loại độc tố do chúng tạo ra được thống kê, xếp loại [29]. Tổ chức sức khỏe thế giới (WHO) đã đưa ra chỉ tiêu độc tố VKL vào trong qui định của nước uống với hàm lượng microcystins (MC), một loại độc tố vi khuẩn lam phổ biến nhất, rất thấp. Theo đó, hàm lượng

độc tố MC trong nước uống phải dưới 1 µg/L [41]. Trong số các chi và loài VKL, chi *Microcystis* và đặc biệt loài *Microcystis aeruginosa*, cho đến nay, được quan tâm nghiên cứu nhiều nhất vì khả năng sản sinh độc tố MC và độc tính của nó đối với thủy sinh vật. Bên cạnh đó, độc tố và độc tính của một số loài VKL khác cũng được nghiên cứu như *Anabaena flos-aquae*, *Planktothrix agardhii* và *Cylindrospermopsis raciborskii* [5].

Ở Việt Nam, VKL đã và đang được các nhà khoa học nghiên cứu trong nhiều thập niên qua. Tuy nhiên, đa số các nghiên cứu đó chỉ tập trung vào việc xác định loài [9, 30, 32, 34, 38]. Trong khoảng 15 năm gần đây, độc tố MC đã được nghiên cứu ở Việt Nam và một số loài thuộc chi *Microcystis* thu ở hồ Thành Công, hồ Hoàn Kiếm, hồ Núi Cốc, hồ Trị An, hồ Dầu Tiếng, Biên Hồ, và một số thủy vực ở Huế và miền Bắc Trung bộ được phát hiện là có khả năng sản sinh ra độc tố này [7, 13, 15, 16, 23, 25, 31]. Ngoài ra, phân tích với thiết bị sắc ký

lông cao áp (HPLC) và ELISA, Nguyen (2007) [23], Nguyễn Thị Thu Liên và nnk. (2010) [20] cũng chứng minh được một số chủng thuộc loài VKL *Cylindrospermopsis raciborskii* phân lập từ một số thủy vực ở Huế và Biển Hồ sản sinh độc tố cylindrospermopsin. Tuy nhiên, khả năng sản sinh độc tố từ chi *Planktothrix* và đặc biệt từ loài *Planktothrix rubescens* và độc tính của loài này ở Việt Nam vẫn chưa được xác định và công bố.

Động vật phù du với đại diện là vi giáp xác (như loài *Daphnia magna*) đóng vai trò quan trọng trong chuỗi thức ăn, là mắt xích kết nối sinh vật sản xuất (vi tảo, VKL) và những sinh vật tiêu thụ bậc cao hơn (như cá), giúp cho dòng vật chất và năng lượng được thông suốt trong thủy vực. Đồng thời, với nhiều đặc điểm sinh học và có độ nhạy cao với chất độc trong môi trường nước, loài vi giáp xác *D. magna* được dùng phổ biến trong các nghiên cứu độc học trên thế giới [1, 19]. Độc tố VKL có nhiều ảnh hưởng xấu lên vi giáp xác *D. magna* như ức chế các hoạt động, làm giảm sức sống và sự phát triển của sinh vật [8, 21].

Nghiên cứu về ảnh hưởng xấu của độc tố VKL ở Việt Nam lên vi giáp xác cho đến nay còn hạn chế [10, 11, 12, 35]. Vì vậy, mục tiêu của nghiên cứu này là khảo sát khả năng sản sinh độc tố MC và độc tính của dịch chiết của loài VKL *P. rubescens* được phân lập từ ao nuôi cá ở tỉnh Sóc Trăng, lên sức sống của vi giáp xác *D. magna*.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Mẫu VKL được thu ở ao nuôi cá, tỉnh Sóc Trăng vào tháng 6/2014 bằng lưới vớt phiêu sinh hình nón, kích thước mắt lưới 20 μm [2]. Mẫu tươi được phân lập trong phòng thí nghiệm. Một phần mẫu được cố định trong formandehyde 4% [36] dùng cho quan sát và định danh trên kính hiển vi (BX51, nối với máy chụp ảnh kỹ thuật số DP71 và phần mềm đo kích thước chuyên dụng Q capture) ở độ phóng đại 400-800 lần.

Daphnia magna được mua giống từ Công ty MicroBioTests (Vương quốc Bỉ), được nuôi trong môi trường ISO theo hướng dẫn của APHA (2012) [2] và dùng làm sinh vật thí

nghiệm phơi nhiễm với dịch chiết trong Phòng thí nghiệm Độc học Môi trường, Viện Môi trường và Tài nguyên, thành phố Hồ Chí Minh.

Sinh khối của loài VKL *P. rubescens* (5 chủng, S1-S5) được thu bằng cách lọc mẫu nuôi qua màng lọc sợi thủy tinh (GF/A), sau đó sấy khô ở 50°C trong vòng 24 giờ, bảo quản ở điều kiện -70°C cho đến khi được dùng để tách dịch chiết cho phân tích MC và thử nghiệm độc tính trên vi giáp xác *D. magna*.

Việc định danh được dựa trên cơ sở hình thái học theo hệ thống phân loại của Komárek & Anagnostidis (2005) [17]. Mô tả VKL dựa trên những quan sát mẫu cố định và mẫu nuôi. Việc phân lập VKL được thực hiện bằng phương pháp hút rửa tế bào [3]. Từng sợi VKL riêng lẻ được hút, rửa và chuyển vào nuôi trong môi trường Z8 [18]. Các chủng VKL được nuôi ở nhiệt độ 25 \pm 1°C, cường độ ánh sáng khoảng 3.000 Lux và chu kỳ sáng tối là 12h:12h.

Chủng VKL *Planktothrix rubescens* S1 được nuôi lấy sinh khối phục vụ nghiên cứu độc học, phơi nhiễm với *Daphnia magna*. Vì vậy, chúng tôi đã tiến hành khảo sát đường cong tăng trưởng của chủng *P. rubescens* S1 này. Chủng VKL này được nuôi trong môi trường Z8 trong điều kiện phòng thí nghiệm như mô tả ở trên. Mật độ ban đầu trong thí nghiệm của *P. rubescens* (S1) là 2.932 sợi/mL (4,5 mg/L) và VKL được nuôi trong 3 bình (3 replicates). Thí nghiệm theo dõi sự phát triển của chủng *P. rubescens* (S1) được tiến hành trong điều kiện tĩnh và kéo dài trong 3 tuần [40]. Định kỳ mỗi 3 ngày, mẫu VKL trong các bình nuôi sẽ được lấy ra và xác định mật độ bằng buồng đếm Sedgewick Rafter [36]. Kích thước từng sợi *P. rubescens* trong bình nuôi sẽ được chụp và đo trên kính hiển vi (Olympus, BX 51, kết nối với máy chụp ảnh kỹ thuật số DP 71), từ đó tính kích thước trung bình một sợi VKL ($n \geq 30$). Sinh khối VKL được tính toán dựa vào công thức quy đổi thể tích hình học của tế bào [27]. Kết quả thu được sẽ được dùng để lập biểu đồ đường cong tăng trưởng của VKL trong 21 ngày.

Dịch chiết của 5 chủng VKL (chủng S1-S5) thuộc loài *P. rubescens* dùng trong nghiên cứu này được chuẩn bị theo hướng dẫn của Pietsch

et al. (2001) [33]. Theo đó, màng lọc sợi thủy tinh chứa sinh khối khô của *P. rubescens* được cắt nhỏ, cho vào ống ly tâm (50 mL), thêm vào đó nước cất hai lần rồi cho vào tủ -70°C. Sau đó, mẫu được rã đông, siêu âm trong vòng 5 phút, rồi lại đông lạnh sâu (-70°C). Quy trình này lặp lại 5 lần, và sau đó dịch chiết được ly tâm ở tốc độ 10.000 vòng/phút, trong 15 phút ở nhiệt độ 4°C. Dịch trong được thu lấy dùng cho phân tích MC theo phương pháp ELISA và dịch chiết VKL từ chủng S1 được dùng cho thí nghiệm với vi giáp xác *D. magna*.

Phân tích độc tố MC được tiến hành tại phòng thí nghiệm các hợp chất thứ cấp (Viện Tài nguyên, Môi trường và Công nghệ Sinh học, Đại học Huế). Microcystins trong dịch chiết được phân tích bằng phương pháp ELISA (Enzyme Linked Immunoabsorbent Assay) theo hướng dẫn của Ueno et al. (1996) [39] sử dụng kit thương mại (Arbraxis, USA). Kit được hiệu chuẩn bằng chất chuẩn microcystin-LR ở các nồng độ 0,1; 0,4; 1,6; 2 và 5 µg/L. Mật độ quang của dịch chiết được đo ở bước sóng 450 nm trên máy đọc đĩa (Hyperion 3) và nồng độ MC trong dịch chiết (mẫu) được xác định bằng cách so với nồng độ microcystin-LR trong đường chuẩn.

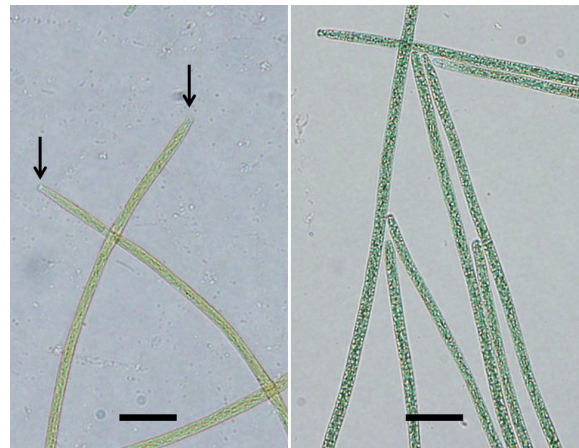
Đánh giá độc tính của dịch chiết *P. rubescens* được tiến hành với loài vi giáp xác *D. magna*. Trước khi thí nghiệm 24 giờ, khoảng 15 cá thể *D. magna* mẹ được bắt riêng ra một bình thủy tinh chứa môi trường ISO và cho ăn bằng tảo lục *Scenedesmus*. Tảo lục *Scenedesmus* có nguồn gốc từ phòng thí nghiệm Điều hòa Sinh hóa, thuộc Viện Sinh thái nước ngọt và Thủy sản Nội địa, Berlin, CHLB Đức. *Daphnia magna* con non mới sinh ra (<24 giờ tuổi) được sử dụng cho thí nghiệm. Trong nghiên cứu này, 4 lô thí nghiệm thực hiện cùng một lúc. Trong lô đối chứng, *D. magna* được nuôi trong môi trường ISO (không pha gì thêm). Trong các lô phơi nhiễm, môi trường ISO được pha thêm dịch chiết VKL (*P. rubescens*, chủng S1) để đạt các nồng độ 10, 50 và 100 mg sinh khối khô/L môi trường (dưới đây được viết tắt là mg/L). Trong mỗi lô thí nghiệm, 30 cá thể *D. magna* (<24 giờ tuổi) được nuôi trong 3 bình thủy tinh 250 mL, mỗi bình nuôi 10 con non và được cho ăn bằng tảo lục *Scenedesmus* ở nồng độ 1 mg

C/L (tương đương 70.000 tế bào *Scenedesmus*/mL). Môi trường nuôi và thức ăn cho *D. magna* được thay mới, 2 ngày 1 lần. Thí nghiệm được tiến hành trong tủ vi khí hậu (SANYO, Nhật Bản) với các điều kiện nhiệt độ và ánh sáng được kiểm soát, bao gồm 20±1°C, cường độ ánh sáng 1.000 Lux, chu kỳ sáng tối trong ngày là 14 giờ sáng: 10 giờ tối [2, 8]. Sức sống của sinh vật trong các lô thí nghiệm được theo dõi hàng ngày, kéo dài trong 3 tuần.

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Đặc điểm hình thái loài vi khuẩn lam *Planktothrix rubescens* (De Candolle ex Gomont) Anagnostidis & Komárek 1988

Loài VKL *Planktothrix rubescens*, phân lập từ ao nuôi cá, tỉnh Sóc Trăng, có dạng sợi riêng rẽ, sống trôi nổi, sợi thẳng hoặc hơi cong và hơi thắt eo. Tế bào hình trụ, màu xanh lam đến xanh đậm tùy theo điều kiện môi trường tự nhiên (mẫu thu ngoài hiện trường) hay nhân tạo (mẫu nuôi trong phòng thí nghiệm), chứa khí thể, rộng từ 4-5 µm, dài 4-7 µm (hình 1). Tế bào đầu sợi hơi thuôn nhỏ lại, đầu tế bào có thể hơi tròn, hình nón cụt hoặc có hình dạng calyptra (gần giống nắp chai đầu cổ chai).



Hình 1. Loài VKL *Planktothrix rubescens* phân lập từ ao nuôi cá tỉnh Sóc Trăng. Mũi tên chỉ hình dạng calyptra của tế bào đầu chuỗi. Thước đo = 20 µm.

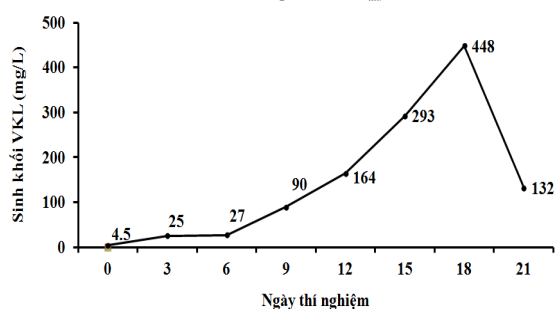
Loài này thường tìm thấy trong các hồ nước ngọt với điều kiện môi trường từ dinh dưỡng trung bình (mesotrophic) đến giàu dinh dưỡng

(eutrophic). Trong điều kiện nước tĩnh, loài này phát triển mạnh và có thể bùng phát thành nở hoa. Loài *P. rubescens* có khả năng phân bố rộng trên thế giới, từ các hồ ở xứ lạnh (Áo, Đức, Pháp, Thụy Sĩ và Italia), cho đến vùng nhiệt đới như Braxin hay Ấn Độ [4, 28]. Đây là ghi nhận, hình chụp và mô tả đầu tiên cho loài *P. rubescens* ở Việt Nam.

Đường cong tăng trưởng của *Planktothrix rubescens* chủng S1

Kết quả nghiên cứu cho thấy, ở 25°C, tốc độ tăng trưởng của *P. rubescens*, chủng S1, trong tuần đầu tiên tương đối chậm và ổn định, đạt sinh khối 27 mg/L vào ngày thứ 6. Sau đó sự tăng trưởng của chủng này tăng nhanh và đạt cực đại vào ngày thứ 18 với sinh khối lên đến 448 mg/L (hình 2). Tuy nhiên, sự phát triển của chủng này giảm xuống nhanh chóng, đi vào pha suy tàn vào 3 ngày cuối cùng của thí nghiệm.

Chorus & Bartram (1999) [5] nghiên cứu sự tăng trưởng của loài VKL *Planktothrix agardhii* trong điều kiện phòng thí nghiệm và nhận thấy loài VKL này phát triển cực đỉnh ở vào khoảng từ 18-20 ngày thí nghiệm và suy giảm sự phát triển sau đó. Như vậy, có sự tương đồng trong sự phát triển của hai loài VKL *P. rubescens* (chủng S1) trong nghiên cứu của chúng tôi và loài VKL *P. agardhii* trong công bố trước đây [5]. Điều này rất có thể liên quan đến hai loài *P. rubescens* và *P. agardhii* ít nhiều có sự chia sẻ nhau về hình thái bên ngoài.

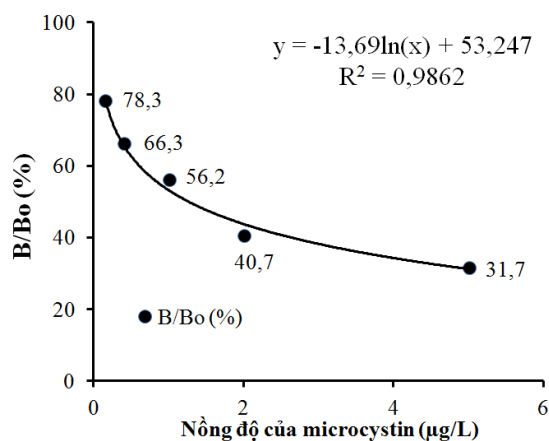


Hình 2. Đường cong tăng trưởng của *Planktothrix rubescens* chủng S1 ở 25°C

Hàm lượng độc tố microcystin trong các chủng *Planktothrix rubescens*

Đường chuẩn MC trong chất chuẩn thực hiện theo phương pháp ELISA được thể hiện trong hình 3, với giá trị của $R^2=0,98$. Trên cơ sở

đường chuẩn và giá trị đo mẫu dịch chiết của loài VKL *P. rubescens* bằng phương pháp ELISA, kết quả tính toán cho thấy, hàm lượng độc tố trong 5 chủng *P. rubescens* có hàm lượng độc tố microcystins từ 0,06-0,42 µg/g sinh khối khô, cao nhất ở chủng S4 và thấp nhất ở chủng S5 (bảng 1).



Hình 3. Đường chuẩn microcystin-LR thực hiện bằng phương pháp ELISA. B: giá trị hấp phụ trung bình của các mẫu chuẩn; Bo: giá trị hấp phụ trung bình ở điểm 0.

Cho đến nay, nghiên cứu về hàm lượng độc tố MC sản sinh bởi *P. rubescens* khá khiêm tốn so với những nghiên cứu tương tự đối với chi *Microcystis*. Công bố của Briand et al. (2005) [4] cho thấy, loài VKL *P. rubescens* trong thủy vực ở Pháp sản sinh ra độc tố MC cả trong điều kiện ngoài tự nhiên lẫn điều kiện phòng thí nghiệm. Loài *P. rubescens* sản sinh độc tố MC với hàm lượng khá cao (>5 µg/g sinh khối khô) cũng đã từng được ghi nhận ở hồ Beliche, miền Nam của Bồ Đào Nha [28].

Các công bố về hàm lượng độc tố MC trong VKL ở Việt Nam cho thấy, hàm lượng độc tố biến thiên khá lớn. Mẫu nước nở hoa do VKL (chủ yếu *Microcystis* spp.) thu từ các thủy vực ở ba miền Bắc, Trung và Nam Việt Nam có hàm lượng độc tố từ vài trăm cho đến hàng nghìn µg MC/g sinh khối khô [7, 23, 24, 25, 37]. Bên cạnh đó, một số chủng VKL phân lập được có khả năng sản sinh hàm lượng MC rất cao (lên đến 4120 µg MC/g sinh khối khô) trong điều kiện phòng thí nghiệm [26]. Như vậy, các chủng *P. rubescens* từ ao nuôi cá tỉnh Sóc

Trăng, Việt Nam, có khả năng sản sinh MC thấp hơn so với những chủng khác cùng loài trên thế giới và cũng thấp hơn những chủng VKL khác loài đã được công bố từ Việt Nam. Tuy nhiên,

nghiên cứu này cung cấp thông tin đầu tiên về khả năng sản sinh độc tố MC của loài *P. rubescens* ở Việt Nam.

Bảng 1. Nồng độ độc tố MC trong các chủng *Planktothrix rubescens* phân lập từ ao nuôi cá, tỉnh Sóc Trăng

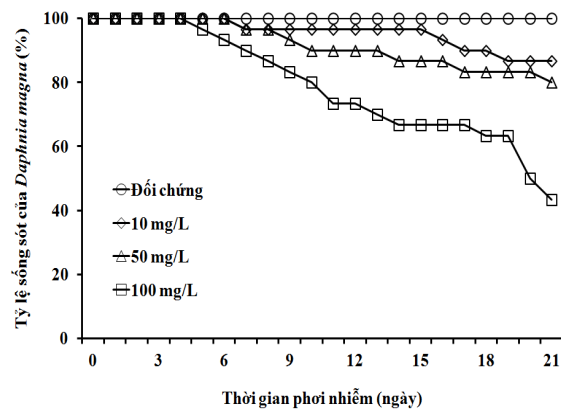
STT	Loài-chủng	Nồng độ MC ($\mu\text{g/g}$ sinh khối khô \pm độ lệch chuẩn)
1	<i>P. rubescens</i> -S1	0,28 \pm 0,025
2	<i>P. rubescens</i> -S2	0,18 \pm 0,013
3	<i>P. rubescens</i> -S3	0,28 \pm 0,0203
4	<i>P. rubescens</i> -S4	0,42 \pm 0,0107
5	<i>P. rubescens</i> -S5	0,06 \pm 0,0316

Ảnh hưởng của dịch chiết *Planktothrix rubescens* lên sức sống sinh vật

Sau 21 ngày thí nghiệm, 100% *D. magna* trong lô đối chứng còn sống. Các sinh vật trong lô phơi nhiễm với dịch chiết VKL 10 và 50 mg/L sống bình thường trong 6 ngày đầu của thí nghiệm, sau đó số lượng sinh vật từ từ giảm nhẹ. Kết thúc thí nghiệm, tỷ lệ sống sót của *D. magna* trong lô phơi nhiễm nồng độ 10 và 50 mg/L lần lượt là 87% và 80% (hình 4). Như vậy, các nồng độ 10 và 50 mg/L ảnh hưởng nhẹ lên sức sống của sinh vật thí nghiệm. Riêng nồng độ 100 mg/L, sinh vật đầu tiên bắt đầu chết ở ngày thứ 5 và quần thể sinh vật trong phơi nhiễm sau đó giảm nhanh về số lượng sinh vật. Khi kết thúc thí nghiệm, chỉ còn 43% sinh vật còn sống trong lô phơi nhiễm 100 mg/L.

Với hàm lượng độc tố trong chủng S1 là 0,28 $\mu\text{g/g}$ trọng lượng khô (bảng 1), nồng độ MC trong các nồng độ phơi nhiễm với vi giáp xác 10; 50 và 100 mg/L lần lượt là 0,0028 $\mu\text{g/L}$, 0,014 $\mu\text{g/L}$ và 0,028 $\mu\text{g/L}$. Công bố trên thế giới cho thấy, ở nồng độ MC thấp (<5 $\mu\text{g/L}$) không ảnh hưởng đáng kể lên sức sống của vi giáp xác *Daphnia magna* [8, 21, 22]. Tuy nhiên, ở nồng độ MC cao hơn (20-50 $\mu\text{g/L}$) sức sống của sinh vật sẽ bị suy giảm nghiêm trọng trong phơi nhiễm mãn tính [8]. Bên cạnh đó, nghiên cứu của Dao et al. (2013) [10] chứng minh rằng dịch chiết VKL phân lập từ hồ Trị An, mặc dù không chứa MC, nhưng đã gây nên sự kích thích hoặc ức chế rất mạnh lên hoạt tính enzyme chuyển hóa sinh học (ví dụ glutathione s-transferase) và enzyme kháng oxy hóa khử (ví dụ catalase). Vì

vậy, ảnh hưởng xấu về sức sống của *D. magna* trong lô phơi nhiễm 100 mg/L của nghiên cứu này chứng tỏ trong dịch chiết của VKL *P. rubescens* có chứa độc tố khác hoặc hợp chất thứ cấp có độc (bioactive compounds), mà điều này cần được xác minh qua những phân tích hóa học với những thiết bị phân tích hiện đại (ví dụ LC/MS, GC/MS). Đồng thời, nghiên cứu này cũng ghi nhận kết quả tương tự với một công bố trước đây [35] trong đó *D. magna* khi được cho ăn bằng VKL không chứa độc tố MC, *Cylindropspermopsis raciborskii*, đã bị suy giảm sức sống nghiêm trọng.



Hình 4. Tỷ lệ sống sót (%) của *D. magna* trong suốt 3 tuần thí nghiệm

KẾT LUẬN

Loài *Planktothrix rubescens* lần đầu tiên được ghi nhận ở Việt Nam, được phân lập nuôi trong điều kiện phòng thí nghiệm, chụp ảnh và mô tả hình thái. Bên cạnh đó, khả năng sản sinh

độc tố MC của loài này cũng đã được xác nhận qua phân tích bằng phương pháp ELISA. Đồng thời độc tính của dịch chiết của loài VKL *P. rubescens*, chủng S1, đã được bước đầu thử nghiệm trên vi giáp xác *D. magna*. Kết quả ghi nhận được sự suy giảm sức sống sinh vật trong phơi nhiễm mãn tính với dịch chiết VKL *P. rubescens*. Điều này cho thấy trong dịch chiết có thể chứa hợp chất thứ cấp khác có độc đối với vi giáp xác và điều này cần được xác minh với những phân tích hóa học bằng thiết bị hiện đại. Nghiên cứu này đóng góp thêm thông tin khoa học về đa dạng sinh học và độc học sinh thái của VKL ở Việt Nam.

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

- Adema D. M. M., 1978. *Daphnia magna* as a test animal in acute and chronic toxicity tests. *Hydrobiol.*, 59(2): 125-134.
- American Public Health Association (APHA), 2012. Standard methods for the examination of water and wastewater. Washington DC.
- Belcher H., Swale E., 1988. *Culturing algae-A guide for school and colleagues*. The Ferry House, UK, pp. 20-21.
- Briand J. F., Jacquet S., Flinois C., Avois-Jacquet C., Maissonette C., Leberre B., Humbert J. F., 2005. Variations in the microcystin production of *Planktothrix rubescens* (cyanobacteria) assessed from a four-year survey of Lac du Bourget (France) and from laboratory experiments. *Microbial Ecology*, 50(3): 418-428.
- Chorus I., Bartram J., 1999. *Toxic Cyanobacteria in Water-a guide to their public health consequences, monitoring and management*. E & FN Spon, London, pp. 15-111.
- Cronberg G., Annadotter H., 2006. *Manual on aquatic cyanobacteria-A photo guide and a synopsis of their toxicology*. Kerteminde Tryk A/S, 1-106.
- Dao T. S., Cronberg G., Nimptsch J., Do-Hong L. C., Wiegand C., 2010. Toxic cyanobacteria from Tri An Reservoir, Vietnam. *Nova Hedwigia*, 90(3-4): 433-448.
- Dao T. S., Do-Hong L. C., Wiegand C., 2010. Chronic effects of cyanobacterial toxins on *Daphnia magna* and their offspring. *Toxicon*, 55(7): 1244-1254.
- Dao T. S., Nguyen T. T., Do-Hong L. C., Pham T. L., Luu T. T. N., 2012. New records on cyanobacteria from central and southern Vietnam. *Journal of Science and Technology*, 50(1C): 256-263.
- Dao T. S., Ortiz-Rodriguez R., Do-Hong L. C., Wiegand C., 2013. Non-microcystin and non-cylindrospermopsin producing cyanobacteria affect the biochemical responses and behavior of *Daphnia magna*. *Int. Rev. Hydrobiol.*, 98(5): 235-244.
- Dao T. S., Vo T. M. C., Pham T. L., Bui L. T. K., Do-Hong L. C., Nguyen P. D., Ho L. P., Bui B. T., Nguyen T. S., 2013. Acute effect of *Microcystis aeruginosa* from Dau Tieng Reservoir, Vietnam, on microcrustaceans. *Journal of Science and Technology*, 51(5C): 665-673.
- Dao T. S., Vo T. M. C., Nguyen T. S., Bui B. T., Bui L. T. K., Do-Hong L. C., 2014. Investigation on the effects of surface water contaminations with microcystins from Dau Tieng Reservoir on *Daphnia magna* under the laboratory conditions. *Journal of Science and Technology*, 52(2B): 152-159.
- Duong T. T., Le T. P. Q., Dao T. S., Pflugmacher S., Rochelle-Newall E., Hoang T. K., Vu T. N., Ho C. T., Dang D. K., 2013. Seasonal variation of cyanobacteria and microcystins in the Nui Coc Reservoir, Northern Vietnam. *Appl. Phycol.*, 25(4): 1065-1075.
- Graham L. E., Wilcox L. W., 2000. *Algae*. Prentice-Hall, US. pp 97, 115, 116, 119.
- Đặng Hoàng Phước Hiền, Dương Thị Thủy, Đặng Đình Kim, Nguyễn Sỹ Nguyên, Christian Hummert, 2000. Độc tính và độc tố của một số chủng vi khuẩn lam *Microcystis aeruginosa* phân lập từ hồ Hoàn Kiếm và hồ

- Thành Công. Những vấn đề nghiên cứu cơ bản trong Sinh học, trang 70-73. Nxb. ĐHQG Hà Nội.
16. Hummert C., Dahlmann J., Reinhardt K., Dang H. P. H., Dang D. K., Luckas B., 2001. Liquid chromatography-mass spectrometry identification of microcystins in *Microcystis aeruginosa* strains from Lake Thanh Cong, Ha Noi, Vietnam. *Chromatographia*, 54(9): 569-575.
 17. Komárek J., Anagnostidis K., 2005. Cyanoprokaryota 1. Teil: Oscillatoriales. In Büdel, B., Gärtner, G., Krienitz, L., Schagerl, M. (Eds): Süßwasserflora von Mitteleuropa. 19/2: 1-759. Gustav Fischer Verlag Jena.
 18. Kotai J., 1972. Instructions for preparation of modified nutrient solution Z8 for algae. Norwegian Institute for Water Research, B-11(69): 1-5.
 19. Lampert W., 2006. *Daphnia*: model herbivore, predator and prey. *Polish J. Ecol.*, 54(4): 607-620.
 20. Nguyễn Thị Thu Liên, Nguyễn Thị Cảnh, Lê Thị Trân Nhi, 2010. Hình thái và khả năng sản sinh độc tố cylindrospermopsin của các chủng vi khuẩn lam phân lập từ một số ao hồ Việt Nam. *Tạp chí Công nghệ Sinh học*, 8(1): 103-108.
 21. Lurling M., 2003. *Daphnia* growth on microcystin-producing and microcystin-free *Microcystis aeruginosa* in different mixture with the green alga *Scenedesmus obliquus*. *Limnol. Oceanogr.*, 48(6): 2214-2220.
 22. Lurling, M., Van der Grinten, E., 2003. Life-history characteristics of *Daphnia magna* exposed to dissolved microcystin-LR and to the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* with and without microcystins. *Environ. Toxicol. Chem.*, 22(6): 1281-1287.
 23. Nguyen T. T. L., 2007. Planktic cyanobacteria from freshwater localities in ThuaThien-Hue Province, Vietnam. PhD thesis, Copenhagen.
 24. Nguyen T. T. L., Pham N. T. T., Tran T. M. H., 2010. Occurrence of *Microcystis* spp. and microcystins in some cyanobacterial blooms in freshwater bodies in Vietnam. *VNU Journal of Science, Natural Sciences and Technology*, 26(3): 172-177.
 25. Nguyen V. L. A., Tanabe Y., Matsuura H., Kaya K., Watanabe M. M., 2012. Morphological, biochemical and phylogenetic assessments of water-bloom forming tropical morphospecies *Microcystis* (Chroococcales, Cyanobacteria). *Phycol. Res.*, 60(3): 208-222.
 26. Nguyen T. T. L., Cronberg G., Moestrup O., Daugbjerg N., 2013. *Annamia toxica* gen. et. sp. nov. (Cyanobacteria), a freshwater cyanobacterium from Vietnam that produces microcystins: ultrastructure, toxicity and molecular phylogenetics. *Phycologia*, 52(1): 25-36.
 27. Olrik K., Blomqvist P., Brettum P., Cronberg G., Eloranta P., 1998. Methods for quantitative assessment of phytoplankton in freshwater, part 1: sampling, processing and application in freshwater environmental monitoring programmes. *Naturvardsverket Forlag, Stockholm*. pp 1-86.
 28. Paulino S., Valerio E., Faria N., Fastner J., Welker M., Tenreiro R., Pereira P., 2009. Detection of *Planktothrix rubescens* (cyanobacteria) associated with microcystin production in a freshwater reservoir. *Hydrobiologia*, 621(1): 207-211.
 29. Pearson L., Mihali T., Moffitt M., Kellmann R., Neilan B., 2010. On the chemistry, toxicology and genetics of the cyanobacterial toxins, microcystin, nodularin, saxitoxin and cylindrospermopsin. *Marine Drugs*, 8(5): 1650-1680.
 30. Pham H. H., 1969. Quelques algues d'eau douce de la région de Cantho. *Annals of the university of Cantho. Science and Agriculture*, pp. 35-59.
 31. Pham T. L., Dao T. S., Shimizu K., Yu G., Do-Hong L. C., Sugiura N., Utsumi M., 2015. Isolation and characterization of microcystin-producing cyanobacteria from Dau Tieng Reservoir, Vietnam. *Nova Hedwigia*, 101(1-2): 3-20.

32. Phung T. N. H., Couté A., Bourrelly P., 1992. Les Cyanophycées du delta du Mékong (Vietnam). *Nova Hedwigia*, 54(3-4): 403-446.
33. Pietsch C. Wiegand C., Ame M. V., Nicklisch A., Wunderlin D., Pflugmacher S., 2001. The effects of cyanobacterial crude extract on different aquatic organisms: Evidence for cyanobacterial toxin modulating factors. *Environ. Toxicol.*, 16(6): 535-542.
34. Shirota A., 1966. The plankton of South Vietnam. Freshwater and marine plankton. Overseas Technical Cooperation Agency, Japan.
35. Đào Thanh Sơn, Bùi Bá Trung, Võ Thị Mỹ Chi, Bùi Thị Như Phượng, Đỗ Hồng Lan Chi, Nguyễn Thanh Sơn, Bùi Lê Thanh Khiết, 2014. Suy giảm chất lượng nước và độc tính sinh thái vi khuẩn lam từ hồ Xuân Hương, Đà Lạt. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ*, 52(1): 91-99.
36. Sournia, A., 1978. *Phytoplankton manual*. UNESCO, UK. p.77.
37. Dương Thị Thủy, Lê Thị Phương Quỳnh, Đào Thanh Sơn, Stephan Pflugmacher, 2011. Vi khuẩn lam và độc tố microcystin tại hồ Núi Cốc (Thái Nguyên). *Tạp chí Hóa học*, 49(2ABC): 565-569.
38. Dương Đức Tiến, 1996. Phân loại vi khuẩn lam Việt Nam. Nxb. Nông nghiệp, Hà Nội.
39. Uneo Y., Nagata S., Tsutsumi T., Hasegawa A., Watanabe H. H., Chen G. C., Chen G., Yu Z., 1996. Detection of microcystins, a blue green algal hepatotoxin, in drinking water sampled in Hainen and Fusui, endemic areas of primary liver cancer in China by highly sensitive immunoassay. *Carcinogenesis*, 17(6): 1317-1321.
40. Wiedner C., Visser P. M., Fastner J., Metcalf J. S., Codd G. A., Mur L. R., 2003. Effects of light on the microcystin content of *Microcystis* strain PCC 7806. *Appl. Environ. Microbiol.*, 69(3): 1475-1481.
41. World Health Organization (WHO), 1996. Guidelines for drinking water quality. Volume 2. World Health Organization, Geneva.

FIRST REPORT ON TOXICITY OF THE CYANOBACTERIUM *Planktothrix rubescens* ISOLATED FROM A FISH POND IN SOC TRANG PROVINCE

**Dao Thanh Son¹, Tran Phuoc Thao², Nguyen Thi Thu Lien³,
Nguyen Thanh Son⁴, Bui Ba Trung⁴**

¹Ho Chi Minh city University of Technology

²Department of Natural Resources and Environmen of Bac Lieu province

³Institute of Biological Technology, Hue University

⁴Institute for Environment and Resources, Hochiminh city

SUMMARY

Cyanobacteria and their toxicity are of environmental quality and ecological health concerns. This study aimed to determine the toxicity of the cyanobacterium *Planktothrix rubescens* from Vietnam. The cyanobacterial samples from a fish pond in Soc Trang province were collected and brought to the laboratory for morphological species identification and isolation for culture. The extracts of the cyanobacterium, *P. rubescens*, were used for microcystins characterization and toxicity testing on a micro-crustacean, *Daphnia magna*. The results contributed the scientific information on the biodiversity, ecological characteristics, first photos and morphological description on the cyanobacterium *P. rubescens* from Vietnam. The Enzyme Linked Immunoabsorbent Assay (ELISA) analysis indicated that all five strains of *P. rubescens* could produce microcystins at the concentrations of 0.06-0.42 µg/g dried weight. The chronic exposure of *D. magna*

to the extract of *P. rubescens*, strain S1, revealed that the survival of the animal was strongly reduced. The toxicity of the extract to *D. magna* showed that there should be toxic secondary metabolites other than microcystins in the extract to the micro-crustacean.

Keywords: *Daphnia magna*, *Planktothrix rubescens*, fish pond, cyanobacterial extract, microcystins.

Ngày nhận bài: 8-9-2015

DO NOT COPY