

ĐẠI HỌC HUẾ
VIỆN CÔNG NGHỆ SINH HỌC

NGÔ THỊ DIỄM MY

XÁC ĐỊNH THÀNH PHẦN LOÀI VÀ KHẢ NĂNG
SINH ĐỘC TỔ CYLINDROSPERMOPSIN
CỦA VI KHUẨN LAM TRONG MỘT SỐ
THỦY VỰC Ở ĐẮK LẮK

LUẬN ÁN TIẾN SĨ SINH HỌC

HUẾ, 2023

ĐẠI HỌC HUẾ
VIỆN CÔNG NGHỆ SINH HỌC

NGÔ THỊ DIỄM MY

**XÁC ĐỊNH THÀNH PHẦN LOÀI VÀ KHẢ NĂNG
SINH ĐỘC TỔ CYLINDROSPERMOPSIN
CỦA VI KHUẨN LAM TRONG MỘT SỐ
THỦY VỰC Ở ĐẮK LẮK**

LUẬN ÁN TIẾN SĨ SINH HỌC

Chuyên ngành: Sinh học

Mã số: 9420101

Người hướng dẫn khoa học:

1. PGS.TS. NGUYỄN THỊ THU LIÊN
2. PGS.TS. TÔN THẤT PHÁP

HUẾ, 2023

LỜI CAM ĐOAN

Tôi xin cam đoan đây là công trình nghiên cứu do tôi thực hiện. Các số liệu và kết quả trình bày trong luận án là trung thực và chưa được công bố bởi bất kỳ tác giả nào hay ở bất kỳ công trình nghiên cứu nào khác.

Tác giả

Ngô Thị Diễm My

Lời Cảm Ơn

Thời gian làm nghiên cứu sinh là giai đoạn tôi đã trải qua rất nhiều khó khăn và thử thách. Để hoàn thành luận án này tôi đã nhận được sự giúp đỡ, động viên và chia sẻ kinh nghiệm của nhiều thầy cô, bạn bè và người thân.

Tôi xin gửi đến lời cảm ơn và lòng biết ơn sâu sắc đến cha, mẹ. Người đã sinh ra và nuôi dưỡng tôi đến ngày hôm nay.

Tôi xin gửi lời cảm ơn sâu sắc đến PGS. TS. Nguyễn Thị Thu Liên và PGS. TS. Tôn Thất Pháp đã tận tâm hướng dẫn, dìu dắt tôi trong suốt thời gian học tập, nghiên cứu và thực hiện luận án.

Tôi xin chân thành cảm ơn PGS. TS. Dương Thị Thủy và PGS. TS. Bùi Mạnh Hà đã giúp đỡ và hỗ trợ tôi trong quá trình nghiên cứu.

Tôi xin chân thành cảm ơn PGS. TS. Trương Thị Hồng Hải đã tạo mọi điều kiện thuận lợi cho tôi trong suốt quá trình học tập tại cơ sở đào tạo.

Xin gửi lời cảm ơn đến quý thầy cô phòng thí nghiệm Tế bào, phòng thí nghiệm Công nghệ gen, Viện Công nghệ Sinh học, Đại học Huế. Phòng thí nghiệm Thực vật, bộ môn Tài nguyên Sinh vật và Môi trường, khoa Sinh, trường Đại học Khoa học, Đại học Huế đã hỗ trợ, giúp đỡ, tạo điều kiện thuận lợi cho tôi trong suốt thời gian thực hiện các thí nghiệm của luận án.

Đặc biệt, tôi xin cảm ơn sự hi sinh hết lòng của chồng Đoàn Phúc Quý cùng sự chăm ngoan, khỏe mạnh của con trai Đoàn Hữu Ngọc. Cảm ơn sự động viên về mặt tinh thần của cô giáo Lê Thị Trĩ, nguyên giảng viên Trường Đại học Sư phạm, Đại học Huế đã giúp tôi vượt qua khoảng thời gian đầy khó khăn và thử thách này.

Cuối cùng, tôi xin kính dâng luận án này đến hương hồn người cha đã mất, kính tặng mẹ, chồng, con trai và các em. Những người đã chấp nhận khó khăn và dành hết lòng yêu thương, động viên tôi trong suốt quá trình hoàn thành luận án.

Huế, ngày tháng năm 2023

Tác giả

Ngô Thị Diễm My

MỤC LỤC

LỜI CAM ĐOAN	i
LỜI CẢM ƠN	ii
MỤC LỤC	iii
DANH MỤC CÁC TỪ VIẾT TẮT	vi
DANH MỤC HÌNH VẼ, ĐỒ THỊ	ix
DANH MỤC BẢNG	xi
MỞ ĐẦU	1
CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN TÀI LIỆU	4
1.1. Giới thiệu về vi khuẩn lam	4
1.1.1. Đặc điểm chung vi khuẩn lam	4
1.1.2. Phân loại vi khuẩn lam	5
1.2. Độc tố cylindrospermopsin	9
1.2.1. Cấu trúc hóa học	9
1.2.2. Tính chất	9
1.2.3. Hàm lượng độc tố cylindrospermopsin trong các thủy vực trên thế giới	10
1.2.4. Ảnh hưởng của các yếu tố môi trường lên hàm lượng và sinh tổng hợp CYN ..	10
1.2.5. Quá trình tổng hợp độc tố cylindrospermopsin	12
1.2.6. Độc tính của cylindrospermopsin	14
1.3. Phương pháp xác định VKL có khả năng sinh độc tố CYN	18
1.3.1. Nhóm gen tham gia quá trình sinh tổng hợp độc tố CYN	19
1.3.2. Phương pháp nhận dạng, phân loại VKL có khả năng sinh độc tố CYN ...	20
1.3.3. Phương pháp xác định độc tố CYN	22
1.4. Tình hình nghiên cứu về độc tố CYN và các loài VKL có khả năng sinh độc tố CYN trên thế giới và ở Việt Nam	23
1.4.1. Trên thế giới	23
1.4.2. Ở Việt Nam	32
1.4.3. Ở Đắk Lắk	33

1.5. Điều kiện tự nhiên chung của khu vực nghiên cứu	35
1.5.1. Vị trí địa lý.....	35
1.5.2. Khí hậu	36
1.5.3. Đặc điểm các hồ chứa nghiên cứu.....	37
CHƯƠNG 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	39
2.1. Đối tượng, địa điểm và thời gian nghiên cứu	39
2.1.1. Đối tượng.....	39
2.1.2. Địa điểm nghiên cứu.....	39
2.1.3. Thời gian nghiên cứu.....	40
2.2. Phương pháp nghiên cứu	40
2.2.1. Phương pháp nghiên cứu ngoài thực địa	40
2.2.2. Phương pháp nghiên cứu trong phòng thí nghiệm	41
2.2.3. Xử lý số liệu	47
CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN	48
3.1. Thành phần loài VKL hồ Ea Nhái và hồ Buôn Phong, tỉnh Đắk Lắk	48
3.1.1. Thành phần loài VKL.....	48
3.1.2. Mô tả hình thái các loài VKL nghiên cứu	53
3.1.3. Các loài VKL có khả năng sinh ra độc tố trong hồ Ea Nhái và hồ Buôn Phong.....	69
3.2. Thể tích sinh học của các loài VKL và hàm lượng độc tố CYN trong hồ Ea Nhái và hồ Buôn Phong	72
3.2.1. Thể tích sinh học của các loài VKL và hàm lượng độc tố CYN trong hồ Ea Nhái.....	72
3.2.2. Thể tích sinh học của các loài VKL và hàm lượng độc tố CYN trong hồ Buôn Phong.....	74
3.3. Khả năng sinh độc tố của các chủng tạo phân lập	79
3.3.1. Kết quả phân lập và nuôi cấy	79
3.3.2. Hàm lượng độc tố CYN trong các chủng phân lập	86
3.3.3. Sự hiện diện của các gen liên quan đến sự tổng hợp độc tố CYN trong các chủng VKL	88

3.3.4. Mối tương quan giữa các gen tổng hợp độc tố và khả năng sinh độc tố CYN trong các chủng	92
3.4. Ảnh hưởng của các yếu tố môi trường lên sự biến động thể tích sinh học của các loài VKL sinh độc tố CYN và hàm lượng độc tố CYN trong hồ Ea Nhái và hồ Buôn Phong.....	97
3.4.1. Ảnh hưởng của các yếu tố môi trường lên sự biến động thể tích sinh học của các loài VKL sinh độc tố CYN và hàm lượng độc tố CYN trong hồ Ea Nhái	97
3.4.2. Ảnh hưởng của các yếu tố môi trường lên sự biến động thể tích sinh học của các loài VKL sinh độc tố CYN và hàm lượng độc tố CYN trong hồ Buôn Phong.....	100
KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ	109
DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH ĐÃ CÔNG BỐ.....	111
TÀI LIỆU THAM KHẢO	112
DANH MỤC PHỤ LỤC.....	P1

DANH MỤC CÁC TỪ VIẾT TẮT

ACHe	: Acetylcholinesterase
CTAB	: Cetyl trimethylammonium bromide
CyanoHABs	: Cyanobacterial Harmful Algal Blooms Nở hoa các loài vi khuẩn lam độc hại
CYN	: Cyindrospermopsin
DNA	: Acid Deoxyribonucleic Phân tử acid nucleic
DO	: Dissolved Oxygen Ôxy hòa tan
DOP	: Dissolved organic phosphorus Phospho hữu cơ hòa tan
DON	: Dissolved organic nitrogen Nitrogen hữu cơ hòa tan
DIP	: Dissolved inorganic phosphorus Phospho vô cơ hòa tan
DW	: Dry weight Trọng lượng khô
EDTA	: Ethylene Diamine Tetraacetic Axit
ELISA	: Enzyme-Linked Immunosorbent Assay Thí nghiệm hấp thụ miễn dịch enzyme liên kết
HPLC	: High-performance liquid chromatography Sắc ký lỏng hiệu năng cao
ICN	: International Code of Nomenclature for algae, fungi, and plants Danh pháp quốc tế cho tảo, nấm và thực vật
ICNB	: International Code of Nomenclature of Bacteria Danh pháp quốc tế về vi khuẩn
ISO	: International Organization for Standardization Tổ chức tiêu chuẩn hóa quốc tế

LC	: Liquid chromatography Sắc ký lỏng
LC/MS	: Liquid chromatography/ Mass spectrometry Sắc ký lỏng ghép khối phổ
LD ₅₀	: Ethal dose, 50% Liều gây chết 50% sinh vật thí nghiệm
MC	: Microcystin
MeOH	: Methanol
MS	: Mass spectrometry Khối phổ
MOSTE	: Ministry of Science, Technology and Environment Bộ Khoa học, Công nghệ và Môi trường
N-NH ₄	: Nitrogen ở dạng amoni
N-NO ₃	: Nitrogen ở dạng nitrat
NGS	: Next-Generation Sequencing Giải trình tự gen thế hệ mới
NRPS	: Nonribosomal peptide synthetase Tổng hợp peptide không ribosome
NTU	: Nephelometric Turbidity Units Đơn vị đo độ đục theo thang Nephelo
OECD	: Organisation for Economic Co-operation and Development Tổ chức Hợp tác và Phát triển Kinh tế
PCA	: Principal Component Analysis Phân tích thành phần chính
PCR	: Polymerase chain reaction Phản ứng chuỗi polimerase
qPCR	: Quantitavetive polymerase chain reaction Phản ứng định lượng chuỗi polimerase

PS	: Peptide synthetases Phức hợp enzyme đa miền tổng hợp peptide
PKS	: Polyketide synthases Phức hợp enzyme đa miền tổng hợp polyketide
P-PO ₄	: Orthophosphat-P hòa tan
RNA	: Acid ribonucleic Phân tử acid nucleic
ROS	: Reactive Oxygen Species Gốc tự do có oxi hoạt động
TAE	: Tris-Acetate-EDTA Đệm chứa hỗn hợp của bazơ Tris, axit axetic và EDTA.
TCVN	: Tiêu chuẩn Việt Nam
Temp.	: Temperature Nhiệt độ
TFA	: Trifluoroacetic acid
TN	: Tổng nitrogen
TNF- α	: Tumor necrosis factor alpha Yếu tố gây hoại tử khối u-alpha
TP	: Tổng phospho
TVPD	: Thực vật phù du
STX	: Saxitoxin
UPLC	: Ultra High Performance Liquid Chromatography Sắc kí lỏng siêu cao áp
UV	: Ultraviolet Tia tử ngoại
VKL	: Vi khuẩn lam
WHO	: World Health Organization Tổ chức Y tế Thế giới

DANH MỤC HÌNH VẼ, ĐỒ THỊ

Hình 1.1. Cấu tạo tế bào vi khuẩn lam.....	5
Hình 1.2. Cấu trúc của phân tử CYN	9
Hình 1.3. Quá trình sinh tổng hợp <i>Cylindrospermopsin</i>	13
Hình 1.4. Cấu trúc nhóm gen tổng hợp CYN trong các chủng VKL khác nhau.	20
Hình 2.1. Bản đồ các vị trí thu mẫu của 2 hồ chứa, tỉnh Đắk Lắk.....	40
Hình 3.1. Tỷ lệ phần trăm số loài theo các bộ ở hai hồ nghiên cứu.....	50
Hình 3.2. Tỷ lệ phần trăm số loài trong các chi VKL ở hồ nghiên cứu.....	51
Hình 3.3. Các loài VKL a,b. <i>M. aeruginosa</i> ; c. <i>M. panniformis</i> ; d. <i>M. flos-aquae</i> ; e. <i>M. wesenbergii</i> ; f. <i>M. botrys</i> trong hồ Ea Nhái và hồ Buôn Phong	64
Hình 3.4. Các loài VKL a. <i>M. novacerkii</i> ; b. <i>M. natans</i> ; c,d. <i>Microcystis</i> sp.1; e,f. <i>Microcystis</i> sp.2 trong hồ Ea Nhái và hồ Buôn Phong	65
Hình 3.5. Các loài VKL a. <i>A. holsatic</i> ; b. <i>M. tenuissima</i> ; c,d. <i>S. fennica</i> ; e,f. <i>W. compacta</i> ; g,h. <i>W. naegeliana</i> trong hồ Ea Nhái và hồ Buôn Phong.....	66
Hình 3.6. Các loài VKL a. <i>O.limosa</i> ; b. <i>O.sancta</i> ; c. <i>Oscillatoria</i> sp.1; d. <i>Oscillatoria</i> sp.2; e. <i>Oscillatoria</i> sp.3; f. <i>P. incrustatum</i> ; g. <i>P. willei</i> ; h,i. <i>P.acticulatum</i> ; j. <i>P. mucicola</i> ; k. <i>P. minima</i> ; l. <i>P. limnetica</i> ; m. <i>P. circumcret</i> trong hồ Ea Nhái và hồ Buôn Phong	67
Hình 3.7. Các loài VKL a. <i>Anabaena</i> sp.1; b. <i>C. ovalisporum</i> ; c. <i>Anabaena</i> sp.2; d. <i>D. circinale</i> trong hồ Ea Nhái và hồ Buôn Phong.....	68
Hình 3.8. Các loài VKL a,b,c,d. <i>R. raciborskii</i> ; e,f. <i>R. mediterranea</i> ; g,h. <i>R. curvata</i> trong hồ Ea Nhái và hồ Buôn Phong.	69
Hình 3.9. Sự biến đổi theo mùa thể tích sinh học của <i>R. raciborskii</i> , <i>R. curvata</i> , <i>R. mediterranea</i> và hàm lượng CYN ở hồ Ea Nhái.....	74
Hình 3.10. Sự biến đổi theo mùa thể tích sinh học của <i>R. raciborskii</i> ; <i>Anabaena</i> sp.2 và hàm lượng CYN ở hồ Buôn Phong	76
Hình 3.11. Hình thái loài <i>R. raciborskii</i> trong nuôi cấy: a-g. Sợi dinh dưỡng với những tế bào dị hình có hình dạng khác nhau; h. Bào tử nghỉ; i. Sợi dinh dưỡng bện lại thành đám	83

Hình 3.12. Hình thái các loài VKL a,b. <i>R. mediterranea</i> ; c,d. <i>R. curvata</i> và e-i. <i>Anabaena</i> sp.2 trong nuôi cấy	84
Hình 3.13. Hình thái các loài VKL a,b. <i>D. circinale</i> ; c-e. <i>Lyngbya</i> sp.; f,g. <i>P. circumcreta</i> ; h. <i>Oscillatoria</i> sp.3 trong nuôi cấy.	85
Hình 3.14. Kết quả PCR khuếch đại gen <i>cyrB</i> (<i>PS</i>) của các chủng VKL phân lập ở hồ Ea Nhái và hồ Buôn Phong	89
Hình 3.15. Kết quả PCR khuếch đại gen <i>cyrB</i> (<i>PS</i>) của các chủng VKL phân lập ở hồ Ea Nhái và hồ Buôn Phong	89
Hình 3.16. Kết quả PCR khuếch đại gen <i>cyrC</i> (<i>PKS</i>) của các chủng VKL phân lập ở hồ Ea Nhái và hồ Buôn Phong	90
Hình 3.17. Kết quả PCR khuếch đại gen <i>cyrC</i> (<i>PKS</i>) của các chủng VKL phân lập ở hồ Ea Nhái và hồ Buôn Phong	91
Hình 3.18. Phân tích thành phần chính (PCA) dựa trên các yếu tố sinh học và phi sinh học trong thời kì từ tháng 5/2019 đến tháng 4/2020 tại hồ Ea Nhái	100
Hình 3.19. Phân tích thành phần chính (PCA) dựa trên các yếu tố sinh học và phi sinh học trong thời kì từ tháng 5/2019 đến tháng 4/2020 tại hồ Buôn Phong	102

DANH MỤC BẢNG

Bảng 1.1. Hệ thống phân loại VKL theo Komárek & Anagnostidis 1999, 2005	8
Bảng 2.1. Vị trí thu mẫu.....	39
Bảng 2.2. Các yếu tố thủy hóa được phân tích trong hai hồ nghiên cứu	45
Bảng 2.3. Những cặp môi được sử dụng để khuếch đại phân đoạn gen <i>cyrB</i> và <i>cyrC</i>	46
Bảng 3.1. Thành phần loài VKL ở hồ Ea Nhái và hồ Buôn Phong	48
Bảng 3.2. Thành phần loài VKL có khả năng sinh độc tố ở hồ Ea Nhái và hồ Buôn Phong	70
Bảng 3.3. Môi tương quan giữa thể tích sinh học của các loài VKL có khả năng sinh độc tố và hàm lượng độc tố CYN trong hồ Ea Nhái	73
Bảng 3.4. Môi tương quan giữa thể tích sinh học của các loài VKL có khả năng sinh độc tố và hàm lượng độc tố CYN trong hồ Buôn Phong	75
Bảng 3.5. Danh sách các chủng VKL phân lập từ hai hồ nghiên cứu	79
Bảng 3.6. Hàm lượng độc tố CYN trong các chủng VKL phân lập từ hai hồ nghiên cứu	86
Bảng 3.7. Sự hiện diện của phân đoạn gen <i>cyrB</i> và <i>cyrC</i> trong các chủng VKL có khả năng sinh độc tố CYN	92
Bảng 3.8. Hàm lượng độc tố CYN và sự hiện diện các phân đoạn gen liên quan đến sự sinh độc tố CYN ở các chủng VKL phân lập.....	96
Bảng 3.9. Các thông số môi trường hồ Ea Nhái từ tháng 5/2019 đến tháng 4/2020	98
Bảng 3.10. Môi tương quan Pearson giữa thể tích sinh học của những loài VKL sinh độc tố CYN và các yếu tố môi trường ở hồ Ea Nhái	99
Bảng 3.11. Các thông số môi trường hồ Buôn Phong từ tháng 5/2019 đến tháng 4/2020 ..	101
Bảng 3.12. Môi tương quan Pearson giữa thể tích sinh học của những loài VKL sinh độc tố CYN và các yếu tố môi trường ở hồ Buôn Phong	103

MỞ ĐẦU

Đắk Lắk là một tỉnh nằm trên địa bàn Tây Nguyên Việt Nam với nhiều vùng đất ngập nước có cấu trúc và nguồn gốc khác nhau (MOSTE, 2001). Nơi đây được mệnh danh là “**Xứ sở của hồ**” với phần lớn trong số chúng là hồ chứa. Bên cạnh vai trò tự nhiên của hồ như điều hòa khí hậu, điều tiết dòng chảy, hồ còn là nguồn cung cấp nước mặt chủ yếu cho các hoạt động sống như: cung cấp nước uống, nước sinh hoạt, chăn nuôi, trồng trọt, nuôi trồng thủy sản và dịch vụ du lịch (Sở NN&PTNN Đắk Lắk, 2018). Gần đây, do biến đổi khí hậu, Đắk Lắk đã xuất hiện những hiện tượng thời tiết cực đoan như: mưa lớn trong một thời gian ngắn, khô hạn kéo dài khắc nghiệt đã làm giảm lượng nước và tăng thời gian tồn lưu nước trong hệ thống hồ chứa. Điều này sẽ thúc đẩy quá trình phú dưỡng bên trong hệ thống hồ. Bên cạnh đó, việc thay đổi diện tích và mục đích sử dụng đất, canh tác nông nghiệp không hợp lý xung quanh vùng lưu vực đã đưa vào hồ một lượng lớn dư lượng phân bón và thuốc trừ sâu hóa học. Cùng với lượng nước thải sinh hoạt, đây được xem là nguyên nhân làm suy giảm chất lượng nước, gây ra hiện tượng phú dưỡng trong các thủy vực dạng hồ ở Đắk Lắk. Hiện tượng này dẫn đến tăng độ đục, tăng hàm lượng dinh dưỡng và tăng sinh khối thực vật phù du, đặc biệt là nhóm loài vi khuẩn lam (VKL) độc hại.

Trên thế giới, hiện tượng phú dưỡng trong các thủy vực nước ngọt dạng hồ cùng với sự ấm lên toàn cầu đã kích thích sự nở hoa của nhóm loài VKL độc hại theo hướng tăng cả tần suất, cường độ và thời gian (Huisman và cs., 2018). Một số chi VKL sinh độc tố có khả năng hình thành hiện tượng nở hoa (CyanoHABs) gây thiệt hại lớn về kinh tế, phá vỡ hệ sinh thái và tạo ra các loại độc tố tự nhiên giải phóng trực tiếp vào môi trường nước (GonzálezPleiter và cs., 2020). Bên cạnh microcystin (MC), cylindrospermopsin (CYN) là một trong những loại độc tố VKL được nghiên cứu phổ biến do khả năng phân bố toàn cầu, khả năng tích lũy sinh học và gây độc tính trên nhiều cơ quan ở người và động vật (gan, thận, phổi, tim, tuyến ức, lá lách, tuyến thượng thận, ruột...) (Flores-Rojas và cs., 2019; Svirčev và cs., 2019; Scarlett và cs., 2020; Wang và cs., 2020). Phần lớn độc tố VKL tồn tại chủ yếu trong nội bào và được giải phóng ra ngoài khi tế bào bị vỡ. Nhưng riêng với độc tố CYN, phần lớn

lượng độc tố được giải phóng vào môi trường nước khi tế bào con nguyên vẹn. Bên cạnh đó, CYN có tính ổn định hóa học cao, tan mạnh trong nước và tốc độ phân hủy chậm dưới ảnh hưởng của các yếu tố phi sinh học trong tự nhiên (Mecaft và cs., 2014; Stefanova và cs., 2020). Điều này có thể làm tăng nguy cơ tiếp xúc và hấp thụ độc tố của các loài sinh vật thủy sinh, gây ra nhiều rủi ro tiềm ẩn và khó khăn trong việc sử dụng và quản lý nguồn nước.

Gần đây, hiện tượng nước đổi màu, xuất hiện mùi khó chịu thường xuyên xảy ra vào mùa khô trong một số hồ chứa trên địa bàn tỉnh Đắk Lắk. Bên cạnh đó, sự xuất hiện của nhóm loài VKL sinh độc tố CYN đã được quan sát thấy trong một số hồ chứa nơi đây nhưng chưa có dữ liệu về độc tố (Lê Thương, 2010). Những thủy vực này đòi hỏi một chương trình giám sát sinh học hiệu quả. Tuy nhiên, những nghiên cứu trước đây chủ yếu tập trung vào điều tra thành phần loài thực vật phù du; biến động cấu trúc quần xã thực vật phù du (Lê Thương, 2010; Dao, 2016). Chưa có các công trình nghiên cứu về nhóm loài VKL độc và khả năng sinh độc tố CYN của nhóm loài này trong các thủy vực ở Đắk Lắk. Vì vậy, “Xác định thành phần loài và khả năng sinh độc tố cylindrospermopsin của vi khuẩn lam trong một số thủy vực ở Đắk Lắk” bên cạnh cung cấp thành phần loài VKL có khả năng sinh độc tố CYN, kết quả sẽ làm cơ sở cho việc dự báo nguy cơ ô nhiễm, rủi ro tiềm ẩn của các loài VKL độc trong vấn đề sử dụng và quản lý nguồn nước.

Mục tiêu nghiên cứu

Đánh giá sự đa dạng về thành phần loài VKL và VKL có khả năng sinh độc tố CYN trong hồ Ea Nhái và hồ Buôn Phong ở Đắk Lắk.

Đánh giá rủi ro tiềm ẩn của nhóm loài VKL có khả năng sinh độc tố CYN trong hồ Ea Nhái và hồ Buôn Phong ở Đắk Lắk.

Xác định nhân tố môi trường ảnh hưởng đến sự biến động quần thể VKL có khả năng sinh độc tố CYN trong hồ Ea Nhái và hồ Buôn Phong.

Nội dung nghiên cứu

Xác định thành phần loài VKL và VKL có khả năng sinh độc tố CYN trong hồ Ea Nhái và hồ Buôn Phong ở Đắk Lắk.

Phân tích sự biến động theo mùa thể tích sinh học của nhóm loài VKL có khả năng sinh độc tố CYN và hàm lượng độc tố CYN trong hồ Ea Nhái và hồ Buôn Phong.

Phân lập và xác định khả năng sinh độc tố CYN của các chủng thông qua xác định sự hiện diện của gen liên quan đến sự sinh tổng hợp độc tố CYN và hàm lượng độc tố của các chủng VKL phân lập được trong hai hồ nghiên cứu.

Xác định mối tương quan giữa các điều kiện môi trường tự nhiên và sự hiện diện của các loài VKL có khả năng sinh độc tố CYN trong hồ Ea Nhái và hồ Buôn Phong ở Đắk Lắk.

Ý nghĩa khoa học và thực tiễn

Cung cấp danh lục thành phần loài VKL và VKL có khả năng sinh độc tố CYN trong hai hồ Ea Nhái và hồ Buôn Phong ở Đắk Lắk, góp phần bổ sung vào danh lục thành phần loài VKL và VKL có khả năng tạo độc tố này trong các thủy vực ở Việt Nam.

Đánh giá sự biến động quần thể VKL sinh độc tố CYN và hàm lượng độc tố CYN trong hai hồ. Từ đó xác định yếu tố môi trường chính kiểm soát sự sinh trưởng quần thể VKL sinh độc tố CYN trong tự nhiên để có biện pháp kiểm soát và kiềm chế sự phát triển bùng phát của nhóm loài VKL độc này.

Kết quả cung cấp cơ sở cho việc dự báo nguy cơ ô nhiễm cũng như đề xuất biện pháp quản lý nhóm loài VKL độc hại, góp phần bảo vệ nguồn tài nguyên nước, bảo vệ sức khỏe cộng đồng.

Những điểm mới của luận án

Là công trình đầu tiên công bố về thành phần loài VKL có khả năng sinh độc tố CYN trong hồ Ea Nhái, Đắk Lắk. Thành phần loài VKL và VKL có khả năng sinh độc tố CYN hồ Buôn Phong, Đắk Lắk.

Lần đầu tiên cung cấp dữ liệu về hàm lượng độc tố CYN trong tự nhiên, hàm lượng độc tố và gen sinh tổng hợp độc tố CYN trong các chủng VKL phân lập từ hồ Ea Nhái và hồ Buôn Phong ở Đắk Lắk.

Xác định được các nhân tố môi trường chính ($P-PO_4$, $N-NH_4$, TP, TN và nhiệt độ) ảnh hưởng đến sự biến động quần thể VKL sinh độc tố CYN trong hai thủy vực này.

CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN TÀI LIỆU

1.1. Giới thiệu về vi khuẩn lam

1.1.1. Đặc điểm chung vi khuẩn lam

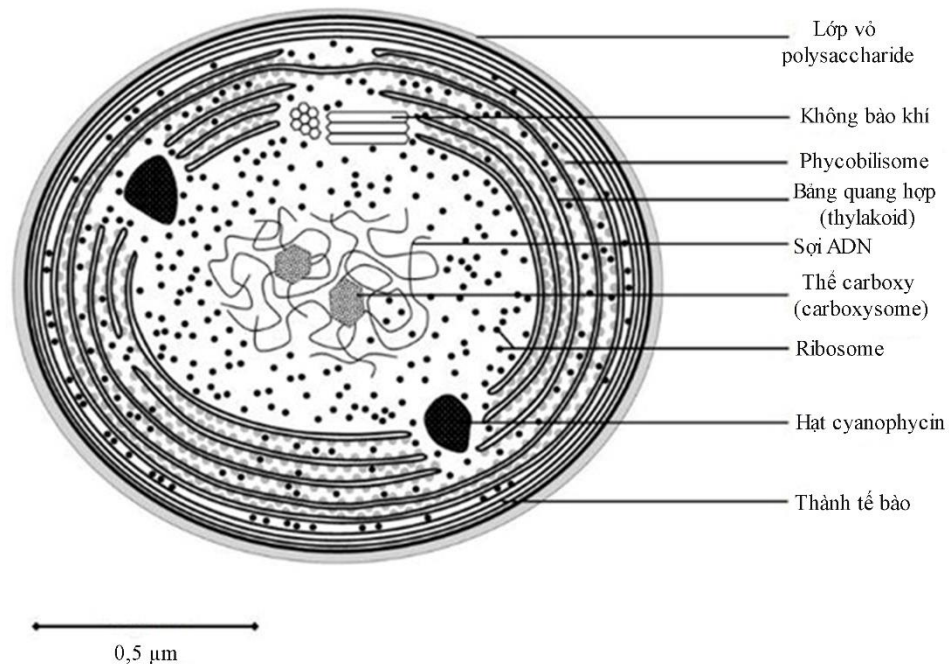
Vi khuẩn lam là sinh vật nhân sơ, tế bào chưa có nhân chính thức và một số bào quan. Đặc biệt, VKL thiếu lục lạp thay vào đó chất diệp lục cho quá trình quang hợp được chứa trong các thylakoid đơn giản, nơi diễn ra các phản ứng phụ thuộc vào ánh sáng của quá trình quang hợp (ngoại trừ *Gloeobacter* spp. không có thylakoid). Tế bào phân làm hai vùng, vùng trung bào chứa yếu tố di truyền và vùng sắc bào chứa các mảng quang hợp (thylakoid). Các mảng quang hợp chứa các sắc tố chlorophyll *a*, β -caroten, xanthophyll và phycobiliprotein. Với nhóm tảo có sắc tố chlorophyll *b* thì không có sắc tố phycobiliprotein và các mảng quang hợp dính thành cặp đôi. Chất dự trữ là tinh bột VKL. Ngoài ra, ở tế bào chất còn gặp các hạt phycocyanin tích trữ protein, các hạt volutin dự trữ phosphate và thể carboxy chứa enzyme Rubisco.

Vi khuẩn lam xuất hiện ở dạng đơn bào, tập đoàn hoặc đa bào dạng sợi. Tế bào VKL có thể có hình cầu, hình elip, hình thùng, hình trụ, hình nón hoặc hình đĩa. Chúng không có roi và thành tế bào cấu tạo bằng peptidoglycan giống vi khuẩn. Tuy nhiên, nhiều loài ở dạng sợi, thể hiện khả năng di chuyển lượn, cơ chế của chúng vẫn chưa được hiểu đầy đủ (Chorus và Welker, 2021).

Ngoài hình thức dinh dưỡng chủ yếu là quang tự dưỡng, VKL còn có khả năng quang dị dưỡng, dị dưỡng, sử dụng các chất hữu cơ có trong môi trường dưới dạng nguồn năng lượng bổ sung. VKL có khả năng cố định nitrogen của không khí thông qua tế bào dị hình (heterocyte). Quá trình còn được gọi là diazotrophy liên quan đến nitrogenase, các enzyme có khả năng khử nitrogen không khí thành amoni. Tế bào dị hình là những tế bào chuyên biệt, có vách dày và có các nốt cực ở phần tiếp xúc giữa tế bào dị hình và tế bào dinh dưỡng.

Vi khuẩn lam không có sinh sản hữu tính, chỉ sinh sản dinh dưỡng phân đôi tế bào hay tảo đoạn và sinh sản vô tính bằng nội bào tử và ngoại bào tử. Bào tử nghỉ (akinete) cũng được hình thành để giúp VKL vượt qua được điều kiện bất lợi của môi trường. Akinete được đặc trưng bởi kích thước lớn hơn so với tế bào sinh dưỡng.

Thành tế bào có nhiều lớp, thường chứa các hạt glycogen và cyanophycin. Sự hình thành và nảy mầm của bào tử nghỉ được kích hoạt bởi các điều kiện môi trường. Vị trí, số lượng và sự phân bố của các dị bào và bào tử nghỉ là những đặc điểm hình thái quan trọng của loài và chi.



Hình 1.1. Cấu tạo tế bào vi khuẩn lam (Hoeck và cs., 1998)

1.1.2. Phân loại vi khuẩn lam

Cũng như tất cả các sinh vật, tiêu chí quan trọng để phân loại VKL trong hệ thống phân loại là các mối quan hệ phát sinh loài. Mối quan hệ này phản ánh sự phân nhóm của các sinh vật trong các đơn vị phân loại. Đơn vị phân loại (Taxon) là nhóm các sinh vật cụ thể có chung một tổ tiên tiến hóa và có thể ở bất cứ bậc phân loại nào như: bộ, họ, chi, loài và dưới loài.

Đối với VKL, việc phân loại còn phức tạp vì có hai hệ thống danh pháp phân loại khác nhau cùng tồn tại: Bộ luật danh pháp Quốc tế về tảo, nấm và thực vật (ICN) và Bộ luật danh pháp Quốc tế về vi khuẩn (ICNB). Ngày nay, hầu hết các loài VKL đã được mô tả theo mã danh pháp thực vật dựa trên các đặc điểm hình thái học. Trong lịch sử, nhiều hệ thống phân loại VKL dựa trên các đặc điểm hình thái và tế bào học như Gomont 1892; Bornet và Flahault, 1886-1888; Geitler, 1942. Do bản chất nhân sơ của VKL,

Stainer và cs. (1978) đề xuất sử dụng phương pháp đa pha (phương pháp đã được sử dụng cho vi khuẩn) để phân loại VKL. Phương pháp này dựa trên việc đánh giá các đặc điểm hình thái, sinh lý, tế bào học và sinh hóa bằng cách sử dụng các chủng nuôi cấy vô khuẩn làm đơn vị phân loại cơ bản. Tương tự, Rippka và cs. (1979) và Castenholz và cs. (2001) đã đề xuất sử dụng mã danh pháp vi khuẩn để phân loại VKL thành 5 phần (section I = Chroococcales, section II = Pleurocapsales, section III = Oscillatoriales, section IV = Nostocales và section V = Stigonematales) thay vì các bộ (Order) như các hệ thống phân loại khác. Anagnostidis và Komarek (1985) đã đưa ra một hệ thống phân loại sửa đổi chủ yếu dựa theo phương pháp tiếp cận thực vật. Hệ thống này sử dụng những đặc điểm hình thái như sự phân chia tế bào, phân cực, sự phân nhánh, thuôn nhỏ dần của sợi và sự hình thành của hormogonia để xác định và phân biệt chi. Những dữ liệu có sẵn về hình thái, sinh lý, di truyền, sinh thái được sử dụng để đánh giá tính hợp lệ của loài được mô tả trước đây và xác định đơn vị phân loại. Công trình này tập trung vào việc xác định hình thái của hầu hết các loài VKL trong các mẫu tự nhiên và được các nhà sinh thái học sử dụng phổ biến để nghiên cứu sự đa dạng của VKL.

Tuy nhiên, Komarek và Anagnostidis (1989) ước tính rằng hơn 50% các chủng trong các bộ sưu tập nuôi cấy không được xác định chính xác theo phương pháp này. Một số đặc điểm nhận dạng như không bào khí, bào tử nghỉ (akinetes) có thể biến đổi ở những môi trường khác nhau hoặc trong điều kiện sinh trưởng và thậm chí bị mất trong quá trình nuôi cấy. Hơn nữa, hình thái của các loài và các chủng VKL thay đổi đáng kể để đáp ứng với các điều kiện sinh trưởng thực tế (độ mềm dẻo kiểu hình) khiến việc phân định loài trở thành một nhiệm vụ đầy thách thức. Những hạn chế của các đặc điểm hình thái đã nêu bật yêu cầu về các phương pháp đáng tin cậy hơn (Kurmayer và cs., 2017). Trong vài thập kỷ gần đây, các phương pháp phân loại hiện đại dựa vào những đặc điểm siêu cấu trúc (vị trí thylakoid, sự có hay vắng mặt của không bào khí), đặc điểm sinh hóa (cấu trúc và hàm lượng sắc tố; sản xuất axit béo và cấu hình hợp chất chuyển hóa thứ cấp) và đặc điểm phân tử (phát sinh loài của gen *16S rRNA*) đã trở thành những phương pháp phân loại quan trọng. Phân loại dựa trên sự kết hợp những đặc điểm về phân tử, sinh hóa, sinh lý, hình thái, sinh thái được gọi là phương pháp phân loại đa pha (polyphasic taxonomy), trong đó đánh giá di truyền là cơ sở và được kết hợp với các đặc điểm phân loại khác từ phân tích hình thái, sinh lý và sinh thái (Chorus và Welker, 2021).

Hoffmann và cs. (2005a, b) đã giới thiệu một hệ thống phân loại VKL mới. Đây là hệ thống phân loại đầu tiên tiếp cận theo hướng đa pha dựa trên sự kết hợp các đặc điểm di truyền, đặc điểm siêu cấu trúc và dữ liệu kiểu hình trong phân loại. Trong hệ thống này bốn phân lớp được đưa ra: Gloeobacteriophycidae, Synechococcophycidae, Oscillatoriphycidae và Nostochophycidae. Sự hiện diện hoặc vắng mặt thylakoid, sự sắp xếp của thylakoid và sự hiện diện của tế bào dị hình được sử dụng để phân chia các phân lớp. Phân lớp Gloeobacteriophycidae chỉ bao gồm bộ Gloeobacterales được đặc trưng bởi thiếu thylakoid. Hai phân lớp Synechococcophycidae và Oscillatoriphycidae chứa cả dạng đơn bào và dạng sợi. Nhưng họ Synechococcophycidae (bao gồm cả Pseudabaenales) được đặc trưng bởi các thylakoid nằm song song với bề mặt tế bào, trong khi Oscillatoriphycidae được đặc trưng bởi sự sắp xếp xuyên tâm của các thylakoid. Tất cả các chi dị bào được kết hợp trong một phân lớp Nostocophycidae mà không có sự phân tách cổ điển của các loại nostocalean và stigonematalean. Tuy nhiên, theo ghi nhận của Hoffmann và cs. (2005), dữ liệu phân tử hiện có không phản ánh toàn bộ đa dạng sinh học của VKL và nhiều chủng xác định sai cũng cản trở việc giải thích cây phát sinh loài (Hoffmann và cs., 2005).

Để khắc phục những hạn chế trong hệ thống phân loại của Hoffmann và cs. (2005), toàn bộ hệ thống phân loại VKL (loài, chi, họ, bộ) đã được tái cấu trúc và sửa đổi trong hệ thống phân loại mới của Komárek và cs. (2014) dựa trên danh pháp nhị thức thực vật. Hệ thống này phần lớn dựa trên trình tự toàn bộ bộ gen, các đặc điểm siêu cấu trúc (sự phân bố của thylakoid) và những dữ liệu của nhiều cây phát sinh loài đã được công bố. Các đặc điểm cổ điển và hình thái học như sự hình thành các sợi hoặc sự hiện diện của các bào nhầy ít quan trọng hơn. Ví dụ, chi dạng sợi *Pseudanabaena* được nhóm lại cùng với chi *Synechococcus* đơn bào trong cùng một bộ Synechococcales. Tuy nhiên, hệ thống vẫn được trình bày dựa trên các chi truyền thống đã được mô tả hợp lệ và xác định về mặt hình thái. Đồng thời áp dụng phương pháp đa pha trong mọi trường hợp có sẵn dữ liệu phân tử, dữ liệu sinh hóa và sinh thái (Komárek và cs., 2014). Trong nghiên cứu này, chúng tôi sử dụng hệ thống phân loại của Komárek & Anagnostidis, 1999, 2005.

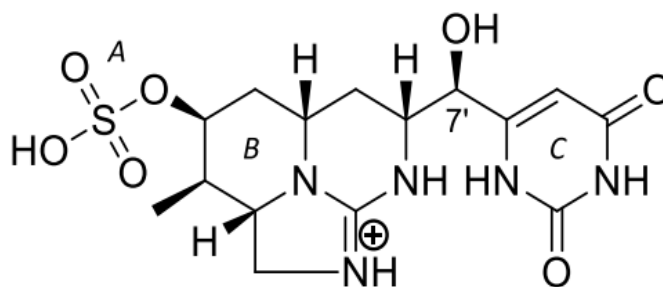
Bảng 1.1. Hệ thống phân loại VKL theo Komárek & Anagnostidis 1999, 2005

Bộ	Những đặc điểm hình thái	Họ
Chroococcales	Gồm những loài VKL đơn bào hoặc tập đoàn nhưng không phải dạng sợi. Không có tế bào dị hình và bào tử nghỉ. Sinh sản chủ yếu bằng hình thức phân đôi, tế bào phân chia ở một, hai hay nhiều mặt phẳng vuông góc. Bộ này gồm 11 họ và 93 chi.	<i>Gloeobacteraceae, Synechococcaceae, Merismopediaceae, Chamaesiphonaceae, Microcystaceae, Chroococcaceae, Entophysalidaceae, Hydrococcaceae, Dermocarpellaceae, Xenococcaceae, Hyellaceae.</i>
Oscillatoriales	Gồm những loài VKL dạng sợi, đơn độc hay hình thành màng hoặc khối, trôi nổi tự do hoặc bám vào đài vật. Sợi không có nhánh thật, nhánh giả có hoặc không, có hay không có bao nhầy. Không có tế bào dị hình và bào tử nghỉ. Tế bào phân chia vuông góc với trục dài của mao tản. Tế bào đỉnh đôi lúc tròn, nhọn, cong, có mũ khi trưởng thành. Sinh sản sinh dưỡng bằng tảo đoạn (hormogonia). Bộ này gồm 6 họ và 34 chi.	<i>Pseudanabaenaceae, schizotricha-ceae, Borziaceae, Phormidiaceae, Gomontiellaceae, Oscillatoriaceae.</i>
Nostocales	Gồm những loài VKL dạng sợi, đôi khi có phân nhánh giả. Vì vậy, mao tản của bộ này luôn luôn cùng một dãy, không nhánh hoặc nhánh giả và sự phân chia tế bào vuông góc với trục dài mao tản. Bộ này gồm 4 họ và 26 chi.	<i>Scytonemataceae, Microhaetaceae, Rivulariaceae, Nostocaceae</i>
Stigonematales	Gồm những loài VKL dạng sợi, phân nhánh thật, có tế bào dị hình và bào tử nghỉ, sinh sản bằng hình thức tảo đoạn (hormogonia). Bộ này gồm 7 họ và 11 chi.	<i>Capsosiraceae, Stigonemataceae, Fischerellaceae, Borzinemataceae, Loriellaceae, Nostochopsaceae, Mastigocladaceae.</i>

1.2. Độc tố cylindrospermopsin

1.2.1. Cấu trúc hóa học

Cylindrospermopsin (CYN) là loại độc tố dạng vòng hepatotoxic. Độc tố này là một alkaloid với một trung tâm guanidine moiety ba vòng liên kết một nhóm sunfat và một hydroxymethyl uracil (Adamski và cs., 2020).



Hình 1.2. Cấu trúc của phân tử CYN: A - nhóm sunfat, B - guanidine moiety ba vòng, C - vòng uracil (Adamski và cs., 2020)

CYN có công thức phân tử là $C_{15}H_{21}N_5O_7S$ và trọng lượng là 415,43 Dalton (U.S. Environmental Protection Agency, 2006). Nó là một ion lưỡng cực (Ohtani và cs., 1992). Bốn đồng phân của CYN trong tự nhiên đã được xác định: 7-epi-cylindrospermopsin (7-epi-CYN), 7-deoxy-cylindrospermopsin (7-deoxy-CYN), 7-deoxydesulpho-cylindrospermopsin và 7-deoxydesulpho-12-acetylcylindrospermopsin (Chorus và Welker, 2021). 7-Deoxy-CYN có thể được sản xuất bởi *Raphidiopsis raciborskii*, *Raphidiopsis curvata*, *Raphidiopsis mediterranea*, *Lyngbya wollei*, *Oscillatoria* sp. và *Phormidium ambiguum*; 7-epi-CYN mới chỉ được phân lập với *Aphanizomenon ovalisporum* ILC-164 và *Oscillatoria* sp. PCC 6506 lần lượt đóng góp 10% và 68,6% vào tổng sản lượng độc tố. Hai đồng phân còn lại 7-deoxy-desulfo-CYN và 7-deoxy-desulfo-12-acetyl-CYN được xác định từ một chủng *R. raciborskii* của Thái Lan (Yang và cs., 2021).

1.2.2. Tính chất

CYN có dạng bột trắng, tan mạnh trong nước thành một dung dịch trong suốt. CYN cũng tan được trong dimethylsulfoxide và methanol. Không giống như độc tố microcystin (MC) dễ bị phân hủy quang học, CYN tương đối ổn định trong bóng tối và

dưới tác động ánh sáng mặt trời. CYN có tính ổn định hóa học cao, bền vững trong nhiều điều kiện ánh sáng, nhiệt độ và pH khác nhau. Phần lớn độc tố CYN được giải phóng ra môi trường nước bên ngoài, tốc độ phân hủy CYN chậm dưới ảnh hưởng của các yếu tố phi sinh học trong tự nhiên (Mecaft và cs., 2014; Stefanova và cs., 2020). Vì vậy, chúng gây ra nhiều rủi ro tiềm ẩn và khó khăn trong việc sử dụng và quản lý nguồn nước.

1.2.3. Hàm lượng độc tố cylindrospermopsin trong các thủy vực trên thế giới

Nhóm nghiên cứu của Yang và cs. (2021) đã thu thập những dữ liệu định lượng về hàm lượng độc tố CYN trong nước của 164 thủy vực ở sáu lục địa khác nhau trên thế giới. Những dữ liệu này cho thấy, CYN hiện diện phổ biến trong nguồn nước ở các thủy vực Châu Âu, Châu Á, Châu Đại Dương và Bắc Mỹ, với nồng độ trung bình lần lượt là 0,54 µg/L; 0,7 µg/L; 2,25 µg/L và 1,12 µg/L. Những dữ liệu về sự hiện diện của CYN trong các thủy vực ở Nam Mỹ và Châu Phi thì ít hơn. Tuy nhiên, nhóm tác giả cũng đã thống kê được nồng độ CYN trung bình ở Nam Mỹ và Châu Phi lần lượt là 2,5 µg/L và 2,35 µg/L. Tổng hàm lượng CYN (nội bào và ngoại bào) cao nhất được báo cáo là 1050 µg/L từ nguồn cung cấp nước nông trại ở trung tâm Queensland và việc tiêu thụ nguồn nước này đã gây chết cho gia súc (Shaw et al., 2004). Humpage và Falconer (2003) đã đề xuất một nồng độ an toàn cho phép là 1 µg/L đối với nước uống để ngăn chặn tác dụng không mong muốn của CYN khi sử dụng. Từ những dữ liệu tổng hợp được, nhóm nghiên cứu Yang cũng đã thống kê các vùng nước có nồng độ CYN lớn hơn hoặc bằng 1 µg/L lần lượt chiếm 40,0%, 39,4%, 68,8%, 52,4%, 66,7% và 75% ở Châu Âu, Châu Á, Châu Đại Dương, Bắc Mỹ, Nam Mỹ và Châu Phi (Yang và cs., 2021). Thông qua các dữ liệu thống kê cho thấy, CYN hiện diện khá phổ biến trong nhiều thủy vực trên toàn cầu, đặc biệt là ở các thủy vực dùng làm nước uống. Qua đó, đã cho thấy các mối nguy hiểm đối với sức khỏe cộng đồng và cần phải có những chương trình đánh giá, giám sát liên tục và kiểm soát đầy đủ độc tố gây ô nhiễm này.

1.2.4. Ảnh hưởng của các yếu tố môi trường lên hàm lượng và sinh tổng hợp CYN

Các nghiên cứu điều tra ngoài môi trường tự nhiên và trong phòng thí nghiệm còn cho thấy quá trình sản xuất CYN có thể bị ảnh hưởng bởi các yếu tố môi trường như: Nhiệt độ, ánh sáng và chất dinh dưỡng. Saker và Griffiths (2000) đã tìm thấy mối

tương quan nghịch giữa khả năng tạo CYN của *R. raciborskii* và nhiệt độ. Ở 35°C, tất cả các chủng phân lập đều phát triển tốt nhưng không có chủng nào tạo ra CYN. Ngược lại, ở 20 °C, sự phát triển của các chủng là bị ngừng lại nhưng hàm lượng CYN tạo ra cao hơn. Tương tự, tổng hàm lượng CYN tạo ra từ *Chrysosporum ovalisporum* thay đổi từ 1,56 - 2,24 µg/mg trọng lượng khô (DW) trong phạm vi 15 °C - 30 °C, nhưng gần như bị giảm hoàn toàn ở 35 °C (0,09 µg/mg DW), giảm khoảng 25 lần. Một cuộc khảo sát kéo dài một năm cũng cho thấy nhiệt độ có tương quan thuận đáng kể đến nồng độ CYN trong ao cá ở Ai Cập, với hệ số tương quan tương ứng là 0,80 và 0,88 đối với tổng hàm lượng CYN (Yang và cs., 2021).

Bên cạnh nhiệt độ, cường độ ánh sáng cũng ảnh hưởng đến quá trình sản xuất CYN. Khi tiếp xúc ánh sáng với cường độ từ 15–340 µE/m/s, *C. ovalisporum* tạo ra tổng CYN nằm trong khoảng từ 1,32 µg/mg DW ở 340 µE/m/s đến 6,37 µg/mg DW ở 60 µE/m/s. Mặc dù có sự biến đổi 4 lần về hàm lượng CYN nhưng không có mối tương quan tuyến tính nào được quan sát thấy giữa hai thông số trên ở loài này (Cirés và cs., 2011). Ngược lại, cường độ ánh sáng cho thấy mối tương quan thuận đáng kể với hàm lượng CYN được tạo ra trong môi trường nuôi cấy *R. raciborskii*. Cường độ ánh sáng càng cao (18–140 µmol photon/m/s) càng làm tăng quá trình sản xuất CYN nội bào (0–192 µg CYN/L/ngày) và ngoại bào (0,3–9,8 µg CYN/L/ngày) (Dyble và cs., 2006). Phần trăm CYN ngoại bào cao hơn cũng được quan sát thấy dưới cường độ ánh sáng cao hơn (Pierangelini và cs., 2015). Tương tự, Mohamed và Bakr (2018) cũng cho thấy mối tương quan thuận chặt chẽ giữa CYN nội bào và cường độ ánh sáng 440 - 4625 µmol photon/m/s. Những phát hiện này trái ngược với dữ liệu từ một cuộc khảo sát thực địa trong 21 hồ nước ở Đức, nơi mà khả năng sản xuất CYN nội bào tương quan nghịch với bức xạ hoạt động quang hợp trung bình (PAR) và không có mối quan hệ nào giữa CYN ngoại bào và PAR được quan sát. Bên cạnh đó, mối quan hệ giữa khả năng tạo độc tố CYN với cường độ ánh sáng còn phụ thuộc vào nhiệt độ khi thí nghiệm bán liên tục trên các chủng *Aphanizomenon flos-aquae*. Ở 16 °C và 20 °C, CYN tăng đáng kể với sự gia tăng của cường độ ánh sáng từ 10 đến 60 µE/m²/s, trong khi chúng giảm dần trong cùng một cường độ ánh sáng khi nhiệt độ 25 °C (Yang và cs., 2021).

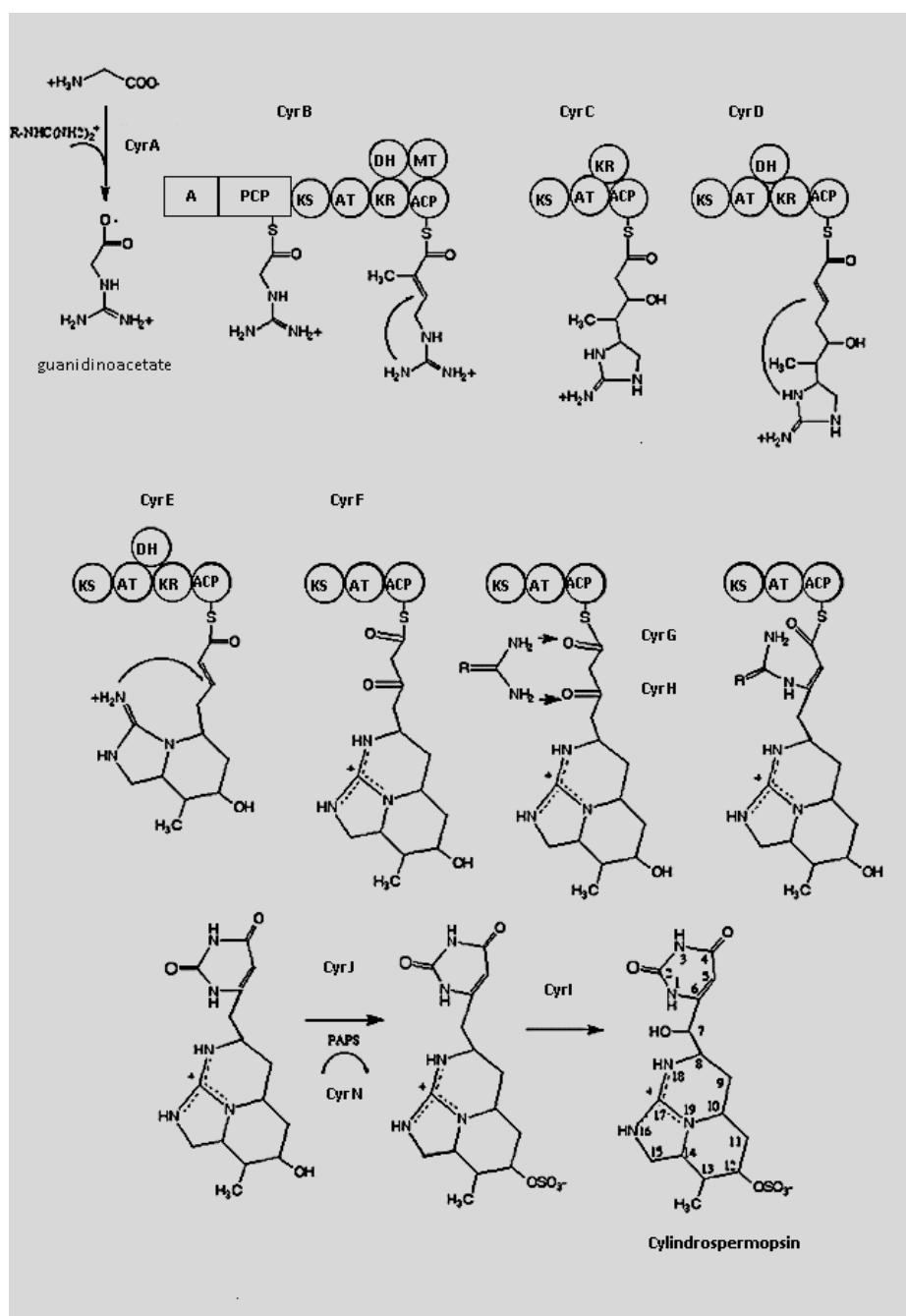
Tác động của các chất dinh dưỡng, đặc biệt là phospho (P) và nitrogen (N), đến khả năng sản xuất CYN đã được nghiên cứu rộng rãi. Bácsi và cs. (2006) đã cho thấy sự thiếu hụt P và sunfat (S) trong môi trường nuôi cấy *C. ovalisporum* dẫn đến hàm lượng CYN giảm lần lượt là 48% và 65% trong hai ngày. Khi P và S được bổ sung trở lại trong môi trường, mức độ độc tố bắt đầu tăng lên đáng kể. Những phát hiện này hoàn toàn phù hợp với quan sát của Burford và cs. (2014), họ đã phát hiện ra hàm lượng CYN nội bào cao hơn khi bổ sung P trong hồ chứa mà *R. raciborskii* chiếm ưu thế. Ngược lại, khả năng tạo CYN được kích hoạt bởi sự thiếu hụt P ở *Aphanizomenon*, kết hợp với sự biểu hiện điều hòa của gen điều hòa PHO và gen sinh tổng hợp CYN. Hơn nữa, giới hạn P cũng thúc đẩy sự giải phóng CYN và hạn chế sự tích tụ CYN trong các tế bào của *Aphanizomenon*. CYN được giải phóng tích cực từ các tế bào nguyên vẹn và hàm lượng CYN ngoại bào lần lượt chiếm 7,88% – 21,27% và 35,20% – 96,48% khi bổ sung P và giới hạn P (Yang và cs., 2021).

1.2.5. Quá trình tổng hợp độc tố cylindrospermopsin

Cụm gen hoàn chỉnh (*cyr*) để tổng hợp CYN lần đầu tiên được giải trình tự từ *R. raciborskii* (Mihali và cs., 2008). Gen này có kích thước 43 kb và mã hóa cho 15 khung đọc mở (ORF). Quá trình sinh tổng hợp bắt đầu với enzyme amidinotransferase và được hoàn thành bởi enzyme peptide synthetase hoặc enzyme polyketide synthase và các enzyme điều chỉnh.

Quá trình sinh tổng hợp được bắt đầu thông qua việc chuyển nhóm guanidino từ arginine sang glycine được xúc tác bởi gen *CyrA* (*AoaA*) tạo thành sản phẩm trung gian đầu tiên guanidinoacetate. Tiếp theo, gen *CyrB* (*AoaB*) là một môđun tổng hợp peptide không qua ribosom (NRPS) và sinh tổng hợp polyketide (PKS) lai (NRPS/PKS) nhận ra guanidinoacetate và xúc tác sự hình thành của dị vòng chứa N. Bốn gen PKS, *CyrC* - *F* xúc tác thêm cho sự kéo dài của chuỗi polyketide tạo ra cấu trúc ba vòng. *CyrG* và *CyrH*, tương đồng với cytosine deaminase, xúc tác hình thành của vòng uracil. Sau khi hình thành bộ khung carbon, các phản ứng điều chỉnh được xúc tác bởi *CyrI*, *CyrJ* và *CyrN* để sulfat hóa ở C12 và hydroxyl hóa ở C7. Adenylylsulfate kinase *CyrN* xúc tác sự hình thành 3'-phosphoadenosine-5'-phosphosulfate (PAPS), chất cho sulfate cho sulfo-transferase *CyrJ*. *CyrJ* sulfat hóa nhóm guanidine ba vòng tại C12 để tạo ra 7-deoxy-CYN. Cuối cùng, *CyrI* (oxygenase) xúc tác quá trình hydroxyl hóa C7 để tạo

thành sản phẩm cuối cùng là CYN hoặc 7-epi-CYN. *CyrK* được giả thuyết là một chất vận chuyển CYN. Hai enzyme vận chuyển *CyrL* và *CyrM* có thể chịu trách nhiệm vận chuyển theo chiều ngang của các gen *cyr*. *CyrO* có thể tham gia vào quá trình điều hòa phiên mã và liên kết DNA trong cụm gen *cyr*. Ba loại protein này cùng nhau quyết định phần nào khả năng gây độc của các chủng (Yang và cs., 2021).



Hình 1.3. Quá trình sinh tổng hợp Cyindrospermopsin (Mihali và cs., 2008)

1.2.6. Độc tính của cylindrospermopsin

CYN đã được chứng minh là có độc tính đối với nhiều loài vi khuẩn, động vật nguyên sinh, thực vật, động vật không xương sống và động vật có xương sống bao gồm cả con người.

Cũng có bằng chứng cho thấy CYN có thể tích lũy sinh học ở nhiều cấp độ khác nhau trong chuỗi thức ăn. Cơ chế gây độc chủ yếu bằng cách ức chế sự tổng hợp protein, tương tác với cytochrome P450 (CYP450), gây ra stress oxy hóa và đứt gãy sợi DNA, liên kết với các thụ thể estrogen và ảnh hưởng đến hoạt động của acetylcholinesterase (AChE) (Yang và cs., 2021). Trên thế giới, đã có nhiều công trình nghiên cứu về độc tính của CYN lên sinh vật ở cấp độ cơ thể và cấp độ tế bào.

1.2.6.1. Độc tính đối với người

Khám phá đầu tiên về độc tố CYN theo sau một sự kiện nở hoa độc hại xảy ra ở Palm Island, Australia vào năm 1979 khi 148 người phải nhập viện với các triệu chứng ngộ độc thực phẩm, bao gồm nôn mửa và thay đổi kích thước và cấu trúc gan, sau khi uống nước từ hồ chứa địa phương (Hawkins và cs., 1985). Về sau, có rất nhiều nghiên cứu tập trung đến sự tổn thương do CYN gây ra trên cơ thể người. Các nghiên cứu đi sâu vào sự thay đổi của hệ gen. Sự phân mảnh DNA, sự hình thành vi nhân và sự mất đoạn nhiễm sắc thể do CYN gây ra được quan sát thấy trong nhiều dòng tế bào khác nhau ở những nồng độ và thời gian phơi nhiễm khác nhau. Ví dụ: dòng tế bào nguyên bào lympho ở người WIL2-NS phơi nhiễm với nồng độ 1-10 mg/mL trong 48 giờ; dòng tế bào Caco-2 phơi nhiễm với 0,5-2 mg/mL trong 24 giờ; dòng tế bào u gan ở người HepG2 sau 12 giờ phơi nhiễm với 0,5 mg/mL và 24 giờ với nồng độ thấp hơn 0,01; 0,05 và 0,1 mg/mL (Poniedzialek và cs., 2014b). Tiếp đến nhóm nghiên cứu của Štraser đã phát hiện thấy chu kỳ tế bào bị ngừng lại, tăng cường tạo các gốc tự do có oxy (ROS) và phá vỡ DNA do stress oxy hóa trong các tế bào u gan ở người HepG2 khi được xử lý với CYN (Štraser và cs., 2013a,b).

Ngoài độc tính tế bào và độc tính gen được đánh giá thường xuyên, CYN cũng thể hiện độc tính miễn dịch và độc tính nội tiết. Để hiểu rõ hơn về những ảnh hưởng tiềm tàng của CYN đối với hệ thống miễn dịch của người, Zegura và cs. (2011a) đã chứng minh rằng khi phơi nhiễm CYN với nồng độ 0,5 mg/mL có thể làm thay đổi sự biểu hiện của các gen liên quan đến quá trình chết theo chương trình (BAX và

BCL-2), phản ứng stress oxy hóa (GPX1, GSR, GCLC và SOD1) và chuyển hóa độc tố trong các tế bào bạch cầu trung tính. Trái ngược với các cuộc điều tra của Zegura, trong nghiên cứu của Poniedzialek và cs. (2014a), CYN không gây ra quá trình chết tế bào hoặc hoại tử trong bạch cầu trung tính mà chỉ làm giảm khả năng chống nhiễm trùng thông qua việc giảm sản xuất gốc tự do khi phơi nhiễm kéo dài 1 giờ ở nồng độ phù hợp. Trước đó, nhóm tác giả này cũng phát hiện khi phơi nhiễm với 1,0 mg/mL CYN sẽ ức chế phản ứng tăng sinh của tế bào lympho T đối với các phân tử trong 72 giờ nuôi cấy (Poniedzialek và cs., 2014a,b). Độc tính nội tiết của CYN cũng được phát hiện khi nghiên cứu trên tế bào hạt có nguồn gốc từ thụ tinh trong ống nghiệm (IVF) ở người. Sau 24 giờ phơi nhiễm với 1 g/mL CYN đã ức chế việc sản xuất progesterone cơ bản ($p < 0,01$). Tương tự, 6 giờ phơi nhiễm với 1 g/mL CYN đã ức chế sản xuất progesterone do hCG kích thích ($p < 0,01$). Trong thử nghiệm in vitro này, CYN ức chế sản xuất progesterone và do đó có khả năng gây rối loạn nội tiết bằng cách thay đổi tỷ lệ progesterone: estrogen ở phụ nữ (da Silva và cs., 2018).

1.2.6.2. Độc tính đối với động vật

Trường hợp tử vong đầu tiên do CYN gây ra trên động vật nuôi xảy ra ở Queensland vào năm 1997. Vào thời điểm đó, hồ đang bị nở hoa do loài *R. raciborskii* gây ra và nồng độ CYN được xác định là 4,1fg/tế bào. Tiếp theo đó là hai vụ ngộ độc riêng biệt đã được điều tra ở vùng trung tâm và vùng Tây Bắc Queensland, Úc liên quan đến tổng số 55 con bò. Các khám nghiệm sau đó cho biết chúng đã nhiễm độc tố CYN khi uống phải nguồn nước trong trang trại tại thời điểm nở hoa của *R. raciborskii*. Hàm lượng CYN cũng đã được xác định trong nguồn nước là rất cao 1050 µg/L, hàm lượng độc tố tích tụ trong dạ cỏ, gan và thận của gia súc lần lượt là 570 µg/kg, 7,4–51 µg/kg và 9,4–29 µg/kg ở trung tâm Queensland (Yang và cs., 2021). Bên cạnh đó, 91 con Bò Nông đốm (*Pelecanus crispus*) chưa trưởng thành đã được tìm thấy đã chết trong khoảng thời gian một tháng tại hồ chứa Karla, Hy Lạp. Ba loại độc tố VKL là MCs, CYN và saxitoxin (STX) đã được phát hiện trong mô của loài chim này với hàm lượng CYN là 148,43 ng/g trong gan của chúng. Điều này cũng cho thấy rằng CYN cũng có khả năng phối hợp với các loại độc tố VKL khác gây ra hiện tượng chết hàng loạt (Papadimitriou và cs., 2018).

CYN cũng gây ra các thay đổi bệnh lý ở cá rô phi (*Oreochromis niloticus*) khi tiếp xúc với một liều uống duy nhất 400 µg/kg. Kết quả đã quan sát thấy sự tích tụ glycogen và lipid trong mô gan, viêm cầu thận và giãn ống thận, phù tim và xuất huyết, hoại tử tế bào ruột đường tiêu hóa và xuất huyết ở mang. Ngoài ra, CYN còn được phát hiện bằng ELISA trong não cá này khi tiếp xúc 14 ngày với nồng độ lặp lại (10 µg/L) trong môi trường có chứa CYN và deoxy-CYN. Tiếp theo đó, CYN cũng đã được tìm thấy trong não của cá Sói (*Hoplias malabaricus*) sau khi tiêm phúc mạc CYN tinh khiết hoặc chiết xuất từ dòng *R. raciborskii* (50 µg/kg thể trọng) 7 tới 14 ngày. Các bất thường về sinh hóa và hình thái ở gan và não cũng được đưa ra (da Silva và cs., 2018). Gần đây nhất, độc tính phát triển của CYN cũng đã được báo cáo trong phôi cá ngựa vằn. Khi tiếp xúc với CYN ở hàm lượng 2–2000 nM đã làm giảm tỷ lệ sống và nở của phôi trên đối tượng này, đồng thời gây ra các bất thường về hình thái, bao gồm phù màng ngoài tim, cong cột sống, biến dạng đuôi, các khuyết tật về tim và mạch máu (Wang và cs., 2020a, b).

Để hiểu rõ hơn về cơ chế gây tử vong của CYN trên động vật, đã có rất nhiều nghiên cứu được tiến hành kiểm tra trên chuột trong phòng thí nghiệm. Nhiều nghiên cứu cho rằng các chất được chiết xuất từ tế bào có chứa CYN và CYN tinh khiết đều gây ra rối loạn chức năng gan và thận ở chuột sau khi tiêm qua đường phúc mạc hoặc uống qua đường miệng (Chernoff và cs., 2018; Moraes và Magalhães, 2018). Liều gây chết trung bình sau khi tiêm phúc mạc (LD₅₀) của CYN tinh khiết ở chuột là 2,1 mg/kg và 0,2 mg/kg trong 24 giờ và 5–6 ngày. Moosova và cs. (2019) báo cáo rằng dòng tế bào miễn dịch (có nguồn gốc từ đại thực bào) RAW 264.7 ở chuột là mục tiêu của CYN. Các tế bào RAW 264.7 được xử lý bằng độc tố CYN tinh khiết (1 mM) đã bị ảnh hưởng đáng kể đến việc sản xuất interferon, ví dụ như TNF-α (Moosova và cs., 2019). Độc tính thần kinh trên tế bào não chuột của CYN có thể liên quan đến sự mất tổ chức khung tế bào, stress oxy hóa và thay đổi hoạt động của acetylcholinesterase (Hinojosa và cs., 2019).

1.2.6.3. Độc tính đối với thực vật

Tác động độc hại của CYN trên các loài động vật đã được nghiên cứu rộng rãi, nhưng có rất ít nghiên cứu tập trung vào ảnh hưởng của chúng đối với thực vật. CYN có những tác động đến sự sinh trưởng thực vật nhưng các kết quả không đồng nhất trong một số nghiên cứu đã công bố, nó có thể ức chế hoặc kích thích sự tăng trưởng phụ thuộc vào nồng độ và thời gian tiếp xúc với CYN.

Csaba và cs. (2015) khi nghiên cứu sự phơi nhiễm của hai loài cây thủy sinh *Lemna minor* và *Wolffia arrhiza* với CYN trong vòng 5 ngày, họ đã thấy quá trình tăng trưởng của *L. minor* giảm đáng kể được thể hiện qua số lượng lá khi tiếp xúc với CYN trong dịch chiết thô và CYN tinh chế ở nồng độ 1–20 µg/mL. Đối với *W. arrhiza*, CYN tinh khiết làm giảm đáng kể trọng lượng tươi ở khi tiếp xúc ở nồng độ 0,1 µg/mL; 10 µg/mL và 20 µg/mL. Trong khi đó, cả số lượng lá và trọng lượng tươi đều giảm đáng kể khi tiếp xúc với dịch chiết xuất thô ở nồng độ 10 µg/mL và 20 µg/mL (Flores-Rojas và cs., 2020). Tương tự, nhóm nghiên cứu Freitas cho thấy rằng cây xà lách (*Lactuca sativa*) vẫn có thể sinh trưởng ổn định ở nồng độ 1 µg/L và 10 µg/L của CYN bằng cách đảm bảo duy trì và thậm chí tăng trọng lượng tươi, hàm lượng khoáng chất và kiểm soát quá trình stress oxy hóa, thông qua sự gia tăng đáng kể hoạt động GST trong rễ. Tuy nhiên, khi tiếp xúc với hàm lượng 100 µg/L CYN dẫn đến giảm đáng kể trọng lượng tươi của lá và hàm lượng khoáng chất trong nó, điều này làm nổi bật tiềm năng tác động của độc tố này đối với năng suất và chất lượng dinh dưỡng của cây xà lách (Freitas và cs., 2015).

Trái ngược với những kết quả trên, cây rau má dù (*Hydrocotyle verticillata*) thể hiện sự kích thích tăng trưởng rễ ở khi tiếp xúc với 400 µg/L CYN. Trong nghiên cứu của mình, Kinnear và cs. (2007) cũng đã cho thấy sự tăng sinh khối ở cây bèo dấm (*Landoltia auctata*) khi phơi nhiễm với 117 g/L của CYN. Bên cạnh đó, Flores-Rojas cũng cho thấy sự kích thích trọng lượng tươi và chiều dài chồi của cây thủy uẩn thảo (*Egeria densa*) trong vòng 14 ngày đầu khi tiếp xúc với 2,5 µg/L và 25 µg/L CYN (Flores-Rojas và cs., 2020).

1.2.6.4. Độc tính đối với động vật phù du

Độc tính của các loài VKL có khả năng tạo CYN và độc tính của CYN lên các loài động vật phù du (ĐVPD) nước ngọt không đồng nhất. Sự ức chế đáng kể đối với sự tăng trưởng và sinh sản cũng như giảm khả năng ăn thịt của ĐVPD đã được quan sát trong môi trường nuôi cấy mà khẩu phần ăn của chúng là thuần loài *R. raciborskii*, hoặc khi loài này chiếm tỷ lệ đáng kể trong khẩu phần ăn hỗn hợp (Soares và cs., 2010; Bednarska và Slusarczyk, 2013). Lei và cs. (2020) cho thấy sự phát triển và khả năng sống sót cao của *Daphnia sinensis* khi trong khẩu phần ăn của chúng chỉ có tảo lục *Chlorella pyrenoidosa*. Ngược lại, sự tăng trưởng của *D.*

sinensis giảm đáng kể và sự sinh sản hoàn toàn bị ức chế khi *Microcystis aeruginosa* và *R. raciborskii* chiếm 100% trong khẩu phần ăn được cung cấp. Việc bổ sung *C. pyrenoidosa* vào khẩu phần ăn với hai loài VKL trên đã làm giảm đáng kể tác hại của chúng đối với loài *D. sinensis* (Lei và cs. 2020). Nhóm nghiên cứu của Nogueira (2004) cho thấy *R. raciborskii* có thể ảnh hưởng đến sự phát triển và khả năng tăng trưởng của con non *Daphnia magna*. Sau 48 giờ, tỷ lệ phần trăm sống sót của con non *D. magna* khi tiếp xúc với chủng Cylin-A (một chủng tạo CYN được phân lập từ Úc) và chủng Cylin-P (một chủng không tạo CYN được phân lập từ Bồ Đào Nha) lần lượt là 10 % và 93,3 %. Kết quả cho thấy chủng độc Cylin-A gây ra tỷ lệ chết rất cao trên con non *D. magna*. Trên cùng đối tượng *D. magna*, Dao và cs. (2017) cho thấy khi phơi nhiễm với chất chiết xuất thô từ *R. raciborskii* ở nồng độ 1 mg/L và 5 mg/L thì lại kích thích khả năng sinh sản và chỉ ảnh hưởng nhẹ đến khả năng sống sót của *D. magna*. Trong khi đó, khi phơi nhiễm ở nồng độ 25 mg/L và 100 mg/L gây ra tỷ lệ chết cao trên đối tượng này (Dao và cs., 2017). Bên cạnh đó, chủng *R. raciborskii* trong nghiên cứu của Ferrao-Filho và cs. (2007) còn làm giảm hoạt động bơi lội ở *Daphnia pulex* do cơ chế hoạt động của các độc tố mà chúng tạo ra. Trái lại, các nghiên cứu ngoài thực địa và trong phòng thí nghiệm đều chỉ ra rằng một số loài động vật phù du vẫn có thể phát triển và sinh sản trong nước có *R. raciborskii* (Soares và cs., 2010; Weithoff và cs., 2017). Họ thấy rằng, *R. raciborskii* ít gây hại cho *Brachionus calicyflorus* hơn loài *M. aeruginosa*. Hơn nữa, kết quả này cũng phù hợp với các quan sát từ một hồ chứa nhiệt đới phú dưỡng, nơi quần xã ĐVPD (chủ yếu là sự phong phú của luân trùng) giảm trong thời kỳ *Microcystis* nở hoa và đa dạng hơn trong thời kỳ *Raphidiopsis* ưu thế. Những quan sát này cho thấy rằng *Raphidiopsis* có thể ít gây bất lợi cho *Brachionus* hơn *Microcystis*. Các nghiên cứu sâu hơn nên được tiến hành để đánh giá độc tính tiềm ẩn của các chủng VKL này đối với sự phát triển và sinh sản của ĐVPD.

1.3. Phương pháp xác định VKL có khả năng sinh độc tố CYN

Trên thế giới, đã có rất nhiều công trình công bố về nhóm loài VKL có khả năng sinh độc tố CYN (Adamski và cs., 2020). Trong công trình này, các loài VKL đã được phân lập, nuôi cấy, tiến hành xác định hàm lượng độc tố (nội bào và ngoại bào) và kiểm tra sự hiện diện nhóm gen tham gia vào quá trình sinh tổng hợp độc tố CYN

trong các chủng VKL phân lập được. Nếu độc tố được xác định thấy trong các chủng phân lập của một loài thì có thể khẳng định loài này có khả năng sinh độc tố. Bên cạnh đó, sự có mặt của phân đoạn gen sinh tổng hợp độc tố CYN trong các chủng phân lập là minh chứng chắc chắn hơn cho khả năng tạo độc tố CYN của loài đó. Phân lập, nuôi cấy, tiến hành xác định hàm lượng độc tố và kiểm tra sự hiện diện nhóm gen sinh tổng hợp độc tố CYN trong các chủng VKL phân lập được là cơ sở để xác định khả năng sinh độc tố CYN của một loài VKL trong thủy vực.

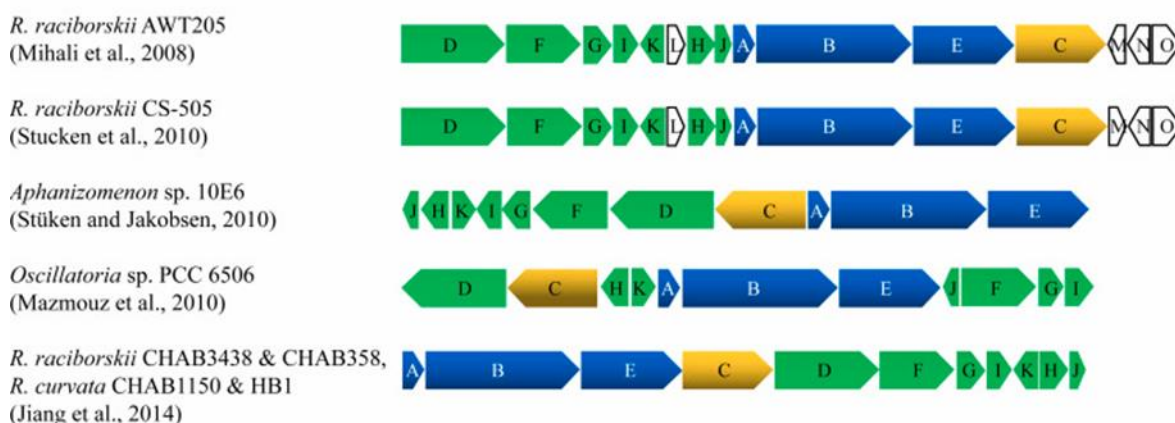
1.3.1. Nhóm gen tham gia quá trình sinh tổng hợp độc tố CYN

Năm 2008, toàn bộ cụm gen *cyr* chịu trách nhiệm sinh tổng hợp độc tố CYN ở chủng *R. raciborskii* AWT205 lần đầu tiên được đề xuất bởi Mihali và cs. (2008) dựa trên công nghệ di chuyển gen, cụm gen *cyr* có kích thước 43 kb và chứa 15 khung đọc mở mã hóa tất cả các enzyme cần thiết cho quá trình sinh tổng hợp (*cyrA-J* và *cyrN*), quá trình điều hòa (*cyrL*, *cyrM* và *cyrO*) và quá trình bài tiết (*cyrK*) độc tố CYN. Cụm gen này bao gồm bốn gen *PKS* (*cyrC*, *cyrD*, *cyrE*, *cyrF*), một gen lai *PKS/NRPS* (*cyrB*), một số gen chịu trách nhiệm cho các phản ứng điều chỉnh (*cyrI*, *cyrJ*, *cyrN*) và các gen khác với chức năng cụ thể (*cyrA*, *cyrH*, *cyrK*, *cyrO*) (Mihali và cs., 2008).

Ba bước đầu tiên trong quá trình sinh tổng hợp CYN liên quan đến enzyme amidinotransferase, enzyme lai *PKS/NRPS* và enzyme *PKS*. Ở *R. raciborskii* AWT205, ba khung đọc mở (ORF) này lần lượt được ký hiệu là *cyrA*, *cyrB*, *cyrC* và tương ứng với các gen *aoaA*, *aoaB* và *aoaC* trong chủng *A. ovalisporum* ILC-164 (Mihali và cs., 2008). Hai gen *PKS* (*cyrC*) và *PS* (*cyrB*) được chứng minh là 2 gen chính liên quan đến sự sản xuất độc tố CYN ở các loài VKL có khả năng sinh độc tố này. Sự hiện diện của 2 gen *PKS* (*cyrC*) và *PS* (*cyrB*) là bằng chứng đầy đủ để thăm dò và đánh giá khả năng sinh độc tố CYN của các loài VKL trên phương diện lý thuyết. Tuy nhiên, theo Schembri (2001) sự có mặt của 1 hoặc 2 gen này là đủ vì sự hiện diện đồng thời hoặc vắng mặt một trong hai gen thì vẫn có khả năng sinh độc tố (Schembri và cs., 2001). Do đó, có thể sử dụng các gen này như chỉ thị phân tử để xác định sự hiện diện của các loài có khả năng sinh độc tố CYN trong các thủy vực.

Cho đến nay, trình tự hoàn chỉnh của cụm gen *cyr* từ một số chủng VKL độc đã được công bố: chủng *R. raciborskii* AWT205, CS-505, CS-506, CHAB3438, CHAB-

358; *Aphanizomenon* sp. 10E6 (GQ385961.1); *Oscillatoria* sp. PCC 6506; *R. curvata* CHAB1150, CHAB114, HB1 và *R. mediterranea* FSS1-150/1. Sự tương đồng cao về trình tự và sự sắp xếp lại các gen trong các cụm gen *cyr* cho thấy các cụm gen này ở các loài khác nhau có thể tách ra từ một tổ tiên chung. Tuy nhiên, sự khác biệt về số lượng, trình tự và cách thức tổ chức trong cụm gen ở các chi khác nhau có thể dẫn đến sự thay đổi độc tính trong các chi này (Yang và cs., 2021).



Hình 1.4. Cấu trúc nhóm gen tổng hợp CYN trong các chủng VKL khác nhau (Yang và cs., 2021)

1.3.2. Phương pháp nhận dạng, phân loại VKL có khả năng sinh độc tố CYN

Phản ứng chuỗi polymerase (PCR) là phương pháp thường được sử dụng để sàng lọc nhanh VKL có khả năng sinh độc tố CYN. DNA của VKL được chiết xuất từ các mẫu môi trường hoặc mẫu nuôi cấy. Sau đó, cụm gen *cyr* được khuếch đại bằng cách sử dụng các đoạn mồi PCR đặc hiệu được thiết kế theo trình tự cụm gen *cyr* trong ngân hàng gen (GenBank). Sự xuất hiện của các phân đoạn gen thuộc nhóm gen *cyr* khi điện di trên gel agarose cho thấy sự tồn tại của các loài VKL sản xuất CYN tiềm năng. Mặc dù, có nhiều gen tham gia vào quá trình sinh tổng hợp độc tố CYN nhưng các gen *cyrA*, *cyrB*, *cyrC* và *cyrJ* được xem như những chỉ thị phân tử để phát hiện các mẫu dương tính với độc tố và được sử dụng phổ biến trong các nghiên cứu sàng lọc những loài VKL có khả năng sinh độc tố CYN (Magonono và cs., 2018; Yang và cs., 2021; Cordeir và cs., 2021).

Bên cạnh đó, qPCR (quantitative real-time PCR) cũng có thể được sử dụng trong quá trình này, dựa trên giả định rằng số lượng bản sao của gen sinh tổng hợp CYN phản

ánh độc tính của loài. Nhóm nghiên cứu của Chiu đã so sánh tương quan giữa các gen *rpoC1* và gen *cyrC* với mật độ tế bào *Raphidiopsis* và nồng độ CYN để đánh giá tỷ lệ các loài sinh độc tố tiềm ẩn trong quần thể *Raphidiopsis* trong tự nhiên, chứng minh giá trị của qPCR trong việc định lượng VKL mục tiêu và gen độc tố (Chiu và cs., 2017).

Trong những năm gần đây, đo lường và giải trình tự gen thế hệ mới (NGS) đã mở ra những con đường mới để theo dõi VKL gây độc và dự đoán động thái của những độc tố VKL. Sự phong phú tương đối của các trình tự gen liên quan đến VKL và quá trình sinh tổng hợp độc tố VKL được thu thập sau khi thu mẫu, chiết xuất DNA, xây dựng thư viện DNA, giải trình tự gen và phân tích dữ liệu (Walter và cs., 2018). Dựa trên metabarcoding của gen *16S rRNA* và những gen sinh tổng hợp độc tố VKL (*anaF*, *cyrJ*, *mcyE* và *sxtI* cho *ATX*, *CYN*, *MCs* và *STX*), NGS đã mô tả được các đơn vị phân loại của VKL và VKL tạo độc tố (Casero và cs., 2019). Ngoài ra, NGS cho thấy sự vượt trội rõ rệt trong việc giám sát các đơn vị phân loại có mức độ phong phú thấp mà hầu như không thể phát hiện được bằng cách kiểm tra bằng kính hiển vi.

Trong phân loại VKL nói chung và VKL có khả năng sinh độc tố CYN nói riêng, những hạn chế trong phương pháp so sánh hình thái đã nêu bật yêu cầu về các phương pháp đáng tin cậy hơn và thúc đẩy sự tiếp cận phương pháp phân tử trong phân loại VKL độc. Các gen ribosome như: *16S rRNA*, *16S-ITS-23S* và một số gen mã hóa protein: RNA polymerase (*rpo*), ribulose biphosphate carboxylase (*rbc*), photosystem II lipoprotein (*psb*) và vùng đệm (IGS) giữa hai tiểu đơn vị beta và alpha phycocyanin (*cpcBA-IGS*) được sử dụng phổ biến trong nhận dạng, phân loại các loài VKL độc. Bên cạnh đó, dựa vào dữ liệu phân tử một số đơn vị phân loại VKL cổ điển đã được sửa đổi và đổi tên để phù hợp với mối quan hệ trong cây phát sinh loài (Chorus và Welker, 2021).

Dựa vào trình tự gen *16S rRNA* và sự vắng mặt của các thể khí, nhóm loài phù du thuộc chi *Anabaena* đã được phân loại lại và tách thành chi mới *Dolichospermum*. Hơn nữa, một số loài hình thái khác theo truyền thống được phân loại là *Anabaena*, nay hình thành nhóm di truyền riêng biệt là *Sphaerospermopsis* dựa vào phân tích trình tự gen *16S rRNA* (Komarek, 2016). McGregor và cs. (2015) cũng cho thấy sự tương đồng cao về trình tự theo cặp trong nhánh *16S rRNA* của tất cả mười một chủng

Lyngbya wollei, dao động từ 97-100%. Nhóm này có quan hệ họ hàng xa (độ tương đồng <92% nucleotide) với các đơn vị phân loại khác thuộc chi *Lyngbya* (C. Agardh ex Gomont) trước đây. Những kết quả này gợi ý rằng nhóm VKL độc này khác biệt về mặt tiến hóa và đủ xa để được tách thành một chi riêng biệt. Chi này được nhóm tác giả mô tả dưới tên *Microseira* nên *L. wollei* đổi tên thành *Microseira wollei* (McGregor và cs., 2015). Dựa trên trình tự 16S *rRNA*, 16S-ITS-23S và *cpcBA-IGS*, đặc điểm siêu cấu trúc, sinh lý, hình thái, Aguilera và cs. (2018) cho thấy hai chi *Raphidiopsis* và *Cylindrospermopsis* hầu như giống hệt nhau. Do đó, các chủng *Raphidiopsis* và *Cylindrospermopsis* tạo nên một dòng đơn ngành trong tất cả các quá trình tái tạo phát sinh loài. Hơn nữa, một số nghiên cứu phát sinh loài dựa trên nhiều gen (16S *rRNA*, *psbA*, *rbcL*, *rbcS*, *cpcB*) và cấu trúc gen thứ cấp (16S-ITS-23S) đã chứng minh rằng các loài trong chi *Raphidiopsis* và *Cylindrospermopsis* là một nhóm đa thể cần được sửa đổi (Komarek, 2013; Li và cs., 2016). Vì vậy nhóm tác giả đã đề xuất hợp nhất hai chi dưới tên *Raphidiopsis* theo nguyên tắc ưu tiên (Aguilera và cs., 2018).

1.3.3. Phương pháp xác định độc tố CYN

1.3.3.1. Phương pháp miễn dịch

Phương pháp hấp thụ miễn dịch enzyme liên kết (ELISA) là phương pháp thường được sử dụng do có độ nhạy và tính đặc hiệu cao, dễ thao tác. Nguyên lý của kỹ thuật ELISA là dựa vào tính đặc hiệu kháng nguyên - kháng thể. ELISA cạnh tranh trực tiếp là kỹ thuật ELISA rất hiệu quả cho định lượng các yếu tố hiện diện trong mẫu với lượng nhỏ. Kỹ thuật này định lượng CYN dựa vào các kháng thể đặc hiệu. ELISA cạnh tranh sử dụng một lượng kháng nguyên liên kết enzyme (CYN-HRP, kháng nguyên cạnh tranh) cùng loại với kháng nguyên CYN mà ta muốn định lượng trong mẫu cho phản ứng cạnh tranh với cùng một loại kháng thể CYN của thỏ (rabbit anti-CYN antibodies) có trong dung dịch. Một số bộ kit ELISA có sẵn trên thị trường để phát hiện CYN với giới hạn phát hiện dưới 1 µg/L. Bộ kit ELISA cạnh tranh trực tiếp để xác định CYN trong khoảng nồng độ 0,05-2 µg/L đã được phát triển và có sẵn trên thị trường với một vi tấm gồm 96 giếng (Abraxis LLC, Warminster, PA, USA và Beacon Analytical Systems, Inc., Saco ME, USA).

1.3.3.2. Phương pháp hóa học

Sắc ký lỏng (LC) là một phương pháp hiệu quả để phân tách và định lượng độc tố CYN với độ chính xác và độ đặc hiệu cao. Các ứng dụng phổ biến nhất của sắc ký lỏng là sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC), sắc ký lỏng siêu hiệu suất (UPLC) và sắc ký lỏng kết hợp với khối phổ (LC-MS hoặc LC-MS/MS). UPLC mang lại một lợi thế đáng kể so với HPLC thông thường vì nó cho phép tách rất nhanh các chất phân tích (thời gian chạy khoảng 10 phút) và giảm đáng kể việc sử dụng dung môi, thường là 0,3 mL/phút so với 1 mL/phút cho các hệ thống HPLC thông thường.

Việc bổ sung một đầu dò khối phổ (MS) vào các hệ thống sắc ký (LC) làm chúng trở thành một công cụ rất mạnh trong phân tích độc tố VKL. Khối phổ có thể cung cấp chỉ báo về thành phần nguyên tố và cấu trúc của chất phân tích cùng với việc xác định lượng chất phân tích mà vật liệu chuẩn có sẵn với độ nhạy cao. Các kỹ thuật sắc ký bị hạn chế bởi các quy trình tiền xử lý rườm rà và thiếu các chất chuẩn cho các đồng phân CYN. MS là kỹ thuật duy nhất phân biệt và định lượng rõ ràng các đồng phân này (Yang và cs., 2021), một lợi thế đáng kể so với ELISA. Các hệ thống LC-MS/MS phức tạp hơn, kết hợp nhiều hơn một đầu dò khối phổ. Khi các ion của chất phân tích đi qua máy phân tích khối phổ, thiết bị đầu tiên cho phép lựa chọn chất phân tích dựa trên khối lượng ion mẹ, trong khi thiết bị thứ hai cho phép phát hiện chọn lọc các ion phân đoạn. Điều này làm cho LC-MS/MS trở thành một kỹ thuật phân tích có độ đặc hiệu cao. Nhiều nghiên cứu trên thế giới đã áp dụng thành công các phương pháp này trong việc xác định độc tố CYN.

1.4. Tình hình nghiên cứu về độc tố CYN và các loài VKL có khả năng sinh độc tố CYN trên thế giới và ở Việt Nam

1.4.1. Trên thế giới

CYN là một trong những độc tố VKL phân bố rộng rãi trong các châu lục trên toàn cầu. Cho đến nay, nhiều loài VKL bản địa và ngoại lai thuộc bộ Nostocales và bộ Oscillatoriales đã được chứng minh có khả năng sinh độc tố CYN như: *Anabaena lapponica* Borge; *A. flos-aquae* Ralfs ex Bornet & Flahault; *Aphanizomenon gracile* Lemmermann; *Chrysosporum bergii* (Ostenfeld) E. Zapomelova, O. Skacelova, P. Pummann, R. Kopp & E. Janecek (Syn. *Anabaena bergii* Ostenfeld); *C. ovalisporum*

(Forti) E. Zapomelova, O. Skacelova, P. Pumann, R. Kopp & E. Janecek (Syn. *A. ovalisporum* Forti); *Dolichospermum mendotae* (W. Trelease) Wacklin, L. Hoffmann & Komarek; *Dolichospermum planctonicum* (Brunnthaler) Wacklin, L. Hoffmann & Komarek (Syn. *Anabaena planctonica* Brunnthaler); *R. curvata* F. E. Fritsch & M. F. Rich; *R. mediterranea* Skuja; *Microseira wollei* (Farlow ex Gomont) G. B. McGregor & Sendall ex Kenins (Syn. *Lyngbya wollei* (Farlow ex Gomont) Speziale & Dyck); *Oscillatoria* sp. PCC6506; *Umezakia natans*. M. Watanabe (Adamskii và cs., 2020) và *Phormidium ambiguum* Gomont (Gaget và cs., 2017a). Một đề xuất tập trung vào *Aphanizomenon klebahnii* Elenkin ex Pechar với tư cách là nhà sản xuất CYN giả định cũng đã được công bố và gần đây *Anabaena affinis*, *Planktothrix agardhii*, *Cylindrospermopsis catemaco* và *Cylindrospermopsis philippinensis* lần đầu tiên được xác định tạo độc tố CYN (Mohamed và Bakr, 2018). Bên cạnh các loài nêu trên, một số loài tạo CYN tiềm năng khác chỉ được xác định ở cấp độ chi như *Aphanizomenon* sp.; *Anabaena* sp. (Stefanova và cs., 2020). Gần đây, khi tiến hành sàng lọc độc tố từ 157 chủng VKL trong bộ sưu tập của ngân hàng tảo và VKL Azorean (BACA), Cordeiro và cs. (2021) đã xác định được hai chủng BACA0025 và BACA0031 là đơn vị phân loại VKL mới tạo CYN bằng phân tích phát sinh loài. Nhóm tác giả cho rằng, các nghiên cứu sâu hơn là cần thiết để xác nhận và mô tả các đơn vị phân loại mới này với đặc điểm hình thái học, phân tích 16S rRNA và ITS (Cordeiro và cs., 2021).

Những loài VKL sinh độc tố CYN có sự phân bố theo các vùng địa lý khác nhau. Bên cạnh đó, các chủng độc và không độc thường tồn tại trong cùng quần thể. Cho đến nay, chỉ có các chủng *R. raciborskii* ở Úc, New Zealand và Châu Á được phát hiện là có thể tạo ra CYN. Trong khi không có chủng *R. raciborskii* nào từ Bắc và Nam Mỹ, Châu Phi và Châu Âu tổng hợp CYNs (Burford và cs., 2016, 2019). *C. ovalisporum* tạo CYN đã được báo cáo từ các chủng hoặc trong các mẫu môi trường ở Úc, Florida, Thổ Nhĩ Kỳ, Israel và Tây Ban Nha. Ở Trung và Bắc Âu, sự xuất hiện CYN phần lớn được cho là do sự hiện diện của *Aphanizomenon* sp. và *Dolichospermum* spp. (Kokociński và cs., 2013).

Trong các thủy vực tự nhiên, có thể còn xuất hiện nhiều loài VKL có khả năng sinh độc tố CYN chưa được phát hiện. Việc sử dụng phương pháp phân tử để sàng

lọc các loài VKL này là cơ sở để đảm bảo an toàn nguồn nước. Trên thế giới, đã có nhiều nghiên cứu điều tra phân tử - di truyền để chứng minh khả năng tạo CYN trong các loài VKL tiềm năng. Các nghiên cứu trước đây cho rằng VKL tạo độc tố CYN phải có các gen tương đồng của *cyrA*, *cyrB* và *cyrC* để sản xuất độc tố (Tawong và cs., 2019). Năm 2001, Schembri và cs. đã sử dụng hai cặp mồi đặc hiệu M4, M5 và M13, M14 để xác định gen tổng hợp CYN và ông đã khuếch đại thành công hai phân đoạn gen *PS* (*cyrB*) và *PKS* (*cyrC*) từ hai chủng VKL độc *R. raciborskii* AWT205 và CYP020B bằng kỹ thuật PCR (Schembri và cs., 2001). Bên cạnh đó, hai cặp mồi còn được Bittencourt-Oliveira và cs. (2011) sử dụng để khẳng định khả năng gây độc của một số loài VKL độc tiềm năng xuất hiện trong các mẫu nước chứa độc tố CYN. Kết quả cho thấy cả hai phân đoạn gen *cyrB* và *cyrC* đều hiện diện trong tất cả các mẫu nước môi trường có chứa độc tố CYN và các loài VKL độc tiềm năng (Bittencourt-Oliveira và cs., 2011). Để xác định các loài VKL có khả năng sinh độc CYN trong 10 hồ chứa nước Đông bắc Brazil, Lorenzi và cs. (2015) đã sử dụng hai cặp mồi của Schembri và thấy rằng CYN chỉ được phát hiện trong các mẫu nước chứa cả hai phân đoạn gen *cyrB* và *cyrC* (Lorenzi và cs., 2015). Tương tự, cặp mồi M13 và M14 cũng được sử dụng để xác định sự hiện diện của các gen chứa protein sản xuất độc tố CYN trong trầm tích của lưu vực sông Limpopo. Kết quả cho thấy rằng phân đoạn gen *cyrB* chỉ xuất hiện trong mẫu trầm tích có độc tố CYN và loài *R. raciborskii* (Magonono và cs., 2018). Cordeir và cs. (2021) cũng sử dụng hai cặp mồi này để sàng lọc các chủng sinh độc tố CYN trong một bộ sưu tập nuôi cấy gồm 157 chủng tảo. Kết quả đã sàng lọc được hai chủng (BACA0025 và BACA0031) đều chứa cả hai phân đoạn gen *cyrB* và *cyrC* và có độc tố khi kiểm tra bằng ESI-LC-MS/MS (Cordeir và cs., 2021). Các gen *cyrB* và *cyrC* đã trở thành chỉ thị để thăm dò, kiểm soát các loài VKL sinh độc tố CYN trong các nguồn nước một cách nhanh chóng và chính xác.

Sự phát triển và sự chiếm ưu thế của VKL bị ảnh hưởng bởi các yếu tố vật lý, hóa học và sinh học trong các thủy vực. Một trong những thách thức chính khi quản lý sự nở hoa của nhóm loài VKL độc hại là tính linh hoạt cao của chúng khi phản ứng với các yếu tố môi trường. Tính linh hoạt này có thể là do sự thích nghi sinh lý và tính mềm dẻo kiểu hình (sự biến đổi trong các chủng), sự biến đổi di truyền giữa các chủng và sự thích nghi về mặt tiến hóa. Vì vậy, hiểu và dự đoán được sự biến động quần thể dưới

tác động của các yếu tố môi trường là cơ sở để giám sát, kiểm soát hiện tượng nở hoa VKL độc hại và đảm bảo an ninh nguồn nước. Trên thế giới, nhiều loài VKL được xác định tạo CYN nhưng những nghiên cứu sinh thái về nhóm loài này còn hạn chế. Các nghiên cứu chủ yếu tập trung vào những loài ngoại lai xâm hại, gây nở hoa phổ biến trong các thủy vực dạng hồ trên thế giới như: *R. raciborskii* và *C. ovalisporum*.

C. ovalisporum là một loài VKL được coi là có khả năng xâm hại vì có khả năng thích nghi sinh thái cao trong điều kiện môi trường thay đổi. Nở hoa lần đầu được mô tả từ Hồ Kinneret, Israel vào năm 1994, sự nở hoa tiếp đó được báo cáo trong các hồ và hồ chứa ở Lebanon, Thổ Nhĩ Kỳ, Hy Lạp, Ý và Tây Ban Nha. *C. ovalisporum* cũng đã được tìm thấy ở Florida và ở Tanzania, Đông Phi. Ở Úc, nở hoa đã xảy ra ở các hồ đô thị nhỏ ở Đông Nam Queensland, Đông Bắc NSW và sông Murray (Cire's và cs., 2016; Bowling và cs., 2018). Trừ một số trường hợp ngoại lệ, đa số sự nở hoa xảy ra ở nhiệt độ nước trên 25 °C trong các vùng nước có độ mặn từ thấp đến trung bình (độ dẫn điện từ 350 đến 3550 $\mu\text{S cm}^{-1}$), độ trong suốt của nước từ thấp đến trung bình (độ sâu đĩa Secchi từ 0,2 đến 2,5 m) và ở các vùng nước có tính kiềm nhẹ đến vừa phải với các giá trị pH từ 7,2 đến 9,0. Sự nở hoa có thể xảy ra ở cả các thủy vực phân tầng sâu và trong các ao nông. Ngoài ra, một số trường hợp nở hoa đã được báo cáo từ các vùng biển có hàm lượng nitrogen và phospho cao, trong khi những vùng khác nở hoa xảy ra ở nơi các hàm lượng chất dinh dưỡng hòa tan có thể thiếu. Điều này có lẽ do khả năng cố định nitrogen trong khí quyển của loài mang lại một thuận lợi ở các vùng nước thiếu nitrogen và cơ chế để thu được phospho một cách hiệu quả, cho phép nó phát triển trong điều kiện hàm lượng phospho cơ thấp (Bowling và cs., 2018).

Các nghiên cứu sinh lý trong phòng thí nghiệm chỉ ra rằng *C. ovalisporum* có tốc độ phát triển tối ưu ở nhiệt độ nước 26-30 °C, trong khi Cire's và cs. (2011) cho thấy tốc độ tăng trưởng dương ở nhiệt độ từ 15 °C đến 35 °C. *C. ovalisporum* cũng phát triển tốt nhất ở cường độ ánh sáng thấp đến trung bình. Ngoài ra, *C. ovalisporum* sử dụng bicarbonat như một nguồn carbon, cho phép nó duy trì tốc độ quang hợp cao ở độ pH cao và nồng độ carbon dioxide hòa tan thấp (Hadas và cs., 2015). Đa số các trường hợp nở hoa được báo cáo cho đến nay đều tạo ra CYN, mặc dù các chủng không độc đã được phân lập từ hồ Kinneret và hồ ở Tanzania cũng như từ các hồ đô thị ở Adelaide, Nam Úc (Cire's và Ballot, 2016; Bowling và cs., 2018).

Bên cạnh *C. ovalisporum*, *R. raciborskii* cũng được xếp vào danh sách loài VKL gây hại phổ biến. Sự chiếm ưu thế của *R. raciborskii* trên toàn cầu một mặt vì tính mềm dẻo kiểu hình khi phản ứng với các yếu tố môi trường chủ đạo như nhiệt độ, ánh sáng, chất dinh dưỡng. Mặt khác, sự xuất hiện và đồng tồn tại của các chủng (các kiểu sinh thái trong một loài) bên trong và giữa các quần thể dẫn đến những thay đổi lớn trong loài khi phản ứng tăng trưởng với các điều kiện môi trường (Willis và cs., 2016; Xiao và cs., 2017a). Các chủng khác nhau về hình thái, sinh lý, độc tố và di truyền (Abreu và cs., 2018; Willis và cs., 2018; Xiao và cs., 2017a). Các chủng Nam Mỹ sản xuất saxitoxin, chủng Úc và châu Á sản xuất CYN, trong khi các chủng Châu Âu và Bắc Mỹ không tạo độc (Burford và cs., 2016). Các nghiên cứu gần đây đã chứng minh rằng các chủng *R. raciborskii* được phân lập từ một hồ duy nhất có thể thay đổi đáng kể về các thuộc tính hình thái và sinh lý nhằm tăng cường tiềm năng của quần thể để thích nghi nhanh chóng với các điều kiện môi trường thay đổi (Willis và cs., 2016a, Xiao và cs., 2017a, Willis và cs., 2018). Willis và cs. (2016a) phát hiện ra 24 chủng *R. raciborskii* (17 chủng dạng thẳng và 7 chủng dạng cuộn) được phân lập từ một mẫu nước bề mặt, nuôi trong cùng điều kiện môi trường, cho thấy rằng mỗi chủng phân lập có sự khác biệt về tốc độ tăng trưởng (từ 0,10-0,21/ngày), hàm lượng độc tố nội bào (90,9-278,9 fg CYN/tb) và thể tích tế bào (32,5 -262,9 mm³/tb). Thậm chí, những thay đổi lớn cũng xảy ra đối với cùng một chủng được phân lập từ cùng một vùng nước khi sinh trưởng trong các điều kiện khác nhau ở các phòng thí nghiệm khác nhau trên chủng *R. raciborskii* LETC CIRF-01.

Bên cạnh đó, Xiao và cs. (2017) cũng cho thấy các chủng *R. raciborskii* dạng thẳng có nhiều biến đổi hơn so với các chủng dạng cuộn về tốc độ tăng trưởng và thể tích tế bào (các chủng sợi thẳng thay đổi 4,6 và 6,6 lần, trong khi dạng cuộn chỉ 2,4 và 3,1 lần) cho thấy khả năng phân hóa thành các loài phụ (Xiao và cs., 2017). Baxter và cs. (2020) nghiên cứu trên 12 chủng *R. raciborskii* được phân lập từ Châu Phi, Châu Úc và Châu Âu để xác định các kiểu sinh thái dựa trên sự khác biệt hình thái, sinh lý và di truyền. Ba kiểu sinh thái chính được xác định trong nghiên cứu: kiểu 1 được đặc trưng bởi tốc độ tăng trưởng cao và số lượng dị bào cao, kiểu 2 gồm các chủng không độc hại và tỷ lệ tăng trưởng NF thấp và kiểu 3 là các chủng có tỷ lệ tăng trưởng NF cao và khối lượng sinh học cao. Các chủng được tập hợp trong mỗi kiểu sinh thái không tương quan với

nguồn gốc địa lý của các chủng, điều này cho thấy rằng các kiểu sinh thái được hình thành trong các quần thể. Hiểu được các kiểu sinh thái chính sẽ góp phần quản lý khả năng xâm lấn của *R. raciborskii* trước sự thay đổi khí hậu (Baxter và cs., 2020).

Tính linh động khi đáp ứng với chất dinh dưỡng sẵn có trong các loài đã mở rộng ổ sinh thái của *R. raciborskii*. Chúng đã thích nghi với mức độ biến động cao đối với các chất dinh dưỡng nitrogen và phospho. Một yếu tố chính thúc đẩy sự chiếm ưu thế của *R. raciborskii* là khả năng thích nghi với hàm lượng phospho sẵn có thấp hoặc thay đổi (Burford và cs., 2016). Nghiên cứu thực địa và thử nghiệm cho thấy cả mối tương quan thuận và tương quan nghịch giữa nồng độ phospho và mật độ tế bào *R. raciborskii* (Kokociński và cs., 2017; Aguilera và cs., 2017). Trong tự nhiên, quần thể *R. raciborskii* ưu tiên phát triển hơn các loài khác khi bổ sung phospho hàng ngày (Muhid và cs., 2013). Trong khi đó, Kokocinski và cs. (2017) thấy rằng quần thể này vẫn phát triển trong môi trường có hàm lượng phospho thấp. Trong nhiều hồ ở Úc, phospho thường được tìm thấy ở nồng độ rất thấp và được coi là chất dinh dưỡng giới hạn. Tuy nhiên, *R. raciborskii* vẫn có thể hình thành nở hoa khi nồng độ phospho thường gần hoặc thấp hơn giới hạn phát hiện, đó là kết quả của khả năng hấp thụ và lưu giữ P vượt trội của nó (Burford và cs., 2016, 2018). Phospho ảnh hưởng không đáng kể đến sự tăng trưởng của chủng *R. raciborskii* CR12 thể hiện qua sự thay đổi thấp về tốc độ tăng trưởng khi tăng hoặc giảm nồng độ phospho (Mohamed Nor và cs., 2019). Tương tự, Willis và cs. (2017) không quan sát thấy bất kỳ sự khác biệt đáng kể nào về tốc độ tăng trưởng khi nồng độ phospho được tăng lên đối với các chủng *R. raciborskii* AWT205 và NPD ở Úc (Willis và cs., 2017). Qua đó ta thấy rằng loài này có thể sinh trưởng trong khoảng phospho rộng lớn. Các nghiên cứu thực địa đã chỉ ra những thay đổi về ưu thế của các chủng trong một quần thể dưới các phương pháp xử lý phospho khác nhau dẫn đến hàm lượng độc tố khác nhau (Burford và cs., 2014). Điều này ngụ ý rằng các quần thể *R. raciborskii* có thể hoạt động khác nhau tùy thuộc vào các chủng hiện có trong quần thể và do đó, hiểu được sự khác biệt giữa các chủng là rất quan trọng để hiểu được phạm vi phản ứng của loài. *R. raciborskii* sở hữu ái lực hấp thụ và khả năng dự trữ DIP cao (Willis và cs., 2017). Bên cạnh đó, khả năng tìm kiếm và sử

dụng phospho hữu cơ hòa tan (DOP) cũng đã được chứng minh trong các nghiên cứu thực địa (Prentice và cs., 2019). Khi có đầy đủ phospho, *R. raciborskii* ưu tiên dự trữ phospho nội bào hơn là dùng để tăng tốc độ sinh trưởng. Đây được xem như một chiến lược để duy trì bền vững quần thể trong môi trường thiếu phospho. Điều này chỉ ra khó khăn trong việc kiểm soát sự phát triển của *R. raciborskii* bằng chiến lược giảm phospho.

Nhiều nghiên cứu đã chỉ ra rằng *R. raciborskii* ưa thích sử dụng nguồn nitrogen vô cơ (amoni, nitrat) và nitrogen hữu cơ (urê) hòa tan hơn sự cố định nitrogen với sự ưu tiên rõ ràng đối với amoni dựa trên cả tỷ lệ tăng trưởng và tốc độ hấp thụ (Burford và cs., 2016, 2018). Một số nghiên cứu đã chỉ ra rằng sinh khối của *R. raciborskii* trong điều kiện có đầy đủ nitrogen cao hơn 20-50 lần so với trong điều kiện thiếu nitrogen và tốc độ phát triển của *R. raciborskii* tăng lên theo nồng độ nitrogen (Yema và cs., 2016). Mặc dù tỷ lệ cố định N_2 của *R. raciborskii* thấp hơn tỷ lệ hấp thụ amoni và nitrat và chiếm ít hơn 10% tổng số N đồng hóa của sinh vật này nhưng quá trình cố định N_2 của *R. raciborskii* đóng một vai trò quan trọng trong việc điều chỉnh sự thích nghi sinh lý trong môi trường nito dao động. Điều này được thấy trong nghiên cứu của Willis và cs. (2016a) khi sự cố định N_2 cung cấp một nguồn nitrogen cần thiết để hỗ trợ duy trì quần thể ở mức phát triển tương đối thấp và cân bằng nội môi tế bào trong điều kiện giới hạn nitrogen kéo dài (Willis và cs., 2016a). Tương tự, Burford và cs. (2018) nhấn mạnh rằng sự hình thành nở hoa rất có thể xảy ra trong các hệ thống có đủ nitrogen hòa tan thích hợp, sự cố định nitrogen chỉ xảy ra nếu giới hạn nitrogen hòa tan kéo dài và chỉ được sử dụng như một cơ chế duy trì tế bào. Sở dĩ như vậy có lẽ vì quá trình biệt hóa tạo tế bào dị hình và quá trình cố định nito tiêu tốn nhiều năng lượng. Vì vậy, ưu tiên sử dụng của các dạng nitrogen hòa tan, đặc biệt là trong điều kiện ánh sáng thấp là một chiến lược hiệu quả. Trong môi trường có đầy đủ nguồn nito hòa tan thì loài này vẫn ưu tiên sử dụng nito hòa tan hơn dạng cố định nitrogen.

Nhiệt độ nước và điều kiện ánh sáng trong khu vực là những yếu tố quan trọng thúc đẩy sự phân bố của *R. raciborskii* (Bonilla và cs., 2016). Ban đầu *R. raciborskii* được coi là một loài nhiệt đới nhưng cho đến nay, loài này đã xâm nhập thành công sang các vùng cận nhiệt đới đến ôn đới. Nhiều nghiên cứu đã chứng minh rằng nhiệt độ nước tối ưu cho sự sinh trưởng dao động từ 25 °C đến 35 °C. Nhiệt độ nở hoa phổ

biến thường lớn hơn 25 °C (Kokocinski và cs., 2017; Jia và cs., 2020). Tuy nhiên, sự nở hoa cũng xuất hiện tại nhiệt độ thấp trong các hồ nhiệt đới (13 °C - 20 °C), cận nhiệt đới (11 °C) (Jia và cs., 2021). Thậm chí, sự nở hoa của chúng đã được quan sát thấy vào mùa đông ở các hồ và đập ở Bắc Đài Loan; Lago Javier, Uruguay và Rio Grande do Sul, Nam Brasil khi nhiệt độ lần lượt là 16,3 °C; 11,2 °C và 11 °C (Yamamoto và cs., 2016; Wener và cs., 2020). Khả năng chịu đựng với nhiệt độ thấp tạo điều kiện thuận lợi cho loài này phát triển mạnh vào mùa đông. Gần đây, Dokulil (2016) cũng chỉ ra rằng *R. raciborskii* phát triển ở nhiệt độ 8 °C-13 °C với sinh khối tương đối cao ở nhiệt độ nước dưới 8 °C trong một hồ đô thị ở Vienna, Áo. Wener và cs. (2020) phát hiện ra rằng các đợt nở hoa của *R. raciborskii* tạo thành các vệt màu vàng trên bề mặt ở nhiệt độ từ 12,6-15,5 °C trong hồ đô thị phú dưỡng ở miền Nam Brazil (Wener và cs., 2020). Một vài nghiên cứu cho rằng, sự phát triển và nở hoa của *R. raciborskii* ở nhiệt độ thấp là kết quả của sự thúc đẩy đồng thời của các yếu tố bên ngoài và bên trong. Tăng hàm lượng nitrogen trong nước có thể nâng cao sự sẵn có sinh học và việc sử dụng nitrogen của *R. raciborskii*, là chất xúc tiến bên ngoài, dẫn đến cải thiện sức chịu đựng của *R. raciborskii* nơi nhiệt độ thấp. Nguyên nhân bên trong là xuất hiện các kiểu sinh thái khác nhau về mặt di truyền và sinh lý trong quần thể để có thể thích nghi với môi trường nhiệt độ thấp (Jia và cs., 2021). Do đó, có ý kiến cho rằng biến đổi khí hậu thúc đẩy sự phát triển và mở rộng của *R. raciborskii* không trực tiếp thông qua tác động nhiệt độ mà là tác động của dinh dưỡng ở nhiệt độ thấp. So với việc ngăn chặn sự nóng lên toàn cầu, kiểm soát sự phú dưỡng (đặc biệt là nồng độ nitrogen) có thể là một phương tiện thực tế và thuận tiện hơn để ức chế sự mở rộng không gian và sự hình thành nở hoa của *R. raciborskii* (Jia và cs., 2021).

R. raciborskii phát triển nở hoa dưới bề mặt ở độ sâu 2–3 m trong cột nước hoặc phân bố đều trong lớp nước bề mặt xáo trộn. Các chủng *R. raciborskii* từ Úc, Châu Âu, Nam Mỹ và Châu Phi ưa thích ánh sáng yếu cho sự sinh trưởng, với hàm lượng (flux) photon tối ưu cho sự phát triển từ 50 đến 120 $\mu\text{mol photon (PAR) m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. Tuy nhiên, sự tăng trưởng có thể được duy trì ở điều kiện ánh sáng yếu, ngay cả ở thông lượng photon <10 $\mu\text{mol photon (PAR) m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. Ngược lại, Carneiro và cs. (2013b) cho thấy một chủng (Úc) có tốc độ phát triển cao trong thông lượng photon cao tới 348 $\mu\text{mol photon (PAR) m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. Tương tự, 10 chủng *R. raciborskii* được phân lập từ nhiều hồ ôn đới và nhiệt đới

cũng được phát hiện có khả năng chịu ánh sáng rộng, từ 30 đến 400 $\mu\text{mol photon m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (Briand và cs., 2004). Bên cạnh đó, Briand và cs. (2004) cũng chỉ ra rằng một vài chủng (có nguồn gốc từ các vùng khác nhau trên thế giới) bị ức chế quang hợp tại hàm lượng photon (flux) trên 100 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, do đó ảnh hưởng đến sự tăng trưởng của chúng. Trong khi những chủng khác cho thấy tốc độ tăng trưởng tối đa thậm chí lên đến 500 $\mu\text{mol photon (PAR) m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (Burford và cs., 2016). Sự khác biệt như vậy phụ thuộc rất nhiều vào chủng, nhưng dường như không liên quan đến nguồn gốc địa lý sinh học của các chủng. Tính linh hoạt này cho thấy các chủng khác nhau có khả năng khai thác các thông lượng photon khác nhau khi cường độ ánh sáng thay đổi và do đó có thể là một trong những yếu tố góp phần vào sự thành công của *R. raciborskii*.

Các nhà nghiên cứu trước đây đã đồng ý rằng *R. raciborskii* phát triển ở vùng nước kiềm và không xuất hiện ở vùng nước có tính axit. Tuy nhiên, pH của nước trong nghiên cứu của Wener và cs. (2020) thay đổi từ 5,4-8,7 và mật độ *R. raciborskii* cao nhất, đạt 99,994 ind/mL ở pH 6 và thấp hơn, đạt 61.400 ind/mL ở pH 8,7. Trong một nghiên cứu ở sông Pequeno (São Paulo, Brazil), độ pH là 5,4 được ghi nhận trong một đợt nở hoa của *R. raciborskii*. Trong các vùng nước Brazil, mật độ *R. raciborskii* cao thường xuất hiện ở các vùng nước kiềm, với độ pH thay đổi từ 8 đến 9,4. Tuy nhiên, sự nở hoa cũng đã được ghi nhận ở những vùng nước hơi axit đến kiềm, với độ pH từ 6 đến 10 (Wener và cs., 2020). Những kết quả này chỉ ra rằng *R. raciborskii* có khả năng chịu được khoảng pH rộng.

Sự chiếm ưu thế cũng như khả năng mở rộng khu phân bố trong các thủy vực trên toàn cầu của *R. raciborskii* liên quan đến sự đa dạng các chủng (kiểu sinh thái) trong và giữa các quần thể; khả năng di cư trong cột nước; khả năng chịu ánh sáng yếu; khả năng sinh trưởng trong biên độ nhiệt rộng lớn; khả năng sử dụng nguồn phosphonội bào; khả năng hấp thụ cao của phospho và amoni; khả năng cố định nitrogen khí quyển; khả năng kháng cự các loài động vật phù du; khả năng phân tán cao trong các con sông và đặc biệt là ở các hồ ôn đới thông qua bào tử nghỉ, lây lan bởi các loài chim, các tác nhân khác và khả năng sống sót ở vùng nước hơi mặn. Trong đó, khả năng hấp thụ amoni và phospho; khả năng sử dụng các nguồn phosphonội bào cũng như khả năng chịu đựng khoảng nhiệt độ rộng lớn là những yếu tố chính thúc đẩy sự phát triển nở hoa của *R. raciborskii*.

Khi điều tra sự phân bố toàn cầu của loài VKL tạo CYN để đánh giá các tác động tiềm tàng trong tương lai, đặc biệt là đối với các kịch bản biến đổi khí hậu. Gin và cs. (2021) đã phát hiện ra loài VKL mới *Synechococcus* sp. có khả năng tạo CYN, chúng cũng có thể chịu đựng sự thiếu hụt nitrogen trong thời gian dài thông qua sự phân hủy các sắc tố bao gồm cả chất diệp lục a. Do đó, các thành phần sắc tố khác nhau trong các chủng *Synechococcus* địa phương ngụ ý một loạt các chiến lược hấp thụ ánh sáng và tái chế chất dinh dưỡng, mang lại khả năng chịu đựng cao và khả năng sống sót trong các điều kiện khí hậu đa dạng. *Synechococcus* sp. cũng có thể tồn tại trong khoảng nhiệt độ rộng từ các vùng gần Nam Cực đến vùng nhiệt đới. Khả năng chịu đựng của *Synechococcus* đối với nhiệt độ và các điều kiện dinh dưỡng có thể sẽ thuận lợi dưới những biến động về môi trường do biến đổi khí hậu và đô thị hóa gây ra, điều này sẽ dẫn đến sự gia tăng nhanh chóng nở hoa độc hại của *Synechococcus* trong tương lai (Gin và cs., 2021).

1.4.2. Ở Việt Nam

Trên thế giới đã có rất nhiều công trình khoa học nghiên cứu về thành phần loài VKL sinh độc tố CYN. Ở Việt Nam, những báo cáo về VKL tạo CYN còn rất hạn chế, các nghiên cứu chủ yếu tập trung vào các loài VKL tạo độc tố microcystin (MC) trong các thủy vực nước ngọt nội địa (Hummert, 2001; Đặng Đình Kim và cs., 2014; Christensen, 2006; Bui và cs., 2018). Đối với những loài VKL có tiềm năng sinh độc tố CYN, trong công trình nghiên cứu của Nguyen và cs. (2007), tác giả đã mô tả, phân loại được 33 loài VKL trên sông Hương và một số thủy vực ở Huế, trong đó đã xác định được hàm lượng CYN khá cao trong chủng *R. raciborskii* Hcy90 (6,7 µg/mg). Tuy nhiên, hai chủng có tiềm năng tạo CYN (*R. mediterranea* Hra6 và *Aphanizomenon aphanizomenoides* HANY) không cho thấy độc tố CYN khi kiểm tra bằng ELISA và HPLC. Tương tự chủng *R. raciborskii* Hcy90 ở Huế, bốn chủng *R. raciborskii* (CR1BHB, CR4BHB, CR2DAI và CR3DAI) được phân lập ở Biển Hồ và Đức An, Gia Lai cũng cho thấy khả năng tạo CYN với những nồng độ khác nhau.

Năm 2015, khi tiến hành phân lập và nuôi cấy chủng *R. raciborskii* trong hồ chứa Dầu Tiếng, Pham và cs. (2015) cho thấy kích thước tế bào, đặc biệt chiều dài tế bào của các chủng *R. raciborskii* trong hồ chứa này lớn hơn so với kích thước tế bào, chiều

dài tế bào ở hồ chứa Trị An và những khu vực ở Huế. Cùng thời điểm và địa điểm thu mẫu, Nguyễn Thu Hồng và cs. (2015) đã xác định hàm lượng độc tố trong 15 chủng *R. raciborskii* được phân lập từ hồ Dầu Tiếng. Bằng phương pháp sắc kí lỏng cao áp đầu dò huỳnh quang HPLC-FD gắn với lò phản ứng sau cột, 11 trong số 15 chủng *R. raciborskii* đã được phát hiện chứa độc tố STX với hàm lượng dao động từ 13,40 µg/g đến 84,57 µg/g. Đến năm 2017, Đào Thanh Sơn và cs. đã công bố sự xuất hiện cũng như độc tính sinh thái của loài *R. raciborskii* lên loài vi giáp xác *D. magna* ở hồ Xuân Hương và kết quả khảo sát đã cho thấy dịch chiết xuất từ loài *R. raciborskii* ở nồng độ 1 mg/L và 5 mg/L đã kích thích sự sinh sản và ảnh hưởng nhẹ đến sự sống sót của *D. magna*. Tuy nhiên, nồng độ 25 mg/L và 100 mg/L dẫn đến tỷ lệ tử vong cao và làm giảm tổng số con non tích lũy của loài giáp xác này (Dao và cs., 2017). Các chủng thuộc loài *R. raciborskii* được phân lập trong một số thủy vực ở Huế, Gia lai được xác định sản sinh độc tố CYN khi kiểm tra bằng phương pháp HPLC và ELISA. Bên cạnh đó, các loài có khả năng tạo CYN như: *R. curvata*; *R. mediterranea*; *Aphanizomenon* sp. cũng được phân lập nhưng không tạo ra độc tố CYN (Nguyen và cs., 2012, 2017). Cũng trong nghiên cứu này nhóm tác giả đã khuếch đại thành công nhóm gen tổng hợp CYN trong các chủng *R. raciborskii* độc ở Huế. Đồng thời cho rằng dinh dưỡng và nhiệt độ là các yếu tố môi trường ảnh hưởng đến mật độ của *R. raciborskii* (Nguyen và cs., 2017).

Trên thế giới, khi nghiên cứu về các loài VKL tạo độc tố CYN, các công trình không chỉ nghiên cứu ở mức độ quần thể mà còn đi sâu phân tích các đặc điểm sinh lý, sinh thái và di truyền của từng chủng bên trong và giữa các quần thể. Từ đó đưa ra những biện pháp quản lý hiệu quả nhóm loài này. Tại Việt Nam, các nghiên cứu chuyên sâu về nhóm loài này còn rất hạn chế.

1.4.3. Ở Đắc Lắc

Mặc dù được mệnh danh là xứ sở của hồ, tuy nhiên, hệ thực vật phù du đặc biệt là nhóm loài VKL độc trong các thủy vực này dường như chưa được nghiên cứu đầy đủ. Các nghiên cứu trước đây chủ yếu tập trung vào điều tra thành phần loài thực vật phù du; biến động cấu trúc quần xã thực vật phù du trong một số thủy vực. Trong nghiên cứu của Dao (1998) đã điều tra được 93 loài thực vật phù du từ Hồ Lắk và tác giả cũng ghi nhận mật độ thực vật phù du nhỏ hơn 1.000.000 cá thể/L từ hồ. Những điều tra về sự

tương tác giữa thực vật phù du và các thông số môi trường được thực hiện trong thời gian này. Đến năm 2016, Dao và cs. đã có những nghiên cứu đầy đủ hơn về khu hệ thực vật phù du nơi đây. Kết quả điều tra cho thấy, có 312 loài thực vật phù du phân bố trong sáu ngành: Tảo lục, tảo cát, tảo vàng, tảo mắt, tảo hai roi và VKL. Đồng thời, mật độ thực vật phù du đạt được là cao hơn nhiều so với nghiên cứu trước đây của Dao (1998), đạt từ 62.400 – 14. 580. 000 cá thể/L. Bên cạnh đó, phân tích mối tương quan phù hợp (CCA) cũng được áp dụng để đánh giá mối tương quan giữa các thông số môi trường lên sự phân bố của quần xã TVPV. Các thông số môi trường như: pH, độ đục, nhu cầu oxy hóa học, sắt, độ dẫn điện và nhôm có mối tương quan chặt chẽ với sự phân bố của TVPV trong toàn hồ (Dao, 2016). Bên cạnh hồ tự nhiên, nghiên cứu về biến động cấu trúc quần xã TVPD gắn liền với những tác động của yếu tố môi trường cũng được khảo sát trong ba hồ chứa (hồ Ea Nhái, hồ Ea Suop và hồ Đăk Minh) thuộc tỉnh Đắk Lắk. Qua nghiên cứu, tác giả xác định được 489 loài TVPD phân bố trong 10 lớp, 15 bộ, 46 họ và 109 chi. Mật độ tế bào TVPD trong ba hồ biến động từ 57.5000- 133.200 tb/L, thấp hơn so với hồ Lắk ($1.10^6 - 10.10^6$ tb/L). Phân tích CCA ở hồ Ea Nhái cho thấy sự phân bố số lượng, thành phần loài TVPD có quan hệ rõ rệt theo mùa và các yếu tố thủy lý (pH, nhiệt độ, độ trong), thủy hóa (Si, DO, N-NH₄, N-NO₃, P-PO₄, TP) có tác động đến sự phân bố của quần xã TVPD trong mùa mưa. Tương tự, hồ Đăk Minh và hồ Ea Suop cũng cho thấy mối tương quan chặt chẽ giữa yếu tố môi trường và cấu trúc thành phần loài TVPD vào một số tháng nhất định (Lê Thương, 2010). Nhìn chung, các điều tra về khu hệ thực vật nổi trong các thủy vực nước ngọt của tỉnh chỉ mới tập trung vào tác động của yếu tố môi trường lên sự biến động cấu trúc quần xã TVPD mà chưa quan tâm đến ảnh hưởng của yếu tố sinh học (các nhóm sinh vật trong thủy vực) tác động lên nhóm loài này. Bên cạnh đó, những nghiên cứu về nhóm loài VKL độc nói chung và VKL sinh độc tố CYN nói riêng chưa được quan tâm mặc dù nhóm loài này đã hiện diện với tỷ lệ khá cao trong thành phần loài TVPD ở một số thủy vực ở Đắk Lắk (Lê Thương, 2010; Dao, 2016). Hơn nữa, những dữ liệu về độc tố VKL và độc tố CYN chưa được xác định trong hệ thống các hồ chứa nơi đây.

Như vậy, trên thế giới và ở Việt Nam, hiện tượng nở hoa tảo độc hại do VKL gây ra vẫn là những thách thức lâu dài trong các thủy vực nước ngọt nội địa, đặt ra các mối

đe dọa nghiêm trọng đối với sức khỏe cộng đồng và hệ sinh thái thủy sinh. CYN được phát hiện từ 1992 và đã có nhiều tiến bộ trong việc phát triển phương pháp phát hiện cũng như cấu trúc độc tố từ hơn 4 thập kỷ qua. Tuy nhiên, nghiên cứu về nhóm loài VKL có khả năng tạo CYN và độc tố CYN ở các thủy vực nhiệt đới chưa nhiều, ở Việt Nam còn khiêm tốn hơn nữa đặc biệt ở vùng cao nguyên Nam Trung Bộ. Với khả năng phân bố trong nhiều thủy vực trên toàn cầu, tồn tại ổn định trong nhiều điều kiện môi trường khác nhau, khả năng gây độc lên nhiều cơ quan và khả năng tích lũy sinh học cao đã làm cho độc tố CYN trở nên cấp thiết trong các cơ sở cung cấp nước uống liên quan đến việc bảo vệ nguồn nước. Bên cạnh đó, việc thiếu đi các dấu hiệu giám sát trực quan trong quá trình nở hoa của hầu hết những loài VKL tạo độc tố CYN như: sự hình thành váng, vệt trên bề mặt nước, sự thay đổi màu sắc của thể nước đã làm cho những loài này trở thành thách thức lớn đối với các nhà quản lý nguồn nước trong việc dự báo sớm nguy cơ ô nhiễm.

Trong bối cảnh biến đổi khí hậu và phát thải nhân sinh, nở hoa của nhóm loài VKL độc hại tăng theo hướng cả tần suất, cường độ và thời gian trong các thủy vực cung cấp nước uống và nước giải trí. Đặc biệt, tăng tần suất xuất hiện thêm những loài VKL có khả năng tạo độc tố CYN, dẫn đến tình trạng thiếu nguồn nước uống có đủ chất lượng cung cấp cho cộng đồng. Vì vậy, tập trung điều tra, sàng lọc để phát hiện thêm nhiều loài VKL có khả năng sinh độc tố CYN, xác định những yếu tố môi trường kiểm soát và điều khiển sự phát triển bùng phát nhóm loài VKL này là rất cần thiết trong các thủy vực ở vùng cao nguyên Nam Trung Bộ nói chung và ở Đắk Lắk nói riêng. Từ đó, làm cơ sở để xây dựng một chương trình quản lý nước tổng hợp và bền vững.

1.5. Điều kiện tự nhiên chung của khu vực nghiên cứu

1.5.1. Vị trí địa lý

Đắk Lắk có diện tích tự nhiên là 13.030,5 km². Vị trí địa lý nằm trong khoảng từ 107°28'57" đến 108°59'37" độ kinh Đông và từ 12°9'45" đến 13°25'06" độ vĩ Bắc có độ cao trung bình 400÷800 m so với mặt nước biển. Phía bắc giáp tỉnh Gia Lai, phía đông giáp tỉnh Phú Yên và Khánh Hòa, phía nam giáp tỉnh Lâm Đồng, phía tây nam giáp tỉnh Đắk Nông và phía tây giáp Vương Quốc Campuchia có đường biên giới dài 193

km. Nét đặc trưng của địa hình Đắc Lắc là sự phân biệt rất rõ ràng, nghiêng và thấp dần theo hướng Đông Nam sang Tây Bắc (Sở Tài nguyên và Môi trường Đắc Lắc, 2016).

1.5.2. Khí hậu

Do vị trí địa lý địa hình nên khí hậu ở Đắc Lắc vừa chịu sự chi phối của khí hậu nhiệt đới gió mùa, vừa mang tính chất của khí hậu cao nguyên mát dịu. Song chịu ảnh hưởng mạnh nhất, chủ yếu nhất vẫn là khí hậu Tây Trường Sơn, đó là nhiệt độ trung bình không cao, mùa hè mưa nhiều, ít nóng bức do chịu ảnh hưởng của gió mùa Tây Nam, mùa đông mưa ít. Vùng phía Đông và Đông Bắc tỉnh là vùng khí hậu trung gian, chịu ảnh hưởng của cả khí hậu Tây và Đông Trường Sơn. Trong năm chia làm 2 mùa rõ rệt: Mùa mưa từ tháng 5 đến tháng 11 kèm theo gió Tây Nam thịnh hành, các tháng có lượng mưa lớn nhất là tháng 7, 8, 9, lượng mưa chiếm 80 - 90% lượng mưa năm. Lượng mưa trung bình nhiều năm toàn tỉnh đạt từ 1.446 - 2.074 mm; mùa khô từ tháng 11 đến tháng 4 năm sau và lượng mưa chỉ chiếm 15 - 20%, trong mùa này độ ẩm giảm, gió Đông Bắc thổi mạnh, bốc hơi lớn, gây khô hạn nghiêm trọng (Sở Tài nguyên và Môi trường Đắc Lắc, 2016).

Nhiệt độ: Đặc điểm nổi bật của chế độ nhiệt ở Tây Nguyên nói chung cũng như trong tỉnh Đắc Lắc nói riêng là hầu như không có mùa lạnh với một nền nhiệt độ đồng đều, chênh lệch nhiệt độ giữa các tháng không cao và có sự hạ thấp nhiệt độ theo độ cao. Nhiệt độ không khí trung bình năm dao động từ 22 - 26 °C, chênh lệch nhiệt độ giữa các tháng trong năm thấp nên biên độ nhiệt độ của năm không cao (4 - 6 °C). Biên độ dao động nhiệt độ ngày đêm khá lớn có khi lên tới 10 - 12 °C; các tháng 1, tháng 2 và tháng 3 có biên độ nhiệt độ dao động giữa ngày và đêm lớn nhất (12 - 15 °C); mặc dù biên độ nhiệt độ ngày đêm lớn, nhưng biên độ dao động nhiệt độ năm chỉ từ 3 - 5°C. Nhiệt độ bình quân năm đạt 23,8 °C ở Buôn Ma Thuột; Vùng thung lũng 21,9 °C (Sở Tài nguyên và Môi trường Đắc Lắc, 2016).

Lượng mưa: Lượng mưa khác nhau ở các độ cao khác nhau, không những tuân theo quy luật nhất định của độ cao địa hình mà còn chịu ảnh hưởng rất lớn bởi sự che chắn của núi. Những nơi có độ cao thấp thì lượng mưa giảm (thung lũng, ao, hồ, sông, suối khoảng 1.600 - 1.800 mm). Mùa lũ trong năm làm cho hệ sinh vật trong ao, hồ tràn ra sông suối và ngược lại. Lượng mưa ngày đạt giá trị cực đại và số ngày

mưa liên tục kéo dài cả tuần, cực đại thường rơi vào tháng 7, tháng 8 và tháng 9 lên tới 300 – 400 mm như vùng Buôn Ma Thuột, Đắk Lắk; vào mùa khô lượng mưa không đáng kể (Sở Tài nguyên và Môi trường Đắk Lắk, 2016).

Độ ẩm: Vào mùa mưa độ ẩm cao (80-85%), thường rơi vào các tháng 5, tháng 8 và tháng 9; thấp nhất vào tháng 3 khoảng 10%. Phân bố không gian của độ ẩm thể hiện quy luật chung là tăng theo độ cao của địa hình, độ ẩm thấp tuyệt đối chỉ đạt 1% ở Buôn Ma Thuột (Sở Tài nguyên và Môi trường Đắk Lắk, 2016).

Số giờ nắng: Vùng nghiên cứu hàng năm khoảng 2.150 - 2.500 giờ/năm. Tháng có số giờ nắng nhiều nhất thường rơi vào tháng 3 và đạt tới 230 - 280 giờ/tháng; 9,0 giờ/ngày. Tháng có số giờ nắng ít nhất thường rơi vào tháng mùa mưa và chỉ đạt khoảng 100 - 150 giờ/tháng; 3,4 giờ/ngày (Sở Tài nguyên và Môi trường Đắk Lắk, 2016).

Gió: Hướng gió thịnh hành trong vùng thay đổi rõ rệt theo mùa. Từ tháng V tới tháng IX gió có hướng Tây, Tây Nam là chủ yếu. Từ tháng XI IV hướng gió Đông, Đông Nam là chủ yếu. Hướng gió Tây thịnh hành ở Buôn Ma Thuột chiếm tần suất 50 - 55% trong các tháng mùa hạ tháng VI, VII, VIII. Trong các tháng mùa Đông XI, XII, I gió Đông thịnh hành tần suất xuất hiện 60 - 70% (Sở Tài nguyên và Môi trường Đắk Lắk, 2016).

1.5.3. Đặc điểm các hồ chứa nghiên cứu

Hồ Ea Nhái và hồ Buôn Phong đều thuộc hai hệ thống sông lớn là hệ thống sông Sêrêpôk và hệ thống sông Ba trên địa bàn tỉnh Đắk Lắk. Đây là hai hồ có tiếng trên địa tỉnh, nguồn nước mặt của hồ được dùng để cung cấp nước uống và nước sinh hoạt cho người dân trong khu vực thành phố Buôn Ma Thuột. Bên cạnh đó, hồ còn là nơi nuôi trồng thủy sản (nuôi cá lồng bè thâm canh trong hồ với sản lượng trung bình 21 tấn/năm, các ao nuôi cá xung quanh (lấy nước trực tiếp từ hồ) có sản lượng trung bình 50 tấn/năm), cung cấp nước tưới cho các nông trường cà phê (nông trường cà phê Thắng Lợi và nông trường cà phê Đ'RAO) và các vụ lúa lớn. Việc nguồn nước trong hai hồ bị ô nhiễm do độc tố VKL sẽ ảnh hưởng trực tiếp đến sức khỏe con người và cho hệ sinh thái thủy vực. Bên cạnh đó, mỗi hồ nằm trong một lưu vực với những đặc điểm đặc trưng riêng và chịu tác động của con người ở những mức độ khác nhau có thể dẫn đến sự khác nhau về thành phần loài VKL độc, thành phần độc tố cũng như hàm lượng độc tố trong nước của mỗi hồ. Vì vậy, nghiên cứu

được thực hiện trong hai hồ nhằm tìm ra điểm đặc trưng về phân loài VKL độc và độc tố CYN trong mỗi hồ, từ đó có thể đưa ra những phương án bảo vệ sức khỏe cộng đồng, bảo vệ nguồn tài nguyên nước và nguồn lợi thủy sản trong khu vực.

1.5.3.1. Hồ Ea Nhái

Hồ chứa nước Ea Nhái ($12^{\circ}44'41''$; $108^{\circ}11'53''$) nằm ở xã Hòa Đông, huyện Krông Pắc, tỉnh Đắk Lắk. Ea Nhái là hồ cảnh quan và hồ cung cấp nước uống cho toàn thành phố Buôn Ma Thuột, tỉnh Đắk Lắk. Trong lòng hồ có một con suối tự nhiên chảy từ sông Krông Pắc, lượng nước dự trữ trong hồ chủ yếu là nguồn nước mưa nhận từ lưu vực hồ chứa. Diện tích bề mặt là 250 ha và dung tích trữ nước hiệu quả là 15 triệu m^3 . Độ sâu trung bình của hồ là 6 m, vị trí sâu nhất là 17 m. Diện tích lưu vực của hồ là 165 km^2 , trong lưu vực có một phần nhỏ diện tích đất rừng tự nhiên keo lá tràm, phần lớn diện tích còn lại được sử dụng chính cho canh tác nông nghiệp với cây chủ lực là cà phê và lúa. Ngoài vai trò cung cấp nước uống, cải tạo môi trường sinh thái và cảnh quan du lịch, hồ còn có vai trò tích trữ nước phục vụ tưới tiêu, đủ tưới cho 3150 ha trong đó có 150 ha lúa nước và 3000 ha cà phê và nuôi trồng thủy sản. Hồ tiếp nhận chất thải và chất ô nhiễm từ việc nuôi cá lồng bè thâm canh, nước thải sinh hoạt và nước thải nông nghiệp xung quanh lưu vực (Sở NN và PTNN Đắk Lắk, 2018).

1.5.3.2. Hồ Buôn Phong

Buôn Phong là một hồ chứa nhân tạo thuộc xã Cư Dlie M Nong, huyện M'gar, tỉnh Đắk Lắk, có vị trí tọa độ $12^{\circ}92'01''$ vĩ độ Bắc và $108^{\circ}16'24''$ kinh độ Đông. Dung tích hồ 3,3 triệu m^3 , diện tích lưu vực của hồ là 13 km^2 . Độ sâu trung bình của hồ là 10 m, với vị trí sâu nhất với tổng khả năng cung cấp là 20 m. Hồ có vai trò chính là tích trữ và điều tiết nước phục vụ tưới tiêu cho các vùng canh tác nông nghiệp (nông trường cà phê Đ'RAO). Nông nghiệp thâm canh chủ yếu là cà phê và lúa sử dụng đất chủ yếu trong diện tích lưu vực hồ. Hồ tiếp nhận chất ô nhiễm từ nước thải chăn nuôi gia súc từ các hộ dân, nước thải sinh hoạt và nước thải nông nghiệp xung quanh lưu vực (Sở NN & PTNT Đắk Lắk, 2018).

CHƯƠNG 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng, địa điểm và thời gian nghiên cứu

2.1.1. Đối tượng

Vi khuẩn lam và vi khuẩn lam có khả năng sinh độc tố CYN trong hai hồ Ea Nhái và Buôn Phong.

2.1.2. Địa điểm nghiên cứu

Vị trí thu mẫu tại 2 hồ được lựa chọn trên địa bàn tỉnh Đắk Lắk như trong bảng 2.1 và hình 2.1.

Bảng 2.1. Vị trí thu mẫu

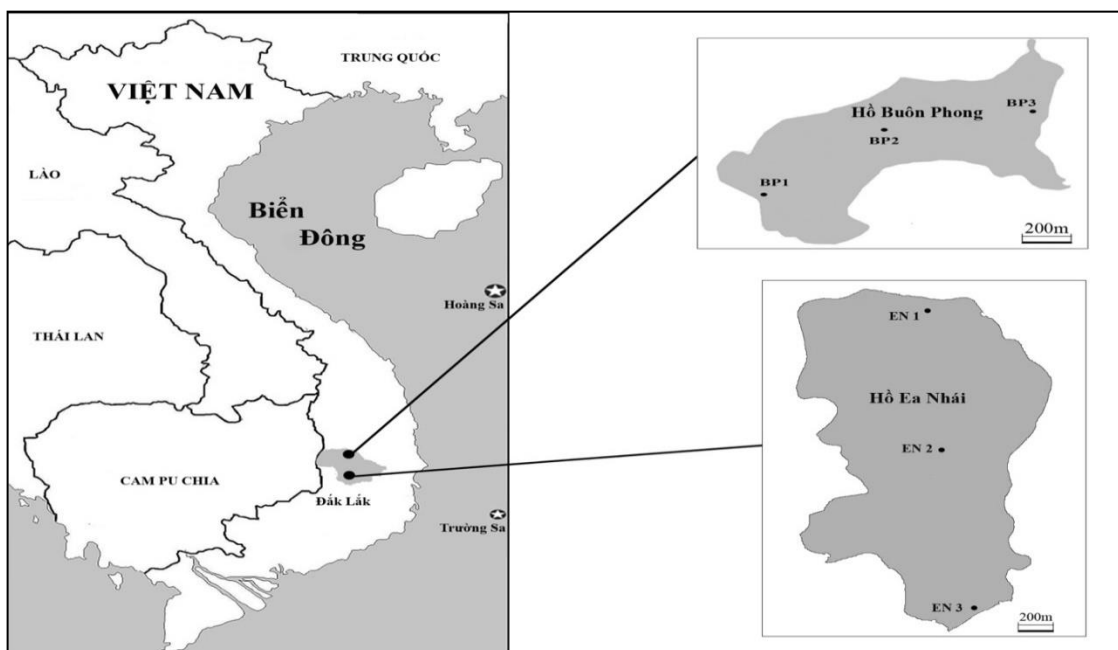
Hồ	Vị trí thu mẫu	Kí hiệu điểm thu mẫu	Tọa độ	
			Vĩ độ bắc	Kinh độ đông
Hồ Ea Nhái	Gần đập chắn	EN1	12°73'47"	108°19'98"
	Xa đập chắn	EN2	12°74'62"	108°19'76"
	Cửa suối đổ vào hồ	EN3	12°75'69"	108°19'96"
Hồ Buôn Phong	Gần đập chắn	BP1	12°91'92"	108°16'23"
	Xa đập chắn	BP2	12°92'37"	108°16'77"
	Cửa suối đổ vào hồ	BP3	12°92'09"	108°16'92"

Vị trí thu mẫu được chọn dựa vào đặc điểm tự nhiên của thủy vực như hình thái, độ sâu, dòng chảy và mối liên hệ của thủy vực với các nguồn nước chảy vào và chảy ra nhằm đại diện cho từng thủy vực.

Vị trí gần đập chắn là nơi có độ sâu lớn nhất, độ trong cao vào mùa khô, tập trung nhiều chất dinh dưỡng và gần cửa tháo nước cho hệ thống thủy lợi.

Vị trí xa đập chắn là nơi hồ có eo ngách, gần với khu vực canh tác nông nghiệp.

Vị trí có cửa suối đổ vào là nơi thu nhận lượng chất dinh dưỡng của suối, nhận nguồn nước ngầm từ vùng lưu vực, nhận các loài thực vật nổi có nguồn gốc sông suối....



Hình 2.1. Bản đồ các vị trí thu mẫu của 2 hồ chứa, tỉnh Đắk Lắk

2.1.3. Thời gian nghiên cứu

Việc thu mẫu trong hai hồ được thực hiện hàng tháng, thu trong vòng một năm từ tháng 5 năm 2019 đến tháng 4 năm 2020. Tiến hành thu tại 6 vị trí thu mẫu đã được định vị trong hai hồ. Thông tin về các vị trí thu mẫu được trình bày trong bảng 2.1.

Trong 12 lần thu mẫu tổng cộng thu được 144 mẫu định tính (72 mẫu xác định thành phần loài VKL và 72 mẫu phân lập các loài VKL có khả năng sinh độc tố CYN), 504 mẫu định lượng (72 mẫu dùng để xác định thể tích sinh học VKL, 216 mẫu dùng để phân tích các yếu tố thủy hóa và 216 mẫu dùng để phân tích hàm lượng độc tố CYN trong môi trường). Tất cả các mẫu thu cho phân tích định tính, định lượng, phân lập, phân tích độc tố, phân tích các yếu tố môi trường đều thu vào khoảng thời gian từ 10h – 12h trong cùng ngày và thu cố định ở 6 vị trí thu mẫu đã được xác định trong hai hồ (EN1, EN2, EN3, BP1, BP2 và BP3).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp nghiên cứu ngoài thực địa

Phương tiện thu mẫu: Ở cả hai hồ đều sử dụng thuyền máy của ngư dân.

Mẫu định tính: Các mẫu để phân tích thành phần loài VKL được thu thập bằng lưới vớt sinh vật phù du (kích thước mắt lưới 20 μm) tại 6 vị trí thu mẫu và ngay lập tức được cố định bằng dung dịch formaldehyde ở nồng độ cuối cùng là 4% (v/v) (Findlay và Kling, 2001).

Mẫu định lượng: Để xác định thể tích sinh học thực vật phù du, các mẫu được thu thập bằng một ống nhựa có gắn thiết bị Luppe, dài 2 m và đường kính 10 cm tại 6 vị trí thu mẫu. Sau đó, các mẫu nước (độ sâu 0-2 m) được trộn trong một xô. Một lít nước mẫu được lấy ra, cố định bằng dung dịch Lugol acid 1%, để lắng 48 giờ, xi phong phần nước trên còn lại 100 mL. Hút 1 mL cho vào buồng đếm Sedgewick-Rafter (Findlay và Kling, 2001).

Mẫu nuôi: Thu ở 6 vị trí thu mẫu, tại mỗi vị trí lấy mẫu, mẫu nước bề mặt (mẫu sống, mẫu không cố định bằng dung dịch formaldehyde) cũng được thu thập bằng lưới vớt sinh vật phù du để phân lập VKL. Mẫu được bảo quản ở nơi thoáng mát và chuyển ngay về phòng thí nghiệm tiến hành phân lập (Nguyễn và cs., 2017).

Mẫu phân tích độc tố: Thu ở 6 vị trí thu mẫu, tại mỗi vị trí thu mẫu 1,5 mL mẫu nước dưới bề mặt được lấy và mỗi vị trí thu mẫu lấy 3 lần. Các mẫu được bảo quản trong ống Eppendorf và đông lạnh ở -18 °C cho đến khi phân tích (Nguyễn và cs., 2017).

Mẫu phân tích thông số môi trường: Thu tại 6 vị trí thu mẫu, ở mỗi một vị trí mẫu nước dưới bề mặt được thu và tiến hành thu 3 lần tại mỗi vị trí bằng các chai nhựa polypropylene đã làm sạch để phân tích các thông số dinh dưỡng (P-PO₄, N-NH₄, N-NO₃, TP và TN). Các mẫu được giữ trong tối ở 4 °C trước khi được vận chuyển đến phòng thí nghiệm để phân tích (Chorus và Welker, 2021).

2.2.2. Phương pháp nghiên cứu trong phòng thí nghiệm

Các thí nghiệm được tiến hành tại phòng thí nghiệm Công nghệ gen, Công nghệ tế bào thuộc Viện Công nghệ Sinh học, Đại học Huế. Phân tích thành phần môi trường được tiến hành tại phòng thí nghiệm Viện Công nghệ Sinh học và Môi trường, Đại học Tây Nguyên.

Phân tích định tính

Mẫu được phân tích bằng kính hiển vi quang học có gắn bộ phận chụp ảnh. Xử lý ảnh phân loại bằng phần mềm Adobe Photoshop CS3 Extended Version 10.0.

Thành phần loài VKL được xác định bằng kính hiển vi quang học (Olympus BX51) sử dụng phương pháp so sánh hình thái dựa vào hình dạng cơ thể (đơn bào, tập đoàn dạng khối hay dạng sợi), hình dạng tế bào và cấu trúc sợi (đặc biệt là

hình dạng tế bào đầu ngọn hay gốc của sợi), vỏ bao sợi, sự phân nhánh của sợi hay vị trí, số lượng các tế bào dị hình trên sợi tảo. Phân loại dựa trên các tài liệu tham khảo của Dương Đức Tiến, 1996; Komárek và Anagnostidis, 1989; Komárek và cs., 1999, 2005, 2014.

Phân tích định lượng

Số lượng tế bào VKL được đếm dưới kính hiển vi quang học (Olympus BX51) ở độ phóng đại 400X trên lam kính. Số lượng sợi hoặc tập đoàn được đếm ở độ phóng đại 200X bằng cách sử dụng buồng đếm Sedgewick-Rafter dưới kính hiển vi quang học (Olympus BX51) (Karlson và cs., 2010). Thể tích sinh học được ước tính từ số lượng tế bào bằng cách xác định thể tích tế bào trung bình cho mỗi đơn vị phân loại, sau đó nhân giá trị này với số lượng tế bào trong mẫu. Thể tích tế bào phụ thuộc vào kích thước và hình dạng tế bào. Hình dạng tế bào của mỗi taxon thường được xác định bằng cách giả định các dạng hình học nhất định cho các tế bào của mỗi đơn vị phân loại. Đo các kích thước hình học từ 10–30 tế bào (tùy thuộc vào độ biến thiên của tế bào) của mỗi đơn vị phân loại, từ công thức tính thể tích một số hình học phổ biến (Phụ lục 4) cho phép ước lượng được thể tích tế bào trung bình tương ứng (Wood và cs., 2009; Chorus và Welker, 2021).

$$\text{Thể tích sinh học (mm}^3\text{/L)} = n \times \text{vol}/10^6$$

Trong đó:

n: Số lượng tế bào trong mẫu (số tế bào/mL)

vol: Thể tích trung bình của mỗi tế bào (μm^3)

1×10^6 : Đơn vị đổi từ $\mu\text{m}^3\text{/mL}$ sang $\text{mm}^3\text{/L}$.

Cách đếm:

Đối với VKL dạng sợi tự nhiên: đếm số lượng tế bào của 30 sợi trên lam kính ở độ phóng đại 400X, lấy giá trị trung bình số tế bào của mỗi sợi. Sau đó, đếm số lượng sợi trên buồng đếm Sedgewick-Rafter, lấy giá trị trung bình số sợi trong một ô rồi suy ra số lượng tế bào trung bình trong một ô. Tiến hành đếm số lượng sợi ở độ phóng đại 200X, đếm ở 100 ô vuông nhỏ (4 góc và chính giữa buồng đếm). Nếu số lượng sợi quá ít thì đếm từ 300 đến 500 ô. Nếu số lượng sợi quá nhiều thì tiến hành pha loãng. Đếm lặp lại 3 lần và kết quả là giá trị trung bình của 3 lần đếm.

Đối với dạng tập đoàn (như *Microcystis*): Mẫu nước được sonicate nhanh trong 2-3 phút đủ để làm rời các tế bào trong tập đoàn thành đơn bào trước khi đưa vào buồng đếm. Tùy theo mật độ tế bào mà có thể hòa loãng từ 10-20 lần, lắc đều mẫu trước khi cho vào buồng đếm. Sử dụng kính hiển vi ở độ phóng đại 200X. Để mẫu lắng trong vòng 60 phút trước khi đếm. Số lượng ô đếm 50 ô ngẫu nhiên rải rác trong buồng đếm.

$$\text{Mật độ tế bào (tb/mL)} = \frac{C.1000.V1}{V2}$$

Trong đó:

C: Số lượng tế bào trung bình đếm được trong 1 ô (trung bình 3 lần đếm).

V1: Thể tích sau khi xi phông (mL).

V2: Thể tích ban đầu lấy mẫu (mL).

Phương pháp phân lập và nuôi cấy

Để phân lập, các mẫu được cô đặc bằng cách ly tâm hoặc lọc qua lưới nylon. Phân lập VKL có khả năng tạo CYN từ các mẫu thực vật phù du sống bằng phương pháp tách tế bào hay sợi đơn sử dụng pipet Pasteur. Tế bào hay sợi VKL đơn được gấp và chuyển vào một giọt môi trường Z8 (đã khử trùng) nhiều lần để loại bỏ các tế bào khác bám vào hoặc các hạt lơ lửng (Kotai và cs., 1972). Các chủng phân lập được nuôi cấy trong môi trường Z8 trong 1-2 tuần, ở 24 ± 4 °C, chu kỳ chiếu sáng là 12 giờ sáng và 12 giờ tối với cường độ 2.000 - 3.000 lux (Nguyen và cs., 2017). Sau đó các chủng được kiểm tra và cấy chuyển nhiều lần để đảm bảo sạch tảo và chuyển sang bình tam giác 10 mL trong cùng điều kiện để duy trì.

Môi trường Z8 (Kotai và cs., 1972): Sục 500 mL nước cất với khí CO₂ trong 30 phút. Sau đó thêm 10 mL dung dịch stock I, 10 mL dung dịch stock II, 10 mL dung dịch stock III, 1 mL dung dịch stock IV. Bổ sung nước cất đến 1 lít và chuẩn độ pH từ 6-7.

2.2.2.4. Phân tích độc tố bằng kỹ thuật ELISA

Nồng độ CYN trong các mẫu được kiểm tra bằng kỹ thuật ELISA sử dụng bộ kit Abraxis Cyindrospermopsin ELISA (Microtiter Plate) (Abraxis, Hoa Kỳ). Mật độ quang của mẫu được đo ở bước sóng 450 nm trên một hệ thống đọc ELISA tự động và nồng độ của CYN (µg/L) trong các mẫu được xác định dựa trên đường chuẩn của CYN-HRP. Nếu nồng độ CYN trong các mẫu cao hơn so với chất chuẩn (2 µg/L), các mẫu được pha loãng cho đến khi nằm trong khoảng của đường chuẩn.

Hàm lượng CYN trong mẫu được xác định theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Các bước thực hiện được tóm tắt như sau: hút 1mL dung dịch mẫu tự nhiên, phá vỡ tế bào bằng phương pháp cấp đông/rã đông (freeze ($< 0^{\circ}\text{C}$)/thaw (nhiệt độ phòng)), ly tâm 10.000 vòng/phút ở 4°C trong 10 phút, sau đó hút dịch nổi sang ống Eppendorf mới. Đầu tiên, thêm 50 μL mỗi: dung dịch chuẩn (0-6), đối chứng, LRB và mẫu vào các giếng. Sau đó, thêm 50 μL dung dịch CYN liên kết enzyme (CYN-HRP, vortex trước khi sử dụng) vào mỗi giếng bằng pipette đa kênh. Tiếp theo, thêm 50 μL dung dịch kháng kháng thể (Rabbit anti-CYN antibodies) vào mỗi giếng. Bọc các giếng bằng lớp parafilm; trộn hỗn hợp trong mỗi giếng bằng cách xoay vòng đĩa trong 30 giây. Sau đó ủ đĩa trong 45 phút, ở nhiệt độ phòng. Sau khi ủ, lật lớp bọc đĩa, đổ mạnh để loại bỏ dịch lỏng trong mỗi giếng. Rửa các giếng bốn lần bằng đệm rửa. Sử dụng ít nhất 250 μL đệm rửa 1X cho mỗi giếng trên mỗi lần rửa. Úp ngược đĩa để đổ hết dịch đệm lên giấy thấm sạch. Thêm 100 μL dung dịch cơ chất vào giếng. Bọc các giếng bằng lớp parafilm; trộn hỗn hợp trong mỗi giếng bằng cách xoay vòng đĩa trong 30 giây. Sau đó ủ đĩa trong 30-45 phút, ở nhiệt độ phòng, trong tối. Tiếp theo, thêm 100 μL dung dịch dừng phản ứng vào giếng. Sau cùng, đưa đĩa vào máy đọc kết quả ELISA, đọc ở bước sóng 450 nm trong vòng 15 phút sau khi thêm dung dịch dừng phản ứng. Nếu nồng độ độc tố lớn hơn nồng độ chuẩn thì mẫu cần phải pha loãng cho đến khi nồng độ độc tố nằm trong giới hạn cho phép của đường chuẩn.

Phân tích độc tố bằng kỹ thuật HPLC

Sinh khối của các chủng nuôi cấy được thu hoạch ở cuối giai đoạn tăng trưởng theo cấp số nhân bằng cách ly tâm trong 10 phút ở tốc độ 6000 vòng/phút ở nhiệt độ phòng. Sinh khối được đông khô bằng cách làm khô đông lạnh trong chân không ở -55°C trong 24 giờ, sau đó được bảo quản ở -20°C trước khi phân tích độc tố (Nguyen và cs., 2007).

Các mẫu sinh khối VKL đông khô được chiết trong 2,5 mL metanol (MeOH-99,9%) có chứa 0,1% axit trifluoroacetic (TFA) trong bể siêu âm trong 15 phút. Sau đó, các mẫu được siêu âm trong 1 phút. Dịch chiết được lọc qua cột sắc ký C18 đã được làm sạch bằng metanol. Sau khi lọc, dịch lọc được làm bay hơi ở nhiệt độ phòng (30°C) trong 5 phút. Phần còn lại sau khi bay hơi được hòa tan trong 250 μL nước

cất hai lần khử ion và được lọc bằng ly tâm (4.000 vòng/phút trong 30 phút) trước khi phân tích HPLC (Nguyen và cs., 2007). Hệ thống HPLC Thermo bao gồm bộ tiêm mẫu tự động UltiMate 3000 và Detector UltiMate 3000 (UV); Cột BDS Hypersil C18 (250 × 4,6 mm, 5.0 µm), pha động: MeOH (A) 30% - nước chứa 10 mM amoni axetat (B) 70% (v/v), tốc độ dòng: 0,8 mL/phút; thể tích mẫu: 10 µL; nhiệt độ buồng cột: 30 °C; thời gian phân tích: 7 phút; các mẫu được tiêm vào pha động trước cột. Trong cột, các thành phần được tách ra và Detector (UV) phát hiện CYN ở bước sóng 262 nm. Cylindrospermopsin được định tính bằng thời gian lưu và được định lượng bằng mối tương quan giữa nồng độ và diện tích peak ở bước sóng 262 nm bằng cách sử dụng chất chuẩn CYN (CRM-CYN, PESTANAL®, Sigma-Aldrich Pte. Ltd.) làm chất ngoại chuẩn.

Phân tích các thông số môi trường

Các yếu tố hóa lý như: Nhiệt độ, pH, độ đục (NTU) được đo ngay tại nơi thu mẫu bằng các thiết bị và dụng cụ: Nhiệt độ và pH đo bằng máy thử cầm tay đa thông số PCSTestr 35 (Eutech-Singapore). Độ đục (NTU) đo bằng máy đo Lovibond - Đức.

Các phân tích hóa học (P-PO₄, N-NH₄, N-NO₃, TP và TN) được phân tích theo tiêu chuẩn Việt Nam (TCVN) tại phòng thí nghiệm của Viện Công nghệ Sinh học và Môi trường, Đại học Tây Nguyên. N-NH₄ được xác định bằng phương pháp chân cất và chuẩn độ theo TCVN 5988 : 1995. N-NO₃ được xác định bằng phương pháp trắc phổ dùng axit sunfosalixylic theo TCVN 6180 : 1996. TN được xác định bằng phương pháp vô cơ hóa xúc tác sau khi khử bằng hợp kim Devarda theo TCVN 6638 : 2000. P-PO₄ và TP được xác định bằng phương pháp đo phổ dùng amoni molipdat theo TCVN 6202 : 2008 (Bảng 2.2).

Bảng 2.2. Các yếu tố thủy hóa được phân tích trong hai hồ nghiên cứu

Chỉ tiêu phân tích	Phương pháp phân tích
Amoni (N-NH ₄)	TCVN 5988 : 1995
Nitrat (N-NO ₃)	TCVN 6180 : 1996
Nitrogen tổng số (TN)	TCVN 6638 : 2000
Phosphat (P-PO ₄)	TCVN 6202 : 2008
Phospho tổng số	TCVN 6202 : 2008

Phân tích sự hiện diện của gen liên quan đến sự sinh độc tố CYN

Tách chiết DNA tổng số: 10 mL mẫu trong mỗi chủng được thu sinh khối ở giai đoạn tăng trưởng theo cấp số nhân bằng cách ly tâm ở 1500 vòng/phút trong 15 phút ở nhiệt độ phòng. Sinh khối được chuyển vào ống Eppendorf 1,5 mL và được đông lạnh ở -18 °C cho đến khi tách chiết DNA. Việc tách chiết DNA tổng số của bộ gen được thực hiện theo quy trình CTAB của Doyle và Doyle (1987) với một số sửa đổi. Sinh khối VKL được nghiền trong 1mL dung dịch đệm 2×CTAB đã được làm nóng trước (65 °C) và 10 µL β-mercaptoethanol và sau đó được ủ ở 65 °C trong 1 giờ. DNA được chiết xuất bằng dung dịch phenol – chloroform - isopentyl-ethanol (25: 24: 1), sau đó ly tâm ở tốc độ 13.000 vòng/phút ở 4 °C trong 10 phút để thu phần nổi phía trên. Phần nổi phía trên được hút vào một ống Eppendorf mới, thêm isopropanol theo tỷ lệ 1: 1 và đặt trong tủ lạnh sâu trong vòng một giờ. Sau đó, ly tâm ở tốc độ 13.000 vòng/phút ở 4 °C trong 15 phút để thu DNA kết tủa. Kết tủa DNA được rửa lại bằng cách thêm 1 thể tích etanol (70%). Thu tủa DNA bằng cách ly tâm ở tốc độ 13.000 vòng/phút ở 4 °C trong 10 phút, làm khô ở nhiệt độ phòng qua đêm, sau đó tái huyền phù trong 20 µL nước cất hai lần (Doyle và Doyle, 1987).

Khuếch đại phân đoạn gen liên quan đến sự sinh tổng hợp độc tố: Các phân đoạn gen *cyrB* và *cyrC* tham gia vào quá trình sinh tổng hợp CYN được khuếch đại bằng phương pháp PCR với hai cặp mồi oligonucleotit M4/M5 và M13/M14 (Schembri và cs., 2001) (Bảng 2.3).

Bảng 2.3. Những cặp mồi được sử dụng để khuếch đại phân đoạn gen *cyrB* và *cyrC* (Schembri và cs., 2001)

Gen đích	Mồi	Trình tự mồi (5'- 3')	Kích thước phân đoạn gen (bp)
<i>cyrB</i>	M13 1F	GGCAAATTGTGATAGCCACGAGC	597
	M14 1R	GATGGAACATCGCTCACTGGTG	
<i>cyrC</i>	M4 1F	GAAGCTCTTGGAATCCGGTAA	650
	M5 1R	AATCCTTACGGGATCCGGTGC	

Điều kiện chu kỳ nhiệt đối cho phản ứng PCR là 1 chu kỳ ở 94 °C trong 4 phút, 30 chu kỳ ở 94 °C trong 10 giây, ở 55 °C trong 20 giây, ở 72 °C trong 1 phút và 1 chu kỳ ở 72 °C trong 7 phút (Schembri và cs., 2001). Phản ứng khuếch đại DNA được thực hiện trong chu trình nhiệt (iCycler, Bio-Rad). Các sản phẩm PCR được kiểm tra bằng điện di trên gel agarose 1,4% ở 50V trong đệm 1xTAE trong 45 phút. Phân tích hình ảnh điện di trên máy đọc Gel Ultra slim LED illuminator.

2.2.3. Xử lý số liệu

Sử dụng mô tả thống kê trong phần mềm Microsoft Excel.

Phân tích thành phần chính (PCA) và phân tích tương quan Pearson được sử dụng để đánh giá mối quan hệ của các thông số môi trường (pH, nhiệt độ nước, độ đục, N-NO₃, N-NH₄, P-PO₄, TN và TP) lên thể tích sinh học VKL tạo CYN và nồng độ CYN trong hai hồ chứa nghiên cứu. Phần mềm IBM-SPSS Statistics phiên bản 22.0 được sử dụng để phân tích kết quả với mức ý nghĩa 5%.

CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Thành phần loài VKL hồ Ea Nhái và hồ Buôn Phong, tỉnh Đắk Lắk

3.1.1. Thành phần loài VKL

Kết quả khảo sát thành phần loài VKL đã ghi nhận được 34 loài thuộc 14 chi, 6 họ và 3 bộ (Chroococcales, Oscillatoriales và Noctoscales). Danh mục thành phần loài VKL được sắp xếp theo hệ thống phân loại của Komárek & Anagnostidis (1999, 2005) và được trình bày ở bảng 3.1.

Bảng 3.1. Thành phần loài VKL ở hồ Ea Nhái và hồ Buôn Phong

STT	Tên khoa học	Hồ Ea Nhái (EN)		Hồ Buôn phong (BP)	
		Mùa mưa	Mùa khô	Mùa mưa	Mùa khô
Bộ Chroococcales					
Họ Merismopediaceae					
1	<i>Aphanocapsa holsatic</i>	-	+	+	+
2	<i>Merismopedia tenuissima</i>	+	+	+	+
3	<i>Woronichinia compacta</i>	-	-	+	+
4	<i>Woronichinia naegeliana</i>	-	-	+	+
5	<i>Snowella fennica</i>	-	-	+	-
Họ Microcystaceae					
6	<i>Microcystis aeruginosa</i>	-	+	+	+
7	<i>Microcystis wesenbergii</i>	-	+	+	+
8	<i>Microcystis botrys</i>	-	+	+	+
9	<i>Microcystis flos-aquae</i>	-	+	+	+
10	<i>Microcystis panniformis</i>	-	+	+	+
11	<i>Microcystis novacerkii</i>	-	-	+	+
12	<i>Microcystis natans</i>	-	-	+	+
13	<i>Microcystis</i> sp.1	-	-	-	+
14	<i>Microcystis</i> sp.2	-	-	-	+

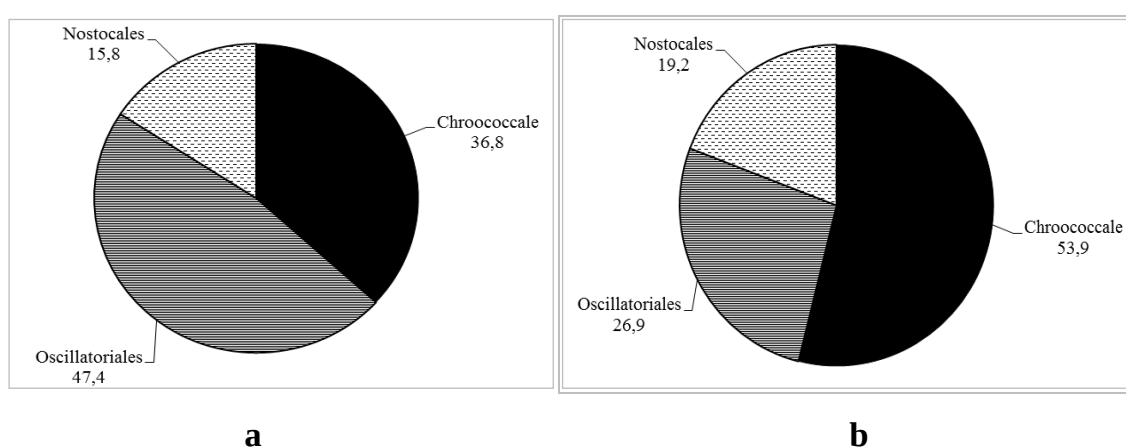
Bộ Oscillatoriales					
Họ Oscillatoriaceae					
15	<i>Lyngbya</i> sp.	+	+	-	-
16	<i>Oscillatoria limosa</i>	-	+	-	+
17	<i>Oscillatoria sancta</i>	-	-	-	+
18	<i>Oscillatoria</i> sp.1	-	-	-	+
19	<i>Oscillatoria</i> sp.2	-	+	-	+
20	<i>Oscillatoria</i> sp.3	-	+	-	+
Họ Phormidiaceae					
21	<i>Phormidium willei</i>	+	+	-	-
22	<i>Phormidium acticulatum</i>	+	+	-	-
Họ Pseudanabaenaceae					
23	<i>Planktolynghya brevicellularis</i>	-	+	-	-
24	<i>Planktolynghya circumcreta</i>	-	-	+	+
25	<i>Planktolynghya limnetica</i>	-	-	+	+
26	<i>Pseudanabaena minima</i>	-	+	-	-
27	<i>Pseudanabaena mucicola</i>	-	+	-	-
Bộ Nostocales					
Họ Nostocaceae					
28	<i>Raphidiopsis raciborskii</i>	+	+	+	+
29	<i>Raphidiopsis mediterranea</i>	-	+	-	-
30	<i>Raphidiopsis curvata</i>	+	+	-	-
31	<i>Anabaena</i> sp.1	-	-	-	+
32	<i>Anabaena</i> sp.2	-	-	+	+
33	<i>Dolichospermum circinale</i>	-	-	-	+
34	<i>Chrysosporum ovalisporum</i>	-	-	-	+

Ghi chú: Dấu +: Xuất hiện; Dấu -: không xuất hiện.

Từ bảng 3.1 cho thấy ở hồ Buôn Phong xác định được 26 loài VKL phân bố trong 3 bộ, 5 họ và 10 chi. Bộ Chroococcales bao gồm những loài dạng đơn bào, tập đoàn có 2 họ (chiếm 40% tổng số họ), 5 chi (chiếm 50% tổng số chi) và 14 loài (chiếm 53,9% tổng số loài). Tiếp đến là bộ Oscillatoriales bao gồm những loài dạng sợi,

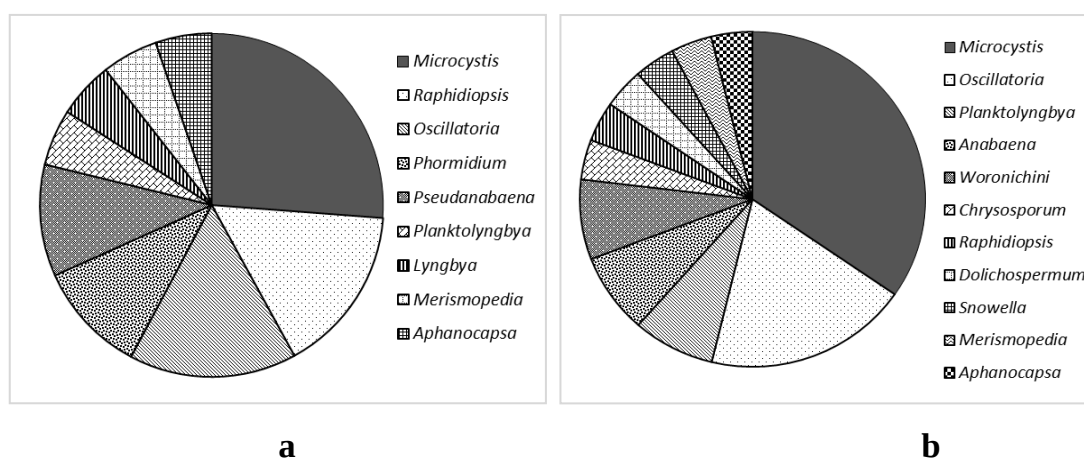
không có tế bào dị hình có 2 họ (chiếm 40%), 2 chi (chiếm 20%), 7 loài (chiếm 26,9%); bộ Nostocales gồm những loài dạng sợi, có tế bào dị hình có 1 họ (chiếm 18,1%), 3 chi (chiếm 30%), 5 loài (chiếm 19,2%) (Hình 3.1). Về mặt không gian, tất cả các loài đều có mặt tại cả 3 vị trí nghiên cứu BP1, BP2 và BP3. Điều này cho thấy không có sự khác biệt đáng kể về mặt phân bố loài theo không gian, phản ánh tính chất khá đồng nhất của môi trường nước trong toàn hồ. Xét về mặt thời gian, thành phần loài VKL trong hồ cho thấy sự biến động theo mùa, thấp vào mùa mưa (16 loài) và cao hơn vào mùa khô (25 loài).

Ở hồ Ea Nhái, chúng tôi ghi nhận được 19 loài VKL phân bố trong 3 bộ, 6 họ và 9 chi. Bộ Chroococcales gồm 2 họ (chiếm 33,3% tổng số họ), 3 chi (chiếm 30% tổng số chi) và 7 loài (chiếm 36,8% tổng số loài). Bộ Oscillatoriales gồm 3 họ (chiếm 50%), 5 chi (chiếm 50%), 9 loài (chiếm 47,4%) và bộ Nostocales gồm 1 họ (chiếm 16,7%), 2 chi (chiếm 20%), 3 loài (chiếm 15,8%) (Hình 3.1). Tương tự hồ Buôn Phong, thành phần loài VKL hồ Ea Nhái phân bố khá đồng đều về mặt không gian, tất cả các loài đều có mặt ở cả 3 vị trí thu mẫu: EA1, EA2 và EN3. Qua đó, cho thấy tính chất môi trường nước khá đồng đều trong toàn hồ. Tuy nhiên, trong hồ Ea Nhái lại cho thấy sự biến động thành phần loài VKL theo thời gian một cách rõ rệt, số loài đạt giá trị rất thấp vào mùa mưa (6 loài) và cao hơn đáng kể vào mùa khô (19 loài).



Hình 3.1. Tỷ lệ phần trăm số loài theo các bộ ở hai hồ nghiên cứu
a. hồ Ea Nhái, b. hồ Buôn Phong

Tỷ lệ phần trăm tương đối của các chi VKL trong hồ Buôn Phong là *Microcystis* chiếm 34,6%, *Oscillatoria* chiếm 19,2%, các chi như *Planktolyngbya*, *Anabaena*, *Woronichini* mỗi chi chiếm 7,7% và các chi còn lại như *Chrysosporum*, *Raphidiopsis*, *Dolichospermum*, *Snowella*, *Merismopedia*, *Aphanocapsa* mỗi chi chiếm 3,85%. Trong hồ Ea Nhái, chi *Microcystis* chiếm 26,2%; *Raphidiopsis* và *Oscillatoria* mỗi chi chiếm 15,8%; *Phormidium* và *Pseudanabaena* mỗi chi chiếm 10,5% và các chi còn lại như *Planktolyngbya*, *Lyngbya*, *Merismopedia*, *Aphanocapsa* mỗi chi chiếm 5,3%. Trong cả hai hồ nghiên cứu đều cho thấy chi *Microcystis* có số lượng loài nhiều nhất (Hình 3.2).



Hình 3.2. Tỷ lệ phần trăm số loài trong các chi VKL ở hồ nghiên cứu

a. hồ Ea Nhái, b. hồ Buôn Phong

Trong nghiên cứu này, thành phần loài VKL hồ Ea Nhái ít hơn so với thành phần loài VKL hồ Buôn Phong. Nhưng khi so sánh với các nghiên cứu về thành phần loài VKL trong một số thủy vực đã được công bố, kết quả khảo sát cho thấy số lượng loài VKL trong cả hai hồ (hồ Ea Nhái và hồ Buôn Phong) nhiều hơn số lượng loài VKL được ghi nhận tại ba hồ chứa ở Cao nguyên Lâm Viên tỉnh Lâm Đồng (hồ Tuyên Lâm + hồ Sông Hương + hồ Đan Kia- 26 loài - Trần Thị Tình, 2017), hai hồ chứa ở Đắk Lắk (hồ Easoup + hồ Đắk Minh – 29 loài – Lê Thương, 2010), 23 hồ chứa ở Srilanka (13 loài - Senanayake và cs., 2017) và 19 hồ chứa ở Đông Bắc Brazil (23 loài - Aragão và cs., 2013). Nhưng ít hơn đáng kể so với hồ Dầu Tiếng - 42 loài (Pham và cs., 2017), hồ Trị An – 62 loài (Lưu Thị Thanh Nhân, 2010; Dao và cs., 2016). Sự kém đa dạng về thành phần loài trong hai hồ nghiên cứu có thể một phần do xuất hiện hiện tượng nở

hoa của một hoặc một số loài VKL sinh độc tố trong hồ Ea Nhái (nở hoa *R. raciborskii* gần như xuyên suốt năm) và hồ Buôn Phong (nở hoa kết hợp của *R. raciborskii* cùng với các loài thuộc chi *Microcystis* trong suốt những tháng mùa khô). Nở hoa các loài này (*R. raciborskii*; *M. aeruginosa*, *M. wesenbergii*, *M. botrys*, *M. flos-aquae*, *M. panniformis*) được cho là có khả năng tạo ra độc tố như chất ức chế cảm nhiễm, cạnh tranh về mặt ánh sáng.... Kết quả tương tự cũng được tìm thấy trong các hồ chứa ở Đông Bắc Brazil khi hiện tượng nở hoa của một hoặc một vài loài VKL làm giảm sự giàu loài VKL trong các hồ chứa nghiên cứu (Aragão và cs., 2013).

Ở hồ Ea Nhái, Oscillatoriales là bộ có số lượng loài nhiều nhất trong tổng số loài VKL. Kết quả tương tự cũng được tìm thấy trong các thủy vực ở Việt Nam như: hồ Dầu Tiếng, hồ Trị An, hồ Hòa Mỹ, hồ Trúc Bạch, một số ao nuôi cá ở Đồng Tháp (Luu Thị Thanh Nhân và cs., 2007; Luu Thị Thanh Nhân, 2010; Nguyen và cs., 2007; Nguyen và cs., 2016; Pham và cs., 2017). Trong một số thủy vực nước ngoài như: hồ Adzopé ở Côte d'Ivoire; hồ Ipojuca, hồ Carpina và hồ Jucazinho ở Brazil cũng cho thấy Oscillatoriales là bộ có số lượng loài nhiều nhất, lần lượt chiếm 56,25%, 50%, 46,2% và 50% tổng số loài VKL (Aragão và cs., 2013; Kouassi và cs., 2015). Trong khi đó, ở hồ Buôn Phong, Chroococcales là bộ chiếm tỷ lệ cao nhất về tổng số loài VKL. Kết quả này cũng tương đồng với nghiên cứu ở hồ chứa Alagoinha (6/13 loài) và hồ chứa Mundaú (5/9 loài) ở Đông Bắc Brazil (Aragão và cs., 2013). Trong nghiên cứu của Hindak và Moustaka (1988) cũng cho thấy nhóm VKL đơn bào, tập đoàn chiếm ưu thế hơn nhóm VKL dạng sợi (Hindak và Moustaka, 1988).

Microcystis là chi chiếm số lượng loài nhiều nhất trong cả quần xã VKL ở hồ Buôn Phong (9 loài) và quần xã VKL hồ Ea Nhái (6 loài). Kết quả này hoàn toàn phù hợp với những nghiên cứu của một số tác giả khi thấy rằng *Microcystis* là thành phần chính của quần xã VKL trong các thủy vực họ nghiên cứu (Nguyen và cs., 2007; Duong và cs., 2014; Pham và cs., 2017). Sự giàu loài của những chi này trong các thủy vực nước ngọt có thể vì trong những hồ nông, phú dưỡng thường xuất hiện nhiều loài của nhóm VKL không có khả năng cố định Nitrogen (Nitrogen trong hồ không giới hạn), đặc biệt là bộ Chroococcales và bộ Oscillatoriales bao gồm chi *Microcystis* và *Oscillatoria* (Havens và cs., 2013).

Nhìn chung không có sự khác biệt đáng kể trong phân bố theo không gian của các loài VKL trong cả hai hồ nghiên cứu, điều này phản ánh tính chất khá đồng nhất của môi trường nước trong toàn hồ. Trong khi đó, xét về mặt thời gian cho thấy sự biến động thành phần loài VKL theo mùa rõ rệt trong cả hai hồ, số loài thấp vào những tháng mùa mưa và cao hơn nhiều vào những tháng mùa khô. Số lượng loài VKL trong hồ Buôn Phong cao hơn số lượng loài VKL hồ Ea Nhái. Chroococcales là bộ chiếm số lượng nhiều nhất cho cả họ, chi và loài trong hồ Buôn Phong nhưng Oscillatoriales là bộ có số lượng họ, chi, loài cao nhất ở hồ Ea Nhái. Bên cạnh đó, *Microcystis* là chi chiếm số lượng loài nhiều nhất trong quần xã VKL ở cả hai hồ nghiên cứu.

3.1.2. Mô tả hình thái các loài VKL nghiên cứu

***Microcystis aeruginosa* (Kützinger) Kützinger 1846**

Tập đoàn trong khu vực nghiên cứu có dạng nhầy với nhiều hình dạng khác nhau như hình cầu, hình nhẵn, phân thùy hoặc thường ở dạng mắt lưới với nhiều lỗ hổng trong tập đoàn. Bao nhầy không màu, không bền nên tế bào dễ vỡ ra khỏi tập đoàn. Các tế bào riêng lẻ, cách xa nhau, có dạng hình cầu với nhiều không bào khí dày đặc. Các tế bào này có đường kính 3,5-5,5 μm (Hình 3.3 a,b). Loài này có mặt quanh năm hồ Buôn Phong cùng với một số loài thuộc chi *Microcystis* và *R. raciborskii*. Ở hồ EaNhái, loài này chỉ xuất hiện vào mùa khô.

Phân bố phổ biến trong các thủy vực nước ngọt ưu dưỡng ở Việt Nam và là loài chính gây ra hiện tượng nở hoa ở các thủy vực này. Một số chủng phân lập ở hồ Trị An, hồ Dầu Tiếng, hồ Hoàn Kiếm và một số thủy vực ở Huế đã được xác định có khả năng tạo độc tố MC (Dao và cs., 2010; Pham và cs., 2017; Nguyen và cs., 2007).

***Microcystis botrys* Teiling 1942**

Tập đoàn có dạng hình cầu không đều gồm các tập đoàn con với các tế bào tập trung dày đặc ở trung tâm của tập đoàn (Hình 3.3 f). Chất nhầy không màu, bao quanh các cụm tế bào. Tế bào hình cầu với nhiều không bào khí, có màu sẫm, đường kính 4,5–6 μm . Loài này có mặt quanh năm hồ Buôn Phong và chỉ xuất hiện vào mùa khô ở hồ EaNhái.

M. botrys phân bố phổ biến trong các thủy vực nước ngọt ưu dưỡng ở Việt Nam. Một số chủng phân lập ở hồ Trị An, hồ Dầu Tiếng, hồ Hoàn Kiếm và một số thủy vực ở Huế đã được xác định có khả năng tạo độc tố microcystin (Dao và cs., 2010; Pham và cs., 2017; Nguyen và cs., 2007).

***Microcystis wesenbergii* (Komárek) Komárek ở Kondrateva 1968**

Trong khu vực nghiên cứu, loài này hình thành các tập đoàn hình cầu, thon dài hoặc phân thùy. Tập đoàn gồm nhiều tập đoàn con được bao bọc bởi màng nhầy không màu, vững chắc với mép màng khúc xạ rõ rệt. Tế bào hình cầu, đường kính 4,5–6,5 μm , thường phân bố đều trong tập đoàn với nhiều không bào khí (Hình 3.3 e).

Loài này phân bố phổ biến trong các thủy vực nước ngọt ưu dưỡng ở Việt Nam. Một số chủng phân lập ở hồ Trị An, hồ Dầu Tiếng, hồ Hoàn Kiếm và một số thủy vực ở Huế đã được xác định có khả năng tạo độc tố microcystin (Dao và cs., 2010; Pham và cs., 2017; Nguyen và cs., 2007). Trong nghiên cứu, loài xuất hiện tại cả ba vị trí thu mẫu ở hồ Buôn Phong và hồ Ea Nhái.

***Microcystis flos-aquae* (Wittrock) Kirchner 1898**

Tập đoàn trong khu vực nghiên cứu sống trôi nổi, hình cầu không đều, lớp nhầy không màu, mỏng. Các tế bào hình cầu, kích thước khoảng 3-5 μm với nhiều không bào khí sắp xếp dày đặc trong tập đoàn (Hình 3.3 d).

Loài phân bố chủ yếu trong các thủy vực trung dưỡng đến phú dưỡng, trước đây là loài phổ biến ở vùng ôn đới (Komárek & Anagnostidis, 1999). Loài này được tìm thấy trong các thủy vực ở Đắk Lắk (hồ Easoup, hồ Đắk Minh), Hà Nội (hồ Hoàn Kiếm, hồ Thành Công, hồ Hòa Bình, Núi Cốc, Kẽ Gõ) và một số thủy vực ở Huế (Nguyen và cs., 2007; Lê Thương, 2010). Trong nghiên cứu này, loài xuất hiện tại cả ba vị trí thu mẫu ở hồ Buôn Phong và hồ Ea Nhái.

***Microcystis panniformis* Komárek, Komárková-Legnerová, Sant'Anna, M.T.P.Azevedo, & P.A.C.Senna 2002**

Tập đoàn sống trôi nổi, có kích thước hiển vi tương đối lớn, có dạng hình cầu hoặc hơi kéo dài, thỉnh thoảng hình thành các khoảng trống nhỏ trong tập đoàn. Tế bào phân bố không đồng đều, thưa và xếp gần với mép của tập đoàn. Tế bào hình cầu với nhiều không bào khí, đường kính tế bào khoảng 3-4,5 μm (Hình 3.3 c).

Loài phân bố chủ yếu trong các thủy vực phú dưỡng từ nhiệt đới đến á nhiệt đới (Komárek & Komárková, 2002b). Ở Việt Nam loài này được tìm thấy ở hồ Easoup, hồ Núi Cốc và một số thủy vực ở Huế (Lê Thương, 2010; Duong và cs., 2013; Nguyen và cs., 2007). Trong nghiên cứu này, loài xuất hiện tại cả ba vị trí thu mẫu ở hồ Buôn Phong và hồ Ea Nhái.

***Microcystis novacekii* (Komarek) Compere ex Komarek 1974**

Tập đoàn gần như hình cầu gồm các tập đoàn con, các tế bào trong tập đoàn con tập trung dày đặc với nhau, thỉnh thoảng có vài tế bào đơn lẻ xung quanh. Tập đoàn được bao quanh bởi lớp chất nhầy dày, mép gợn sóng. Tế bào hình cầu, đường kính từ 2,5-6 μm (Hình 3.4 a).

Phân bố trong các thủy vực từ trung dưỡng đến phú dưỡng. Thỉnh thoảng hình thành hiện tượng nở hoa trong vùng nhiệt đới và hình thành hiện tượng nở hoa vào mùa khô ở vùng ôn đới (Komárek & Anagnostidis, 1999). Trong nghiên cứu này, loài xuất hiện tại cả ba vị trí thu mẫu ở hồ Buôn Phong.

***Microcystis natans* Lemmerm. ex Skuja 1934**

Tập đoàn sống trôi nổi, hình hơi kéo dài, bờ không đều, những tế bào sắp xếp rời rạc, thỉnh thoảng tập trung dày đặc tại bề mặt tập đoàn. Lớp màng nhầy không màu. Tế bào hình cầu hoặc hơi kéo dài trước khi phân chia, đường kính 2,5-6 μm , chứa một đến hai không bào khí (Hình 3.4 b).

Loài phù du, phân bố trong các thủy vực nước ngọt. Xuất hiện trong thủy vực ở phía Bắc Châu Âu, về sau thấy xuất hiện hầu hết trong vùng lạnh ở vùng ôn đới (Komárek & Anagnostidis, 1999). Trong nghiên cứu này, loài xuất hiện tại cả ba vị trí thu mẫu ở hồ Buôn Phong.

***Microcystis* sp.1**

Tập đoàn sống trôi nổi, hình dạng không nhất định, lớp màng nhầy bên ngoài màu trắng đục, xuất hiện nhiều lỗ hồng lớn bên trong tập đoàn. Tế bào hình cầu, chứa nhiều thể khí, đường kính 2-2,5 μm (Hình 3.4 c,d).

Loài xuất hiện tại cả ba vị trí thu mẫu BP1, BP2 và BP3 trong hồ Buôn Phong.

***Microcystis* sp.2**

Tập đoàn sống trôi nổi, hình cầu, được bao bọc bởi lớp màng nhầy bên ngoài. Mép màng nhầy sát với mép của tập đoàn. Xuất hiện lỗ hồng bên trong tập đoàn. Tế bào có hình cầu, hình trứng và chứa thể khí, đường kính 3-5 μm (Hình 3.4 e,f).

Loài xuất hiện tại cả ba vị trí thu mẫu BP1, BP2 và BP3 trong hồ Buôn Phong.

***Aphanocapsa holsatica* (Lemmermann) G.Cronberg & Komárek 1994**

Tập đoàn hình cầu hoặc hình dạng bất thường, thỉnh thoảng phân thùy, có nhiều khoảng trống nhỏ bên trong tập đoàn. Màng nhầy không màu, mép màng nhầy không đều. Những tế bào tập trung dày đặc hoặc thỉnh thoảng phân bố rời rạc, hình cầu, đường kính 1-1,5 μm (Hình 3.5 a).

Loài phù du, phân bố trong các thủy vực nước ngọt phú dưỡng. Loài rất phổ biến và có mặt trên toàn cầu (Komárek & Anagnostidis, 1999). Trong nghiên cứu này, loài xuất hiện tại cả ba vị trí thu mẫu ở hồ Buôn Phong và hồ Ea Nhái.

***Merismopedia tenuissima* Lemmermann 1898**

Tập đoàn phẳng, dẹt, có dạng hình chữ nhật, thỉnh thoảng hơi cong, trôi nổi tự do, tập đoàn con có khoảng từ 8-32 tế bào. Tế bào hình cầu hoặc ovan, sắp xếp rời rạc, đường kính tế bào từ 2- 2,5 μm (Hình 3.5 b).

Phổ biến trong những thủy vực nước ngọt phú dưỡng, đặc biệt trong những ao nuôi cá ô nhiễm, ít gặp trong các hồ tự nhiên cũng như những vùng nước lợ. Phân bố trên toàn cầu, phổ biến ở Châu Âu (Komárek & Anagnostidis, 1999). Trong nghiên cứu này, loài xuất hiện tại cả ba vị trí thu mẫu ở hồ Buôn Phong và hồ Ea Nhái.

***Snowella fennica* J.Komárek & J.Komárková-Legnerová 1992**

Tập đoàn trôi nổi tự do, đơn độc, có dạng hình cầu hoặc hơi kéo dài. Tập đoàn đa bào, trong đó một tế bào cách những tế bào còn lại và phân bố theo hướng tỏa tròn xuyên tâm. Các tế bào nối lại với nhau ở phần cuối của cuống phân nhánh, mỏng, nhày. Những cuống tế bào sắp xếp phóng xạ từ trung tâm của tập đoàn. Tế bào hình elip, có một hoặc 2 không bào khí, dài 4-6 μm , rộng 2,5-3 μm (Hình 3.5 c,d).

Loài phù du trong các hồ ở miền tây Bắc Châu Âu, phía tây biển Ban Tích và các hồ tự nhiên ở Úc (Komárek & Anagnostidis, 1999). Trong nghiên cứu, loài xuất hiện tại cả ba vị trí thu mẫu ở hồ Buôn Phong.

***Woronichinia compacta* (Lemmermann) Komarek & Hindak 1988**

Tập đoàn trôi nổi tự do, hình cầu hoặc hình ovan, kích thước tập đoàn đôi khi lên tới 80 μm , về sau phân chia thành nhiều tập đoàn con với nhiều tế bào dày đặc, các tế bào chủ yếu tập trung ở tầng bên ngoài của tập đoàn. Lớp màng nhày rộng, không màu. Tế bào hình trứng ngược, không có không bào khí, dài 4,5-6 μm , rộng 2,5-3 μm (Hình 3.5 e,f).

Loài trôi nổi tự do trong các hồ tự nhiên ở vùng ôn đới, đặc biệt ở vùng phía Bắc. Ở Châu Âu, đặc biệt phổ biến ở vùng Ban Tích, bao gồm biển Ban Tích (Komárek & Anagnostidis, 1999). Trong nghiên cứu, loài xuất hiện tại cả ba vị trí thu mẫu ở hồ Buôn Phong.

***Woronichinia naegeliana* (Unger) Elenkin 1993**

Trong hồ Buôn Phong, tập đoàn có kích thước hiển vi, hình cầu, hình trái xoan, hình quả thận hoặc phân thùy, kích thước tập đoàn đôi khi lên tới 180 μm , thỉnh thoảng bao gồm nhiều tập đoàn con với các tế bào hầu như sắp xếp dày đặc, chặt và tỏa tròn tạo thành lớp ở ngoại vi. Lớp vỏ màng nhầy bao quanh tập đoàn không màu hoặc đôi khi có màu vàng nhạt, thỉnh thoảng nhìn thấy rất rõ, có nhiều tầng tỏa tròn và mở rộng ra bên ngoài tầng tế bào. Tế bào có hình trứng ngược hoặc hình trái xoan với nhiều không bào khí, dài 4-6,5 μm , rộng 3,5-4 μm (Hình 3.5 g,h).

Loài trôi nổi được tìm thấy trong các thể nước từ trung dương đến phú dưỡng, thỉnh thoảng hình thành nở hoa. Xuất hiện ở vùng ôn đới, những ghi nhận ở vùng nhiệt đới cần xem xét lại (Komárek & Anagnostidis, 1999). Ở Việt Nam loài này xuất hiện hồ Tuyên Lâm, sông La Ngà (Trần Thị Tình, 2017; Lưu Thị Thanh Nhân, 2010) và có khả năng tạo độc tố MC. Trong nghiên cứu loài xuất hiện tại cả ba vị trí thu mẫu ở hồ Buôn Phong.

***Oscillatoria limosa* C.Agardh ex Gomont 1892**

Mao tản màu lam đen, xanh oliu đến nâu, thường phát triển thành lớp dày, bám vào giá thể, đôi lúc trôi nổi tự do trên mặt nước hay ở dạng mao tản đơn độc trôi nổi cùng các loài vi khuẩn lam hoặc các loài tảo phù du khác. Mao tản thường thẳng, dài, ít khi cong có màu lam tối đến sáng, màu nâu đến nâu violet hoặc xanh olive, rộng 12,5-20 μm , có bao mỏng không màu, không eo thắt tại vách tế bào có hạt, không hẹp hoặc rất ít về cuối sợi. Tế bào chiều dài bằng 1/3-1/6 chiều rộng, dài 2-3,5 μm , bên trong tế bào chứa nhiều hạt (Hình 3.6 a). Tế bào đỉnh lồi, tròn rộng có vách dày lên hoặc không.

Loài nước ngọt, bám trên nền đáy cát hoặc bùn, bám trên nhiều đài vật khác nhau hoặc trôi nổi tự do đơn độc hay thành khối trong các thủy vực nước đứng hoặc chảy chậm, thường xuất hiện trong các thủy vực bị ô nhiễm. Loài phân bố rộng trên toàn thế giới (Desikachary, 1959; Komárek & Anagnostidis 2005). Trong nghiên cứu này, loài xuất hiện tại cả ba vị trí thu mẫu ở hồ Buôn Phong và hồ Ea Nhái.

***Oscillatoria sancta* Kützinger ex Gomont 1892**

Loài sống đáy, mao tản màu lam sáng hoặc hơi tím nâu, rộng 15,5 -16,5 μm , rất dài, thẳng hoặc hơi cong. Thỉnh thoảng có vỏ bao mỏng nhưng rất hiếm thấy, đôi lúc có eo thắt nhẹ tại vách ngăn ngang của tế bào. Mao tản không hẹp dần về cuối sợi. Tế bào hình đĩa, chiều rộng gấp 3-6 lần chiều dài, dài 3.5-4 μm . Tế bào đỉnh hình bán cầu với vách tế bào bên ngoài dày lên.

Phân bố trong các thủy vực nước ngọt, sống đáy, bám hoặc đôi khi trôi nổi tự do trong các thủy vực nước đứng hoặc nước chảy, nước lợ và nước mặn. Phân bố trên toàn cầu (Komárek & Anagnostidis, 2005). Ở Việt Nam loài này xuất hiện sông La Ngà (Lưu Thị Thanh Nhân, 2010) . Trong nghiên cứu này, loài xuất hiện tại cả ba vị trí thu mẫu ở hồ Buôn Phong .

***Oscillatoria* sp.1**

Mao tản rộng 18,5-20 μm , không eo thắt tại vách ngăn tế bào, hẹp dần về cuối sợi. Tế bào dài 3,5-4 μm , bên trong tế bào chứa nhiều hạt. Tế bào đỉnh lõm có dạng hình cầu (Hình 3.6 c). Loài xuất hiện tại cả ba vị trí thu mẫu BP1, BP2 và BP3 trong hồ Buôn Phong.

***Oscillatoria* sp.2**

Mao tản rộng 19,5-20 μm , eo thắt rõ tại vách ngăn tế bào, không hẹp về cuối sợi. Tế bào dài 3-4 μm , bên trong tế bào chứa nhiều hạt. Tế bào đỉnh lõm, tròn rộng (Hình 3.6 d).

Trong nghiên cứu này, loài xuất hiện tại cả ba vị trí thu mẫu ở hồ Buôn Phong và hồ Ea Nhái.

***Oscillatoria* sp.3**

Mao tản rộng 12,5-15 μm , có lớp bao mỏng, không màu bao bên ngoài mao tản, hơi eo thắt tại vách ngăn tế bào có hạt, không hẹp về cuối sợi. Tế bào dài 4-5 μm , bên trong tế bào chứa nhiều hạt. Tế bào đỉnh lõm, tròn rộng, đôi khi có lớp mũ bên ngoài (Hình 3.6 e).

Trong nghiên cứu này, loài xuất hiện tại cả ba vị trí thu mẫu ở hồ Buôn Phong và hồ Ea Nhái.

***Phormidium incrustatum* Gomont ex Gomont 1892**

Mao tản màu lam sáng, rộng 3-4,5 μm , có eo thắt ở vách ngăn ngang tế bào. Hẹp ở phần đầu mao tản, tế bào đỉnh hình nón tù, vách tế bào bên ngoài dày lên. Tế bào dinh dưỡng có chiều dài bằng hoặc nhỏ hơn chiều rộng, dài 2,5-3,5 μm (Hình 3.6 f).

Phân bố trong các thủy vực nước ngọt, các suối và hồ cạn. Phân bố nhiều vùng trên thế giới (Komárek & Anagnostidis, 2005). Ở Việt Nam xuất hiện trên sông La Ngà (Luu Thị Thanh Nhân, 2010). Trong nghiên cứu này, loài xuất hiện tại cả ba vị trí thu mẫu ở hồ Ea Nhái.

***Phormidium willei* (N.L.Gardner) Anagnostidis & Komárek 1988**

Mao tản màu xanh nhạt, cong ở phần cuối, không eo thắt tại vách ngăn ngang của tế bào, không hẹp đầu cuối, rộng 4-5,5 μm . Chiều dài bằng hoặc lớn hơn 1-1,5 lần chiều rộng. Tế bào đỉnh tròn, không có dạng đầu, vách tế bào không dày lên (Hình 3.6 g).

Loài xuất hiện trong các thủy vực nước ngọt ở vùng nhiệt đới và cận nhiệt đới (Komárek & Anagnostidis, 2005). ở Việt Nam loài xuất hiện trên sông La Ngà và vườn quốc gia Lò Gò Xa Mát (Luu Thị Thanh Nhân, 2010). Trong nghiên cứu này, loài xuất hiện tại cả ba vị trí thu mẫu ở hồ Ea Nhái.

***Phormidium articulatum* (Gardner 1927) Anagnostidis and Komárek 1988**

Mao tản xanh lam, rộng 4-5 μm , không eo thắt tại vách tế bào và không hẹp đầu cuối. Tế bào sinh dưỡng có chiều dài ngắn hơn chiều rộng, dài 2,5-3,5 μm và thỉnh thoảng chiều dài bằng chiều rộng (Hình 3.6 h,i). Tế bào đỉnh tròn và không dày lên ở vách tế bào bên ngoài.

Loài sống đáy, xuất hiện trong các thủy vực nước ngọt trên thế giới. Xuất hiện chủ yếu ở vùng nhiệt đới nhưng cũng được tìm thấy trong các thủy vực ở Mỹ, bắc Brazil và Châu Âu (Komárek & Anagnostidis, 2005). Trong nghiên cứu này, loài xuất hiện tại cả ba vị trí thu mẫu ở hồ Ea Nhái.

***Pseudanabaena mucicola* (Naumann & Huber-Pestalozzi) Schwabe 1964**

Những mao tản đơn độc, rất ngắn, gồm từ 2-5 (7) tế bào, có eo thắt rõ ràng ở vách tế bào, dài 11-19 μm . Mao tản của chúng thường tìm thấy trên lớp màng nhày

của *Microcystis aeruginosa*, *Microcystis botrys* và *Aphanocapsa* sp. Những tế bào đơn độc có hình trụ dài, rộng 1,3-2,2 μm , dài 2,0-2,5 μm . Những tế bào đỉnh có hình trụ với đầu hình nón tròn và không có mũ (Hình 3.6 j).

Loài sống trôi nổi, được tìm thấy chủ yếu bên trong hoặc trên bề mặt màng nhầy của những loài VKL phù du, phân bố trên toàn cầu (Komárek & Komárková, 2002b; Komárek & Anagnostidis, 2005). Ở Việt Nam loài này xuất hiện ở sông Hương, Đập Đá, sông La Ngà, hồ Dầu Tiếng (Nguyen và cs., 2007; Lưu Thị Thanh Nhân, 2010; Phạm và cs., 2017) và có khả năng tạo độc tố MC. Trong nghiên cứu này, loài xuất hiện tại ở cả ba vị trí thu mẫu ở hồ Ea Nhái.

***Pseudanabaena minima* (G.S.An) Anagnostidis 2001**

Những mao tán đơn độc, màu xanh lam nhạt, có eo thắt rõ ràng ở vách ngăn ngang tế bào, không hẹp đầu cuối, rộng 2,5-3 μm . Tế bào sinh dưỡng có chiều dài dài hơn chiều rộng, dài 3-5 μm . Tế bào tận cùng hình tròn rộng (Hình 3.6 k).

Loài sống đáy, được tìm thấy trên đất ẩm, trên bùn. Sống bám trong các ao, suối, đầm và cánh đồng muối. Phân bố trên vùng ôn đới (Komárek & Anagnostidis, 2005). Ở Việt Nam loài này xuất hiện ở sông La Ngà (Lưu Thị Thanh Nhân, 2010). Trong nghiên cứu này, loài xuất hiện tại cả ba vị trí thu mẫu ở hồ Ea Nhái.

***Planktolynghya limnetica* (Lemmermann) Komárková-Legnerová & Cronberg 1992**

Sợi đơn độc, trôi nổi tự do, thẳng hoặc hơi cong. Vỏ bao chắc chắn, hẹp, không màu. Mao tán màu xanh lam nhạt hoặc xanh hơi vàng, rộng 1,5-1,8 μm , không eo thắt hoặc thỉnh thoảng hơi eo thắt tại vách tế bào. Các tế bào hình trụ, dài 1,8-4,5 μm , không có không bào khí, thỉnh thoảng có vài hạt dự trữ. Tế bào đỉnh tròn hoặc hơi nhọn (Hình 3.6 l).

Loài phù du, phân bố trong các hồ tự nhiên và hồ chứa nước ngọt, hiếm khi nước mặn. Ở châu Âu, xuất hiện phổ biến trong các hồ ở Nordic nhưng cũng được tìm thấy trong một số khu vực ở vùng ôn đới và có khả năng phân bố trên toàn thế giới (Canada, Nhật Bản, Brazil...) (Komárek & Anagnostidis, 2005). Trong nghiên cứu này, loài xuất hiện tại cả ba vị trí thu mẫu ở hồ Buôn Phong.

***Planktolyngbya circumcreta* (G.S.West) Anagn. & Komárek 1988**

Sợi đơn độc, trôi nổi tự do, cuộn dạng xoắn ốc không đều đến cuộn dạng đỉnh ốc hẹp, chiều rộng của mỗi vòng xoắn khoảng 35-47 μm . Mỗi cuộn xoắn gồm từ 2-9 vòng xoắn, thường phổ biến từ 2-2,5 vòng xoắn. Vỏ bao dày, chắc chắn, không màu thường bao bọc bên ngoài sợi. Sợi có màu xanh lam nhạt, rộng 1,8-2,1 μm , không eo thắt tại vách tế bào. Tế bào có dạng hình vuông, dài 1,5-2 μm , thỉnh thoảng chiều dài dài hơn chiều rộng. Tế bào đỉnh tròn, không có mũ (Hình 3.6 m).

Loài phù du, lần đầu tiên được tìm thấy ở hồ Victoria, phân bố chủ yếu trong các thể nước kiềm ở những quốc gia cận nhiệt đới đến các vùng ẩm áp ở khu vực ôn đới, thỉnh thoảng phát triển thành thảm (Komárek & Anagnostidis, 2005). Trong nghiên cứu này, loài xuất hiện tại cả ba vị trí thu mẫu ở hồ Buôn Phong.

***Lyngbya* sp.**

Sợi tảo dài, hơi cong đôi khi thẳng, rộng 9-10 μm (Hình 3.5 d). Vỏ bao dày, trong suốt, không màu. Mao tản hình trụ, màu xanh lam nhạt, rộng không eo thắt ở vách ngăn tế bào có hạt nhỏ, hẹp dần về phía đầu. Tế bào dài từ 2,5-3 μm , chứa nhiều hạt li ti, tế bào tận cùng tròn hoặc bán cầu, không bằng đầu, không có mũ, vách tế bào phía ngoài không dày lên. Loài có tiềm năng sinh độc tố CYN.

Trong nghiên cứu này, loài xuất hiện tại cả ba vị trí thu mẫu ở hồ Ea Nhái.

***Anabaena* sp.1**

Trong hồ Buôn Phong, loài tồn tại dạng sợi thẳng, đơn độc, trôi nổi tự do. Tế bào dinh dưỡng hình thùng, hơi tròn dài 2-3 μm , rộng 2,5-3 μm . Tế bào dị hình hình thùng, dài 4-4,5 μm , rộng 5-5,5 μm . Bào tử nghỉ hình gần ovan dài 5-5,5 μm , rộng 4-4,5 μm (Hình 3.7 a,b). Loài có tiềm năng sinh độc tố CYN.

Trong nghiên cứu loài xuất hiện tại cả ba vị trí thu mẫu ở hồ Buôn Phong.

***Chrysosporum ovalisporum* (Forti) E. Zapomelová, O. Skácelová, P. Pumann, R. Kopp & E. Janecek 2012**

Loài tồn tại dạng sợi đơn độc, trôi nổi, thẳng hoặc hơi cong. Tế bào dinh dưỡng hình trụ, dài 4,5-8 μm , rộng 2,5-4,5 μm . Tế bào dị hình hình cầu, đường kính từ 4-5 μm . Bào tử nghỉ hình ovan với chiều dài 10-12,5 μm , rộng từ 6,5 -8 μm (Hình 3.7 c,d).

Loài này lần đầu tiên được mô tả ở Ý. Nở hoa lần đầu được mô tả từ Hồ Kinneret, Israel, vào năm 1994 (Pollinger và cs. 1998). Đa số các trường hợp nở hoa được báo cáo cho đến nay đều tạo ra độc tố CYN (Cire's và cs., 2011; Cire's và Ballot, 2016), mặc dù các chủng không độc cũng đã được phân lập từ hồ Kinneret và hồ ở Tanzania cũng như từ các hồ đô thị ở Adelaide, Nam Úc (Cire's và Ballot, 2016; Bowling và cs., 2018). Trong nghiên cứu loài xuất hiện tại cả ba vị trí thu mẫu ở hồ Buôn Phong. Loài có khả năng tạo ra độc tố CYN.

***Anabaena* sp.2**

Trong hồ Buôn Phong, loài tồn tại dạng sợi thẳng, đơn độc, trôi nổi tự do. Tế bào dinh dưỡng hình thùng dài 3-4,5 μm , rộng 4-6,5 μm . Tế bào dị hình hình cầu đường kính 6,5-7 μm . Bào tử nghỉ hình ovan dài 11,5-13 μm , rộng 8-10 μm (Hình 3.7 e, f). Loài có khả năng sinh độc tố CYN.

Trong nghiên cứu này, loài xuất hiện tại cả ba vị trí thu mẫu ở hồ Buôn Phong.

***Dolichospermum circinale* (Rabenhorst ex Bornet et Flahault 1886) Wacklin, Hoffmann et Komarek 2009**

Sợi *Dolichospermum circinale* trong hồ Buôn Phong đơn độc, sống trôi nổi, cuộn hình xoắn ốc hoặc cuộn dạng lượn sóng. Tế bào sinh dưỡng hình thùng, rộng 6,5-8 μm , dài 3,5-5 μm . Tế bào dị hình hình cầu với đường kính 5,5-6,5 μm (Hình 3.7 g,h), bào tử nghỉ không quan sát thấy trong môi trường tự nhiên.

Loài này trước đây đã được ghi nhận ở Việt Nam từ Hồ Ba Mẫu, Hà Nội (Duong, 1996). Một số chủng phân lập ở hồ Trị An có khả năng tạo độc tố MC (Dao và cs., 2010). Trong nghiên cứu này, loài xuất hiện tại cả ba vị trí thu mẫu ở hồ Buôn Phong.

***Raphidiopsis raciborskii* (Woloszyńska) Aguilera, Berrendero Gómez, Kasto-vsky, Echenique & Salerno 2018**

Trong hai hồ nghiên cứu, sợi *R. raciborskii* trôi nổi tự do, hơi cong và thắt chặt ở vách tế bào, thon dần về phía cuối sợi với các tế bào hình nón tròn (Hình 3.8. a,b,c,d). Tế bào sinh dưỡng có hình trụ, dài 4,5-10,5 μm , rộng 2,5-4,5 μm và tế bào dị hình đơn lẻ, hình nón hoặc hình mũi tên, rộng 2,5-4,5 μm , dài 6,5-10,5 μm . Bào tử nghỉ có dạng hình bầu dục dài, dài 8-12 μm , rộng 3,5-4 μm và nằm ngay sau dị bào hoặc cách 3-4 tế bào sinh dưỡng từ tế bào dị hình trong mẫu tự nhiên.

Loài có mặt từ vùng nhiệt đới, cận nhiệt đới cho đến ôn đới, trong hầu hết các lục địa ngoại trừ vùng cực (Antunes và cs., 2015). Loài này trước đây được tìm thấy ở Hà Nội, Huế và Nha Trang với tên gọi *Anabaenopsis raciborskii* Woloszynska (Duong, 1996). Trong các năm gần đây, *R. raciborskii* xuất hiện ở hồ Xuân Hương, Biển Hồ, hồ Đức An, hồ Dầu Tiếng, hồ Trị An và một số thủy vực ở Huế... (Dao và cs., 2010, 2014; Nguyen và cs., 2007). Loài có khả năng tạo ra độc tố CYN. Trong nghiên cứu này, loài xuất hiện tại cả ba vị trí thu mẫu ở hồ Buôn Phong và hồ Ea Nhái.

***Raphidiopsis mediterranea* Skuja 1937**

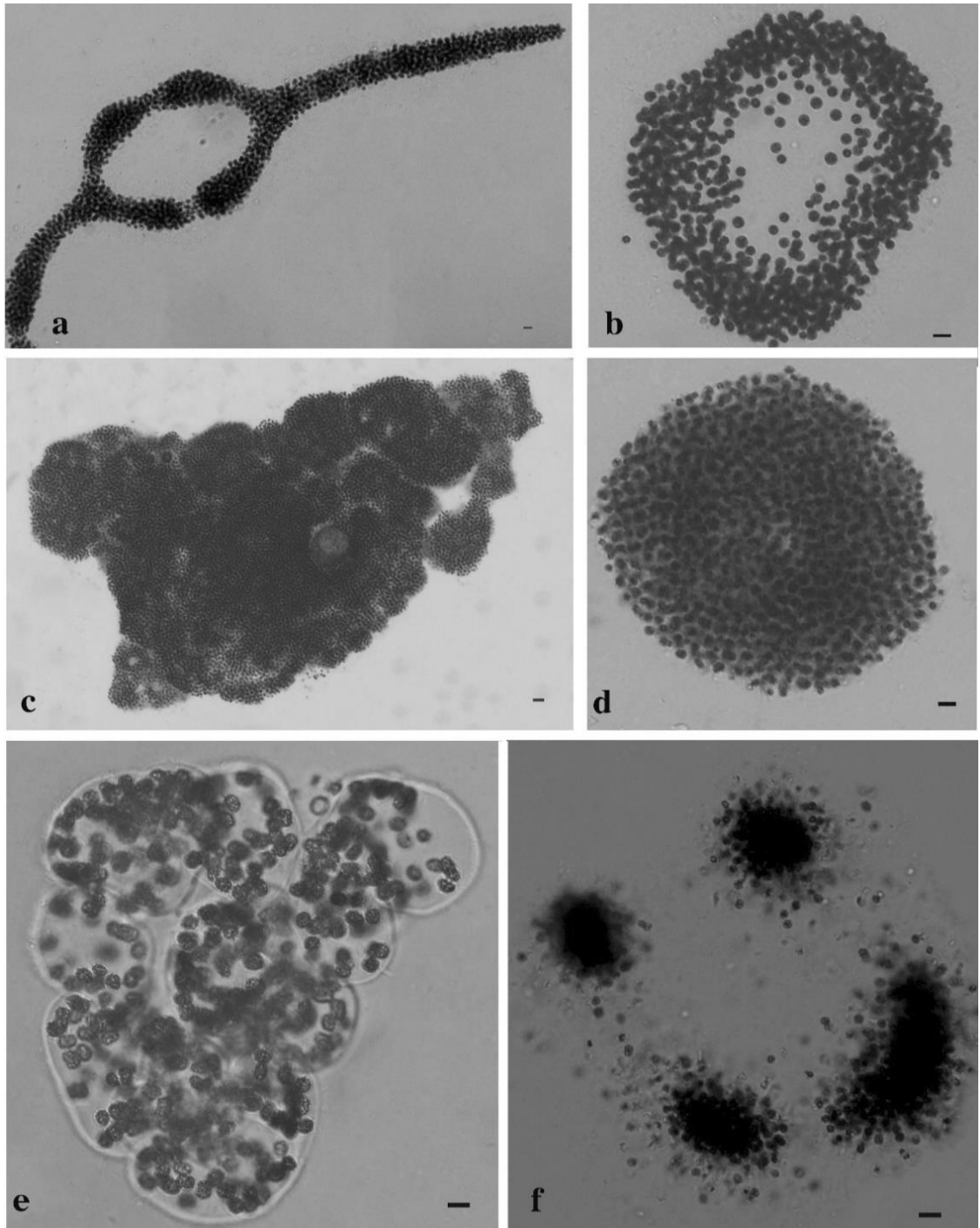
Trong hồ Ea Nhái, loài ở dạng sợi trôi nổi tự do, hầu hết là thẳng đôi khi cong, không eo thắt tại vách ngăn ngang tế bào, thon nhọn dần về cuối sợi với đỉnh sắc nhọn cả hai đầu. Các tế bào dinh dưỡng hình trụ, với nhiều không bào khí, dài từ 5,5-12,5 μm , rộng 3-5 μm . Bào tử nghỉ không được quan sát thấy trong tự nhiên (Hình 3.8 e,f).

Loài VKL nước ngọt, xuất hiện phổ biến từ vùng nhiệt đới đến cận nhiệt đới. Loài phân bố trên toàn thế giới (Desikachary, 1959; Nguyen và cs., 2007). Ở Việt Nam, *R. mediterranea* được tìm thấy trong một số thủy vực ở Huế (Nguyen và cs., 2007). Loài có khả năng tạo ra độc tố CYN. Trong nghiên cứu này, loài xuất hiện tại cả ba vị trí thu mẫu ở hồ Ea Nhái.

***Raphidiopsis curvata* Fritsch and Rich 1929**

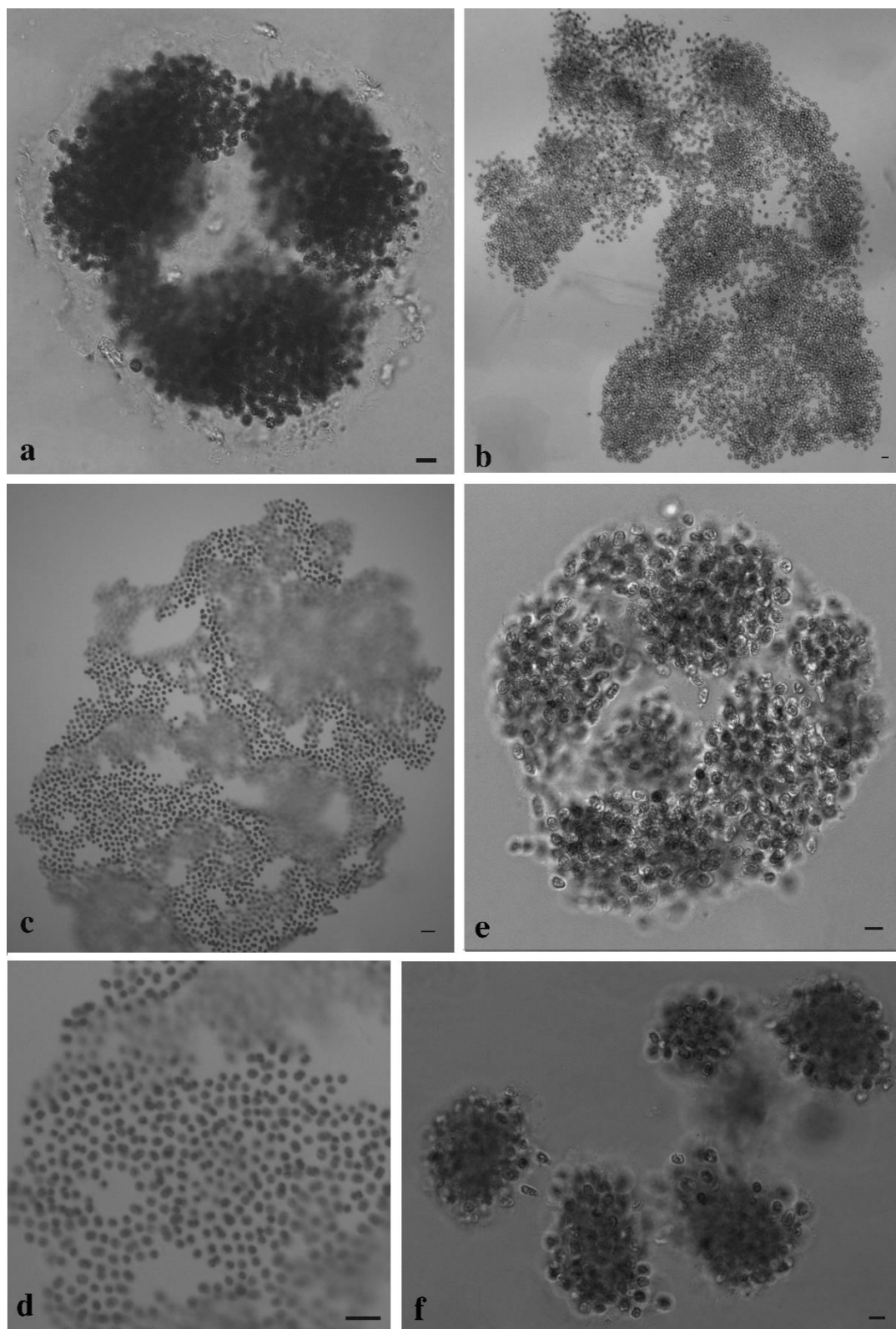
Sợi đơn độc, sống trôi nổi, hơi uốn cong, không eo thắt ở vách ngăn ngang tế bào, thuôn nhọn cả hai đầu sợi. Tế bào dinh dưỡng hình trụ, dài 7,5-15,5 μm , rộng 2-4,5 μm (Hình 3.8 g,h). Không quan sát thấy bào tử nghỉ trong môi trường tự nhiên của hồ.

Loài VKL nước ngọt, được tìm thấy phía Tây châu Phi (Fritsch & Rich, 1929), phía Nam châu Phi (Cronberg & Komárek, 2004) và Ấn Độ (Desikachary, 1959). Ở Việt Nam, *R. curvata* được tìm thấy đầu tiên bởi Dang và cs. (2002). Về sau, *R. curvata* được phân lập từ một số thủy vực ở Huế (Nguyen và cs., 2007). Loài có khả năng tạo ra độc tố CYN. Trong nghiên cứu này, loài xuất hiện tại cả ba vị trí thu mẫu ở hồ Ea Nhái.

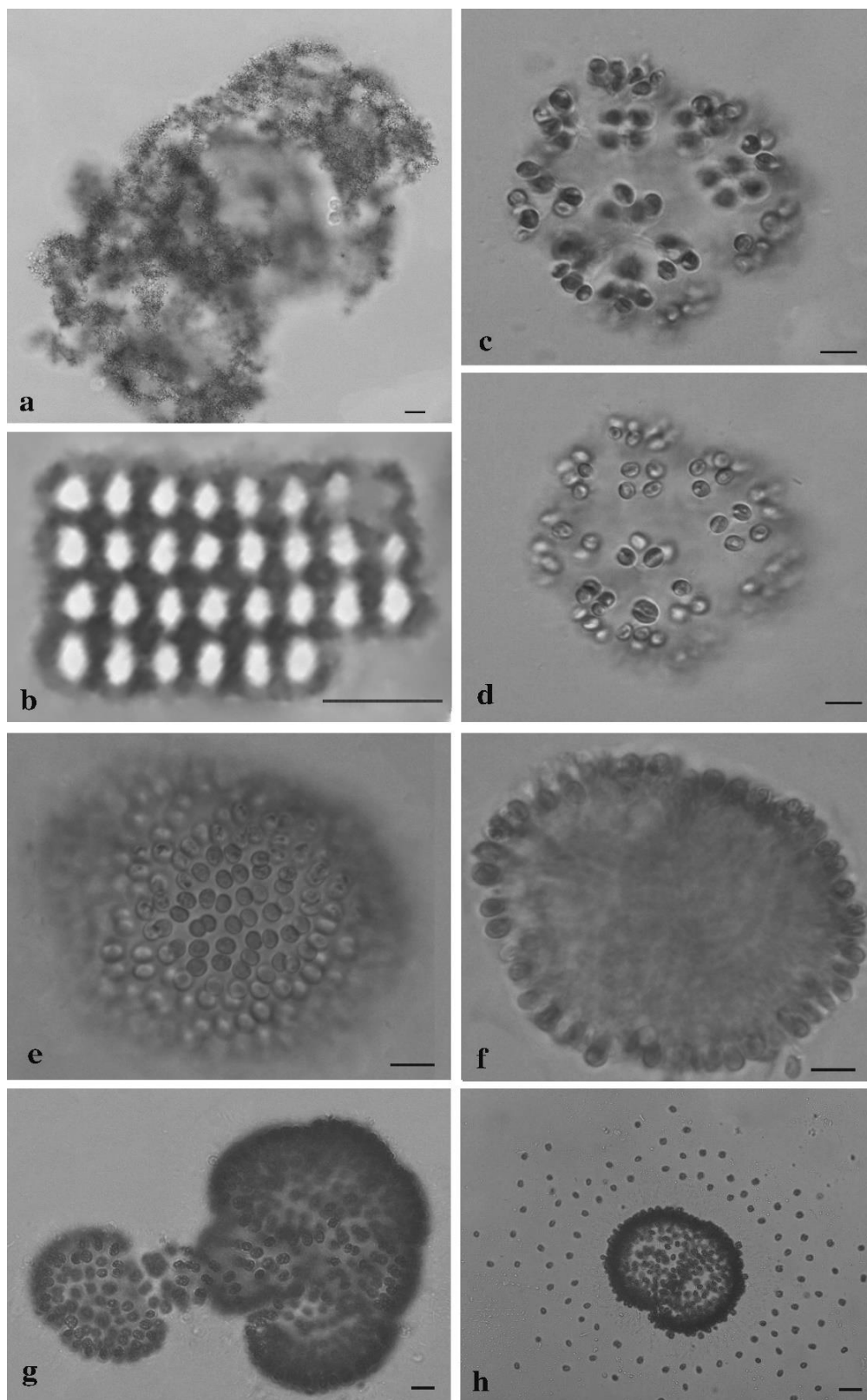


Hình 3.3. Các loài VKL a,b. *M. aeruginosa*; c. *M. panniformis*; d. *M. flos-aquae*; e. *M. wesenbergii*; f. *M. botrys* trong hồ Ea Nhái và hồ Buôn Phong.

Thước 10 μ m

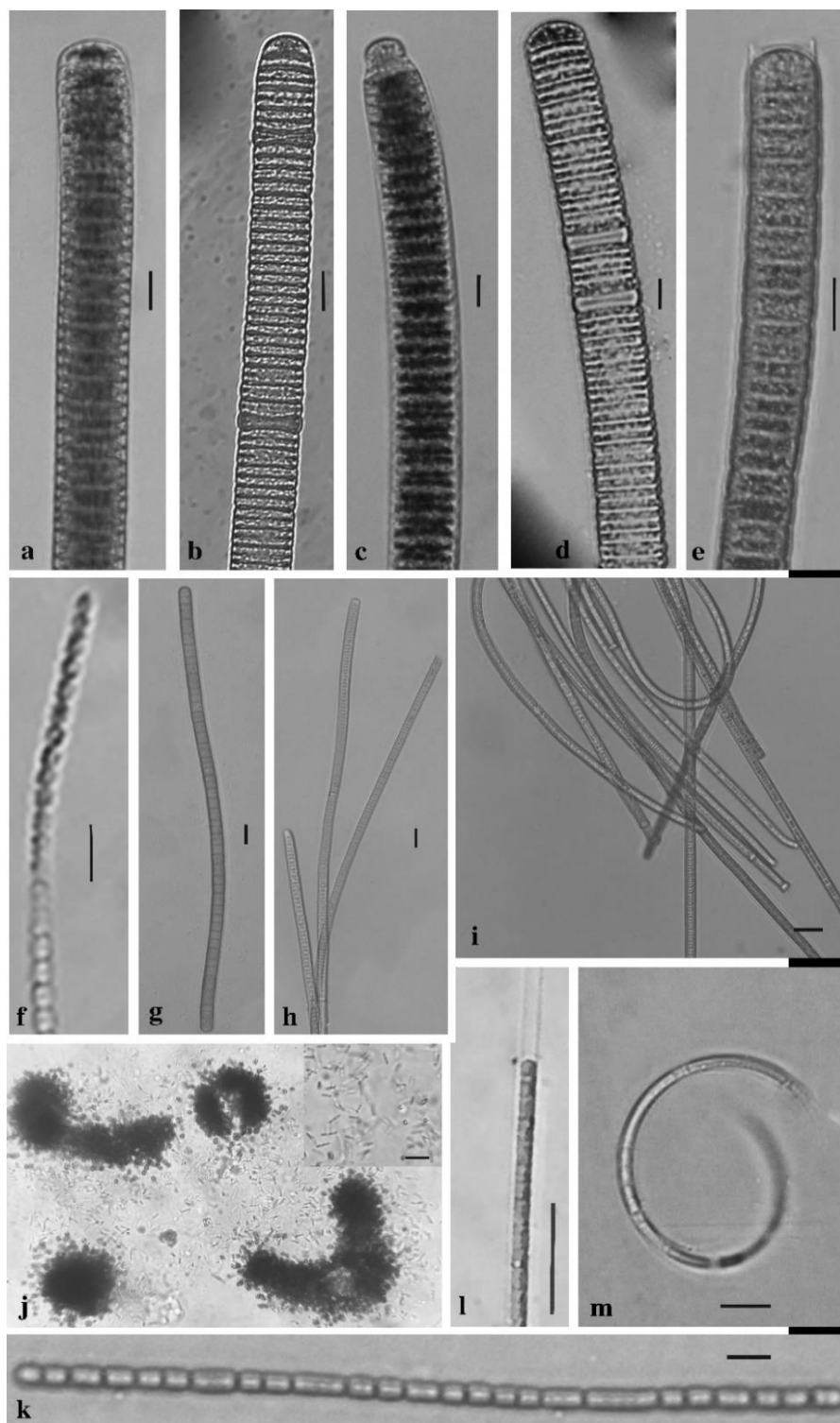


**Hình 3.4. Các loài VKL a. *M. novacerkii*; b. *M. natans*;
c,d. *Microcystis* sp.1; e,f. *Microcystis* sp.2 trong hồ Ea Nhái và hồ Buôn Phong.
Thước 10 µm**

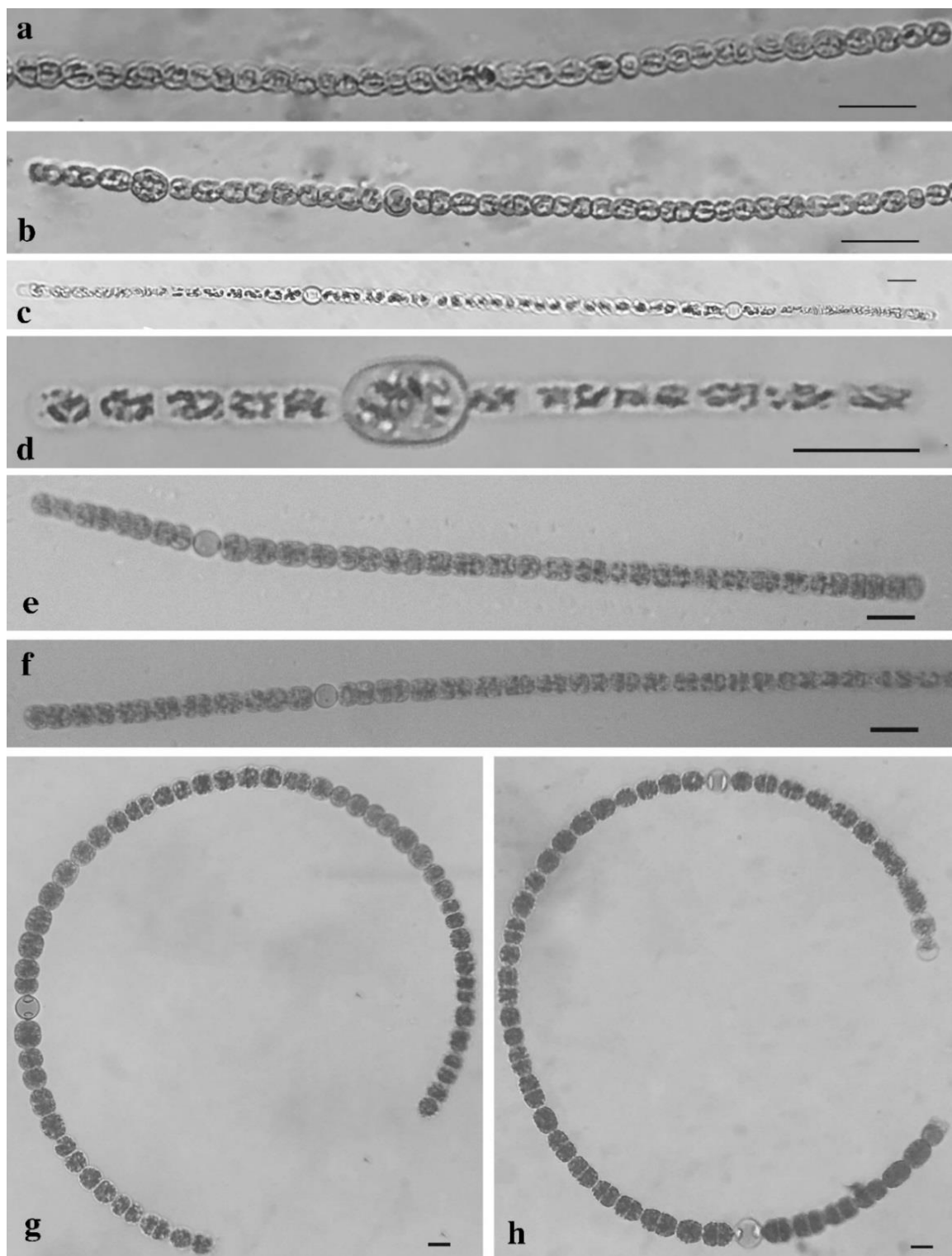


Hình 3.5. Các loài VKL a. *A. holsatic*; b. *M. tenuissima*; c,d. *S. fennica*; e,f. *W. compacta*; g,h. *W. naegeliana* trong hồ Ea Nhái và hồ Buôn Phong.

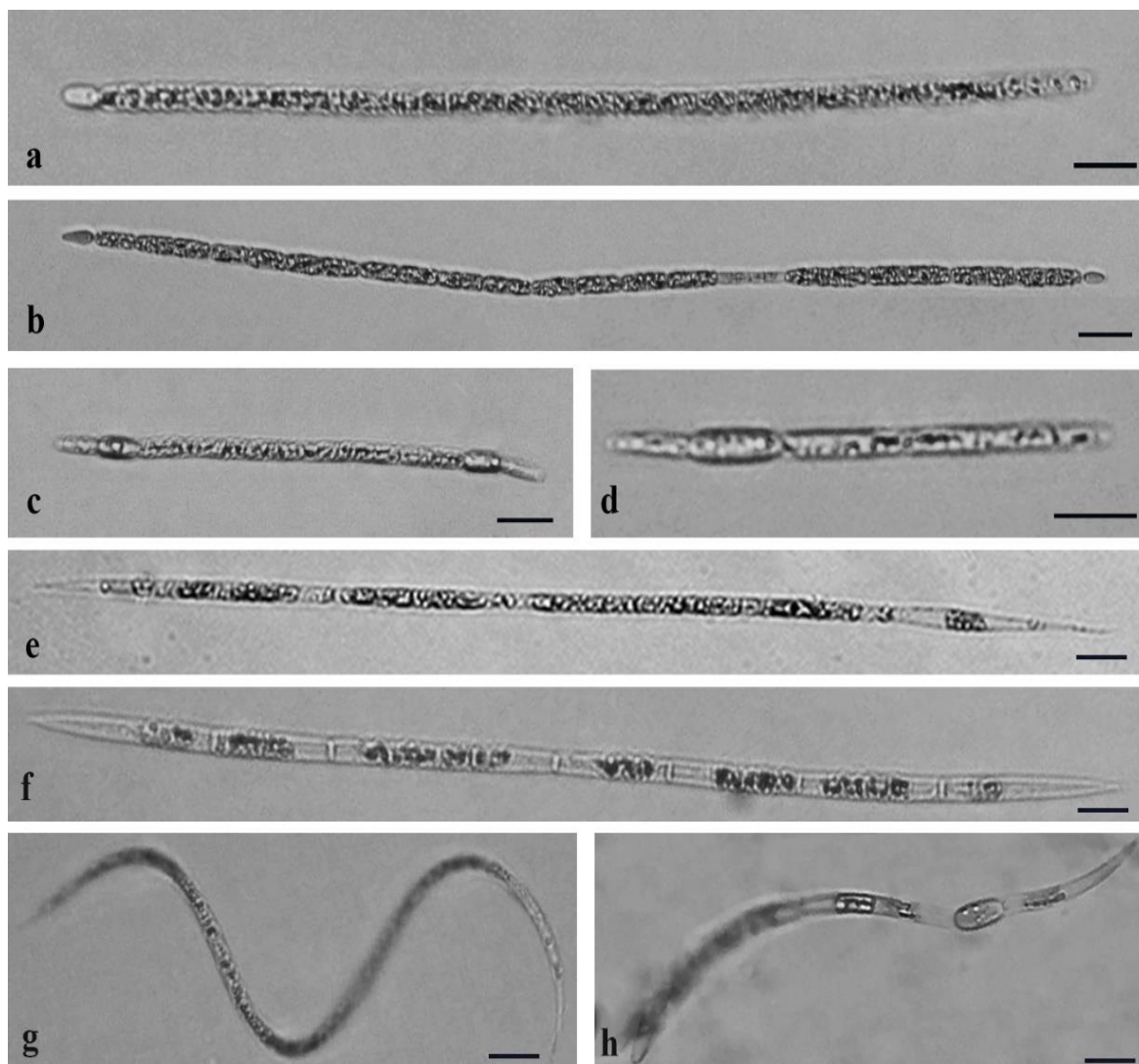
Thước 10 μm



Hình 3.6. Các loài VKL a. *O. limosa*; b. *O. sancta*; c. *Oscillatoria* sp.1; d. *Oscillatoria* sp.2; e. *Oscillatoria* sp.3; f. *P. incrustatum*; g. *P. willei*; h,i. *P. acticulatum*; j. *P. mucicola*; k. *P. minima*; l. *P. limnetica*; m. *P. circumcincta* trong hồ Ea Nhái và hồ Buôn Phong. Thước 10 μm



Hình 3.7. Các loài VKL a. *Anabaena* sp.1; b. *C. ovalisporum*; c. *Anabaena* sp.2; d. *D. circinale* trong hồ Ea Nhái và hồ Buôn Phong. Thước 10 μm



Hình 3.8. Các loài VKL a,b,c,d. *R. raciborskii*; e,f. *R. mediterranea*; g,h. *R. curvata* trong hồ Ea Nhái và hồ Buôn Phong. Thước 10 μm

3.1.3. Các loài VKL có khả năng sinh ra độc tố trong hồ Ea Nhái và hồ Buôn Phong

Tại hai hồ nghiên cứu đã xác định được 16 loài VKL (chiếm 47,1% tổng số loài) nằm trong danh mục các loài có khả năng sản sinh độc tố và được trình bày trong bảng 3.2. Trong đó chi *Microcystis*, *Pseudanabaena*, *Woronichinia* tạo ra độc tố gan; chi *Anabaena*, *Dolichospermum*, *Oscillatoria*, *Planktolyngbya* thường tạo ra độc tố gan và độc tố thần kinh; chi *Chrysosporum*, *Raphidiopsis* tạo ra độc tố tế bào và độc tố thần kinh (Chorus và Welker, 2021).

**Bảng 3.2. Thành phần loài VKL có khả năng sinh độc tố ở hồ Ea Nhái
và hồ Buôn Phong**

STT	Tên khoa học	Nguồn trích dẫn
1	<i>Merismopedia tenuissima</i>	Mohamed and Al-Shehri, 2010.
2	<i>Woronichinia naegeliana</i>	Willame và cs., 2005.
3	<i>Microcystis aeruginosa</i>	Carmichael và cs., 1988.
4	<i>Microcystis wesenbergii</i>	Yasumo và cs., 1995.
5	<i>Microcystis botrys</i>	Via-Ordorika và cs., 2004.
6	<i>Microcystis flos-aquae</i>	Via-Ordorika và cs., 2004.
7	<i>Microcystis panniformis</i>	Via-Ordorika và cs., 2004.
8	<i>Microcystis novacerkii</i>	Li H và cs., 2009.
9	<i>Oscillatoria limosa</i>	Mohamed và cs., 2008.
10	<i>Planktolyngbya limnetica</i>	Christensen và cs., 2006.
11	<i>Pseudanabaena mucicola</i>	Oudra và cs., 2002.
12	<i>Dolichospermum circinale</i>	Pomati và cs., 2006.
13	<i>Chrysosporum ovalisporum*</i>	Stucken và cs., 2009.
14	<i>Raphidiopsis raciborskii*</i>	Ohtani và cs., 1992.
15	<i>Raphidiopsis mediterranea*</i>	McGregor và cs., 2011.
16	<i>Raphidiopsis curvata*</i>	Li và cs., 2001a.

Ghi chú: dấu *: Loài có khả năng sinh độc tố CYN.

Từ bảng 3.2 cho thấy, hồ Buôn Phong có 13 loài VKL có khả năng sinh độc tố, trong đó có 2 loài có khả năng sinh độc tố CYN (*C. ovalisporum*, *R. raciborskii*). Ở hồ Ea Nhái, có 11 loài VKL có khả năng sinh độc tố với 3 loài có khả năng sinh độc tố CYN là *R. raciborskii*, *R. mediterranea* và *R. curvata*. Kết quả cho thấy rằng, số lượng VKL độc trong khu vực nghiên cứu là khá cao chiếm gần 50% tổng số loài, trong đó có bốn loài VKL có khả năng sinh độc tố CYN bao gồm: *C. ovalisporum*, *R. raciborskii*, *R. mediterranea* và *R. curvata*. Tỷ lệ nhóm loài VKL có khả năng sinh độc tố trong hai hồ nghiên cứu cao hơn nhiều so với tỷ lệ ở 3 hồ chứa tại cao nguyên Lâm Viên (chiếm 30,8% tổng số loài), hai hồ chứa (hồ Easoup + hồ Đắk Minh) ở Đắk Lắk (chiếm 34,6% tổng số loài). Điều này cho thấy nguy cơ ô nhiễm độc tố cũng như rủi ro tiềm ẩn về vấn đề sức khỏe khi sử dụng nguồn nước nơi đây là rất lớn.

Trong hồ Buôn Phong cho thấy sự đồng xuất hiện của loài *R. raciborskii* với những loài *Microcystis* spp. trong suốt thời kỳ nghiên cứu. Kết quả này hoàn toàn phù hợp với nghiên cứu của một số tác giả trước đây và họ cho rằng sự đồng ưu thế này có lẽ do khả năng tự điều chỉnh vị trí của mình trong cột nước và chúng có điều kiện môi trường sống một phần trùng nhau (Soares và cs., 2013; Moura và cs., 2015). Trái với kết quả trên, một số nghiên cứu cho rằng *R. raciborskii* đồng ưu thế hoặc đồng xuất hiện với những loài thuộc chi *Lyngbya*, chi *Planktolynghya* và chi *Planktothrix* còn *Microcystis* thì xuất hiện cùng với những loài thuộc cùng một chi *Sphaerocavum* (Soares và cs., 2013). Thậm chí, một số tác giả tìm thấy sinh khối của chi *Microcystis* đã thay thế sinh khối của chi *Raphidiopsis* trong một vài hệ sinh thái nước (Marinho và cs., 2002; Crossetti và cs., 2008).

Ngược lại, trong hồ Ea Nhái loài *R. raciborskii* chiếm ưu thế quanh năm. Sự chiếm ưu thế quanh năm của loài này cũng được bắt gặp trong một số hồ chứa ở vùng nhiệt đới. Điều này có lẽ do *R. raciborskii* có nhu cầu ánh sáng thấp, khoảng chịu đựng nhiệt độ lớn, chiến lược sử dụng nitrogen linh động, khả năng hấp thu và dự trữ phospho cao (Soares và cs., 2013; Burford và cs., 2016) hay nói cách khác chúng có biên độ sinh thái rộng nơi những yếu tố môi trường chủ đạo. Kèm theo đó là khả năng tạo độc tố như chất ức chế cảm nhiễm, sống cách tầng nước mặt 2-3 m và khả năng tạo bào tử nghỉ dưới cường độ ánh sáng cao (Senanayake và cs., 2017). Không giống như hồ Buôn Phong, những loài VKL thuộc chi *Microcystis* hồ Ea Nhái chỉ xuất hiện vào những tháng mùa khô với thể tích sinh học khá thấp. Một số tác giả cho rằng khả năng chịu đựng cường độ ánh sáng cao và khả năng chịu được điều kiện phân tầng đã ủng hộ những loài *Microcystis* spp. trội trong suốt những tháng mùa hè của năm (Soares và cs., 2013).

Như vậy, trong hai hồ nghiên cứu, có 16 loài VKL có khả năng sản sinh độc tố. Ở hồ Buôn Phong có 13 loài và hồ Ea Nhái có 11 loài. Những loài *Microcystis* spp. chiếm ưu thế trong hồ Buôn Phong. Trong khi đó, chi chiếm ưu thế trong hồ Ea Nhái lại là *Raphidiopsis*. Có 4 loài VKL có khả năng sinh độc tố CYN bao gồm: *C. ovalisporum*, *R. raciborskii*, *R. mediterranea* và *R. curvata*.

3.2. Thể tích sinh học của các loài VKL và hàm lượng độc tố CYN trong hồ Ea Nhái và hồ Buôn Phong

3.2.1. Thể tích sinh học của các loài VKL và hàm lượng độc tố CYN trong hồ Ea Nhái

3.2.1.1. Thể tích sinh học của các loài VKL hồ Ea Nhái

Từ kết quả phân tích chúng tôi nhận thấy thể tích sinh học của *R. raciborskii* chiếm tỉ lệ cao nhất, tiếp đến là *Lyngbya* sp., *R. curvata*, *Microcystis* spp., *R. mediterranea*. Loài *Merismopedia tenuissima* có thể tích sinh học thấp nhất trong quần xã VKL hồ Ea Nhái.

Thể tích sinh học của *R. raciborskii* biểu hiện sự khác biệt theo thời gian với giá trị thấp nhất là 0,77 mm³/L tháng 6 năm 2019 và giá trị cao nhất là 66,80 mm³/L vào tháng 1 năm 2020. Mặc dù *R. raciborskii* không tạo váng trên bề mặt nước nhưng xuất hiện những vệt vàng lơ lửng dưới bề mặt nước vào những tháng mùa khô trong hồ.

Tiếp theo đó, thể tích sinh học của loài *Lyngbya* sp. chiếm tỷ lệ tương đối thấp từ 0,00-1,85 mm³/L. Loài này không xuất hiện quanh năm, có mặt vào thời điểm giao mùa và mùa khô của năm. Thể tích sinh học đạt giá trị cao nhất vào cuối mùa khô (1,85 mm³/L - tháng 3/2020).

Loài *R. curvata*, được xem như loài có khả năng tạo độc tố CYN, xuất hiện quanh năm trong hồ nghiên cứu nhưng với thể tích sinh học nhỏ hơn rất nhiều so với *R. raciborskii*. Thể tích sinh học *R. curvata* cho thấy sự biến động theo mùa, thấp vào những tháng mùa mưa (0,001-0,009 mm³/L) và cao hơn vào những tháng mùa khô (0,01-0,08 mm³/L).

Mặc dù cũng là loài có khả năng tạo CYN, *R. mediterranea* không xuất hiện thường xuyên, vắng mặt trong những tháng mùa mưa và chỉ hiện diện trong các tháng mùa khô với thể tích sinh học không đáng kể từ 0,006-0,016 mm³/L. Giá trị này cao dần vào những tháng cuối mùa khô.

Những loài thuộc chi *Microcystis* chỉ xuất hiện trong những tháng mùa khô với thể tích sinh học khá thấp, trong khoảng 0,006 – 0,043 mm³/L. Thể tích sinh học đạt giá trị cao vào giữa mùa khô.

M. tenuissima có mặt trong suốt 12 tháng nghiên cứu nhưng có thể tích sinh học nhỏ nhất trong quần xã VKL của hồ, dao động trong khoảng từ 0,003-0,013 mm³/L. Tương tự *Raphidiopsis*, *M. tenuissima* cũng biến động theo mùa, thấp vào những tháng mùa mưa và cao hơn vào những tháng mùa khô trong năm.

Như vậy, chúng tôi thấy rằng thể tích sinh học của 3 loài VKL có khả năng sinh độc tố CYN (*R. raciborskii*; *R. curvata* và *R. mediterranea*) biến động theo mùa rõ rệt, thấp vào những tháng mùa mưa và cao hơn vào những tháng mùa khô (Hình 3.9).

3.2.1.2. Hàm lượng độc tố CYN trong hồ Ea Nhái

Hàm lượng CYN trong các mẫu nước mặt lấy từ hồ Ea Nhái được phân tích bằng phương pháp ELISA. Kết quả ELISA cho thấy sự hiện diện của CYN trong tất cả các mẫu nước suốt 12 tháng nghiên cứu, từ tháng 5 năm 2019 đến tháng 4 năm 2020 với giá trị trung bình là $1,24 \pm 0,08$ µg/L. Nồng độ CYN cho thấy sự biến động theo mùa, cao hơn trong các tháng mùa khô (1,27-1,34 µg/L) và thấp hơn vào những tháng mùa mưa (1,01-1,26 µg/L) (Hình 3.9).

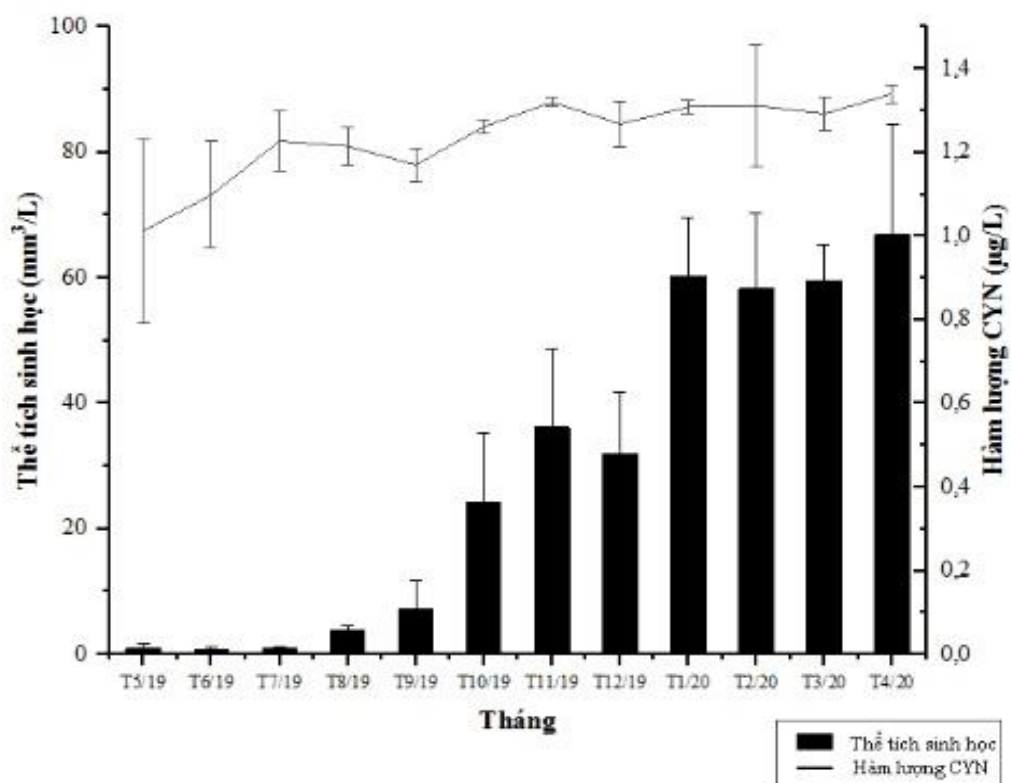
Phân tích tương quan Pearson cho thấy mối tương quan đáng kể giữa hàm lượng CYN và thể tích sinh học của 3 loài VKL có khả năng tạo độc tố CYN (*R. raciborskii*, *R. curvata*, *R. mediterranea*) và loài *Lyngbya* sp. ($p < 0,01$, $p < 0,01$, $p < 0,01$ và $p < 0,05$, Bảng 3.3). Tuy nhiên, thể tích sinh học trung bình của 3 loài: *R. curvata*, *R. mediterranea* và *Lyngbya* sp. rất thấp, tương ứng 0,03; 0,006 và 0,61 mm³/L. Do đó, chúng tôi nghĩ rằng, loài *R. raciborskii* (lên tới 66,8 mm³/L) có thể là nguồn tạo CYN chủ yếu trong suốt thời gian nghiên cứu ở hồ Ea Nhái.

Bảng 3.3. Mối tương quan giữa thể tích sinh học của các loài VKL có khả năng sinh độc tố và hàm lượng độc tố CYN trong hồ Ea Nhái

	<i>R. raciborskii</i>	<i>R. mediterranea</i>	<i>R. curvata</i>	<i>Microcystis</i>	<i>M. tenuissima</i>	<i>Lyngbya</i> sp.	CYN
<i>R. raciborskii</i>	1						
<i>R. mediterranea</i>	0,905**	1					
<i>R. curvata</i>	0,842**	0,928**	1				
<i>Microcystis</i>	0,599**	0,687**	0,702**	1			
<i>M. tenuissima</i>	0,663**	0,704**	0,761**	0,230	1		
<i>Lyngbya</i> sp.	0,615**	0,686**	0,544**	0,806**	0,066	1	
CYN	0,596**	0,506**	0,438**	0,317	0,301	0,364*	1

** : Mức ý nghĩa 0,01 (2 phía)

* : Mức ý nghĩa 0,05 (2 phía)



Hình 3.9. Sự biến đổi theo mùa thể tích sinh học của *R. raciborskii*, *R. curvata*, *R. mediterranea* và hàm lượng CYN ở hồ Ea Nhái

3.2.2. Thể tích sinh học của các loài VKL và hàm lượng độc tố CYN trong hồ Buôn Phong

3.2.2.1. Thể tích sinh học của các loài VKL hồ Buôn Phong

Trong hồ Buôn Phong, chúng tôi nhận thấy thể tích sinh học của các loài thuộc chi *Microcystis* chiếm tỉ lệ cao nhất trong quần xã VKL, trên 84% tổng thể tích sinh học VKL trong hồ. Nhóm loài này xuất hiện quanh năm trong hồ nghiên cứu với thể tích sinh học dao động trong khoảng 4,67-43,37 mm³/L, thấp trong những tháng mùa mưa và tăng mạnh vào những tháng mùa khô.

Tiếp đến là loài *R. raciborskii*, thể tích sinh học đạt giá trị từ 0,12-9,14 mm³/L, chiếm 11,9% tổng thể tích sinh học VKL. *R. raciborskii* xuất hiện quanh năm với thể tích sinh học thay đổi đáng kể theo mùa, thấp vào những tháng mùa mưa và cao hơn vào các tháng mùa khô (Hình 3.10). Sự nở hoa của *R. raciborskii* xảy ra trong những tháng mùa khô trong năm khi thể tích sinh học nằm trong khoảng từ 1,56 đến 9,14 mm³/L và đạt tới mức tối đa vào cuối mùa khô, 9,14 mm³/L.

Loài *Anabaena* sp.2 hiện diện quanh năm trong hồ chứa với thể tích sinh học thấp nhất hồ từ 0,08-3,16 mm³/L. Thể tích sinh học cho thấy sự biến động theo mùa, đạt giá trị thấp nhất vào tháng 6/2019 (đầu mùa mưa) và cao nhất vào tháng 1/2020 (giữa đầu mùa khô) (Hình 3.10).

3.2.2.2. Hàm lượng độc tố CYN trong hồ Buôn Phong

Kết quả phân tích ELISA cho thấy độc tố CYN trong nước hồ chứa hiện diện trong suốt 12 tháng nghiên cứu, dao động từ 0,04 - 0,72 µg/L. Hàm lượng độc tố cũng cho thấy sự biến động theo mùa cao vào những tháng mùa khô và thấp hơn vào những tháng mùa mưa (Hình 3.10).

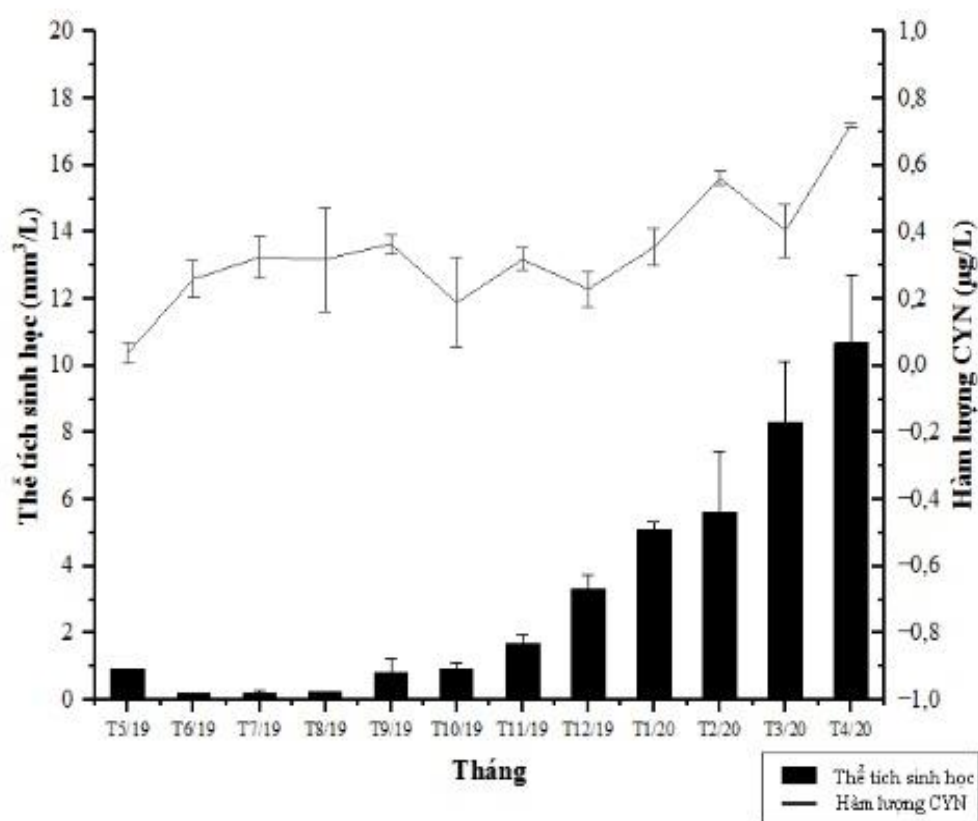
Từ hệ số tương quan Pearson, chúng tôi thấy rằng *R. raciborskii* có mối tương quan mạnh với hàm lượng CYN ($p < 0,01$) trong hồ. Bên cạnh đó, loài *Anabaena* sp.2 cũng cho thấy mối tương quan với CYN khi $p < 0,05$, yếu hơn so với mối tương quan giữa giữa *R. raciborskii* và CYN. Trái lại, các loài *Microcystis* spp. được biết đến là nhóm loài chính tạo độc tố gan microcystin (MC) không cho thấy mối tương quan nào với nồng độ độc tố CYN trong hồ (Bảng 3.4). Từ đó, chúng tôi nghĩ rằng, hàm lượng CYN trong hồ do 2 loài *R. raciborskii* và *Anabaena* sp.2 tạo ra nhưng có thể phần lớn là từ *R. raciborskii*.

Bảng 3.4. Mối tương quan giữa thể tích sinh học của các loài VKL có khả năng sinh độc tố và hàm lượng độc tố CYN trong hồ Buôn Phong

	<i>R. raciborskii</i>	<i>Anabaena</i> sp.2	<i>Microcystis</i>	Total Cyanobacteria	CYN
<i>R. raciborskii</i>	1				
<i>Anabaena</i> sp.2	0,566**	1			
<i>Microcystis</i>	0,566**	0,717**	1		
Total Cyanobacteria	0,696**	0,771**	0,985**	1	
CYN	0,538**	0,343*	0,301	0,377*	1

** : Mức ý nghĩa 0,01 (2 phía)

* : Mức ý nghĩa 0,05 (2 phía)



Hình 3.10. Sự biến đổi theo mùa thể tích sinh học của *R. raciborskii*; *Anabaena* sp.2 và hàm lượng CYN ở hồ Buôn Phong

Dựa vào thể tích sinh học, trong cả hai hồ nghiên cứu đều ghi nhận sự nở hoa của loài *R. raciborskii*. Nở hoa *R. raciborskii* cũng xảy ra ở các hồ Waahi, Waikare và Whangape ở New Zealand với cường độ và tần suất khác nhau. Nở hoa ở hồ Waahi vào tháng 4 năm 2007 với thể tích sinh học đạt 4,5 mm³/L. Tại hồ Waikare, *R. raciborskii* đã hình thành các đợt nở hoa dày đặc vào mùa hè với đợt nở hoa nghiêm trọng nhất xảy ra vào tháng 2 năm 2011 và tháng 3 năm 2013 khi thể tích sinh học lần lượt đạt các giá trị 12,5 mm³/L và 7,4 mm³/L, trong khi *R. raciborskii* nở hoa thường xuyên và dày đặc nhất ở Hồ Whangape với thể tích sinh học đạt đỉnh là 144 mm³/L (Wood và cs., 2014). Tương tự, đợt nở hoa dày đặc cũng được quan sát thấy trong các ao cạn ở phía bắc Đài Loan, khi thể tích sinh học *R. raciborskii* đạt giá trị cao nhất là 102,5 mm³/L vào cuối tháng 9 năm 2009 (Yamamoto và Shiah, 2016). Dựa trên khảo sát theo mùa ở các hồ ở tỉnh Vân Nam, Trung Quốc, nơi *R. raciborskii* hình thành nở hoa ở Hồ Xihu tại một nhiệt độ nước thấp (10-15 °C) với thể tích sinh học nằm trong khoảng 0,01-42,44 mm³/L (Jia và cs., 2021).

Ở hồ Ea Nhái, chi *Raphidiopsis* (chủ yếu *R. raciborskii*) phát triển ưu thế hơn cả, gần như nở hoa thuần loài *R. raciborskii* xuyên suốt năm. Trong khi đó, những loài thuộc chi *Microcystis* (chủ yếu *M. aeruginosa*) chỉ hiện diện (không gây nở hoa) vào những tháng mùa khô với thể tích sinh học rất thấp. Như vậy, trong hồ Ea Nhái loài *R. raciborskii* có lợi thế cạnh tranh tốt hơn và gần như thay thế các loài *Microcystis* spp.. Trái lại, ở hồ Buôn Phong, những loài thuộc chi *Microcystis* lại chiếm ưu thế và gây nở hoa quanh năm với thể tích sinh học cao nhất. Tuy nhiên, loài *R. raciborskii* cũng cho thấy hiện diện quanh năm với thể tích sinh học khá cao và gây nở hoa vào những tháng mùa khô.

Sự đồng ưu thế của *R. raciborskii* với những loài *Microcystis* spp. trong hồ Buôn Phong cũng bắt gặp trong hồ chứa Mundaú khi *R. raciborskii* đồng xuất hiện cùng với loài thuộc chi *Microcystis* (*M. panniformis*). Nhóm tác giả cho rằng, sự đồng xuất hiện của *R. raciborskii* và *M. panniformis* không phụ thuộc vào các điều kiện hóa lý trong hồ mà có thể phụ thuộc vào sự thích nghi về hình thái và sinh lý để tận dụng những thay đổi lý hóa trong cột nước của chúng. Loài này vẫn có thể sinh trưởng tốt trong điều kiện môi trường mà loài kia đang chiếm ưu thế, cho phép sự đồng xuất hiện của cả hai loài VKL (Moura và cs., 2015). Trái ngược với những phát hiện trên, một số nghiên cứu cho thấy sinh khối của *Microcystis* thay thế sinh khối *R. raciborskii* trong một số hệ sinh thái thủy sinh (Lei và cs., 2022). Tương tự, Vanderley và cs. (2022) cũng thấy rằng, *Raphidiopsis* và *Microcystis* hiếm khi đồng xuất hiện theo thời gian và sự chuyển đổi giữa chúng được thúc đẩy bởi độ trong suốt của nước. Sở dĩ những kết quả trái ngược nhau như vậy, có thể do sự biến đổi chủng bên trong những quần thể. Thật vậy, các thử nghiệm trong nghiên cứu của Lei và cs. (2022) cho thấy rằng có tồn tại sự biến đổi sinh lý giữa các chủng *M. aeruginosa* và do đó kết quả cạnh tranh giữa các chủng của loài *M. aeruginosa* và *R. raciborskii* rất khác nhau. Chủng *M. aeruginosa* FACHB905 là đối thủ cạnh tranh mạnh nhất và gần như loại trừ *R. raciborskii*, trong khi chủng *M. aeruginosa* FACHB469 là đối thủ yếu nhất và luôn tồn tại cùng *R. raciborskii*.

Bên cạnh những biến đổi sinh học xảy ra trong các chủng, nhiều nghiên cứu đã chứng minh rằng nhiệt độ tăng cũng có thể thúc đẩy sự phát triển và mở rộng của loài *R. raciborskii* tốt hơn so với loài *M. aeruginosa*. Thật vậy, Thomas và Litchman (2016) đã cho thấy nhiệt độ có ảnh hưởng đáng kể đến sự cạnh tranh giữa loài *M. aeruginosa*

và loài *R. raciborskii*. *M. aeruginosa* đã vượt qua *R. raciborskii* ở nhiệt độ 24 °C, trong khi *R. raciborskii* vẫn duy trì lợi thế ở nhiệt độ 32 °C. Kết quả này cho thấy nhiệt độ tăng có thể thúc đẩy sự phát triển của *R. raciborskii* tốt hơn. Tương tự, Xiao và cs. (2017b) cũng thấy rằng, chủng chiếm ưu thế trong cạnh tranh luôn là loài *M. aeruginosa* ở nhiệt độ 20 °C và *R. raciborskii* ở nhiệt độ 28 °C (Xiao và cs., 2017b).

Nồng độ CYN trong hồ Buôn Phong tương đối thấp, thấp hơn so với nồng độ CYN ở hồ Ea Nhái. Hàm lượng CYN được phát hiện trong hồ Ea Nhái cao hơn giá trị hướng dẫn về nước uống hàng ngày cho CYN là 0,7 µg/L do Tổ chức Y tế thế giới đề xuất (Chorus và Welker, 2021). Trong khi đó, hàm lượng độc tố CYN trong hồ chứa Buôn Phong vẫn nằm trong ngưỡng cho phép. Tuy nhiên, sự hiện diện của độc tố CYN trong hai hồ chứa cho thấy những rủi ro tiềm ẩn của nguồn nước trong tương lai khi sử dụng cho mục đích uống, sinh hoạt, chăn nuôi và nuôi trồng thủy sản. Với nồng độ trung bình 1,24 µg/L - CYN đo được trong hồ Ea Nhái có thể so sánh với giá trị 0,11-1,12 µg/L được báo cáo từ sáu hồ ở Washington, Hoa Kỳ và 0-1,58 µg/L được phát hiện ở sông Hương, Việt Nam nhưng vẫn cao hơn so với hồ Harris Chain, Florida; hồ Nero, Yaroslavl và hồ chứa Tai-Hu, Đài Loan với hàm lượng độc tố CYN tương ứng trong các hồ lần lượt là 0,05-0,2 µg/L; 0,12-0,36 µg/L và 0,14 µg/L. Tuy nhiên, giá trị này thấp hơn nhiều so với hồ chứa đô thị cung cấp nước uống ở miền Nam Trung Quốc (8,25 µg/L); hồ Gazan ở Ả Rập Saudi (4-173 µg/L) và một nguồn cung cấp nước cho trang trại ở trung tâm Queensland nước Úc (1050 µg/L) (Yang và cs., 2021).

Kết quả cho thấy, những loài thuộc chi *Raphidiopsis* chiếm ưu thế tuyệt đối trong hồ chứa Ea Nhái. Trong đó, *R. raciborskii* chiếm tỉ lệ cao nhất, tiếp đến là loài *Lyngbya* sp., loài *R. curvata*, những loài thuộc chi *Microcystis*, loài *R. mediterranea* và loài *M. tenuissima*. Trong khi đó, ở hồ Buôn Phong chi chiếm ưu thế tuyệt đối là *Microcystis*, trên 84% tổng thể tích sinh học VKL trong toàn hồ. Tiếp đến là loài *R. raciborskii* chiếm 11,9% tổng thể tích sinh học VKL và sau cùng loài *Anabaena* sp.2 chiếm 4,1% tổng thể tích sinh học VKL. Hàm lượng CYN trong hồ Ea Nhái (1,01 – 1,34 µg/L) cao hơn hàm lượng CYN trong hồ Buôn Phong (0,04 – 0,72 µg/L) và cao hơn giá trị hướng dẫn về nước uống hàng ngày cho CYN là 0,7 µg/L do Tổ chức Y tế Thế giới đề xuất. Mối tương quan đáng kể đã được tìm thấy giữa

hàm lượng độc tố CYN và thể tích sinh học của 3 loài VKL có khả năng sinh độc tố CYN: *R. raciborskii*, *R. curvata* và *R. mediterranea* ($p < 0,01$, $p < 0,01$ và $p < 0,01$) trong hồ Ea Nhái. Tương tự, ở hồ Buôn Phong cũng cho thấy mối tương quan mạnh giữa hàm lượng độc tố CYN với loài có khả năng sinh độc tố CYN là *R. raciborskii* và loài *Anabaena* sp. 2 ($p < 0,01$; $p < 0,05$).

3.3. Khả năng sinh độc tố của các chủng tạo phân lập

3.3.1. Kết quả phân lập và nuôi cấy

Trong 72 mẫu thu từ tháng 5/2019 đến tháng 4/2020, chúng tôi phân lập được 24 chủng thuộc 8 loài: *R. raciborskii* (9 chủng), *R. curvata* (4 chủng), *R. mediterranea* (2 chủng); *Anabaena* sp.2 (4 chủng); *Dolichospermum circinale* (1 chủng); *Planktolyngbya circumcreta* (2 chủng); *Oscillatoria* sp.3 (1 chủng) và *Lyngbya* sp. (1 chủng). Trong đó có 21 chủng thuộc 6 loài có khả năng sinh độc tố CYN (*R. raciborskii* - 9 chủng, *R. curvata* - 4 chủng, *R. mediterranea* - 2 chủng, *Anabaena* sp.2 - 4 chủng, *Oscillatoria* sp.3 - 1 chủng và *Lyngbya* sp. - 1 chủng). Tên chủng và nguồn gốc chủng được trình bày ở bảng 3.5.

Bảng 3.5. Danh sách các chủng VKL phân lập từ hai hồ nghiên cứu

STT	Loài	Chủng	Nguồn gốc
1	<i>Dolichospermum circinale</i>	AcBP2	Buôn Phong
2		ABP1	
3		ABP3	
4		ABP8	
5		ABP10	
6	<i>Anabaena</i> sp.2	CENG	Buôn Phong
7		CEN0	
8		CEN7	
9		CEN10	
10		CEN11	
11	<i>Raphidiopsis raciborskii</i>	CBP2	Buôn Phong
12		CBP3	

STT	Loài	Chủng	Nguồn gốc
13	<i>Raphidiopsis curvata</i>	CBP4	Ea Nhái
14		CBP5	
15		RCEN0	
16		RCEN1	
17		RCEN2	
18		RCEN3	
19	<i>Raphidiopsis mediterranea</i>	RMEN2	Ea Nhái
20		RMEN3	
21	<i>Lyngbya</i> sp.	LyEN2	Ea Nhái
22	<i>Oscillatoria</i> sp.3	OsBP1	Buôn Phong
23	<i>Planktolyngbya circumcreta</i>	PLBP1	Buôn Phong
24		PLBP4	

❖ Hình thái các chủng VKL trong nuôi cấy

Các chủng CENG, CEN0, CEN7, CEN10, CEN11, CBP2, CBP3, CBP4 và CBP5 thuộc loài *R. raciborskii*

Sợi *R. raciborskii* mang đặc điểm của loài. Trong nuôi cấy, sợi *R. raciborskii* cũng trôi nổi tự do, hơi cong, thon dần về phía cuối sợi với các tế bào hình nón tròn. Tế bào sinh dưỡng dài 6-12,5 µm, rộng 3-4,5 µm. Hình thái tế bào dị hình thay đổi đa dạng trong cùng môi trường nuôi cấy và xuất hiện ở một hoặc cả hai đầu của sợi (Hình 3.11 a-i), dài 6-12 µm, rộng 2,5-5,5 µm. Bào tử nghỉ dài 8,5-20 µm và rộng 4,5-5,5 µm.

Chiều dài sợi biến đổi mạnh từ 50 µm cho đến hàng chục cm, bện lại với nhau thành đám. Các chủng ở hồ Buôn Phong (CBP2, CBP3, CBBP, CBP5) dài hơn các chủng ở hồ Ea Nhái. *R. raciborskii* đã được biết đến về hình thái tồn tại ở nhiều dạng (thẳng, cong, cuộn) trong môi trường tự nhiên. Tuy nhiên, các chủng phân lập được từ hai hồ nghiên cứu đều ở dạng thẳng. Nuôi cấy của các chủng đều có màu xanh lam đậm.

Các chủng RMEN2, RMEN3, RMEN8 thuộc loài *R. mediterranea*

Hình thái của các chủng đều giống nhau (Hình 3.12 a,b). Trong nuôi cấy, sợi trôi nổi tự do, hầu hết là thẳng đôi khi cong, không eo thắt tại vách tế bào, thon nhọn dần về cuối sợi với đỉnh sắc nhọn cả hai đầu. Các tế bào dinh dưỡng hình trụ, với nhiều không bào khí, dài từ 7,5-13 μm , rộng 3-5 μm . Bào tử nghỉ không được quan sát thấy trong tự nhiên và trong điều kiện nuôi cấy. Mẫu phân lập từ hồ Ea Nhái.

Các chủng RCEN0, RCEN1, RCEN2 và RCEN3 thuộc loài *R. curvata*

Trong nuôi cấy, sợi đơn độc, trôi nổi, hơi uốn cong, không eo thắt ở vách ngăn ngang tế bào, thuôn nhọn cả hai đầu sợi. Hình dạng sợi đa dạng từ cong cho đến lượn sóng (Hình 3.12 c,d). Tế bào dinh dưỡng hình trụ dài 7,5-15,5 μm , rộng 2-4,5 μm . Bào tử nghỉ hình ovan, dài 8-8,5 μm , rộng 2,5-3 μm , đơn độc. Nuôi cấy của các chủng có màu vàng xanh, tạo các mảng nổi, hình thái của các chủng đều giống nhau. Mẫu được phân lập từ hồ Ea Nhái.

Các chủng ABP1, ABP3, ABP8 và ABP10 thuộc loài *Anabaena* sp.2

Trong nuôi cấy, các tế bào sinh dưỡng có dạng hình cầu hoặc hình thùng ngắn với nhiều không bào khí, rộng 4,5-6 μm , dài bằng hoặc nhỏ hơn chiều rộng 4-5,5 μm .

Các tế bào dị hình có hình cầu và lớn hơn một chút so với các tế bào sinh dưỡng, đường kính 5-7 μm . Bào tử nghỉ hình ovan dài 8,5-21 μm , rộng 6-12 μm , thường nằm cách xa các tế bào dị hình, thỉnh thoảng chỉ cách dị bào một tế bào, đơn độc hoặc tồn tại thành từng cặp (Hình 3.12 e-i). Mẫu phân lập từ hồ Buôn Phong, hình thái của các chủng đều giống nhau.

Trong tự nhiên, loài tồn tại dạng sợi thẳng, đơn độc, trôi nổi tự do. Tế bào dinh dưỡng hình thùng dài 3-4,5 μm , rộng 4-6,5 μm . Tế bào dị hình hình cầu đường kính 6,5-7 μm . Bào tử nghỉ hình ovan dài 11,5-13 μm , rộng 8-10 μm .

Chủng AcBP2 thuộc loài *D. circinale*

Trong mẫu nuôi cấy, sợi *D. circinale* trong hồ Buôn Phong đơn độc, trôi nổi, cuộn hình xoắn ốc hoặc cuộn dạng lượn sóng (Hình 3.13 a,b). Tế bào dinh dưỡng hình thùng dài 4,5-6 μm , rộng 8-8,5 μm , tế bào dị hình cầu đường kính từ 6-7 μm , hơi to hơn tế bào sinh dưỡng, bào tử nghỉ hình ovan, cách xa tế bào dị hình, dài 13-14,5 μm , rộng 10-11 μm .

Chủng LyEN2 thuộc loài *Lyngbya* sp.

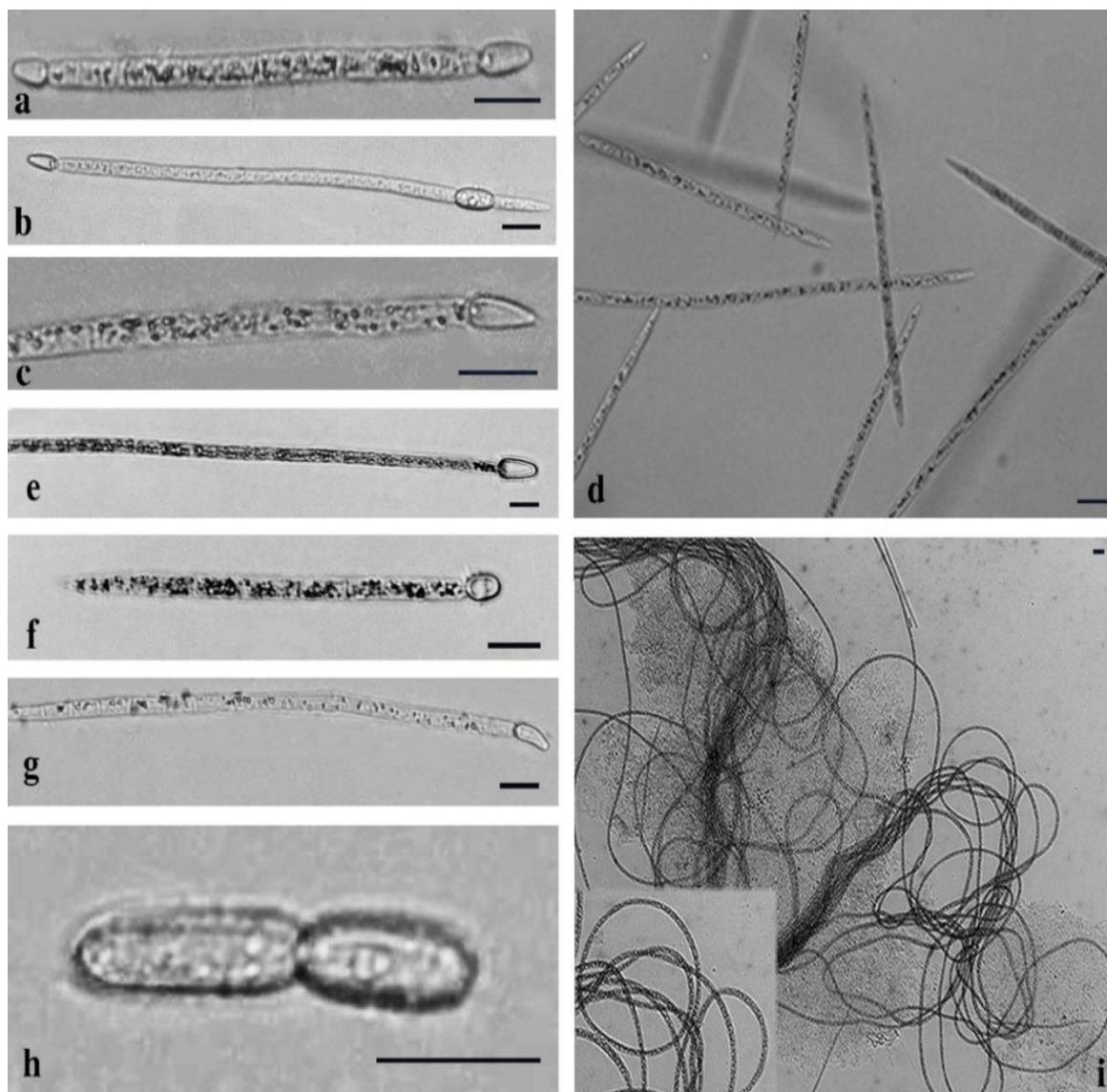
Sợi tảo dài, hơi cong đôi khi thẳng, rộng 9-10 μm . Vỏ bao dày, trong suốt, không màu. Mao tản hình trụ, màu xanh lam nhạt, rộng không eo thắt ở vách ngăn tế bào có hạt nhỏ, hẹp dần về phía đầu. Tế bào dài từ 2,5-3 μm , chứa nhiều hạt li ti, tế bào tận cùng tròn hoặc bán cầu, không bằng đầu, không có mũ, vách tế bào phía ngoài không dày lên (Hình 3.13 c-e). Loài được phân lập trong hồ Ea Nhái. Trong nuôi cấy loài tạo thành lớp màng đen, nhớt, bám vào đáy hoặc hai bên thành chai.

Chủng OsBP1 thuộc loài *Oscillatoria* sp.3

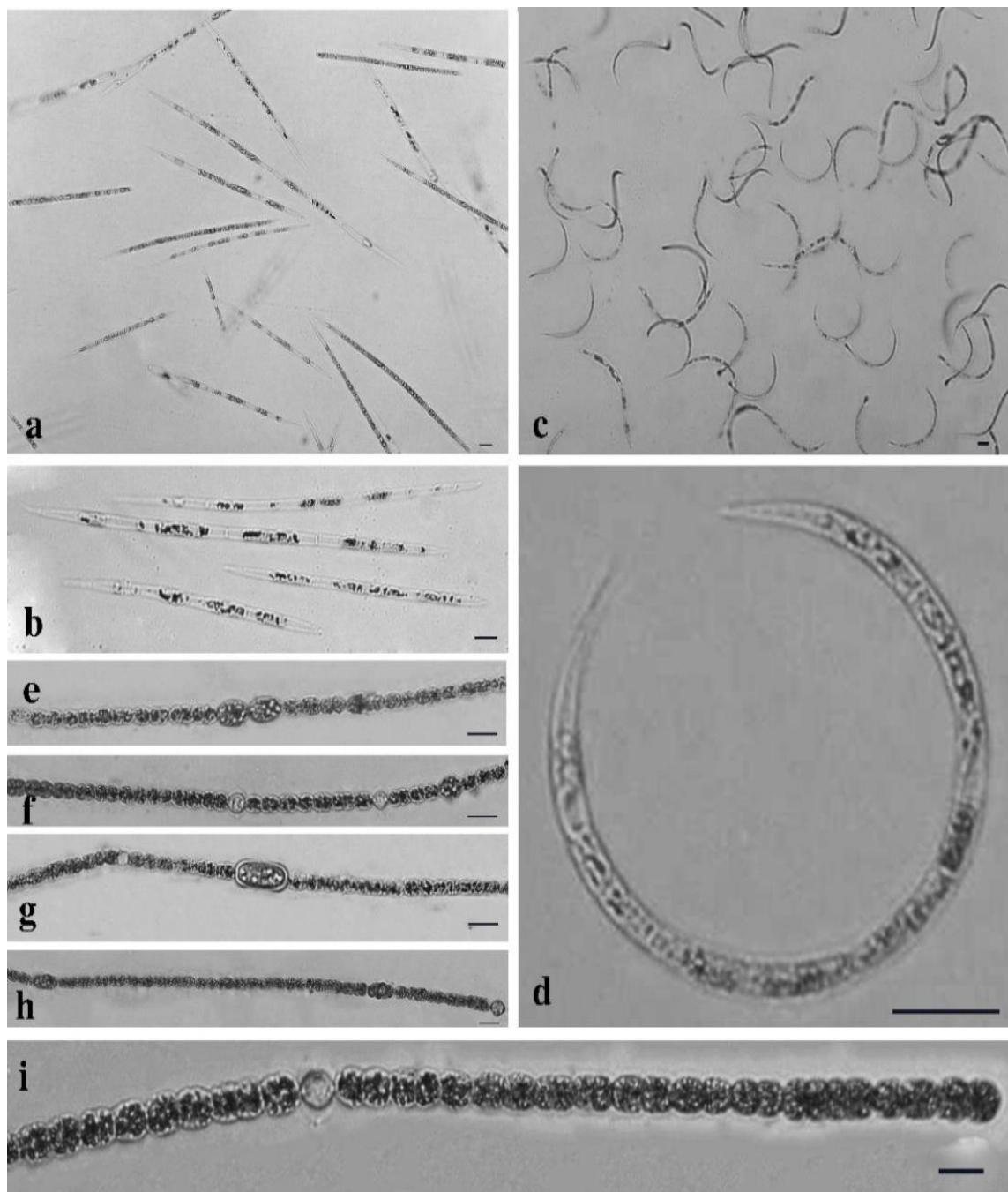
Trong nuôi cấy, mao tản thường thẳng, dài, ít khi cong, có màu lam đen, thường phát triển thành lớp màng dày, nhớt, rộng 12,5-15 μm , có lớp bao mỏng, không màu bao bên ngoài mao tản, hơi eo thắt tại vách ngăn tế bào có hạt, không hẹp về cuối sợi. Tế bào dài 4-5,5 μm , bên trong tế bào chứa nhiều hạt. Tế bào đỉnh lồi, tròn rộng, đôi khi có lớp mũ bên ngoài (Hình 3.13 h). Mẫu được phân lập từ hồ Ea Nhái.

Chủng PLBP1 và PLBP4 thuộc loài *P. circumcreta*

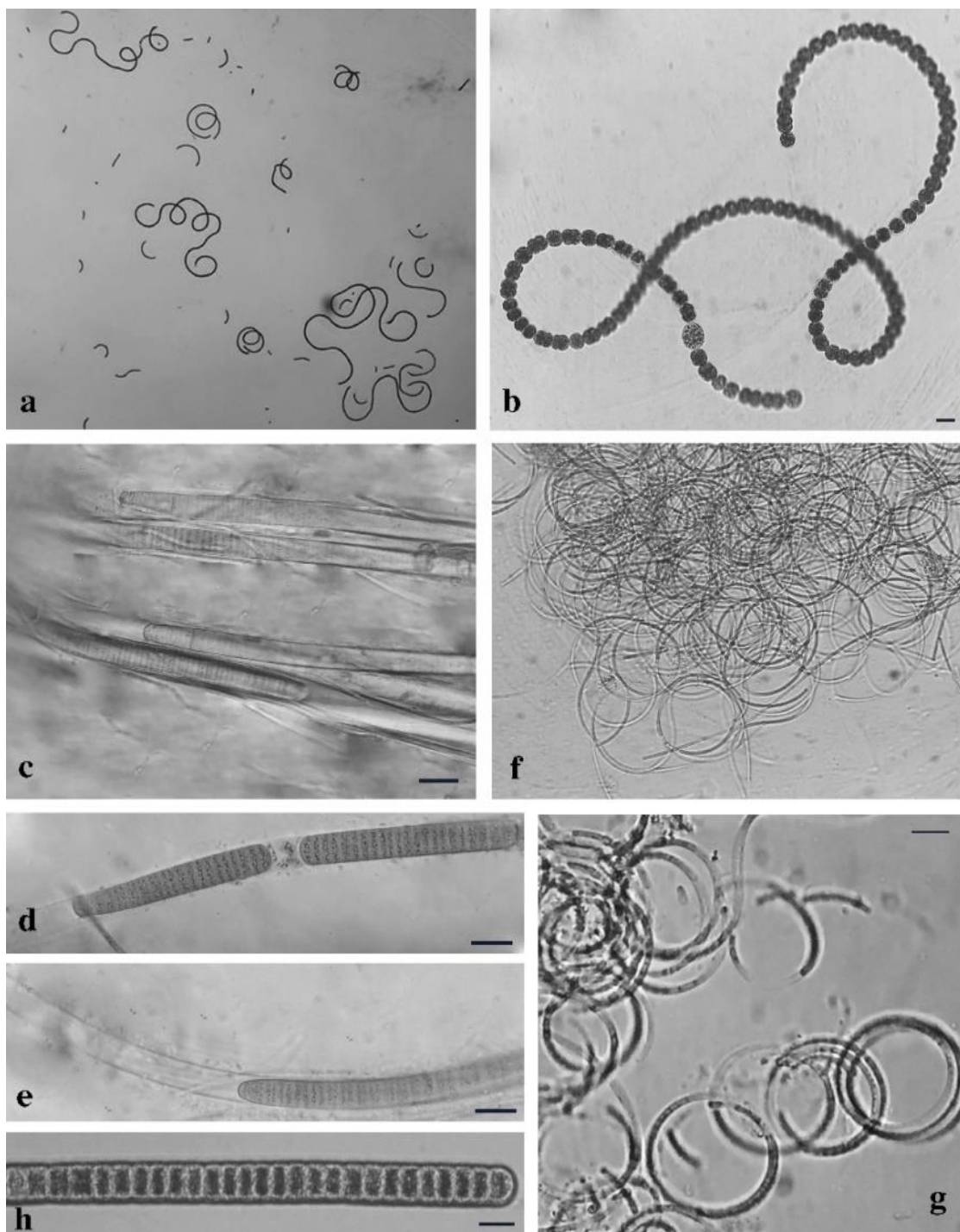
Trong nuôi cấy, sợi đơn độc có màu xanh lam hơi nhạt, rộng 2-2,5 μm , không eo thắt tại vách tế bào. Tế bào có dạng hình vuông, dài 1,8-2,5 μm , thỉnh thoảng chiều dài dài hơn chiều rộng (Hình 3.13 f,g). Tế bào đỉnh tròn, không có mũ. Nuôi cấy của các chủng lắng đáy có màu xanh lam, hình thái của các chủng đều giống nhau. Mẫu được phân lập từ hồ Buôn Phong.



Hình 3.11. Hình thái loài *R. raciborskii* trong nuôi cấy: a-g. Sợi dinh dưỡng với những tế bào dị hình có hình dạng khác nhau; h. Bào tử nghỉ; i. Sợi dinh dưỡng bện lại thành đám. Kích thước 10 μm



**Hình 3.12. Hình thái các loài VKL a,b. *R. mediterranea*;
c,d. *R. curvata* và e-i. *Anabaena* sp.2 trong nuôi cấy. Kích thước 10 μm**



Hình 3.13. Hình thái các loài VKL a,b. *D. circinale*; c-e. *Lyngbya* sp.; f,g. *P. circumcreta*; h. *Oscillatoria* sp.3 trong nuôi cấy. Kích thước 10 μm

3.3.2. Hàm lượng độc tố CYN trong các chủng phân lập

Để xác định danh tính của các loài VKL sản xuất CYN tiềm năng trong hai thủy vực nghiên cứu, các chủng VKL đã được phân lập thành công từ hai hồ chứa được kiểm tra hàm lượng độc tố CYN bằng phương pháp HPLC. Kết quả phân tích trong 24 chủng cho thấy, không phát hiện thấy độc tố CYN trong nuôi cấy các chủng thuộc các loài *D. circinale*, *P. circumcreta*, *Lyngbya* sp. và *Oscillatoria* sp.3. Độc tố chỉ được phát hiện trong 17 chủng trên tổng số 19 chủng thuộc 4 loài có khả năng sinh độc tố: *R. raciborskii*, *R. curvata*, *R. mediterranea* và *Anabeana* sp.2 (Bảng 3.6).

Bảng 3.6. Hàm lượng độc tố CYN trong các chủng VKL phân lập từ hai hồ nghiên cứu

STT	Chủng	Hàm lượng CYN (HPLC, µg/g DW)	STT	Chủng	Hàm lượng CYN (HPLC, µg/g DW)
1	AcBP2	không phát hiện	13	CBP4	0,345 (0,342-0,349)
2	ABP1	0,238 (0,234-0,241)	14	CBP5	0,019 (0,019-0,02)
3	ABP3	0,049 (0,48-0,50)	15	RCEN0	0,267 (0,264-0,269)
4	ABP8	0,045 (0,044-0,046)	16	RCEN1	0,314 (0,311-0,318)
5	ABP10	không phát hiện	17	RCEN2	0,172 (0,169-0,176)
6	CENG	0,234 (0,229-0,243)	18	RCEN3	không phát hiện
7	CEN0	0,504 (0,502-0,505)	19	RMEN2	0,584 (0,578-0,590)
8	CEN7	0,054 (0,051-0,059)	20	RMEN3	0,398 (0,392-0,404)
9	CEN10	0,444 (0,443-0,447)	21	LyEN2	không phát hiện
10	CEN11	0,017 (0,016-0,017)	22	OsBP1	không phát hiện
11	CBP2	0,029 (0,028-0,031)	23	PLBP1	không phát hiện
12	CBP3	0,016 (0,0155-0,016)	24	PLBP2	không phát hiện

Từ bảng 3.6 cho thấy tất cả các chủng thuộc loài *R. raciborskii* được phân lập trong hai hồ chứa đều sinh độc tố CYN với hàm lượng khác nhau. Nồng độ CYN trong các chủng dao động từ 0,016 đến 0,584 $\mu\text{g/g}$ trọng lượng khô (DW). Trong số 4 chủng thuộc loài *R. curvata* phân lập được, có 3 chủng tạo độc tố và 1 chủng không tạo độc tố. Trong khi đó, cả hai chủng thuộc loài *R. mediterranea* (RMEN2, RMEN3) phân lập được trong hồ nghiên cứu đều tạo ra độc tố CYN. Đối với loài *Anabaena* sp.2, trong số 4 chủng phân lập được có 3 chủng tạo độc tố và 1 chủng không tạo độc tố. Hai chủng còn lại thuộc hai loài (*Lyngbya* sp. và *Oscillatotia* sp.3) có tiềm năng sinh độc tố CYN là LyEN2 và OsBP1 không xác định được độc tố bằng HPLC.

Đối với các chủng thuộc loài *R. raciborskii*, nồng độ cao nhất là 0,504 $\mu\text{g/g}$ DW được ghi nhận ở chủng CEN0. Nồng độ này thấp hơn nhiều so với chủng *R. raciborskii* cyDB-1 ở Mỹ (0,85 mg/g), chủng *R. raciborskii* CY-Thai ở Thái Lan (1,2 mg/g DW), chủng *R. raciborskii* CHAB3438 ở Trung Quốc (2,6 mg/g) và chủng *R. raciborskii* QHSS/NR/Cyl/03 ở Australia (6,73 mg/g (LC/MS)) (Yang và cs., 2021). Mặt khác, trong các nghiên cứu trước đây cũng đã ghi nhận một số chủng *R. raciborskii* được phân lập ở Châu Âu và Châu Phi không tạo ra độc tố CYN (Rzymysk và cs., 2018; Falfushynska và cs., 2018; Stefanova và cs., 2020). Willis và cs. (2016) đã chứng minh rằng có sự khác biệt đáng kể ở mỗi cá thể khi nghiên cứu sự biến đổi quần thể và độc tính của *R. raciborskii* ở hồ Wivenhoe, Úc. Tất cả các chủng được phân lập trong hồ nhỏ cũng cho thấy sự khác biệt về tốc độ tăng trưởng, hàm lượng độc tố và hình thái sợi (Willis và cs., 2016).

Trong nghiên cứu của chúng tôi, tất cả các chủng đều có khả năng tạo CYN nhưng hàm lượng độc tố ở các chủng là khác nhau. Sự khác biệt về hàm lượng độc tố trong các chủng có lẽ do sự khác biệt về số lượng, trình tự và tổ chức gen trong cấu trúc cụm gen sinh độc tố giữa các chủng khác nhau. Điều này có thể dẫn đến sự thay đổi độc tính ở các chủng này. Các chủng thuộc hai loài *R. curvata* và *R. mediterranea* hầu như tạo độc tố CYN. Trong khi đó các chủng *R. curvata* và *R. mediterranea* được phân lập trong một số thủy vực ở Huế thì không có chủng nào tạo độc này (Nguyen và cs., 2007). Hàm lượng độc tố cao nhất trong các chủng *R. curvata* là 0,314 $\mu\text{g/g}$ DW và các chủng *R. mediterranea* là 0,584 $\mu\text{g/g}$ DW.

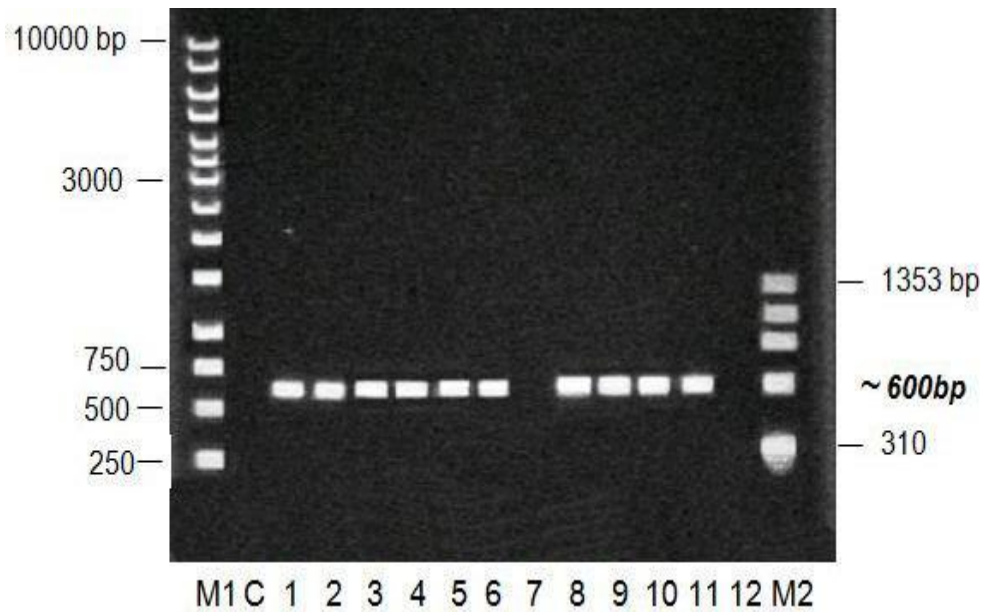
Hàm lượng này thấp hơn so với 0,56 µg/g DW ở chủng *R. curvata* HB1, Trung Quốc; 1,7-2 mg/g DW cho chủng *R. curvata* CHAB1150, Trung Quốc và 917 µg/g DW được ghi nhận đối với chủng *R. mediterranea* FSS1-150/1, Úc (Yang và cs., 2021).

Nhìn chung, trong hai hồ nghiên cứu, hàm lượng độc tố trong các chủng ở những loài khác nhau thì khác nhau, cao nhất ở chủng RMEN2 thuộc loài *R. mediterranea* (0,584 µg/g DW) và thấp nhất ở chủng CBP3 thuộc loài *R. raciborskii* (0,016 µg/g DW). Bên cạnh đó, khả năng tạo độc tố của các chủng trong cùng một quần thể cũng khác nhau. Có chủng tạo độc tố CYN (RCEN0, RCEN1, RCEN2), có chủng không tạo độc tố CYN (RCEN3) và hàm lượng độc tố giữa các chủng không giống nhau (CENG, CEN0, CEN7, CEN10...).

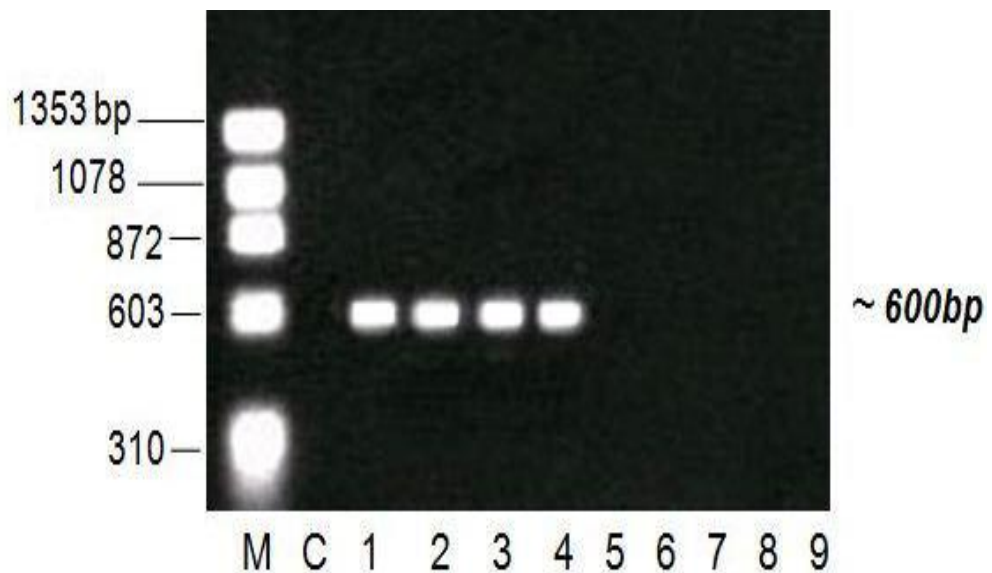
3.3.3. Sự hiện diện của các gen liên quan đến sự tổng hợp độc tố CYN trong các chủng VKL

Để xác định sự có mặt của các gen chịu trách nhiệm cho quá trình tổng hợp độc tố CYN trong các chủng VKL tiềm năng, sự hiện diện hoặc sự vắng mặt của hai phân đoạn gen *cyrB* và *cyrC* đã được kiểm tra. Cho đến nay vẫn chưa có ghi nhận nào về khả năng sản sinh CYN của hai loài *D. circinale* và *P. circumcreta*. Bên cạnh đó, kết quả phân tích độc tố trong tất cả các chủng (AcBP2, PLBP1, PLBP2) thuộc hai loài này ở hai hồ nghiên cứu cũng không phát hiện thấy CYN. Vì vậy, trong nghiên cứu này, chỉ 21 chủng của 6 loài VKL có khả năng tạo độc tố CYN (*R. curvata*, *R. mediterranea*, *R. raciborskii*, *Anabaena* sp.2, *Lyngbya* sp. và *Oscillatoria* sp.3) được phân tích bằng kỹ thuật PCR với hai cặp mồi đặc hiệu M4/M5 và M13/M14. Kết quả phân tích PCR phát hiện 15 chủng có một trong hai hay có cả hai phân đoạn gen *cyrB* và *cyrC*. Sáu chủng còn lại vắng mặt cả hai phân đoạn gen *cyrB* và *cyrC*. Kết quả được trình bày ở hình 3.14; hình 3.15; hình 3.16; hình 3.17 và bảng 3.7.

Đối với phân đoạn gen *cyrB* trong các chủng phân lập, chúng tôi phát hiện sự hiện diện của phân đoạn gen này ở 14 trong tổng số 21 chủng nuôi cấy. Kích thước của các băng khoảng 600 bp phù hợp với kích thước của phân đoạn gen *cyrB* (PS) (Hình 3.14; hình 3.15). Trong số 14 chủng trên có 7 chủng thuộc loài *R. raciborskii* (CENG, CEN0, CEN7, CEN10, CEN11, CBP2 và CBP3); 3 chủng thuộc loài *R. curvata* (RCEN0, RCEN1 và RCEN2); 2 chủng thuộc loài *Anabaena* sp.2 (ABP1 và ABP3) và 2 chủng thuộc loài *R. mediterranea* (RMEN2 và RMEN3).



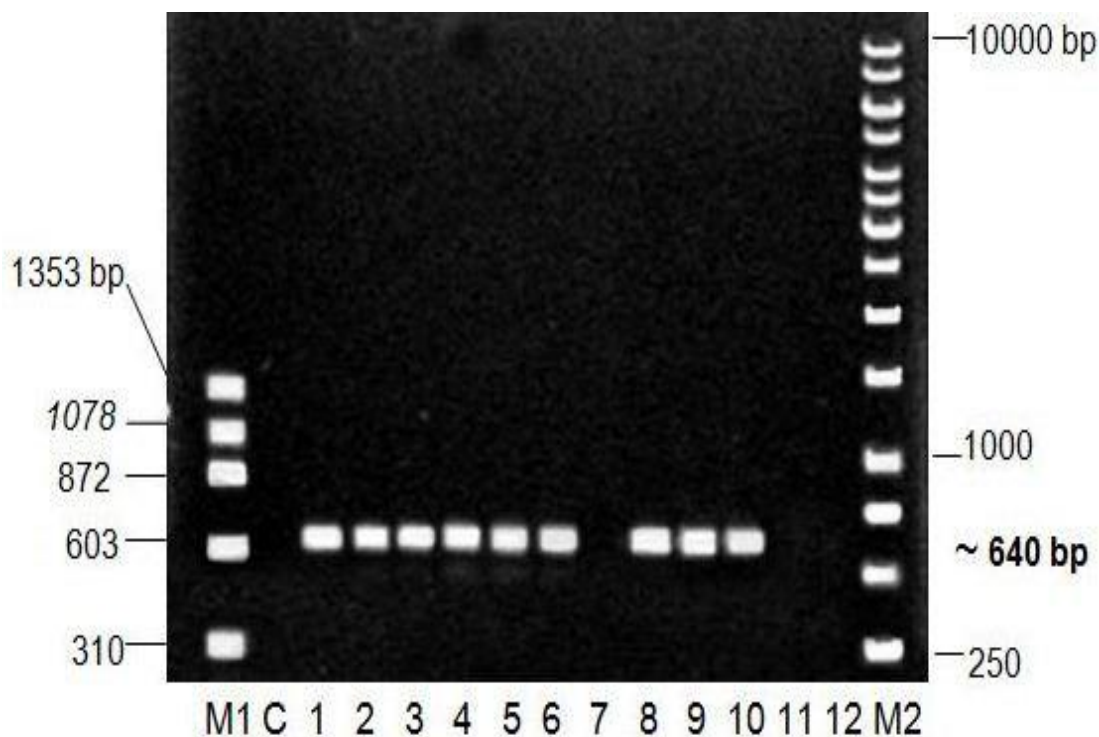
Hình 3.14. Kết quả PCR khuếch đại gen *cyrB* (PS) của các chủng VKL phân lập ở hồ Ea Nhái và hồ Buôn Phong. M1. Thang chuẩn GeneRuler™ 1 kb DNA Ladder; C. Control; 1. CENG; 2. CEN0; 3. CEN7; 4. CEN10; 5. CEN11; 6. CBP2; 7. ABP10; 8. RCEN0; 9. RCEN1; 10. RCEN2; 11. ABP3; 12. ABP8; M2. Thang chuẩn ϕ X174 RF DNA/Hae III Fragments



Hình 3.15. Kết quả PCR khuếch đại gen *cyrB* (PS) của các chủng VKL phân lập ở hồ Ea Nhái và hồ Buôn Phong. M. Thang chuẩn ϕ X174 RF DNA/Hae III Fragments; C. Control; 1. RMEN2; 2. RMEN3; 3. CBP3; 4. ABP1; 5. RCEN3; 6. CBP4; 7. CBP5; 8. OsBP1; 9. LyEN2

Trong tổng số 21 chủng nghiên cứu thì có 14 chủng có chứa phân đoạn gen *cyrC* (*PKS*). Kích thước của các băng khoảng 650 bp phù hợp với kích thước của phân đoạn gen *cyrC* (*PKS*) (Hình 3.16; hình 3.17). Trong số 14 chủng trên có 7 chủng thuộc loài *R. raciborskii* (CENG, CEN0, CEN7, CEN10, CEN11, CBP2 và CBP3), 4 chủng thuộc loài *R. curvata* (RCENO, RCEN1, RCEN2 và RCEN3), 2 chủng thuộc loài *R. mediterannea* (RMEN2 và RMEN3) và 1 chủng (ABP1) thuộc loài *Anabaena* sp.2.

Bên cạnh đó, kết quả phân tích PCR còn cho thấy 6 trong số 21 chủng không xuất hiện cả hai phân đoạn gen *cyrB* và *cyrC*. Sáu chủng này (ABP8, ABP10, CBP3, CBP4, LyEN2 và OsBP1) lần lượt thuộc bốn loài khác nhau: loài *Anabaena* sp.2, loài *R. raciborskii*, loài *Lyngbya* sp. và loài *Oscillatoria* sp.3.



Hình 3.16. Kết quả PCR khuếch đại gen *cyrC* (*PKS*) của các chủng VKL phân lập ở hồ Ea Nhái và hồ Buôn Phong. M1. Thang chuẩn ϕ X174 RF DNA/Hae III. Fragments; C. Control; 1. CENG; 2. CEN0; 3. CEN7; 4. CEN10; 5. CEN11; 6. CBP2; 7. ABP10; 8. RCEN0; 9. RCEN1; 10. RCEN2; 11. ABP3; 12. ABP8; M2. Thang chuẩn GeneRuler™ 1 kb DNA Ladder



Hình 3.17. Kết quả PCR khuếch đại gen *cyrC* (PKS) của các chủng VKL phân lập ở hồ Ea Nhái và hồ Buôn Phong. M. Thang chuẩn ϕ X174 RF DNA/Hae III Fragments; C. Control; 1. RMEN2; 2. RMEN3; 3. CBP3; 4. ABP1; 5. RCEN3; 6. CBP4; 7. CBP5; 8. OsBP1; 9. LyEN2

Như vậy, trong nghiên cứu của chúng tôi có chủng xuất hiện cả hai phân đoạn gen *cyrB* và *cyrC*, có chủng chỉ xuất hiện một trong hai phân đoạn gen và có chủng không xuất hiện cả hai phân đoạn gen này. Trong 21 chủng phân lập được từ hai hồ chứa thì có 13 chủng thuộc 4 loài (*Anabaena* sp.2, *R. curvata*, *R. mediterannea* và *R. raciborskii*) xuất hiện đồng thời cả 2 phân đoạn gen *cyrB* và *cyrC* (ABP1, RCEN0, RCEN1, RCEN2, RMEN2, RMEN3, CENG, CEN0, CEN7, CEN10, CEN11, CBP2, CBP3). Một chủng thuộc loài *Anabaena* sp.2 chỉ xuất hiện phân đoạn gen *cyrB* mà không thấy có sự hiện diện của phân đoạn gen *cyrC* (ABP3). Một chủng của loài *R. curvata* chỉ xuất hiện phân đoạn gen *cyrC* mà không thấy có sự hiện diện của phân đoạn gen *cyrB* (RCEN3). Khi phân tích 6 chủng thuộc 4 loài *Anabaena* sp.2; loài *R. raciborskii*; loài *Lyngbya* sp. và loài *Oscillatoria* sp.3 đều không cho thấy sự hiện diện của cả hai phân đoạn gen *cyrB* và *cyrC* (ABP8, ABP10, CBP4, CBP5, LyEN2 và OsBP1).

Bảng 3.7. Sự hiện diện của phân đoạn gen *cyrB* và *cyrC* trong các chủng VKL có khả năng sinh độc tố CYN

STT	Chủng	<i>CyrB</i> M13/M14	<i>CyrC</i> M4/M5	STT	Chủng	<i>CyrB</i> M13/M14	<i>CyrC</i> M4/M5
1	ABP1	+	+	12	CEN0	+	+
2	ABP3	+	-	13	CEN7	+	+
3	ABP8	-	-	14	CEN10	+	+
4	ABP10	-	-	15	CEN11	+	+
5	RCEN0	+	+	16	CBP2	+	+
6	RCEN1	+	+	17	CBP3	+	+
7	RCEN2	+	+	18	CBP4	-	-
8	RCEN3	-	+	19	CBP5	-	-
9	RMEN2	+	+	20	LyEN2	-	-
10	RMEN3	+	+	21	OsBP1	-	-
11	CENG	+	+				

+: Có sự hiện diện của gen

-: Không phát hiện gen

3.3.4. Mối tương quan giữa các gen tổng hợp độc tố và khả năng sinh độc tố CYN trong các chủng

Để đánh giá sự phù hợp giữa sự xuất hiện một trong hai gen hay cả hai gen với khả năng sinh độc tố CYN, chúng tôi tìm hiểu mối tương quan giữa sự hiện diện của các gen liên quan đến quá trình sinh tổng hợp độc tố và hàm lượng độc tố. Mối tương quan giữa hàm lượng độc tố và gen qui định sinh tổng hợp độc tố CYN được thể hiện ở bảng 3.8.

Theo bảng 3.8 chúng tôi ghi nhận trong số 21 chủng của 6 loài *R. raciborskii*, *R. curvata*, *R. mediterranea*, *Anabaena* sp.2, *Lyngbya* sp. và *Oscillatoria* sp.3 thì có 13 chủng độc cho thấy sự hiện diện của cả hai phân đoạn gen *cyrB* và *cyrC*. Bốn chủng độc tiếp theo có 1 chủng (ABP3) chỉ xuất hiện phân đoạn gen *cyrB*; 3 chủng độc (ABP8, CBP4 và CBP5) còn lại vắng mặt cả hai phân đoạn gen này. Trong số 4 chủng không sinh độc tố, có 3 chủng (ABP10, LyEN2 và OsBP1) không xuất hiện cả hai phân đoạn gen *cyrB* và *cyrC*, 1 chủng còn lại (RCEN3) cho thấy hiện diện phân đoạn gen *cyrC*.

Trong số 9 chủng thuộc loài *R. raciborskii*, có 5 chủng độc phân lập trong hồ Ea Nhái (CENG, CEN0, CEN7, CEN10 và CEN11) đều cho thấy sự hiện diện của cả hai phân đoạn gen *cyrB* và *cyrC*. Trong khi đó, 4 chủng (CBP2, CBP3, CBP4 và CBP5) được phân lập ở hồ Buôn Phong mặc dù đều sinh độc tố nhưng chỉ có 2 chủng (CBP2 và CBP4) hiện diện cả hai phân đoạn gen, hai chủng (CBP3 và CBP5) còn lại vắng mặt cả hai phân đoạn gen *cyrB* và *cyrC*.

Đối với loài *R. curvata*, 3 chủng độc RCEN0, RCEN1 và RCEN2 đều xuất hiện cả hai phân đoạn gen *cyrB* và *cyrC*. Chủng còn lại (RCEN3) không xác định được hàm lượng độc tố nhưng lại chứa phân đoạn gen *cyrC*. Đối với loài *R. mediterranea*, kết quả PCR cho thấy cả 2 chủng độc (RMEN2 và RMEN3) đều chứa hai phân đoạn gen *cyrB* và *cyrC*.

Ở loài *Anabaena* sp.2, có 1 chủng không xác định thấy hàm lượng độc tố và cũng không cho thấy sự hiện diện của cả hai phân đoạn gen *cyrB* và *cyrC* (ABP10). Trong số 3 chủng tạo ra độc tố CYN (ABP1, ABP3 và ABP8), thì chủng độc ABP1 cho thấy sự hiện diện của cả hai phân đoạn gen *cyrB* và *cyrC*, chủng độc ABP3 chỉ khuếch đại được phân đoạn gen *cyrB*. Chủng độc còn lại (ABP8) vắng mặt cả hai phân đoạn gen này.

Hai chủng LyEN2 (*Lyngbya* sp.) và OsBP1 (*Oscillatoria* sp.3) đều không cho thấy sự hiện diện của cả hai phân đoạn gen *cyrB* và *cyrC*. Phân tích HPLC ở hai chủng này đều không phát hiện thấy độc tố CYN. Điều này hoàn toàn phù hợp giữa khả năng tạo độc tố và sự hiện diện của gen sinh độc tố.

Như vậy, trong nghiên cứu của chúng tôi, đa số các chủng cho thấy sự phù hợp giữa hàm lượng độc tố xác định được và sự hiện diện của các phân đoạn gen sinh tổng hợp độc tố. Tuy nhiên, cũng có chủng không xác định thấy độc tố nhưng cho thấy sự hiện diện của phân đoạn gen *cyrC* (RCEN3). Điều này có thể được giải thích do gen không biểu hiện và các chủng này được xem là chủng có tiềm năng sinh độc tố. Kết quả tương tự cũng được quan sát thấy trong một số nghiên cứu trước đây. Các nghiên cứu này đã báo cáo các loài VKL không tạo độc tố CYN cũng chứa các phân đoạn gen *cyrA*, *cyrB* và *cyrC*. Nguyen và cs. (2007) đã cho thấy, trong số 20 chủng *R. raciborskii* phân lập từ các thủy vực nước ngọt ở Việt Nam thì có 6 chủng chứa

phân đoạn gen *cyrB* (PS), *cyrC* (PKS) nhưng không phát hiện thấy độc tố CYN (Nguyen và cs., 2007). Tiếp đó, Bảy chủng thuộc loài *C. bergii* Ostenfeld và hai chủng thuộc loài *C. ovalisporum* Forti, được phân lập trong hồ Kinneret (Israel) không tạo ra độc tố CYN khi kiểm tra bằng ELISA và LC-MS/MS. Tuy nhiên, các phân đoạn gen *cyrA*, *cyrB* và *cyrC* đều có mặt trong tất cả các chủng trên (Ballot và cs., 2011). Tương tự, nghiên cứu của Hoff-Risseti và cs. (2013) cũng cho thấy, trong bốn chủng *R. raciborskii* không phát hiện thấy độc tố CYN, được phân lập từ thủy vực nước ngọt ở Brazil thì cả 4 chủng đều chứa gen *cyrA*, trong khi phân đoạn gen *cyrB* và *cyrC* chỉ được quan sát trong hai chủng (Hoff-Risseti và cs., 2013).

Bên cạnh đó, kết quả nghiên cứu của chúng tôi còn cho thấy sự xuất hiện một số chủng xác định thấy hàm lượng độc tố nhưng bị thiếu đi sản phẩm khuếch đại PCR của các phân đoạn gen *cyrB* hoặc *cyrC*. Trong số bốn chủng độc thuộc hai loài *Anabaena* sp.2 (ABP3 và ABP8) và *R. raciborskii* (CBP4 và CBP5), chủng ABP3 cho thấy sự vắng mặt của phân đoạn gen *cyrC* và 3 chủng độc còn lại (ABP8, CBP4 và CBP5) cho thấy sự vắng mặt của cả hai phân đoạn gen *cyrB* và *cyrC*. Sự vắng mặt của một hoặc cả hai phân đoạn gen *cyrB*, *cyrC* trong các chủng độc này có thể do tồn tại lỗi bắt cặp tại vị trí bắt môi của hai phân đoạn gen *cyrB*, *cyrC*. Chủng CBP4 (phân lập tại vị trí BP3) vắng mặt cả hai phân đoạn gen nhưng xác định thấy hàm lượng độc tố cao hơn nhiều so với chủng CBP5 (phân lập tại vị trí BP1) cùng loài trong cùng hồ Buôn Phong. Sự chênh lệch về hàm lượng độc tố trong hai chủng này có thể các chủng khác nhau thuộc cùng một loài nhưng được phân lập ở những vị trí thu mẫu khác nhau (BP3 là nơi tiếp nhận nguồn nước từ hồ Buôn Bra chảy vào hồ Buôn Phong, BP1 là nơi gần đập chắn của hồ Buôn Phong) dẫn đến sự khác nhau về số lượng, trình tự sắp xếp và cách thức tổ chức của các gen trong nhóm gen *cyr* tham gia vào quá trình tổng hợp CYN, từ đó dẫn đến khả năng sinh độc tố trong các chủng cũng khác nhau.

Kết quả tương tự cũng được quan sát trong nghiên cứu của Tawong và cs. (2019) khi nhóm tác giả cho thấy thiếu sản phẩm PCR của gen *cyrA* trong bảy chủng *R. raciborskii* độc và thiếu sản phẩm PCR của gen *cyrC* trong một chủng *R. raciborskii* độc ở Thái Lan. Nhóm nghiên cứu cho rằng, sự vắng mặt của phân đoạn gen *cyrA* hoặc *cyrC* có thể là do không có gen hoặc tồn tại lỗi bắt cặp tại vị trí bắt môi của hai gen này (Tawong và cs., 2019). Sự vắng mặt của phân đoạn gen *cyrB*, *cyrJ* trong

chủng độc *R. raciborskii* Boczowskie cũng xuất hiện trong các hồ ở Polish. Kết quả tương tự cũng được tìm thấy trong nhóm nghiên cứu của Wiedner, họ thấy rằng mặc dù 4 chủng 10E6, 10E9, 22D11 và 30D11 của 2 loài *Aphanizomenon flos-aquae* và loài *Aphanizomenon* sp. đều tạo ra độc tố CYN nhưng khi kiểm tra sự hiện diện của các gen sinh độc tố thì chỉ các phân đoạn gen *cyrB* được khuếch đại trong tất cả các chủng, trong khi đó không thể khuếch đại các phân đoạn gen *cyrC* trong bất kì chủng nào. Họ cho rằng, sự vắng mặt của các phân đoạn gen *cyrC* trong các chủng độc cho thấy tổ chức cấu trúc của hệ thống sinh tổng hợp CYN có thể khác nhau giữa các loài sản xuất CYN khác nhau (Wiedner và cs., 2007). Thật vậy, Yilmaz và Philips (2011) đã quan sát thấy rằng môi M5 không khớp với với tất cả các bazơ bên trong trình tự gen *cyrC* của loài *A. ovalisporum* và loài *R. raciborskii*. Do đó, môi M5 được thay thế bằng môi M5a (Yilmaz và Philips, 2011). Hơn thế nữa, Hoff-Rissetti và cs. (2013) cũng nhận thấy rằng trình tự *cyrA* trong chủng *R. raciborskii* T3 bị mất hai nucleotide ở các vị trí 525 và 1054 so với trình tự chuẩn, gây ra đột biến lệch khung và một môi mới dành riêng cho *cyrA* nên được phát triển (Hoff-Rissetti và cs., 2013).

Chúng tôi nghĩ rằng, những biến đổi di truyền xuất hiện trong nhóm gen tổng hợp CYN nên được chú ý, để từ đó chúng ta có thể thiết kế thêm những cặp môi đặc hiệu dành riêng cho từng chủng, từng loài VKL có khả năng sinh độc tố CYN. Ngoài hai gen *cyrB* và *cyrC*, tham gia vào quá trình sinh tổng hợp độc tố CYN là cụm gen *cyr* gồm 15 gen từ gen *cyrA* đến gen *cyrO*, mỗi gen thực hiện chức năng riêng biệt. Trong đó gen *cyrA* tham gia khởi đầu cho quá trình tổng hợp độc tố, gen *cyrJ* xúc tác cho quá trình sulfat hóa và hoàn thiện cấu trúc độc tố CYN. Trong nhiều nghiên cứu, *cyrJ* được xem như chỉ thị di truyền hữu hiệu trong việc sàng lọc, xác định chính xác các loài VKL có khả năng sinh độc tố CYN trong các mẫu nuôi cấy và mẫu môi trường. Thật vậy, trong các nghiên cứu trước đây cho thấy, những chủng không tạo độc tố từ loài *C. ovalisporum* và loài *Anabaena bergii* được phân lập từ hồ Kinneret (Israel) cho thấy sự hiện diện đầy đủ của các phân đoạn gen *cyrA*, *cyrB*, *cyrC* nhưng lại thiếu phân đoạn gen *cyrJ* và phân đoạn gen *cyrJ* chỉ hiện trong những chủng VKL sinh độc tố CYN (Tawong và cs., 2019; Yang và cs., 2021). Vì vậy, ngoài hai gen *cyrB*, *cyrC* nên sử dụng nhiều gen hơn nữa trong cụm gen *cyr* khi xác định khả năng sản sinh độc tố của các loài VKL sẽ mang lại kết quả đầy đủ hơn.

Bảng 3.8. Hàm lượng độc tố CYN và sự hiện diện các phân đoạn gen liên quan đến sự sinh độc tố CYN ở các chủng VKL phân lập

STT	Chủng	CyrB/ CyrC	Hàm lượng độc tố CYN (µg/g DW)	STT	Chủng	CyrB/ CyrC	Hàm lượng độc tố CYN (µg/g DW)
1	ABP1	+/+	0,238 (0,234-0,241)	12	CEN0	+/+	0,504 (0,502-0,505)
2	ABP3	+/-	0,049 (0,48-0,50)	13	CEN7	+/+	0,054 (0,051-0,059)
3	ABP8	-/-	0,045 (0,044-0,046)	14	CEN10	+/+	0,444 (0,443-0,447)
4	ABP10	-/-	-	15	CEN11	+/+	0,017 (0,016-0,017)
5	RCEN0	+/+	0,267 (0,264-0,269)	16	CBP2	+/+	0,029 (0,028-0,031)
6	RCEN1	+/+	0,314 (0,311-0,318)	17	CBP3	+/+	0,016 (0,0155-0,016)
7	RCEN2	+/+	0,172 (0,169-0,176)	18	CBP4	-/-	0,345 (0,342-0,349)
8	RCEN3	-/+	-	19	CBP5	-/-	0,019 (0,019-0,020)
9	RMEN2	+/+	0,584 (0,578-0,590)	20	LyEN2	-/-	-
10	RMEN3	+/+	0,398 (0,392-0,404)	21	OsBP1	-/-	-
11	CENG	+/+	0,234 (0,229-0,243)				

+: Có sự hiện diện của gen

-: Không phát hiện gen

Như vậy, dựa trên kết quả phân tích hàm lượng độc tố và sự hiện diện của phân đoạn gen sinh tổng hợp độc tố CYN trong các chủng thuộc 8 loài VKL phân lập được, chúng tôi đã xác định được 4 loài VKL (*R. raciborskii*, *R. curvata*, *R. mediterranea* và *Anabaena* sp.2) sản sinh độc tố CYN trong hai hồ nghiên cứu. Trong đó, hồ Ea Nhái có 3 loài: *R. raciborskii*, *R. curvata*, *R. mediterranea* và hồ Buôn Phong có 2 loài: *R. raciborskii*, *Anabaena* sp.2. Sự hiện diện của bốn loài VKL sản sinh độc tố CYN trong hai hồ chứa nghiên cứu cho thấy nguy cơ cao ô nhiễm độc tố CYN bên trong nguồn nước của hai hồ này. Vì vậy, việc xác định những yếu tố môi trường chính điều khiển quá trình sinh trưởng và phát triển của chúng là cơ sở để kiểm soát và kiểm chế sự phát triển bùng phát, hạn chế hiện tượng nở hoa của nhóm loài này, góp phần đảm bảo an toàn nguồn nước bên trong hai hồ nghiên cứu.

3.4. Ảnh hưởng của các yếu tố môi trường lên sự biến động thể tích sinh học của các loài VKL sinh độc tố CYN và hàm lượng độc tố CYN trong hồ Ea Nhái và hồ Buôn Phong

3.4.1. Ảnh hưởng của các yếu tố môi trường lên sự biến động thể tích sinh học của các loài VKL sinh độc tố CYN và hàm lượng độc tố CYN trong hồ Ea Nhái

3.4.1.1. Các thông số môi trường trong hồ Ea Nhái

Các đặc điểm lý hóa của hồ Ea Nhái từ tháng 5/2019 đến tháng 4/2020 được trình bày trong bảng 3.9. Nhiệt độ nước dao động từ 25,5 °C đến 32,0 °C với giá trị trung bình là 29,0 °C trong thời gian điều tra. Các giá trị pH thay đổi từ tối thiểu là 7,1 đến tối đa là 8,3 và không có sự khác biệt theo mùa giữa các tháng trong năm. Giá trị độ đục (NTU) cao hơn được ghi nhận trong thời kỳ mùa mưa (tháng 5 đến tháng 10) và thấp hơn vào mùa khô. Nồng độ trung bình của amoni (N-NH₄) và nitrat (N-NO₃) trong nghiên cứu lần lượt là $0,23 \pm 0,05$ mg/L và $0,21 \pm 0,08$ mg/L. Nồng độ amoni (N-NH₄) thấp hơn được tìm thấy trong thời kỳ mùa mưa so với mùa khô. Trong khi đó, không có sự thay đổi rõ ràng theo mùa về nồng độ nitrat (N-NO₃). Nồng độ orthophosphat-P (P-PO₄) hòa tan thay đổi từ 0,06 đến 0,1 mg/L và cho thấy sự biến động theo mùa rõ rệt.

Nồng độ TP trung bình dao động trong khoảng từ 0,16 - 0,4 mg/L, không có sự khác biệt theo mùa. Trong khi đó, nồng độ TN trung bình cho thấy sự biến đổi theo mùa rõ rệt, dao động trong khoảng từ 1,4 - 3,67 mg/L. Tỷ lệ TN/TP hàng tháng dao động từ 13,9:1 đến 35:1 với giá trị trung bình của nghiên cứu là 22,3. Những hoạt động nông nghiệp trong lưu vực cùng với hoạt động nuôi cá lồng bè thâm canh bên trong hồ,

đường như là nguồn chính để làm giàu chất dinh dưỡng bên trong hồ Ea Nhái. Theo phân loại nhiệt đới do Tổ chức Hợp tác và Phát triển Kinh tế đề xuất (OECD, 1982), chất lượng nước của hồ Ea Nhái được phân loại là hồ phú dưỡng (dựa trên giá trị TP).

Bảng 3.9. Các thông số môi trường hồ Ea Nhái từ tháng 5/2019 đến tháng 4/2020

Tháng	Temp. (°C)	pH	Turbidity (NTU)	N-NH ₄ (mg/L)	N-NO ₃ (mg/L)	P-PO ₄ (mg/L)	TN (mg/L)	TP (mg/L)
5/2019	25.33 (25-25.5)	8.34 (8.11-8.71)	48.73 (45.8-50.9)	0.15 (0.14-0.16)	0.29 (0.27-0.32)	0.07 (0.066-0.075)	1.86 (1.85-1.87)	0.17 (0.15-0.2)
6/2019	25.97 (25.9-26.1)	8 (7.92-8.07)	52.63 (49.5-56)	0.11 (0.11-0.11)	0.2 (0.2-0.21)	0.06 (0.063-0.065)	1.76 (1.68-1.85)	0.18 (0.176-0.1885)
7/2019	27.5 (27-28)	8.09 (8.01-8.15)	62.73 (53.2-77.1)	0.14 (0.104-0.182)	0.22 (0.196-0.252)	0.06 (0.059-0.064)	1.38 (1.28-1.54)	0.16 (0.154-0.171)
8/2019	28.17 (28-28.5)	8.25 (8.21-8.3)	66.73 (61.2-70.5)	0.21 (0.196-0.235)	0.24 (0.219-0.28)	0.1 (0.094-0.099)	2.55 (2.34-2.76)	0.4 (0.395-0.408)
9/2019	28.33 (28-29)	7.72 (7.62-7.81)	74.17 (56.2-100)	0.16 (0.154-0.168)	0.2 (0.196-0.203)	0.1 (0.092-0.102)	1.65 (1.61-1.68)	0.22 (0.218-0.226)
10/2019	30.17 (30-30.5)	7.94 (7.9-7.98)	44.2 (41.9-47.5)	0.18 (0.18-0.184)	0.36 (0.355-0.359)	0.1 (0.099-0.104)	2.1 (1.96-2.24)	0.22 (0.206-0.233)
11/2019	29.73 (29.2-30.1)	7.97 (7.92-8)	52.83 (50.6-55)	0.2 (0.195-0.2)	0.17 (0.163-0.17)	0.1 (0.092-0.103)	2.16 (2.04-2.34)	0.25 (0.233-0.261)
12/2019	31.4 (31.3-31.6)	8.05 (8-8.1)	39.08 (38.52-40.15)	0.15 (0.148-0.162)	0.22 (0.21-0.231)	0.09 (0.089-0.097)	2.96 (2.82-3.07)	0.26 (0.255-0.268)
01/2020	29.3 (29-29.7)	7.14 (7.09-7.23)	37.49 (36.17-39.08)	0.17 (0.159-0.182)	0.26 (0.245-0.275)	0.09 (0.088-0.092)	3.43 (3.31-3.53)	0.21 (0.203-0.221)
02/2020	32 (30-34)	8.25 (8.2-8.31)	39.51 (38.79-40.63)	0.29 (0.29-0.294)	0.27 (0.261-0.282)	0.1 (0.091-0.116)	2.92 (2.86-2.98)	0.29 (0.282-0.304)
03/2020	28.83 (28.7-29)	8.18 (8.01-8.3)	40.14 (40.06-40.24)	0.38 (0.361-0.392)	0.19 (0.19-0.198)	0.11 (0.103-0.114)	3.67 (3.5-3.75)	0.35 (0.321-0.372)
04/2020	31.73 (31.7-31.8)	8.29 (8.27-8.3)	40.09 (40.06-40.11)	0.36 (0.36-0.368)	0.18 (0.179-0.182)	0.1 (0.098-0.102)	3.51 (3.46-3.56)	0.28 (0.279-0.281)

Ghi chú: Temp.: Nhiệt độ; Turbidity: Độ đục.

3.4.1.2. Ảnh hưởng của các yếu tố môi trường lên sự biến động thể tích sinh học của các loài VKL sinh độc tố CYN và hàm lượng độc tố CYN trong hồ Ea Nhái.

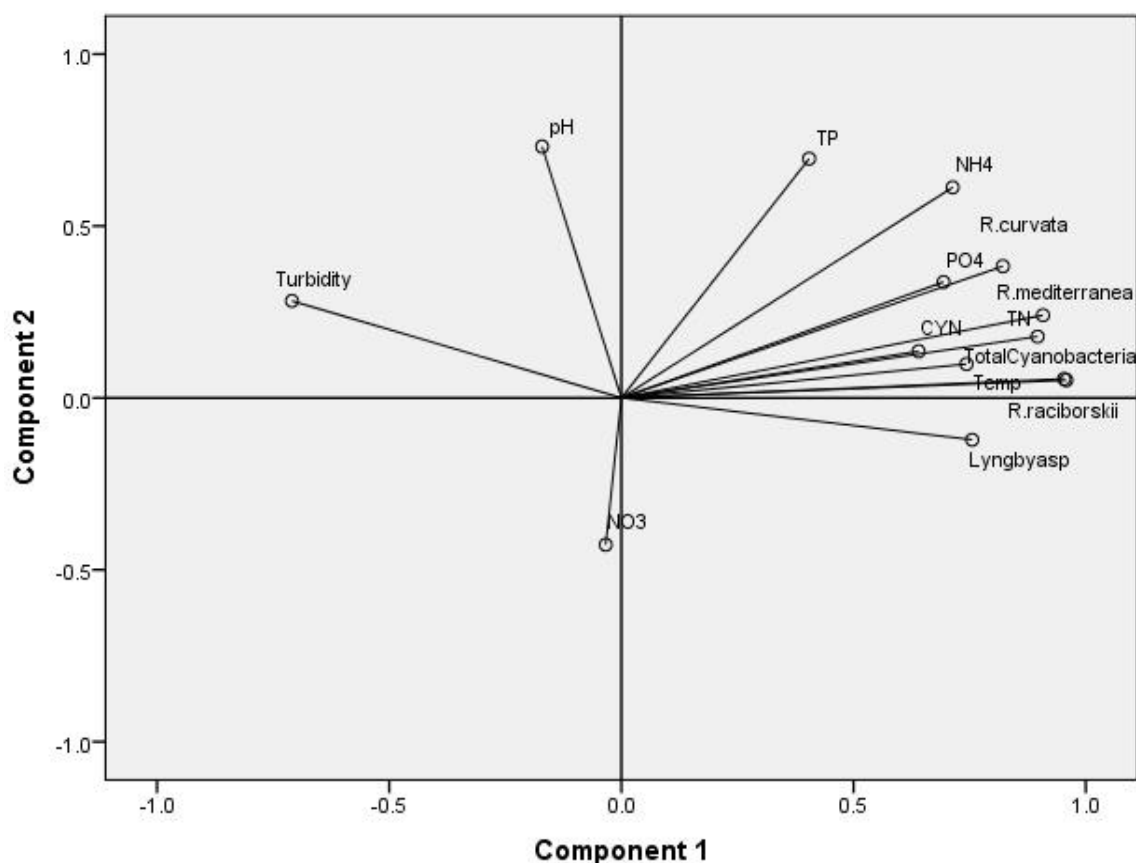
Phân tích thành phần chính (PCA) và phân tích tương quan Pearson cho thấy mối tương quan giữa những loài VKL độc và các yếu tố môi trường trong hồ Ea Nhái. Các thông số phi sinh học (Temp., N-NH₄, P-PO₄, TN và TP) có tương quan đáng kể với thể tích sinh học của *R. raciborskii* ($R = 0,66$, $p < 0,01$; $R = 0,73$, $p < 0,01$; $R = 0,65$, $p < 0,05$, $R = 0,84$, $p < 0,01$; $R = 0,34$, $p < 0,01$). Bên cạnh đó, thể tích sinh học của *R. curvata*, *R. mediterranea* cũng cho thấy mối tương quan với các biến số phi sinh học (Temp., N-NH₄, P-PO₄, TN, TP) (Hình 3.18, bảng 3.10).

Bảng 3.10. Mối tương quan Pearson giữa thể tích sinh học của những loài VKL sinh độc tố CYN và các yếu tố môi trường ở hồ Ea Nhái

	Temp.	pH	N-NH ₄	N-NO ₃	P-PO ₄	TN	TP	Turbidity	<i>R. raciborskii</i>	<i>R. mediterranea</i>	<i>R. curvata</i>	Total Cyanobacteria	CYN
Temp.	1												
pH	-0,012	1											
N-NH₄	0,518**	0,349*	1										
N-NO₃	-0,008	-0,057	-0,195	1									
P-PO₄	0,672**	-0,013	0,666**	0,043	1								
TN	0,582**	-0,070	0,749**	-0,090	0,634**	1							
TP	0,376*	0,299	0,637**	-0,134	0,677**	0,585**	1						
Turbidity	-0,444**	0,039	-0,373*	-0,181	-0,233	-0,620**	-0,047	1					
<i>R. raciborskii</i>	0,662**	-0,134	0,729**	-0,110	0,648**	0,844**	0,343*	-0,615**	1				
<i>R. mediterranea</i>	0,612**	0,069	0,796**	-0,274	0,563**	0,857**	0,427**	-0,614**	0,905**	1			
<i>R. curvata</i>	0,494**	0,170	0,909**	-0,223	0,576**	0,796**	0,452**	-0,504**	0,842**	0,928**	1		
Total Cyanobacteria	0,664**	-0,136	0,728**	-0,108	0,650**	0,848**	0,347*	-0,619**	1**	0,909**	0,843**	1	
CYN	0,698**	-0,099	0,474**	-0,199	0,515**	0,492**	0,356*	-0,298	0,596**	0,506**	0,438**	0,596**	1

*: Tương quan ở mức ý nghĩa 0,05.

** : Tương quan ở mức ý nghĩa 0,01.



Hình 3.18. Phân tích thành phần chính (PCA) dựa trên các yếu tố sinh học và phi sinh học trong thời kì từ tháng 5/2019 đến tháng 4/2020 tại hồ Ea Nhái

3.4.2. Ảnh hưởng của các yếu tố môi trường lên sự biến động thể tích sinh học của các loài VKL sinh độc tố CYN và hàm lượng độc tố CYN trong hồ Buôn Phong

3.4.2.1. Các thông số môi trường trong hồ Buôn Phong

Kết quả nghiên cứu các yếu tố môi trường từ tháng 5/2019 đến tháng 4/2020 của hồ Buôn Phong được thể hiện trong bảng 3.11. Nhiệt độ nước dao động từ 25,8 °C - 32,2 °C, thay đổi theo mùa và các giá trị cao hơn được ghi nhận vào mùa khô. Giá trị pH dao động từ 6,7 - 7,7 và không có sự khác biệt đáng kể theo mùa trong thời gian nghiên cứu. Độ đục (NTU) dao động từ 15,1 - 33,0 NTU và các giá trị đo được vào mùa mưa cao hơn mùa khô. Nồng độ amoni (N-NH₄) không có sự khác biệt theo mùa, thay đổi nhẹ từ 0,1 đến 0,26 mg/L. Giá trị thấp nhất của nồng độ nitrat (N-NO₃) là 0,09 mg/L vào mùa khô, trong khi giá trị cao nhất là 0,27 mg/L vào mùa mưa và không có sự khác biệt theo mùa. Nồng độ orthophosphat-P hòa tan (P-PO₄) thay đổi từ 0,05 đến 0,09 mg/L và cho thấy biến động theo mùa rõ rệt. Nồng

độ trung bình của tổng nitrogen (TN) không biến động theo mùa, dao động trong khoảng từ 1,05 - 2,56 mg/L. Trong khi đó, nồng độ tổng phospho (TP) cho thấy sự biến động theo mùa, dao động trong khoảng 0,09 - 0,31 mg/L.

Dựa trên nồng độ trung bình của tổng phospho (TP), chất lượng nước của hồ Buôn Phong được xếp vào loại phú dưỡng (OECD, 1982). Hoạt động canh tác nông nghiệp trong lưu vực và hoạt động chăn nuôi gia súc của các hộ dân cư là nguồn ô nhiễm chính gây ra tình trạng phú dưỡng trong nước hồ.

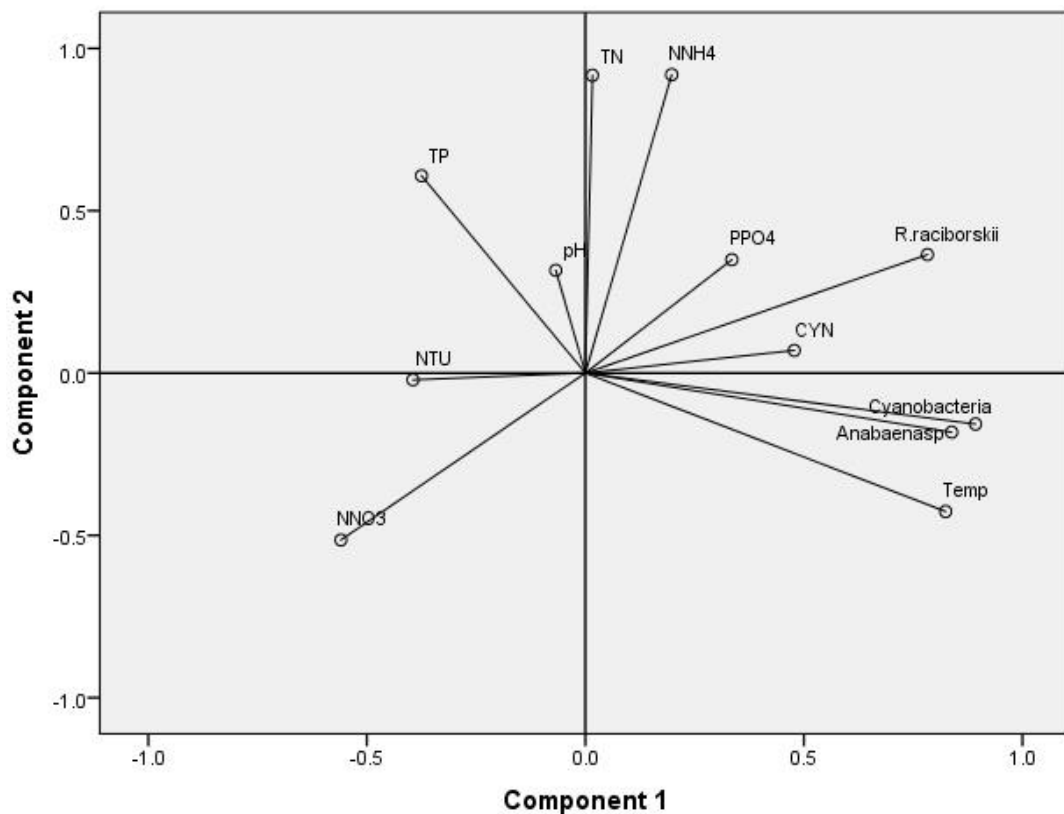
Bảng 3.11. Các thông số môi trường hồ Buôn Phong từ tháng 5/2019 đến tháng 4/2020

Tháng	Temp. (°C)	pH	Turbidity (NTU)	N-NH ₄ (mg/L)	N-NO ₃ (mg/L)	P-PO ₄ (mg/L)	TN (mg/L)	TP (mg/L)
5/2019	26.87 (26.7 - 27.1)	7.57 (7.52 - 7.61)	23.59 (23.47 - 23.78)	0.23 (0.229 - 0.232)	0.1 (0.099 - 0.107)	0.08 (0.079 - 0.088)	2.34 (2.31 - 2.38)	0.22 (0.21 - 0.226)
6/2019	26.83 (26.5 - 27)	6.71 (6.65 - 6.77)	21.37 (21.22 - 21.5)	0.19 (0.182 - 0.193)	0.09 (0.088 - 0.091)	0.07 (0.064 - 0.068)	2 (1.98 - 2.03)	0.19 (0.174 - 0.189)
7/2019	25.83 (25.5 - 26)	7.62 (7.52 - 7.7)	20.87 (19.3 - 22.8)	0.11 (0.11 - 0.12)	0.24 (0.22 - 0.26)	0.05 (0.045 - 0.053)	1.47 (1.4 - 1.56)	0.17 (0.163 - 0.182)
8/2019	27.83 (27.5 - 28)	7.63 (7.5 - 7.7)	22.80 (21 - 24)	0.1 (0.084 - 0.112)	0.14 (0.141 - 0.145)	0.06 (0.056 - 0.065)	1.40 (1.29 - 1.52)	0.13 (0.124 - 0.137)
9/2019	27.33 (27 - 27.5)	7.43 (7.3 - 7.58)	33 (28.1 - 42.3)	0.14 (0.126 - 0.14)	0.27 (0.238 - 0.294)	0.06 (0.056 - 0.06)	1.12 (1.17 - 1.19)	0.31 (0.3 - 0.327)
10/2019	26.67 (26.5 - 27)	6.75 (6.71 - 6.8)	32.7 (28 - 37.5)	0.14 (0.137 - 0.146)	0.21 (0.207 - 0.216)	0.08 (0.078 - 0.079)	1.33 (1.32 - 1.33)	0.13 (0.128 - 0.132)
11/2019	27.83 (27.5 - 28)	6.81 (6.79 - 6.83)	20.5 (17 - 24.4)	0.1 (0.095 - 0.106)	0.19 (0.187 - 0.193)	0.09 (0.09 - 0.094)	1.33 (1.26 - 1.4)	0.13 (0.123 - 0.127)
12/2019	28.83 (28.5 - 29)	7.06 (7.01 - 7.1)	15.07 (12.6 - 17.5)	0.14 (0.135 - 0.148)	0.12 (0.117 - 0.12)	0.09 (0.086 - 0.093)	1.23 (1.18 - 1.29)	0.12 (0.098 - 0.138)
01/2020	32.17 (32.1 - 32.2)	6.97 (6.92 - 7.01)	23.24 (22.91 - 23.7)	0.13 (0.12 - 0.135)	0.17 (0.168 - 0.175)	0.07 (0.061 - 0.073)	1.32 (1.27 - 1.38)	0.13 (0.12 - 0.134)
02/2020	30.9 (30.8 - 31)	6.66 (6.61 - 6.7)	21.36 (20.93 - 22.01)	0.14 (0.137 - 0.141)	0.17 (0.158 - 0.177)	0.06 (0.052 - 0.064)	1.35 (1.23 - 1.42)	0.09 (0.087 - 0.096)
03/2020	31.37 (31.2 - 31.5)	7.70 (7.63 - 7.78)	23.49 (23.38 - 23.7)	0.13 (0.126 - 0.134)	0.11 (0.103 - 0.117)	0.08 (0.072 - 0.091)	1.05 (1.03 - 1.09)	0.14 (0.128 - 0.149)
04/2020	27.93 (27.3 - 28.3)	7.46 (7.4 - 7.5)	22.8 (22.29 - 23.1)	0.26 (0.237 - 0.282)	0.1 (0.098 - 0.105)	0.09 (0.081 - 0.089)	2.56 (2.37 - 2.8)	0.25 (0.231 - 0.264)

Ghi chú: Temp.: Nhiệt độ; Turbidity: Độ đục.

3.4.2.2. Ảnh hưởng của các yếu tố môi trường lên sự biến động thể tích sinh học của các loài VKL sinh độc tố CYN và hàm lượng độc tố CYN trong hồ Buôn Phong

Để xác định mức độ ảnh hưởng của các yếu tố môi trường đến thể tích sinh học của hai loài VKL sản sinh độc tố *R. raciborskii* và *Anabaena* sp.2 trong thời gian nghiên cứu từ tháng 5/2019 đến tháng 4/2020 tại hồ Buôn Phong, chúng tôi đã sử dụng phân tích PCA và phân tích Pearson để đánh giá. Kết quả cho thấy thể tích sinh học của *R. raciborskii* có tương quan thuận với các biến số phi sinh học như nhiệt độ, N-NH₄, P-PO₄ ($R = 0,45$, $p < 0,01$; $R = 0,46$, $p < 0,01$; $R = 0,35$, $p < 0,05$). Bên cạnh đó, sự tương quan của giữa nhiệt độ với thể tích sinh học của *Anabaena* sp.2 cũng được quan sát thấy trong hồ Buôn Phong (Hình 3.19, bảng 3.12).



Hình 3.19. Phân tích thành phần chính (PCA) dựa trên các yếu tố sinh học và phi sinh học trong thời kì từ tháng 5/2019 đến tháng 4/2020 tại hồ Buôn Phong

Bảng 3.12. Mối tương quan Pearson giữa thể tích sinh học của những loài VKL sinh độc tố CYN và các yếu tố môi trường ở hồ Buôn Phong

	Temp.	NTU	pH	N-NH ₄	N-NO ₃	P-PO ₄	TN	TP	<i>R. raciborskii</i>	<i>Anabaena</i> sp.2	Total Cyanobacteria	CYN
Temp.	1											
NTU	-0,176	1										
pH	-0,135	0,051	1									
N-NH₄	-0,188	0,003	0,112	1								
N-NO₃	-0,227	0,475**	-0,049	-0,546**	1							
P-PO₄	0,066	-0,193	-0,059	0,313	-0,482**	1						
TN	-0,378*	-0,102	0,129	0,877**	-0,508**	0,190	1					
TP	-0,447**	0,439**	0,434**	0,497**	0,186	-0,093	0,429**	1				
<i>R. raciborskii</i>	0,445**	-0,138	0,136	0,462**	-0,412*	0,347*	0,286	0,043	1			
<i>Anabaena</i> sp.2	0,867**	-0,119	0,011	0,048	-0,249	0,095	-0,131	-0,248	0,566**	1		
Total Cyanobacteria	0,795**	-0,195	-0,056	0,057	-0,340*	0,176	-0,175	-0,308	0,696**	0,771**	1	
CYN	0,300	-0,154	0,038	0,115	-0,047	-0,140	0,081	0,056	0,538**	0,343*	0,377*	1

*: Tương quan ở mức ý nghĩa 0,05.

**: Tương quan ở mức ý nghĩa 0,01.

Trong quần xã VKL hồ Ea Nhái chi *Raphidiopsis* chiếm ưu thế. Trong đó, thể tích sinh học của *R. curvata* và *R. mediterranea* chiếm tỉ lệ rất nhỏ, lần lượt là 0,08% và 0,02%. Vì vậy, chúng tôi nghĩ rằng *R. raciborskii* có thể là nguồn chủ yếu sinh ra độc tố CYN trong nước hồ. Ở hồ Buôn Phong, sinh khối của nhóm *Microcystis* chiếm ưu thế với 84% tổng sinh khối VKL. Tuy nhiên, cho đến nay chưa có ghi nhận nào về các loài thuộc chi này sản sinh độc tố CYN. Bên cạnh đó, thể tích sinh học loài *Anabaena* sp.2 tạo độc tố CYN chiếm tỉ lệ rất nhỏ, khoảng 4,1% nên có thể độc tố CYN trong nước hồ chủ yếu là từ *R. raciborskii*. Vì vậy, giám sát và đánh giá biến động quần thể của loài *R. raciborskii* trong cả hai hồ là cơ sở để đưa ra một chương trình giám sát sinh học hiệu quả.

Sự sinh sôi của VKL thường chịu sự tác động tổng hợp của nhiều yếu tố sinh thái thay vì một yếu tố sinh thái duy nhất. Các cuộc điều tra ngoài thực địa và trong phòng thí nghiệm đã phát hiện ra rằng sự phong phú của *R. raciborskii* có thể bị ảnh hưởng bởi các yếu tố môi trường như ánh sáng, nhiệt độ và chất dinh dưỡng (Burford và cs., 2016; Pagni và cs., 2020). Trong nghiên cứu của chúng tôi, nhiệt độ có tương quan thuận với thể tích sinh học *R. raciborskii* trong cả hai hồ. Kết quả cho thấy nhiệt độ nước cao kích thích sự phát triển của *R. raciborskii*. Kết quả tương tự cũng được tìm thấy trong các nghiên cứu trước đây (Nguyen và cs., 2017; Kokocinski và cs., 2017). Cho đến nay, *R. raciborskii* đã xâm chiếm thành công nhiều thủy vực từ nhiệt đới, cận nhiệt đới đến ôn đới. Các nghiên cứu trong phòng thí nghiệm đã chỉ ra rằng nhiệt độ tối ưu cho sự sinh trưởng của *R. raciborskii* từ 25 °C đến 35 °C. Thông thường, chúng hình thành sự nở hoa ở nhiệt độ lớn hơn 25 °C (Kokocinski và cs., 2017; Jia và cs., 2020). Nhiệt độ trong hai hồ nghiên cứu dao động từ 25,5 °C đến 32 °C. Nở hoa của *R. raciborskii* trong hồ Ea Nhái xảy ra vào thời điểm giao mùa và mùa khô trong năm (3,74 – 66,83 mm³/L), trong khi nở hoa *R. raciborskii* hồ Buôn Phong chỉ xảy ra vào mùa khô (1,56-9,14 mm³/L). Sự nở hoa dày đặc của loài này cũng đã được quan sát vào mùa hè ở Hồ Waikare (Wood và cs., 2014) và trong một ao cạn ở Pháp (Briand và cs., 2002). Wener và cs. (2020) cũng phát hiện ra rằng các đợt nở hoa của *R. raciborskii* tạo thành các vệt màu vàng trên bề mặt ở nhiệt độ từ 12,6 - 15,5 °C nhưng sinh khối của nó vẫn đạt giá trị tối đa vào cuối mùa hè khi nhiệt

độ ở 26,6 °C. Tuy nhiên, sự nở hoa của loài này cũng được quan sát thấy vào mùa đông ở các hồ và đập ở Bắc Đài Loan; Uruguay và Rio Grande do Sul khi nhiệt độ lần lượt là 16,3 °C; 11,2 °C và 11 °C (Fabre và cs., 2010; Yamamoto và cs., 2012; Wener và cs., 2020). Những kết quả trái ngược liên quan đến tác động của nhiệt độ lên *R. raciborskii* dường như có liên quan đến sự xuất hiện của các kiểu sinh thái khác nhau trong quần thể *R. raciborskii* cùng với tính linh động về kiểu hình khi phản ứng với các yếu tố môi trường. Hơn nữa, khí hậu ẩm lên được coi là một động lực quan trọng giúp tăng cường sự mở rộng của loài này sang các khu vực mới.

Nitrogen (N) và phospho (P) đã được chứng minh là có ảnh hưởng đến sự ưu thế của *R. raciborskii* trong các hệ thống nước ngọt (Mohamed và cs., 2018). Một số nghiên cứu cho rằng *R. raciborskii* có thể chiếm ưu thế ở cả điều kiện nitrogen, phospho thấp và cao (Burford và cs., 2016, 2018; Xiao và cs., 2020; Wener và cs., 2020). Biến số phi sinh học đóng một vai trò quan trọng và có ảnh hưởng đáng kể đến thể tích sinh học của *R. raciborskii* trong hồ Ea Nhái là nitrogen, phospho ở dạng hòa tan và dạng tổng số. Trong hồ Buôn Phong, mối tương quan thuận giữa *R. raciborskii* và phospho dạng hòa tan cũng đã được quan sát thấy. Riêng đối với nitrogen dạng hòa tan, *R. raciborskii* tương quan thuận với N-NH₄ và tương quan nghịch với N-NO₃. *R. raciborskii* được phát hiện chiếm ưu thế khi nồng độ TP và TN cao (Nguyen và cs., 2017; Xiao và cs., 2020). Một nghiên cứu gần đây đã chứng minh rằng độ pH cao tạo điều kiện thuận lợi cho việc giải phóng phospho từ trầm tích, cung cấp nguồn phospho cho sự phong phú của *R. raciborskii* ở Dongqian, Trung Quốc (Li và cs., 2020). Như đã đề cập bởi Posselt và cs. (2009), việc bổ sung photphat vô cơ hòa tan (DIP) trong các thí nghiệm thực địa tại hồ chứa cận nhiệt đới ở Queensland, Úc cũng đã thúc đẩy sự ưu thế của *R. raciborskii*. Tuy nhiên, kết quả ngược lại được đưa ra trong các nghiên cứu khác khi cho rằng *R. raciborskii* vẫn chiếm ưu thế trong các hồ chứa giới hạn phospho (Burford và cs., 2018; Prentice và cs., 2019). Điều này có thể do chúng có ái lực cao, khả năng hấp thụ và khả năng dự trữ cao đối với phospho, cho phép chúng cạnh tranh với các loài VKL và thực vật phù du nhân chuẩn khác (Burford và cs., 2016; Xiao và cs., 2020).

Trong nghiên cứu này, nồng độ amoni (N-NH_4) có tương quan thuận với *R. raciborskii*. N-NH_4 được coi là nguồn nitrogen ưa thích cho sự phát triển của *R. raciborskii* dựa trên cả tốc độ tăng trưởng và tỷ lệ hấp thụ (Burford và cs., 2016, 2018). Tương tự, nồng độ N-NH_4 cao (lên đến 700 mg/L) là yếu tố chính thúc đẩy sự nở hoa của *R. raciborskii* trong hai hồ chứa ở Brazil (Gemelgo và cs., 2008). Mối tương quan nghịch giữa thể tích sinh học của *R. raciborskii* với nồng độ N-NO_3 ($R = -0,41$, $p < 0,05$) trong hồ Buôn Phong cho thấy loài này vẫn có thể sinh trưởng tốt trong môi trường N-NO_3 giới hạn. Kết quả tương tự cũng được báo cáo trong các nghiên cứu ở thành phố Đông Tuyên, Ai Cập và phía tây Ba Lan, nơi mà sự phát triển mạnh mẽ của *R. raciborskii* vẫn có thể được phát hiện trong các hồ chứa có nồng độ N-NO_3 thấp (Lei và cs., 2014). Một số nghiên cứu ghi nhận rằng, *R. raciborskii* vẫn có thể chiếm ưu thế ngay cả trong điều kiện nitrogen và phospho thấp (Burford và cs., 2017; Recknagel và cs., 2019; Xiao và cs., 2020, Werner và cs., 2020, Li và cs., 2020). Lý do của sự mâu thuẫn về nhu cầu dinh dưỡng trên cùng một loài có thể là do sự khác biệt giữa các chủng trong quần thể.

Thật vậy, sự biến đổi sinh học xảy ra giữa các chủng *R. raciborskii* trong cùng một quần thể hoặc giữa các quần thể trong các khu vực địa lý khác nhau dẫn đến sự khác nhau về khả năng hấp thụ, lưu trữ N, P và khả năng sử dụng phospho hữu cơ hòa tan (DOP), nitrogen hữu cơ hòa tan (DON) đã được quan sát trong các nghiên cứu gần đây (Willis và cs., 2017; Burford và cs., 2020). Những nghiên cứu về các chủng *R. raciborskii* được phân lập từ Úc cho thấy chúng có tỷ lệ hấp thụ P cao hơn so với các chủng từ các lục địa khác (Willis và cs., 2017). Một số nghiên cứu đã chứng minh rằng, các chủng *R. raciborskii* được phân lập trong cùng một hồ có thể thay đổi đáng kể các đặc tính hình thái, sinh lý và di truyền, nhằm tăng cường tiềm năng của quần thể để thích nghi nhanh chóng với các điều kiện môi trường thay đổi (Burford và cs., 2016, 2020; Kokoscinski và cs., 2017; Willis và cs., 2016a, 2018; Xiao và cs., 2017a, 2020). *R. raciborskii* có thể sinh trưởng tốt hơn các loài thực vật phù du khác trong phạm vi nồng độ dinh dưỡng rộng do đặc tính sinh lý linh hoạt của chúng như: ái lực hấp thụ phospho, amoni cao và khả năng lưu trữ phospho cao (Willis và cs., 2017).

Trong nghiên cứu này, phân tích tương quan Pearson trong hai hồ đều cho thấy thể tích sinh học của *R. raciborskii* có tương quan thuận với nồng độ CYN và nồng độ độc tố tăng khi thể tích sinh học *R. raciborskii* tăng. Sự xuất hiện quanh năm kèm theo hiện tượng nở hoa vào thời điểm giao mùa và mùa khô của *R. raciborskii* trong nước hồ cho thấy nguy cơ ô nhiễm tiềm ẩn của nguồn nước nơi đây. Suy giảm chất lượng nước đã làm tăng sự xuất hiện của VKL độc và độc tố của chúng trong các hồ chứa được sử dụng để cung cấp nước uống, nước cho sinh hoạt, cho các hoạt động giải trí và nuôi trồng thủy sản. Vì vậy, cần phải hiểu rõ hơn về động thái quần thể của nhóm loài VKL độc. Một số yếu tố môi trường như sự sẵn có của chất dinh dưỡng (nitrogen và phospho), lượng mưa và nhiệt độ nước kiểm soát cấu trúc quần thể VKL cũng như sự hiện diện của các chủng độc và sự sản sinh độc tố của chúng (Moraes và cs., 2021). Trong nghiên cứu này, ở cả hai hồ Ea Nhái và hồ Buôn Phong cho thấy loài *R. raciborskii* sinh trưởng mạnh trong điều kiện nhiệt độ và hàm lượng dinh dưỡng cao. Có thể nhiệt độ nước và yếu tố dinh dưỡng sẵn có (nitrogen và phospho) trong cả hai hồ là nhân tố môi trường chủ đạo ảnh hưởng đến sự nở hoa của loài VKL này.

Ở Việt Nam, sự biến động của *R. raciborskii* cũng cho thấy bị ảnh hưởng chính bởi nhiệt độ và dinh dưỡng trong các thủy vực ở Huế (Nguyen và cs., 2017). Trường hợp này cũng được quan sát thấy trong một số thủy vực ở vùng nhiệt đới trên thế giới (Kokocinski và cs., 2012; Burford và cs., 2016, 2018; Werner và cs., 2020). Tuy nhiên, *R. raciborskii* vẫn có thể sinh trưởng tốt, thậm chí nở hoa trong điều kiện nhiệt độ thấp (Werner và cs., 2020; Jia và cs., 2021) và nguồn dinh dưỡng (nitrogen và phospho) bị giới hạn (Burford và cs., 2018; Recknagel và cs., 2019; Xiao và cs., 2020; Werner và cs., 2020; Li và cs., 2020). Chúng tôi nghĩ rằng, không có khả năng tổng quát hóa các điều kiện môi trường mà trong đó một loài hay một chủng có thể chiếm ưu thế, bởi vì sự khác biệt sinh học giữa các chủng VKL đã làm ảnh hưởng đáng kể đến phản ứng tăng trưởng của loài đối với những điều kiện môi trường xung quanh.

Bên cạnh những yếu tố môi trường, yếu tố sinh học (ĐVPD, cá) cũng được xem là một trong những nhân tố ảnh hưởng đến cấu trúc và quá trình hình thành nở hoa VKL nói chung và *R. raciborskii* nói riêng. Với đặc điểm hình thái dạng sợi, kích

thước lớn và khả năng tạo độc tố CYN như chất ức chế cảm nhiễm, có thể đã góp phần làm giảm áp lực ăn thịt của các loài ĐVPD đối với *R. raciborskii*, tạo điều kiện thuận lợi cho sự phát triển bùng phát của loài này trong hai hồ nghiên cứu. Thật vậy, nhiều nghiên cứu cho thấy VKL là nguồn thức ăn không thích hợp, không thể duy trì sự phát triển và sinh sản cho một số loài động vật phù du vì chúng có kích thước cơ thể lớn, tạo ra các hợp chất chuyển hóa thứ cấp độc hại (độc tố VKL) và có giá trị dinh dưỡng thấp (thiếu các hợp chất dinh dưỡng cần thiết cho động vật phù du như sterol và axit béo đa không bão hòa), khiến chúng trở thành nguồn thực phẩm kém chất lượng cho ĐVPD (Soares và cs., 2010; Bednarska và cs., 2014).

Như vậy, phân tích PCA và tương quan Pearson cho thấy mối tương quan đáng kể giữa các loài có khả năng sinh độc tố CYN và hàm lượng CYN trong nước hồ Ea Nhái và nước hồ Buôn Phong. Đồng thời cũng cho thấy mối tương quan chặt chẽ giữa các yếu tố nhiệt độ, N-NH₄, P-PO₄, TN, TP với thể tích sinh học của nhóm loài VKL có khả năng sinh độc tố CYN trong hai hồ. Qua những kết quả đạt được trong nghiên cứu, chúng tôi nhận thấy rằng *R. raciborskii* là loài gây ra hiện tượng nở hoa sinh độc tố CYN chính trong cả hai hồ và chúng sinh trưởng mạnh trong điều kiện nhiệt độ và hàm lượng dinh dưỡng cao. Chúng tôi nghĩ rằng, có thể nhiệt độ nước và yếu tố dinh dưỡng sẵn có (nitrogen và phospho) là nhân tố môi trường chủ đạo ảnh hưởng đến sự nở hoa của loài VKL độc này trong cả hai hồ. Việc thiếu đi những dấu hiệu trực quan trong quá trình nở hoa của *R. raciborskii* như: Hiếm khi hình thành những vệt trên bề mặt nước, ít làm thay đổi màu nước cùng với sự ổn định hóa học, khả năng tích lũy sinh học kết hợp với sự phân hủy chậm của độc tố CYN do chúng sản sinh ra, đã đưa ra những thách thức lớn đối với các nhà máy xử lý nước uống, các cơ quan quản lý, giám sát chất lượng nước cộng đồng trong việc dự báo sớm hiện tượng nở hoa và đảm bảo an ninh nguồn nước trong khu vực nghiên cứu.

KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

Kết luận

1. Trong hai hồ nghiên cứu đã ghi nhận được 34 loài VKL. Trong đó, hồ Buôn Phong có 26 loài phân bố trong 3 bộ, 5 họ và 10 chi, hồ Ea Nhái có 19 loài phân bố trong 3 bộ, 6 họ và 9 chi. Không có sự khác biệt đáng kể theo không gian của các loài VKL trong cả hai hồ nhưng xét về mặt thời gian, cho thấy sự biến động thành phần loài VKL theo mùa rõ rệt trong hai hồ nghiên cứu.

2. Thể tích sinh học của các loài VKL có khả năng tạo độc tố CYN (*R. raciborskii*, *R. curvata*, *R. mediterranea* và *Anabaena* sp.2) và hàm lượng độc tố CYN cho thấy sự biến động theo mùa rõ rệt, thấp vào mùa mưa và cao hơn vào mùa khô trong cả hai hồ. Thể tích sinh học của các loài VKL có khả năng tạo độc tố CYN có mối tương quan thuận với hàm lượng CYN trong nước hai hồ. Hàm lượng CYN trong nước hồ Ea Nhái dao động từ 1,01 - 1,34 µg/L và trong nước hồ Buôn Phong dao động 0,04 - 0,72 µg/L.

3. Hầu hết các chủng của 4 loài VKL có khả năng sinh độc tố (*R. raciborskii*, *R. curvata*, *R. mediterranea*, *Anabaena* sp.2) đều cho thấy kết quả phù hợp giữa sự hiện diện phân đoạn gen sinh tổng hợp độc tố và khả năng sinh độc tố. Tuy nhiên, có 1 chủng không độc (RCEN3) xuất hiện phân đoạn gen *cyrC*. Trong khi đó, 3 chủng độc (ABP8, CBP4 và CBP5) vắng mặt cả hai phân đoạn gen *cyrB* và *cyrC*.

4. Xác định được 4 loài VKL sản sinh độc tố CYN: *R. raciborskii*, *R. curvata*, *R. mediterranea* và *Anabaena* sp.2 trong hai hồ nghiên cứu. Hồ Ea Nhái có 3 loài (*R. raciborskii*, *R. curvata* và *R. mediterranea*) và hồ Buôn Phong có 2 loài (*R. raciborskii* và *Anabaena* sp.2).

5. Trong cả hai hồ, nhiệt độ và dinh dưỡng là những nhân tố môi trường chính ảnh hưởng đến sự biến động quần thể của bốn loài VKL sản sinh độc tố CYN. Trong hồ Ea Nhái, thể tích sinh học của *R. raciborskii*, *R. curvata* và *R. mediterranea* tương quan thuận với nhiệt độ, N-NH₄, P-PO₄, TN, TP. Ở hồ Buôn Phong, thể tích sinh học *R. raciborskii* cho thấy mối tương quan thuận với nhiệt độ, N-NH₄, P-PO₄. Trong khi đó, loài *Anabaena* sp.2 chỉ cho thấy mối tương quan thuận với nhiệt độ.

Kiến nghị

1. Cần mở rộng phạm vi nghiên cứu để có thể nhận định chính xác về sự hiện diện của những loài VKL có khả năng sinh độc tố CYN cũng như những nhân tố môi trường chính quyết định đến sự phát triển của nhóm loài này trong các thủy vực nước ngọt ở Đắc Lắc nói chung và Việt Nam nói riêng, nhằm dự báo chính xác nguy cơ ô nhiễm độc tố, kiểm chế sự phát triển bùng lên của nhóm loài VKL sinh độc tố CYN.

2. Với rủi ro tiềm ẩn của CYN trong các thủy vực dạng hồ, đòi hỏi phải đưa ra những chương trình giám sát sinh học hiệu quả kết hợp với việc quản lý nguồn nước dựa vào cộng đồng nhằm đảm bảo sức khỏe cộng đồng, bảo vệ nguồn tài nguyên nước và nguồn lợi thủy sản ở khu vực nghiên cứu nói riêng và các thủy vực nước ngọt Việt Nam nói chung.

3. Bên cạnh các yếu tố sinh học, cần mở rộng nghiên cứu ảnh hưởng của nhân tố sinh học lên sự biến động thành phần loài VKL có khả năng sinh độc tố CYN để có cái nhìn đầy đủ hơn cho hệ sinh thái thủy vực.

DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH ĐÃ CÔNG BỐ

1. **My Thi Diem Ngo**, Dung Manh Doan, Phap That Ton, Thuy Thi Duong, Ha Manh Bui, Lien Thi Thu Nguyen (2022). Population dynamics of *Raphidiopsis raciborskii* and cylindrospermopsin concentration in Ea Nhai reservoir in Dak Lak province, Vietnam. *Pol. J. Environ. Study* 31(4) 1-12. DOI: 10.15244/pjoes/146704.
2. **Thi Diem My Ngo**, That Phap Ton, Thi Thuy Duong, Thi Phuong Quynh Le, Thi Thu Lien Nguyen (2022). Cyanobacterium *Raphidiopsis raciborskii* and its toxin in Buon Phong reservoir, Dak Lak province, Vietnam. *Vietnam Journal of Earth Sciences* 1-16. DOI: 10.15625/2615-9783/16997.
3. **Ngô Thị Diễm My**, Tôn Thất Pháp, Nguyễn Thị Thu Liên (2022). Nở hoa của loài vi khuẩn lam độc *Raphidiopsis raciborskii* tại hồ Buôn Phong, tỉnh Đắk Lắk. *Tạp chí Khoa học Đại học Huế: Khoa học Tự nhiên* 131(1A) 43-49. DOI: 10.26459/hueunijns.v131i1A.6341
4. **Ngô Thị Diễm My**, Tôn Thất Pháp, Nguyễn Thị Thu Liên (2020). Thành phần loài vi khuẩn lam ở hồ Ea Nhái và hồ Buôn Phong tỉnh Đắk Lắk. Báo cáo khoa học hội nghị Công nghệ Sinh học toàn quốc 2020, NXB Đại học Huế, 983-989.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Tài liệu tiếng Việt

1. Nguyễn Thu Hồng, Đào Thanh Sơn, Võ Thị Mỹ Chi, Đặng Quốc Minh, Lê Hồ Khánh Hỷ, Phan Bảo Vy, Đoàn Thị Thiết, Phạm Xuân Kỳ, Đào Việt Hà (2015). Độc tố saxitoxin ở một số chủng vi khuẩn lam *cylindrospermopsis raciborskii* phân lập từ hồ Dầu Tiếng. *Tuyển Tập Nghiên Cứu Biển 1*: 41-49.
2. Đặng Đình Kim, Dương Thị Thủy, Nguyễn Thị Thu Liên, Đào Thanh Sơn, Lê Thị Phương Quỳnh Và Đỗ Hồng Lan Chi (2014). *Vi khuẩn lam độc nước ngọt*. NXB Khoa học Tự nhiên và Công nghệ.
3. Nguyễn Thị Thu Liên, Nguyễn Thị Cảnh, Lê Thị Trân Nhi (2010). Hình thái và khả năng sinh độc tố cylindrospermopsin của các chủng tảo lam từ một số ao hồ Việt Nam, *Tạp chí công nghệ sinh học* 8(1): 103-108.
4. Lưu Thị Thanh Nhân (2010). Vi khuẩn lam ở lưu vực sông La Ngà. Luận án tiến sĩ sinh học. Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia thành phố Hồ Chí Minh.
5. Sở NN&PTNN Đắk Lắk (2018). Dự án: Rà soát, điều chỉnh, bổ sung quy hoạch phát triển thủy lợi tỉnh Đắk Lắk đến năm 2020, tầm nhìn 2030, báo cáo quy hoạch tiêu úng, phòng chống lũ, Đắk Lắk.
6. Sở Tài nguyên và Môi trường Đắk Lắk (2016). Báo cáo hiện trạng môi trường tỉnh Đắk Lắk giai đoạn 2016 – 2020.
7. 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 (2014c). 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.
8. Đào Thanh Sơn, Trần Phước Thảo, Nguyễn Thị Thu Liên, Nguyễn Thanh Sơn, Bùi Bá Trung (2016). Ghi nhận đầu tiên về độc tính của loài vi khuẩn lam *planktothrix rubescens* phân lập từ ao nuôi cá tỉnh Sóc Trăng. *Tạp chí Sinh học* 38(1) 115-123.
9. Lê Thương (2010). Sự biến động về thành phần loài và số lượng thực vật nổi ở hồ EaNhái và hồ EaSup tỉnh DakLak. Luận án tiến sĩ sinh học. Viện Hải dương học, Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

10. Dương Đức Tiến (1996). *Phân loại vi khuẩn lam ở Việt Nam*, NXB Nông nghiệp Hà Nội.
11. Trần Thị Tình (2017). Cấu trúc quần xã thực vật phù du trong các hồ chứa ở Cao nguyên Lâm Viên tỉnh Lâm Đồng. Luận án tiến sĩ sinh học. Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

Tài liệu tiếng Anh

12. Abreu, V. A., Popin, R. V., Alvarenga, D. O., Schaker, P. D., Hoff-Rissetti, C., Varani, A. M., & Fiore, M. F. (2018). Genomic and genotypic characterization of *Cylindrospermopsis raciborskii*: toward an intraspecific phylogenetic evaluation by comparative genomics. *Frontiers in microbiology*, 9, 306.
13. Adamski, M., Konrad, W., Ariel, K., & Alica, H. (2020). Cyanotoxin cylindrospermopsin producers and the catalytic decomposition process: A review. *Harmful Algae*, 98, 101894.
14. Aguilera, A., Aubriot, L., Echenique, R. O., Salerno, G. L., Brena, B. M., Pérez, M., & Bonilla, S. (2017). Synergistic effects of nutrients and light favor Nostocales over non-heterocystous cyanobacteria. *Hydrobiologia*, 794(1), 241-255.
15. Aguilera, A., Gómez, E. B., Kaštovský, J., Echenique, R. O., & Salerno, G. L. (2018). The polyphasic analysis of two native *Raphidiopsis* isolates supports the unification of the genera *Raphidiopsis* and *Cylindrospermopsis* (Nostocales, Cyanobacteria). *Phycologia*, 57(2), 130-146.
16. Antosiak, A., Nada, T., Robert, M., Mikołaj, K., Agnieszka, B., Wojciech, S., Agnieszka, K. B., Anusuya, W., & Dariusz, D. (2020). Different Gene Expression Response of Polish and Australian *Raphidiopsis raciborskii* Strains to the Chill/Light Stress. *Applied Sciences*, 10(16), 5437.
17. Antunes, J. T., Leão, P. N., & Vasconcelos, V. M. (2015). *Cylindrospermopsis raciborskii*: review of the distribution, phylogeography, and ecophysiology of a global invasive species. *Frontiers in Microbiology*, 6, 473.
18. Aragão, N. K. C. V., Moura, A.N., & Bittencourt, M.C. (2013). Planktonic Cyanobacteria forming blooms in reservoirs of northeastern Brazil. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias* 8(4): 662-668.

19. Barros, M.U., Wilson, A.E., Leitão, J.I., Pereira, S.P., Buley, R.P., Fernandez-Figueroa, E.G., Capelo-Neto, J. (2019). Environmental factors associated with toxic cyanobacterial blooms across 20 drinking water reservoirs in a semi-arid region of Brazil. *Harmful Algae*, 86, 128-137.
20. Baxter, K., Jameson, I. D., & Willis, A. (2020). Towards defining global ecoty-pes of the toxic cyanobacterium *Raphidiopsis raciborskii*. *Applied Phycology*, 1-10.
21. Bittencourt-Oliveira, M. A. R. I. A., Carmo, D., Piccin-Santos, V. I. V. I. A. N. E., Moura, A. N., Aragão-Tavares, N. K., & Cordeiro-Araújo, M. K. (2014). Cyanobacteria, microcystins and cylindrospermopsin in public drinking supply reservoirs of Brazil. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 86, 297-310.
22. Bednarska, A., & Slusarczyk, M. (2013). Effect of non-toxic, filamentous cyanobacteria on egg abortion in *Daphnia* under various thermal conditions. *Hydrobiologia*, 715(1), 151-157.
23. Bednarska, A., Pietrzak, B., & Pijanowska, J. (2014). Effect of poor manageability and low nutritional value of cyanobacteria on *Daphnia magna* life history performance. *Journal of Plankton Research*, 36(3), 838-847.
24. Bonilla, S., González-Piana, M., Soares, M. C., Huszar, V. L., Becker, V., Somma, A., & Aubriot, L. (2016). The success of the cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii* in freshwaters is enhanced by the combined effects of light intensity and temperature. *Journal of Limnology*, 75(3).
25. Bowling, L., Baldwin, D., Merrick, C., Brayan, J., & Panther, J. (2018). Possible drivers of a *Chrysosporum ovalisporum* bloom in the Murray River, Australia, in 2016. *Marine and Freshwater Research*, 69(11), 1649-1662.
26. Briand, J. F., Leboulanger, C., Humbert, J. F., Bernard, C., & Dufour, P. (2004). *Cylindrospermopsis raciborskii* (cyanobacteria) invasion at mid-latitudes: selection, wide physiological tolerance, or global warming. *Journal of Phycology*, 40, 231–238.
27. Burford, M. A., Beardall, J., Willis, A., Orr, P. T., Magalhaes, V. F., Rangel, L. M., & Neilan, B. (2016). Understanding the winning strategies used by the bloom-forming cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii*. *Harmful Algae*, 54, 44–53.

28. Burford, M. A., Davis, T. W., Orr, P. T., Sinha, R., Willis, A., & Neilan, B. A. (2014). Nutrient-related changes in the toxicity of field blooms of the cyanobacterium, *Cylindrospermopsis raciborskii*. *FEMS Microbiology Ecology*, 89(1), 135-148.
29. Burford, M. A., Willis, A., Chuang, A., Man, X., & Orr, P. (2018). Recent insights into physiological responses to nutrients by the cylindrospermopsin producing cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii*. *Chinese Journal of Oceanology and Limnology*, 36, 1032–1039.
30. Burford, M. A., Carey, C. C., Hamilton, D. P., Huisman, J., Paerl, H. W., Wood, S. A., & Wulff, A. (2020). Perspective: Advancing the research agenda for improving understanding of cyanobacteria in a future of global change. *Harmful Algae*, 91, 101601.
31. Carmichael, W. W., He, J. W., Eschedor, J., He, Z. R., & Juan, Y. M. (1988). Partial structural determination of hepatotoxic peptides from *Microcystis aeruginosa* (cyanobacterium) collected in ponds of central China. *Toxicon*, 26(12), 1213-1217.
32. Casero, M. C., Velázquez, D., Medina-Cobo, M., Quesada, A., & Cirés, S. (2019). Unmasking the identity of toxigenic cyanobacteria driving a multi-toxin bloom by high-throughput sequencing of cyanotoxins genes and 16S rRNA metabarcoding. *Science of the Total Environment*, 665, 367-378.
33. Chernoff, N., Hill, D. J., Chorus, I., Diggs, D. L., Huang, H., King, D., ... & Wood, C. R. (2018). Cylindrospermopsin toxicity in mice following a 90-d oral exposure. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 81(13), 549-566.
34. Christensen, S. (2006): Potential toxic cyanobacteria (blue-green algae) in drinking water reservoirs of Ho Chi Minh City, Vietnam. - Master Thesis, Copenhagen.
35. Cirés, S., & Ballot, A. (2016). A review of the phylogeny, ecology and toxin production of bloom-forming *Aphanizomenon* spp. and related species within the Nostocales (cyanobacteria). *Harmful Algae*, 54, 21-43.
36. Cordeiro, R., Azevedo, J., Luz, R., Vasconcelos, V., Gonçalves, V. and Amélia F. (2021). Cyanotoxin Screening in BACA Culture Collection: Identification of New Cylindrospermopsin Producing Cyanobacteria. *Toxins*. 13, 258.
37. Chorus, I., & Welker, M. (2021). *Toxic cyanobacteria in water: a guide to their public health consequences, monitoring and management* (p. 858). Taylor & Francis.

38. Christophoridis, C., Zervou, S. K., Manolidi, K., Katsiapi, M., Moustaka-Gouni, M., Kaloudis, T., ... & Hiskia, A. (2018). Occurrence and diversity of cyanotoxins in Greek lakes. *Scientific reports*, 8(1), 1-22.
39. Dao, T. S., Do-Hong, L. C., & Wiegand, C. (2010a). Chronic effects of cyanobacterial toxins on *Daphnia magna* and their offspring. *Toxicon*, 55(7), 1244-1254.
40. Dao, T.S., Cronberg, G., Nimptsch J., Do-Hong, L. C., & Wiegand C. (2010b). Toxic cyanobacteria from Tri An Reservoir, Vietnam. *Nova Hedwigia*, 90, 433–448.
41. Dao T.S., Tran T.L., Pham, T.L., Do-Hong L.C. & Nguyen P.D., (2013) Impacts of cyano-bacterial toxins from Dau Tieng Reservoir, Vietnam, on the early life stage of zebrafish. *International Proceeding of Chemical, Biological and Environmental Engineering*, 58, 41–46.
42. Dao, T.S. (2016). Relationship between Phytoplankton and Environmental Variables from Bien Ho and Lak Lakes in Central Highland of Vietnam. *Journal of Environment and Ecology*, 7(2).
43. Dao, T. S., Nguyen, T. P. L., & Vo, T. K. T. (2016). Toxicity of cyanobacterial extract from *Cylindrospermopsis raciborskii* and potential solutions for mitigation the cyanobacterial mass development in Xuan Huong Lake, Da Lat City, Vietnam. In *Environmental Technology and Innovations: Proceedings of the 1st International Conference on Environmental Technology and Innovations (Ho Chi Minh City, Vietnam, 23-25 November 2016)* (p. 213). CRC Press.
44. da Silva, R. D. C., Grötzner, S. R., Moura Costa, D. D., Garcia, J. R. E., Muelbert, J., de Magalhães, V. F., ... & de Oliveira Ribeiro, C. A. (2018). Comparative bioaccumulation and effects of purified and cellular extract of cylindrospermopsin to freshwater fish *Hoplias malabaricus*. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 81(14), 620-632.
45. Desikachary, T. V. (1959). *Cyanophyta*. New Delhi: Indian Council of Agricultural Research.
46. Doyle, J.J, & Doyle, J.L. (1987). A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin*, 19, 11-15.
47. Duong, T. T., Le, T. P., 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. *Journal of applied phycology*, 25, 1065–1075.

48. Falconer, I. R., & Humpage, A. R. (2006). Cyanobacterial (blue-green algal) toxins in water supplies: Cylindrospermopsins. *Environmental Toxicology: An International Journal*, 21(4), 299-304.
49. Falfushynska H., Horyn O., Brygider A., Fedoruk O., Buyak B., Poznansky D., Poniedziałek B., Kokociński M., & Rzymiski P. (2018). Is the presence of Central European strains of *Raphidiopsis (Cylindrospermopsis) raciborskii* a threat to a freshwater fish? An in vitro toxicological study in common carp cells. *Aquatic Toxicology*, 30901-9.
50. Ferrão-Filho, A. S., Cunha, R., Magalhães, V. F., Soares, M. C. S., & Baptista, D. F. (2007). Evaluation of sub-lethal toxicity of cyanobacteria on the swimming activity of aquatic organisms by image analysis. *Journal of the Brazilian Society of Ecotoxicology*, 2(2), 1-8.
51. Findlay, D. L., & Kling, H. J. (2001). Protocols for measuring biodiversity: phytoplankton in freshwater. *Winnipeg: Department of Fisheries and Oceans*.
52. Flores-Rojas, N. C., & Esterhuizen, M. (2020). Uptake and effects of cylindrospermopsin: Biochemical, physiological and biometric responses in the submerged macrophyte *Egeria densa* Planch. *Water*, 12(11), 2997.
53. Freitas, M., Azevedo, J., Pinto, E., Neves, J., Campos, A., & Vasconcelos, V. (2015). Effects of microcystin-LR, cylindrospermopsin and a microcystin-LR/cylindrospermopsin mixture on growth, oxidative stress and mineral content in lettuce plants (*Lactuca sativa* L.). *Ecotoxicology and environmental safety*, 116, 59-67.
54. Gaget, V., Humpage, A. R., Huang, Q., Monis, P., & Brookes, J. D. (2017). Benthic cyanobacteria: A source of cylindrospermopsin and microcystin in Australian drinking water reservoirs. *Water research*, 124, 454-464.
55. Gin, K.I., Zhi Yang Sim Z.Y., Goh, K.C., Kok J.W., Te, S.T., Tran N.H., Li W., He Y. (2021). Novel cyanotoxin-producing *Synechococcus* in tropical lakes. *Water Research*, 192, 116828.
56. González-Pleiter, M., Cirés, S., Wörmer, L., Agha, R., Pulido-Reyes, G., Martín Betancor, K., Rico, A., Leganés, F., Quesada, A., & Fernández-Piñas, F. (2020). Ecotoxicity assessment of microcystins from freshwater samples using a bioluminescent cyanobacterial bioassay. *Chemosphere*, 240, 124966.

57. Hawkins, P. R., Runnegar, M. T., Jackson, A. R., & Falconer, I. (1985). Severe hepatotoxicity caused by the tropical cyanobacterium (blue-green alga) *Cylindrospermopsis raciborskii* (Woloszynska) Seenaya and Subba Raju isolated from a domestic water supply reservoir. *Applied and environmental microbiology*, 50(5), 1292-1295.
58. Hindák, F., & Moustaka, M. T. (1988). Planktic cyanophytes of lake Volvi, Greece. *Algological Studies/Archiv für Hydrobiologie, Supplement Volumes*, 497-528.
59. Hinojosa, M. G., Gutiérrez-Praena, D., Prieto, A. I., Guzmán-Guillén, R., Jos, A., & Cameán, A. M. (2019). Neurotoxicity induced by microcystins and cylindrospermopsin: A review. *Science of the total environment*, 668, 547-565.
60. Hipsher, C., Barker, J., & MacKay, A. (2020). Impact of bloom events on dissolved organic matter fluorophore signatures in Ohio waters. *Science of the Total Environment*, 699, 134003.
61. Hoek, C., Mann, D., Jahns, H. M., & Jahns, M. (1995). *Algae: an introduction to phycology*. Cambridge university press.
62. Hoffmann, L. (2005). Nomenclature of Cyanophyta/Cyanobacteria: roundtable on the unification of the nomenclature under the Botanical and Bacteriological Codes. *Algological Studies/Archiv für Hydrobiologie, Supplement Volumes*, 13-29.
63. Hoff-Risseti, C., Dörr, F.A., Schaker, P.D., Pinto, E., Werner, V.R., & Fiore, M.F. (2013). Cylindrospermopsin and saxitoxin synthetase genes in *Cylindrospermopsis raciborskii* strains from Brazilian freshwater. *PLoS One*, 8(8), e74238.
64. Huisman, J., Codd, G. A., Paerl, H. W., Ibelings, B. W., Verspagen, J. M., & Visser, P. M. (2018). Cyanobacterial blooms. *Nature Reviews Microbiology*, 16(8), 471-483.
65. Jia, N., Wang, Y., Guan, Y., Chen Y., Li, R., & Yu, G. (2021). Occurrence of *Raphidiopsis raciborskii* blooms in cool waters: Synergistic effects of nitrogen availability and ecotypes with adaptation to low temperature. *Environmental Pollution*, 270, 116070.

66. Karlson, B., Cusack C., & Bresnan E. (2010). Microscopic and molecular methods for quantitative phytoplankton analysis (IOC Manuals and Guides, no. 55) (IOC/2010/MG/55). UNESCO, Paris.
67. Kokocinski, M., Jasser, I., Karosiene, J., Kasperoviciene, J., Kobos, J., Koreiviene, J., Soininen, J., Szczurowska, A., & Woszczyk, M. (2017). Distribution of invasive *Cylindrospermopsis raciborskii* in the East-Central Europe is driven by climatic and local environmental variables. *FEMS microbiology ecology*, 93(4), fix035.
68. Komárek, J., & Anagnostidis, K. (1989). Modern approach to the classification system of cyanophytes 4 – Nostocales. *Archiv für Hydrobiologie/Supplements*, 56, 247-345.
69. Komárek, J., & Anagnostidis, K. (1999). Cyanoprokaryota 1. Chroococcales. In: Ettl H, Gerloff I, Heynig H et al., editors: Süßwasserflora von Mitteleuropa. Jena: Gustav Fischer.
70. Komárek, J., & Anagnostidis, K. (2005). Band 19/2. Cyanoprocaryota, 2. Teil: Oscillatoriales. *Süßwasserflora von Mitteleuropa, Elsevier, Italy*, 759, 38274-09195.
71. Komárek, J., Kaštovský, J., Mareš, J. & Johansen, J.R. (2014). Taxonomic classification of cyanoprokaryotes (cyanobacterial genera) 2014, using a polyphasic approach. *Preslia*, 86:, 295–335.
72. Komárek, J., & Johansen, J. R. (2015). Filamentous cyanobacteria. In *Freshwater Algae of North America* (pp. 135-235). Academic Press.
73. Kotai, J. (1972). Instructions for preparation of modified nutrient solution Z8 for algae Publication B-11/69. Norwegian Institute for Water Research, Blindern. Oslo 3 Norway.
74. Kouassi, B.A.T., Adon, M.P., Komoé, K., & Ouattara, A. (2015). Cyanobacteria from a shallow Reservoir in Côte d'Ivoire. *Journal of Biodiversity and Environmental Sciences*, 7(5): 136-149.
75. Kurmayer, R., Sivonen, K., Wilmotte, A., & Salmaso, N. (Eds.). (2017). *Molecular tools for the detection and quantification of toxigenic cyanobacteria*. John Wiley & Sons.
76. Lei, L., Peng, L., Huang, X., & Han, B. P. (2014). Occurrence and dominance of *Cylindrospermopsis raciborskii* and dissolved cylindrospermopsin in urban reservoirs used for drinking water supply, South China. *Environmental monitoring and assessment*, 186(5), 3079-3090.

77. Lei, L., Dai, J., Lin, Q., & Peng, L. (2020). Competitive dominance of *Microcystis aeruginosa* against *Raphidiopsis raciborskii* is strain-and temperature-dependent. *Knowledge & Management of Aquatic Ecosystems*, (421), 36.
78. Lei, L., Huang, H., Peng, L., Yang, Y., Xiao, L., & Han, B. P. (2020). Life-history responses of *Daphnia sinensis* simultaneously exposed to *Microcystis aeruginosa* and *Cylindrospermopsis raciborskii*. *Ecotoxicology*, 29(6), 771-779.
79. Li, H., Shen, C. R., Huang, C. H., Sung, L. Y., Wu, M. Y., & Hu, Y. C. (2016). CRISPR-Cas9 for the genome engineering of cyanobacteria and succinate production. *Metabolic engineering*, 38, 293-302.
80. Li, X., Shouliang, H., Jingtian, Z., Xiao Z., Beidou, X., & Renhui, L. (2020). Factors related to aggravated *Cylindrospermopsis* (cyanobacteria) bloom following sediment dredging in an eutrophic shallow lake. *Environmental Science and Ecotechnology*, 2, 100014.
81. Lorenzi, A.C., Chia, M.A., & Piccin-Santos, V. (2015). Microcystins and cylindrospermopsins molecular markers for the detection of toxic cyanobacteria: a case study of northeastern Brazilian reservoirs. *Limnetica*, 34, 269-282.
82. Magonono, M., Oberholster, P. J., Shonhai, A., Makumire, S., & Gumbo, J. R. (2018). The presence of toxic and non-toxic cyanobacteria in the sediments of the Limpopo River Basin: Implications for human health. *Toxins*, 10(7), 269.
83. Mc Gregor, G. B., Sendall, B. C., Hunt, L.T., & Eaglesham, G. K. (2011). Report of the cyanotoxins cylindrospermopsin and deoxycylindrospermopsin from *Raphidiopsis mediterranea* Skuja (Cyanobacteria/Nostocales). *Harmful Algae*, 10, 402–410.
84. McGregor, G. B., & Sendall, B. C. (2015). Phylogeny and toxicology of *Lyngbya wollei* (Cyanobacteria, Oscillatoriales) from north-eastern Australia, with a description of *Microseira* gen. nov. *Journal of Phycology*, 51(1), 109-119.
85. Metcalf J.S & Codd G.A. (2014). Cyanobacterial toxins (cyanotoxins) in water. Foundation for Water Res Allen House, The Listons, Liston Road, Marlow, Bucks SL 7 1FD, UK.
86. Mihali, T. K., Kellmann, R., Muenchhoff, J., Barrow, K. D., & Neilan, B. A. (2008). Characterization of the gene cluster responsible for cylindrospermopsin biosynthesis. *Applied and environmental microbiology*, 74(3), 716-722.

87. Ministry of Science, Technology and Environment (MOSTE), (2001) The valuable biodiversity and environment wetlands in Vietnam (*in Vietnamese*), P. 100-101, 106-107.
88. Mohamed, Z. A. (2008). Toxic cyanobacteria and cyanotoxins in public hot springs in Saudi Arabia. *Toxicon*, 51(1), 17-27.
89. Mohamed Nor, N. H., Te, S. H., Mowe, M. A. D., & Gin, K. Y. H. (2019). Environmental factors influence cylindrospermopsin production of *Cylindrospermopsis raciborskii* (CR12). *Journal of Plankton Research*, 41(2), 114-126.
90. Mohamed, Z. A., & Al Shehri, A. M. (2010). Microcystin production in epiphytic cyanobacteria on submerged macrophytes. *Toxicon*, 55(7), 1346-1352.
91. Mohamed, Z. A., & Bakr, A. (2018). Concentrations of cylindrospermopsin toxin in water and tilapia fish of tropical fishponds in Egypt, and assessing their potential risk to human health. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(36), 36287-36297.
92. Moosova, Z., Pekarova, M., Sindlerova, L. S., Vasicek, O., Kubala, L., Blaha, L., & Adamovsky, O. (2019). Immunomodulatory effects of cyanobacterial toxin cylindrospermopsin on innate immune cells. *Chemosphere*, 226, 439-446.
93. Moraes, A. C. N., & Magalhães, V. F. (2018). Renal tubular damage caused by cylindrospermopsin (cyanotoxin) in mice. *Toxicology Letters*, 286, 89-95.
94. Nguyen, T. T. L., Cronberg, G., Larsen, J., & Moestrup, Ø. (2007). Planktic cyanobacteria from freshwater localities in Thuathien-Hue province, Vietnam. I. Morphology and distribution. *Nova Hedwigia*, 85, 1-34.
95. Nguyen, T. T. L., Hoang, T. H., Nguyen, T. K., & Duong, T. T. (2017). The occurrence of toxic cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii* and its toxin cylindrospermopsin in the Huong River, Thua Thien Hue province, Vietnam. *Environ Monit Assess*, 189, 490.
96. Nguyen T. D., Vu D.H., Nguyen T.L., Le T.H., & Pham T.D. (2016). The Composition of Algae, Cyanobacteria and the Application in Water Quality Assessment in Truc Bach Lake, Hanoi. *Natural Sciences and Technology*, 32(1S): 26-32.
97. Nogueira, I. C., Saker, M. L., Pflugmacher, S., Wiegand, C., & Vasconcelos, V. M. (2004). Toxicity of the cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii* to *Daphnia magna*. *Environmental Toxicology: An International Journal*, -19(5), 453-459.

98. OECD, (1982). Eutrophication of Waters monitoring, Assessment and Control. Organization for Economic Cooperation and Development, Paris.
99. Oudra, B., Loudiki, M., Vasconcelos, V., Sabour, B., Sbiyyaa, B., Oufdou, K., & Mezrioui, N. (2002). Detection and quantification of microcystins from cyanobacteria strains isolated from reservoirs and ponds in Morocco. *Environmental Toxicology: An International Journal*, 17(1), 32-39.
100. Pagni, R. L., Falco, P. B., André, C. A. S. (2020). Autecology of *Cylindrospermopsis raciborskii* (Woloszynska) Seenayya et Subba Raju. *Acta Limnologica Brasiliensia*, 32.
101. Papadimitriou, T., Katsiapi, M., Vlachopoulos, K., Christopoulos, A., Laspidou, C., Moustaka-Gouni, M., & Kormas, K. J. E. p. (2018). Cyanotoxins as the “common suspects” for the Dalmatian pelican (*Pelecanus crispus*) deaths in a Mediterranean reconstructed reservoir. *Environmental pollution*, 234, 779-787.
102. Pham, T. L., Dao, T. S., Tran, N. D., Jorge, N., Claudia, W., & Utsumi, M. (2017). Influence of environmental factors on cyanobacterial biomass and microcystin concentration in the Dau Tieng reservoir, a tropical eutrophic water body in Vietnam. *International Journal of Limnology*, 53, 89–100.
103. Pichardo, S., Came_A. M., & Jos A. (2017). In vitro toxicological assessment of cylindrospermopsin: a review. *Toxins*, 9, 402e443.
104. Pomati, F., Kellmann, R., Cavalieri, R., Burns, B. P., & Neilan, B. A. (2006). Comparative gene expression of PSP-toxin producing and non-toxic *Anabaena circinalis* strains. *Environment international*, 32(6), 743-748.
105. Poniedziałek, B., Rzymski, P., Karczewski, J. (2014b). Cylindrospermopsin decreases the oxidative burst capacity of human neutrophils. *Toxicon*, 87, 113e119.
106. Poniedziałek, B., Rzymski, P., & Wiktorowicz, K. (2014). Toxicity of cylindrospermopsin in human lymphocytes: Proliferation, viability and cell cycle studies. *Toxicology in vitro*, 28(5), 968-974.
107. Prentice, M. J., Hamilton, D. P., Willis, A., O'Brien, K. R., & Burford, M. A. (2019). Quantifying the role of organic phosphorus mineralisation on phytoplankton communities in a warm-monomictic lake. *Inland Waters*, 9(1), 10-24.

108. Recknagel, F., Zohary, T., Rücker, J., Orr, P. T., Castelo, C., Nixdorf, B., & Max, M. M. (2019). Causal relationships of *Raphidiopsis* (formerly *Cylindrospermopsis*) dynamics with water temperature and N:P-ratios: A meta-analysis across lakes with different climates based on inferential modelling. *Harmful Algae*, 84, 222–232.
109. Rzymiski, P., Horyn, O., Budzyńska, A., Jurczak, T., Kokociński, M., Niedzielski, P., Klimaszyk, P., & Falfushynska, H. (2018). A report of *Cylindrospermopsis raciborskii* and other cyanobacteria in the water reservoirs of power plants in Ukraine. *Environmental Science and Pollution Research*., 25, 15245-15252.
110. Schembri, M.A, Neilan, B.A, Saint, C.P. (2001). Identification of genes in toxin production in the cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii*. *Environmental Toxicology*, 16(5), 413-421.
111. Scarlett, K. R., Kim, S., Lovin, L. M., Chatterjee, S., Scott, J. T., & Brooks, B. W. (2020). Global scanning of cylindrospermopsin: Critical review and analysis of aquatic occurrence, bioaccumulation, toxicity and health hazards. *Science of The Total Environment*, 738, 139807.
112. Senanayake, P.A.A.P.K., & Yatigammana, S.K. (2017). Quantitative observations of cyanobacteria and Dinoflagellata in reservoirs of Sri Lanka. *Ceylon Journal of Science*, 46(4), 55-68.
113. Soares, M. C. S., Rocha, M. I. D. A., Marinho, M. M., Azevedo, S. M., Branco, C. W., & Huszar, V. L. (2009). Changes in species composition during annual cyanobacterial dominance in a tropical reservoir: physical factors, nutrients and grazing effects. *Aquatic Microbial Ecology*, 57(2), 137-149.
114. Soares, M. C. S., Lüring, M., & Huszar, V. L. (2010). Responses of the rotifer *Brachionus calyciflorus* to two tropical toxic cyanobacteria (*Cylindrospermopsis raciborskii* and *Microcystis aeruginosa*) in pure and mixed diets with green algae. *Journal of Plankton Research*, 32(7), 999-1008.
115. Soares, M. C. S., Lüring, M., & Huszar, V. L. M. (2013). Growth and temperature-related phenotypic plasticity in the cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii*. *Phycological Research*, 61, 61-67.

116. Sun, J., & Liu, D. (2003). Geometric models for calculating cell biovolume and surface area for phytoplankton. *Journal of plankton research*, 25(11), 1331-1346.
117. Svirčev, Z., Lalić, D., Savić, G.B., Tokodi, N., Backović, D.D., Chen, L., Meriluoto, J., Codd, G.A. (2019). Global geographical and historical overview of cyanotoxin distribution and cyanobacterial poisonings. *Archives of Toxicology*, 93, 2429–2481.
118. Stefanova, K., Radkova, M., Uzunov, B., Gärtner, G., & Stoyneva-Gärtner, M. (2020). Pilot search for cylindrospermopsin-producers in nine shallow Bulgarian waterbodies reveals nontoxic strains of *Raphidiopsis raciborskii*, *R. mediterranea* and *Chrysosporum bergii*. *Biotechnology & biotechnological equipment*, 34(1), 384-394.
119. Straser, A., Filipic, M., Gorenc, I., Zegura, B. (2013a). The influence of cylindro-spermopsin on oxidative DNA damage and apoptosis induction in HepG2 cells. *Chemosphere*, 92(1), 24–30.
120. Štraser, A., Filipič, M., Novak, M., & Žegura, B. (2013b). Double strand breaks and cell-cycle arrest induced by the cyanobacterial toxin cylindrospermopsin in HepG2 cells. *Marine drugs*, 11(8), 3077-3090.
121. Stüken, A., Campbell, R. J., Quesada, A., Sukenik, A., Dadheech, P. K., & Wiedner, C. (2009). Genetic and morphologic characterization of four putative cylindrospermopsin producing species of the cyanobacterial genera *Anabaena* and *Aphanizomenon*. *Journal of plankton research*, 31(5), 465-480.
122. Takser, L., Benachour, N., Husk, B., Cabana, H., & Gris, D. (2016). Cyanotoxins at low doses induce apoptosis and inflammatory effects in murine brain cells: Potential implications for neurodegenerative diseases. *Toxicology reports*, 3, 180-189.
123. Tawong, W., Pongcharoen, P., Nishimura, T., & Adachi, M. (2019). Molecular characterizations of Thai *Raphidiopsis raciborskii* (Nostocales, Cyanobacteria) based on 16S rDNA, *rbcLX*, and cylindrospermopsin synthetase genes. *Plankton Benthos Res*, 14, 211–223.

124. Walter, J. M., Lopes, F. A., Lopes-Ferreira, M., Vidal, L. M., Leomil, L., Melo, F., ... & Thompson, F. L. (2018). Occurrence of harmful cyanobacteria in drinking water from a severely drought-impacted semi-arid region. *Frontiers in Microbiology*, 176.
125. Wang, L., Chena, G., Xiao, G., Han, L., Wang, Q., & Hu, T. (2020a). Cyldrospermopsin induces abnormal vascular development through impairing cytoskeleton and promoting vascular endothelial cell apoptosis by the Rho/ROCK signaling pathway. *Environmental Research*, 183, 109236.
126. Wang, L., Wang, Q., Xiao, G., Chen, G., Han, L., & Hu, T. (2020b). Adverse effect of cyldrospermopsin on embryonic development in zebrafish (*Danio rerio*). *Chemosphere*, 241, 125060.
127. Watanabe, M. F., Oishi, S., Harada, K. I., Matsuura, K., Kawai, H., & Suzuki, M. (1988). Toxins contained in *Microcystis* species of cyanobacteria (blue-green algae). *Toxicon*, 26(11), 1017-1025.
128. Weithoff, G., Taube, A., & Bolius, S. (2017). The invasion success of the cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii* in experimental mesocosms: genetic identity, grazing loss, competition and biotic resistance. *Aquatic invasions*, 12(3).
129. Werner, V. R., Andréa, T., Lisangela, M. S., João, S. Y., Emanuel, B. N., David, E. B., & Dail H.L. (2020). Morphological, ecological and toxicological aspects of *Raphidiopsis raciborskii* (Cyanobacteria) in a eutrophic urban subtropical lake in southern Brazil. *Iheringia Serie Botanica*, 75, 2446-8231.
130. Willis, A., Chuang, A.W., Woodhouse, J.N., Neilan, B., Burford, M.A. (2016). Intraspecific variation in growth, morphology and toxin quotas for the cyanobacterium, *Cylindrospermopsis raciborskii*. *Toxicon*, 119, 307–310.
131. Willis, A., Posselt, A. J., & Burford, M. A. (2017). Variations in carbon-to-phosphorus ratios of two Australian strains of *Cylindrospermopsis raciborskii*. *European Journal of Phycology*, 52, 303- 310.
132. Willis, A., Woodhouse, J. N., Ongley, S. E., Jex, A. R., Burford, M. A., & Neilan, B. A. (2018). Genome variation in nine cooccurring toxic *Cylindrospermopsis raciborskii* strains. *Harmful Algae*, 73, 157–166.

133. Willis, A., Chuang, A. W., Dyhrman, S., & Burford, M. A. (2019). Differential expression of phosphorus acquisition genes in response to phosphorus stress in two *Raphidiopsis raciborskii* strains. *Harmful Algae*, 82, 19-25.
134. Wood, S. A., Hamilton, D. P., Paul, W. J., Safi, K. A., & Williamson, W. M. (2009). New Zealand Guidelines for cyanobacteria in recreational fresh waters: interim guidelines.
135. Wood, S. A., Pochon, X., Luttringer-Plu, Vant L., & Hamilton, D. P. (2014). Recent invader or indicator of environmental change? A phylogenetic and ecological study of *Cylindrospermopsis raciborskii* in New Zealand. *Harmful Algae*, 39, 64–74.
136. Via-Ordorika, L., Fastner, J., Kurmayer, R., Hisbergues, M., Dittmann, E., Komarek, J., ... & Chorus, I. (2004). Distribution of microcystin-producing and non-microcystin-producing *Microcystis* sp. in European freshwater bodies: detection of microcystins and microcystin genes in individual colonies. - *Systematic and Applied Microbiology*, 27(5), 592-602.
137. Xiao, M., Willis, A., & Burford, M. A. (2017). Differences in cyanobacterial strain responses to light and temperature reflect species plasticity. *Harmful Algae*, 62, 84–93.
138. Xiao, M., Hamilton, D. P., Chuang, A., & Burford, M. A. (2020). Intrapopulation strain variation in phosphorus storage strategies of the freshwater cyanobacterium *Raphidiopsis raciborskii*. *FEMS Microbiology Ecology*, 96(6), fiae092.
139. Yamamoto, Y., Shiah, F. J., & Chieh Hsu, S. (2012). Seasonal variation in the net growth rate of the cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii* in a shallow artificial pond in northern Taiwan. *Plankton and Benthos Research*, 8, 68–73.
140. Yamamoto, Y., & Shiah, F. K. (2016). Appearance of *Cylindrospermopsis raciborskii* in winter in an artificial pond in northern Taiwan. In *Annales de Limnologie-International Journal of Limnology*, 52, 335-341.
141. Yang, Y., Yu, G., Chen, Y., Jia, N., & Li, R. (2021). Four decades of progress in cylindrospermopsin research: The ins and outs of a potent cyanotoxin. *Journal of hazardous materials*, 406, 124653.

142. Yema, L., Litchman, E., & de Tezanos Pinto, P. (2016). The role of heterocytes in the physiology and ecology of bloom-forming harmful cyanobacteria. *Harmful Algae*, 60, 131-138.
143. Yilmaz, M., & Philips, E. J. (2011). Toxicity and genetic diversity of *Cylindrospermopsis raciborskii* in Florida, USA. *Lake and Reservoir Management*, 27(3), 235-244.

DANH MỤC PHỤ LỤC

Phụ lục 1: Hình ảnh hai hồ nghiên cứu và các mẫu nuôi cấy VKL trong phòng thí nghiệm.

Phụ lục 2: Kết quả phân tích độc tố CYN bằng ELISA và HPLC.

Phụ lục 3: Số liệu phân tích các yếu tố thủy lý, thủy hóa trong môi trường nước hồ Ea Nhái và nước hồ Buôn Phong.

Phụ lục 4: Hình học và công thức tính thể tích các hình dạng VKL phổ biến.

Phụ lục 5: Thể tích sinh học VKL ở hồ Ea Nhái và hồ Buôn Phong.

**Phụ lục 1: Hình ảnh hai hồ nghiên cứu và các mẫu nuôi cấy VKL
trong phòng thí nghiệm**



Hồ Buôn Phong



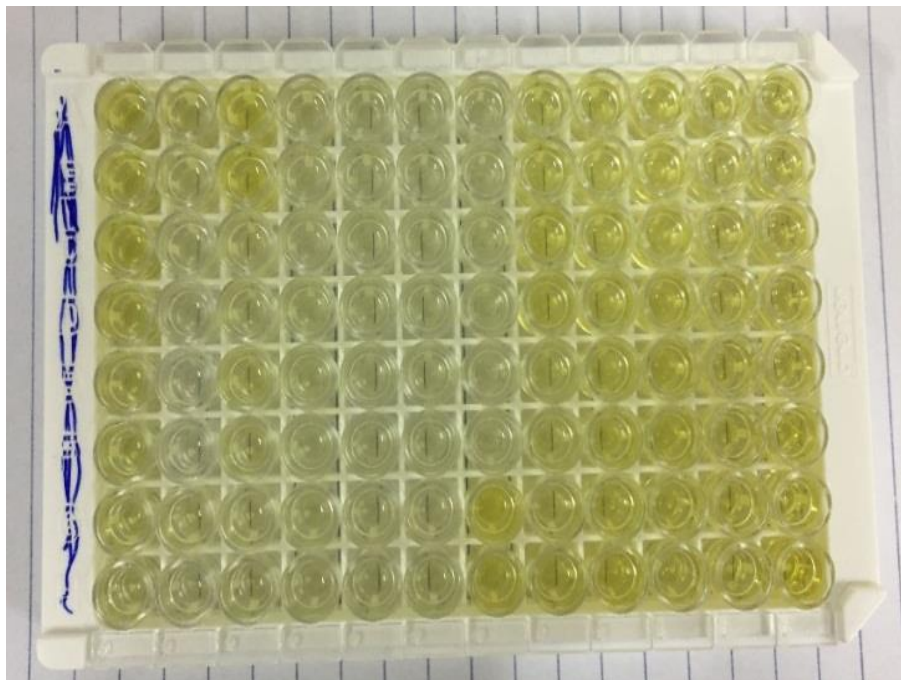
Hồ Ea Nhai



Hình ảnh nuôi cấy các chủng VKL

Phụ lục 2: Kết quả phân tích độc tố CYN bằng ELISA và HPLC trong tự nhiên và trong các chủng nuôi cấy

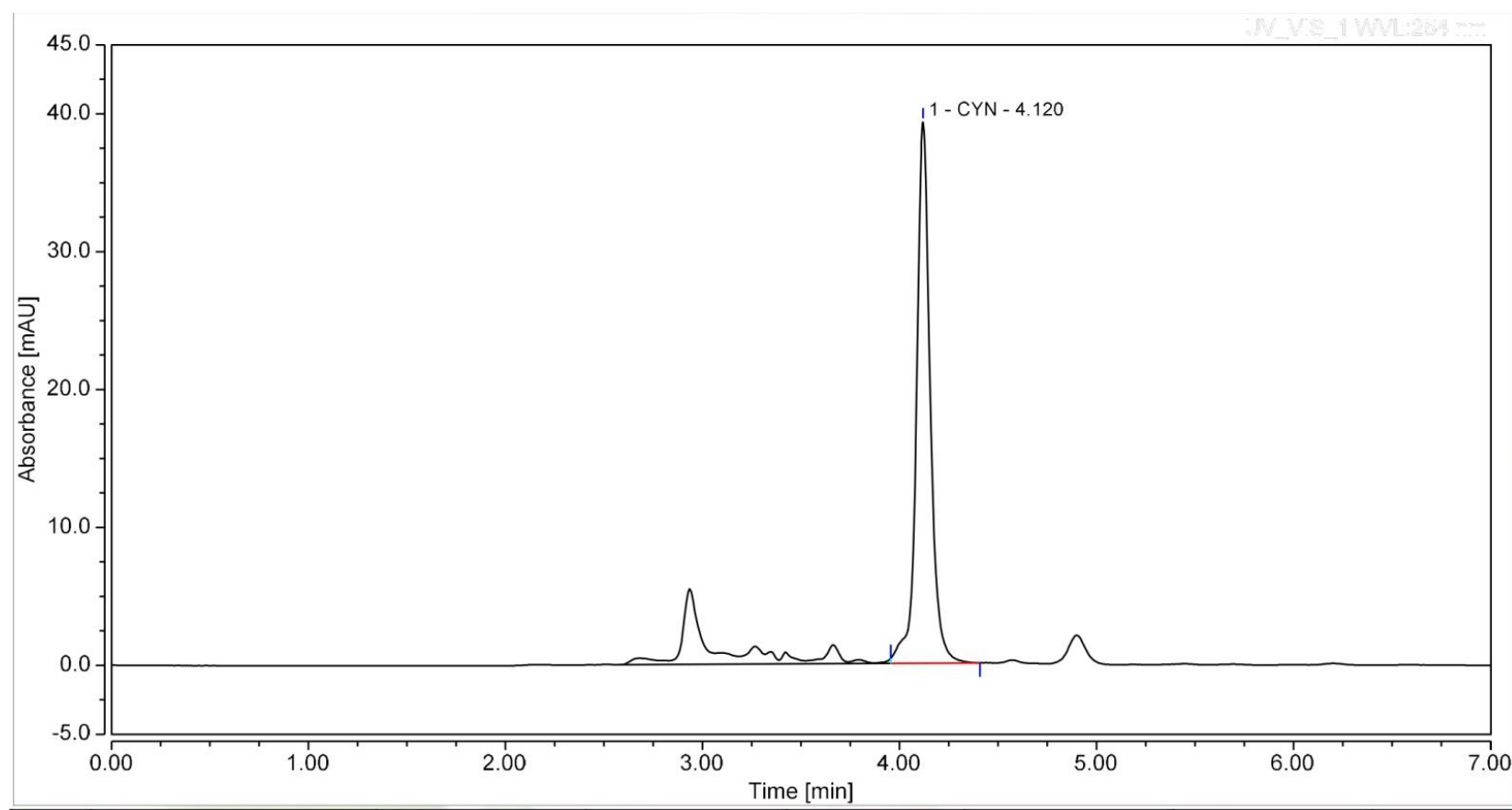
Phụ lục 2.1. Kết quả phân tích độc tố CYN bằng ELISA trong mẫu nước hồ Ea Nhái và hồ Buôn Phong



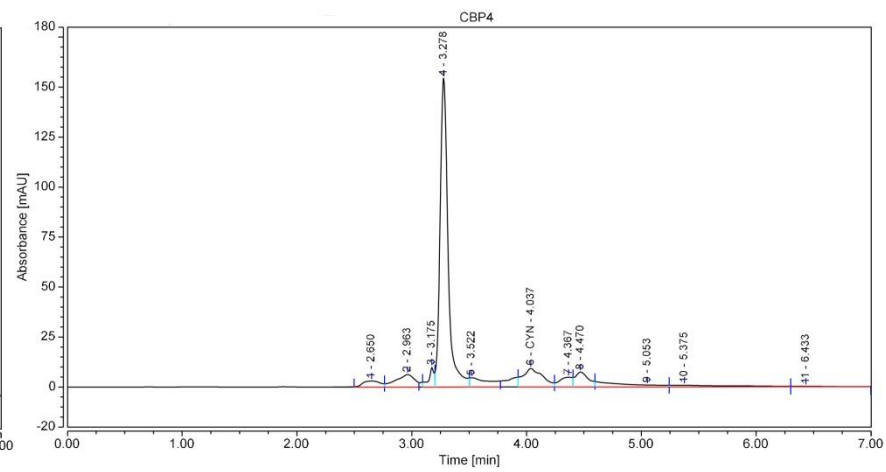
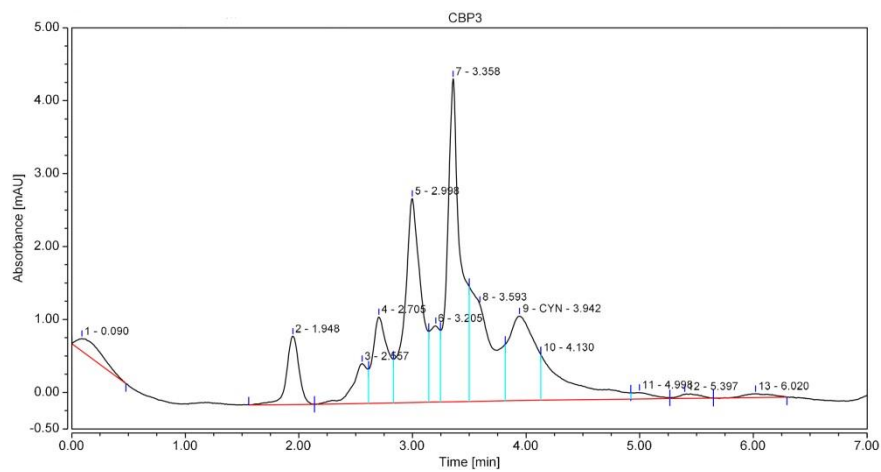
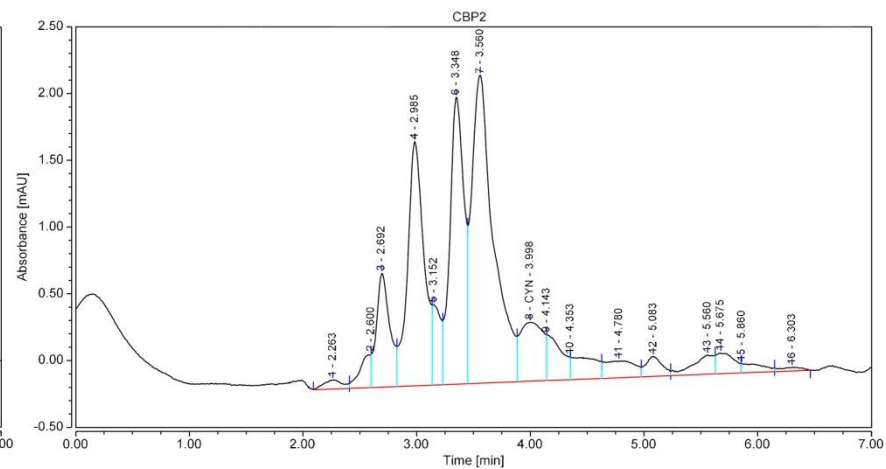
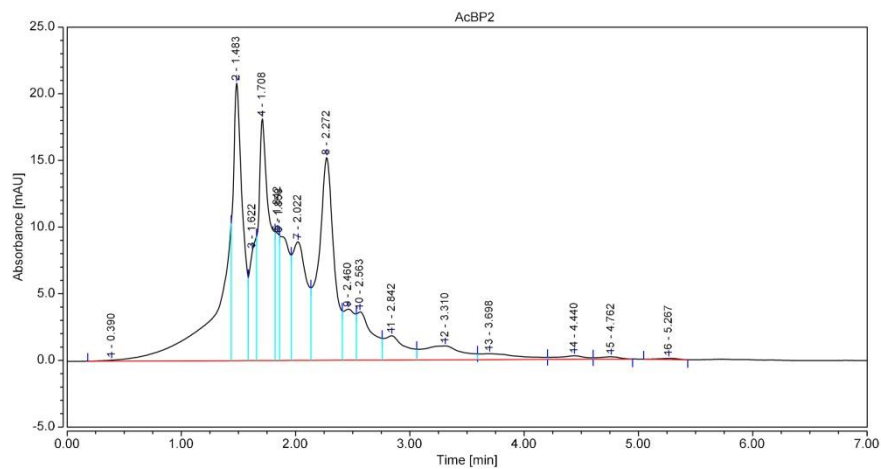
λ1: 450

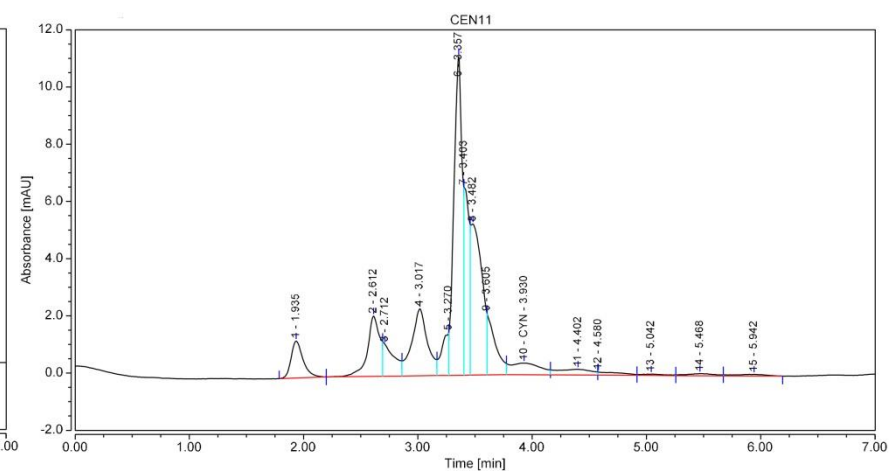
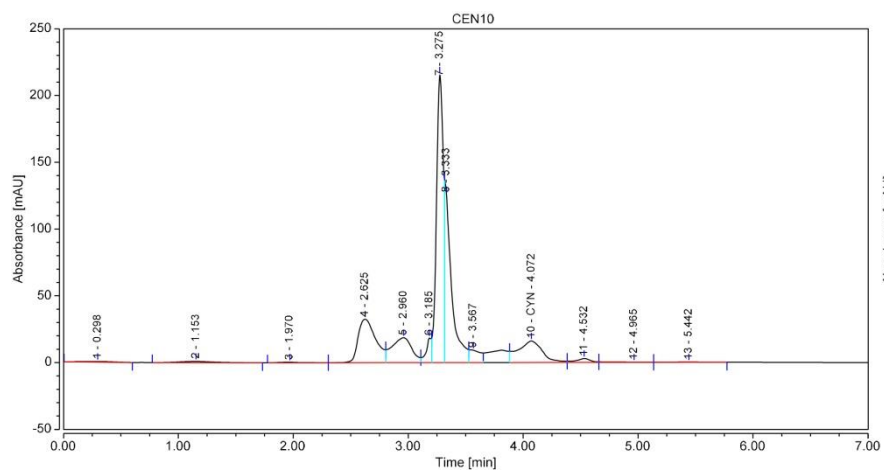
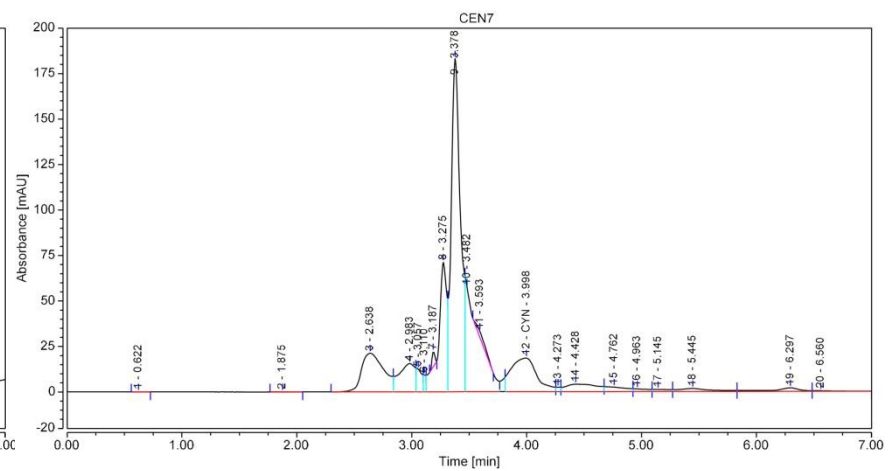
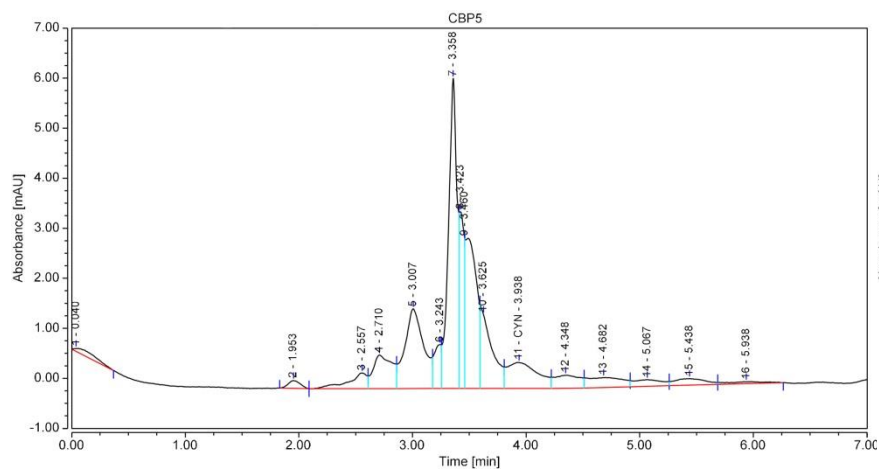
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	0.854	0.518	0.932	0.421	0.392	0.361	0.376	0.646	0.733	0.777	0.724	0.743
B	0.856	0.435	0.936	0.371	0.364	0.352	0.342	0.758	0.705	0.772	0.659	0.745
C	0.927	0.321	0.443	0.366	0.376	0.354	0.358	0.814	0.737	0.745	0.675	0.801
D	0.798	0.278	0.427	0.402	0.375	0.357	0.349	0.796	0.737	0.795	0.656	0.833
E	0.672	0.186	0.600	0.402	0.350	0.345	0.336	0.595	0.762	0.778	0.701	0.823
F	0.685	0.220	0.500	0.369	0.342	0.328	0.332	0.600	0.785	0.832	0.710	0.999
G	0.618	0.455	0.401	0.412	0.349	0.304	1.073	0.594	0.773	0.745	0.775	0.900
H	0.552	0.343	0.417	0.425	0.394	0.420	0.924	0.855	0.981	0.779	0.798	1.460

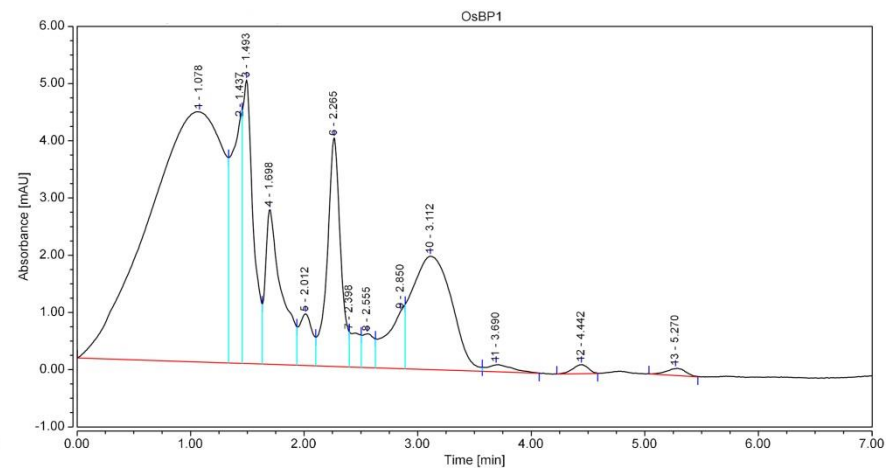
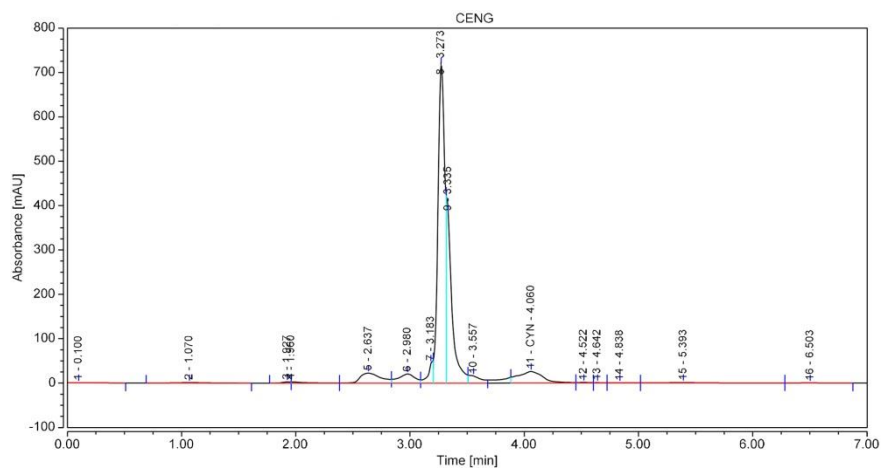
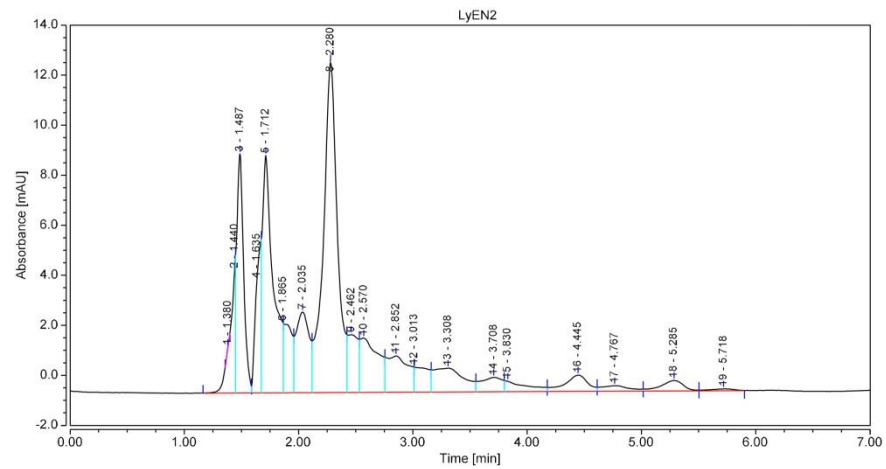
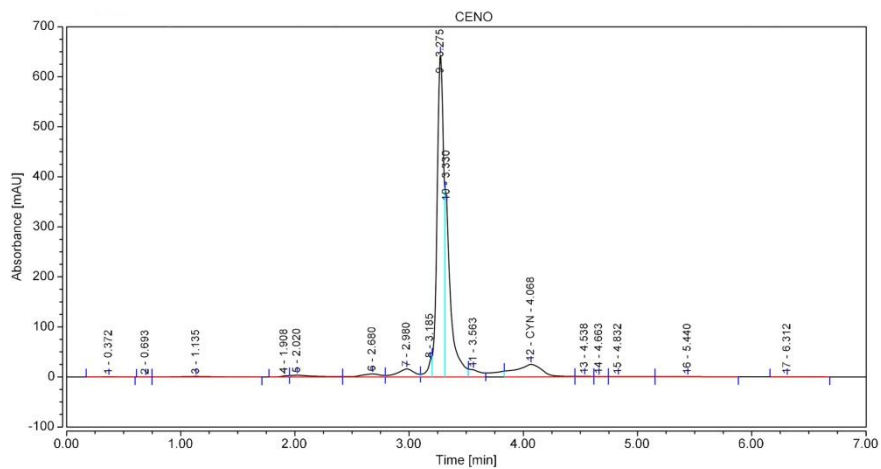
Phụ lục 2.2. Kết quả phân tích độc tố CYN bằng HPLC trong các chủng nuôi cấy

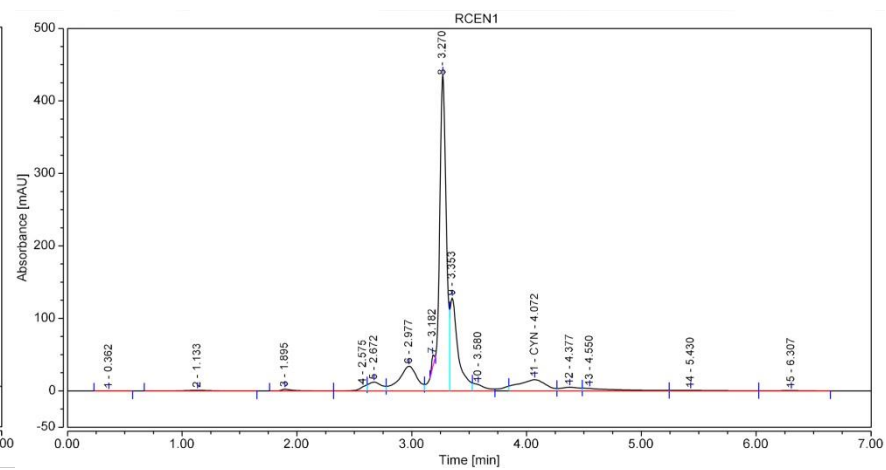
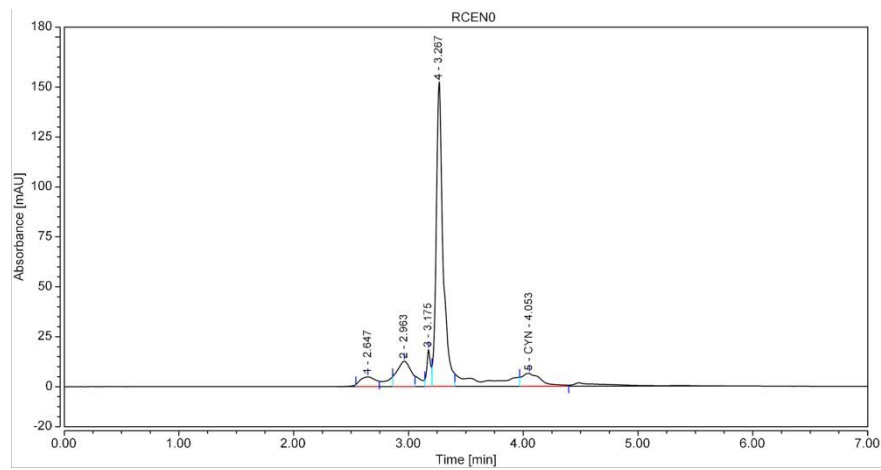
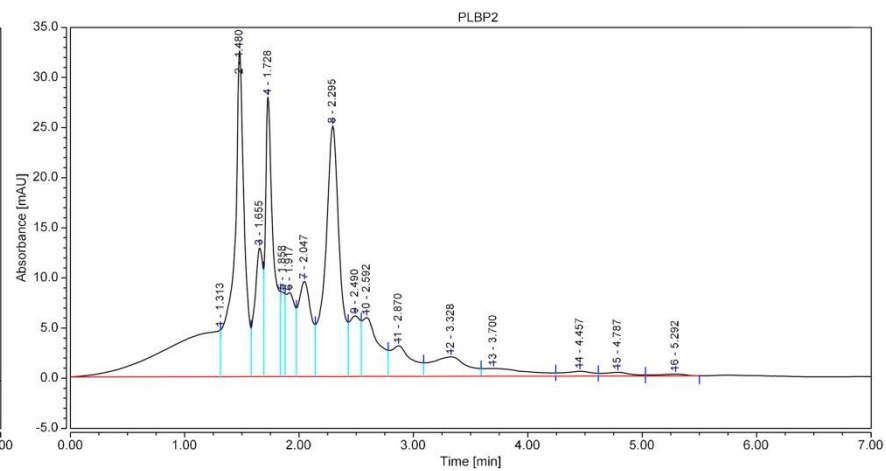
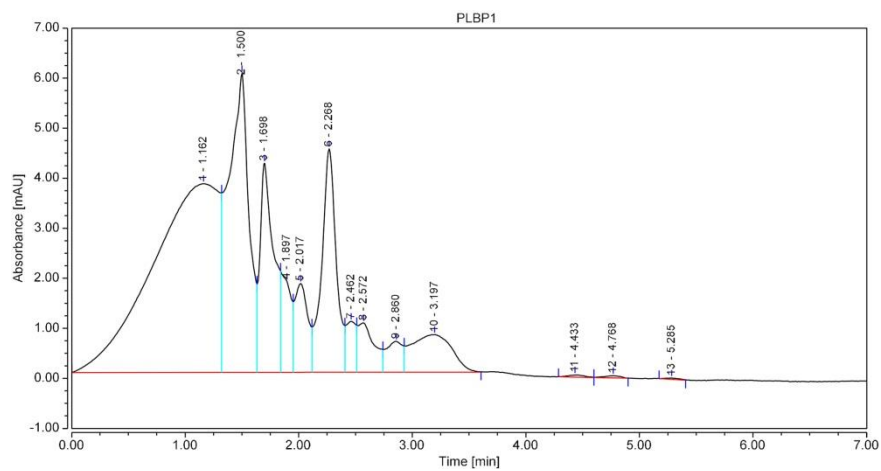


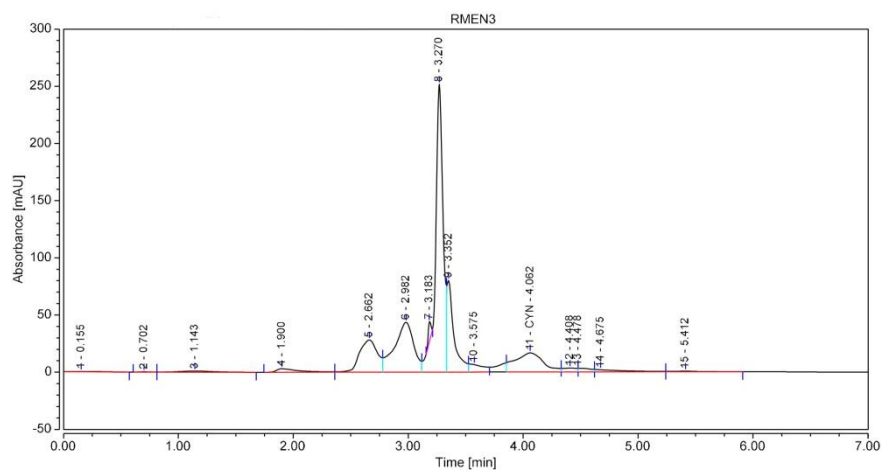
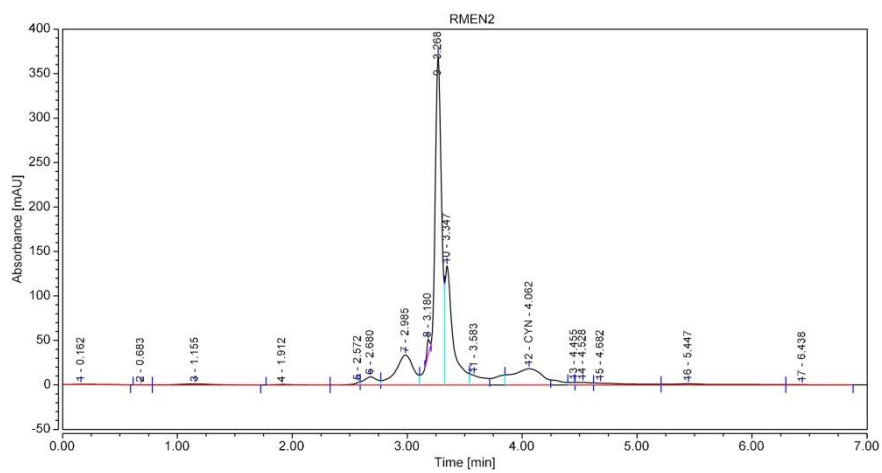
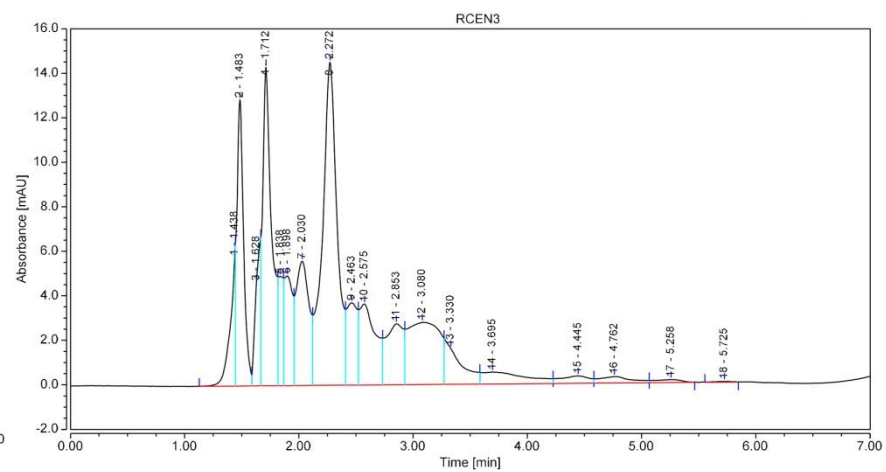
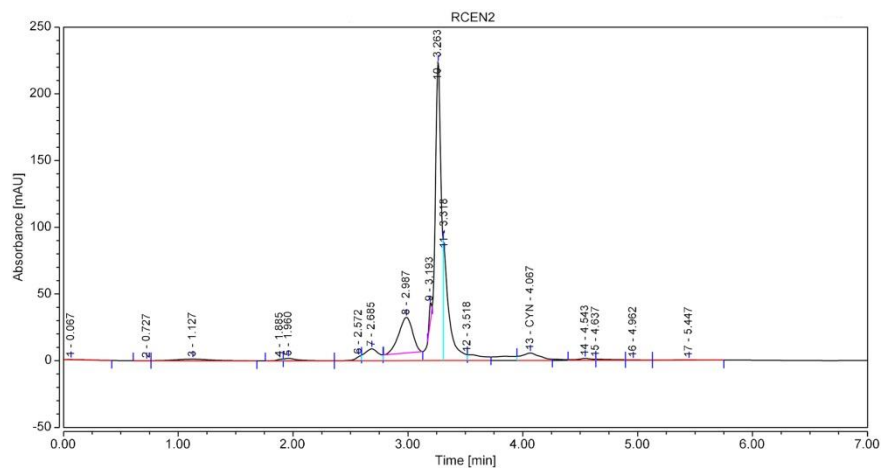
Sắc kí đồ của chất chuẩn cylindrospermopsin













VIỆN CÔNG NGHỆ SINH HỌC VÀ MÔI TRƯỜNG

Institute of Biotechnology & Environment (IBE)

Địa chỉ: 567 Lê Duẩn, Tp. Buôn Ma Thuột, Đắk Lắk

Điện thoại: 02623.785.785 Fax: 02623.785785



Buôn Ma Thuột, ngày 21 tháng 05 năm 2019

PHIẾU TRẢ KẾT QUẢ PHÂN TÍCH

1. **Người gửi mẫu:** Ngô Thị Diễm My (0364 860 704)
2. **Địa chỉ:** 23/40 Mai Thị Lựu – P. Eatam – Tp.BMT – Đắk Lắk
3. **Tên mẫu:** Nước hồ Ea Nhái
4. **Số lượng mẫu:** 03
5. **Ngày gửi mẫu:** 16/05/2019
6. **Ngày trả kết quả:** 21/05/2019

Tên mẫu	Chỉ tiêu phân tích	Phương pháp phân tích
Ea Nhái 1 Ea Nhái 2 Ea Nhái 3	Amoni (NH_4^+)	TCVN 5988-1995
	Nitrat (NO_3^-)	TCVN 6180-1996
	Nitơ tổng số	TCVN 6638 : 2000
	Phosphat (PO_4^{3-} tính theo P)	TCVN 6202 : 2008
	Phospho tổng số	TCVN 6202 : 2008

Kết quả phân tích	Tên mẫu		
	Mẫu 1	Mẫu 2	Mẫu 3
NH_4^+ (mg/l)	0,16	0,15	0,14
NO_3^- (mg/l)	0,27	0,27	0,32
Nitơ tổng số (mg/l)	1,87	1,86	1,85
PO_4^{3-} (mg/l)	0,066	0,069	0,075
Phospho tổng số(mg/l)	0,15	0,20	0,17

Phòng Phân tích trung tâm

TS. Trần Minh Định



Viện CNSH và Môi Trường

PGS. TS. Nguyễn Anh Dũng

- Kết quả có giá trị với mẫu gửi tại thời điểm phân tích do khách hàng cung cấp.
- Mẫu được lưu trữ 15 ngày kể từ ngày trả kết quả phân tích.



Buôn Ma Thuột, ngày 21 tháng 05 năm 2019

PHIẾU TRẢ KẾT QUẢ PHÂN TÍCH

1. Người gửi mẫu: Ngô Thị Diễm My (0364 860 704)
2. Địa chỉ: 23/40 Mai Thị Lựu – P. Eatam – Tp.BMT – Đắk Lắk
3. Tên mẫu: Nước hồ Buôn Phong
4. Số lượng mẫu: 03
5. Ngày gửi mẫu: 16/05/2019
6. Ngày trả kết quả: 21/05/2019

Tên mẫu	Chỉ tiêu phân tích	Phương pháp phân tích
Buôn Phong 1 Buôn Phong 2 Buôn Phong 3	Amoni (NH_4^+)	TCVN 5988-1995
	Nitrat (NO_3^-)	TCVN 6180-1996
	Nitơ tổng số	TCVN 6638 : 2000
	Phosphat (PO_4^{3-} tính theo P)	TCVN 6202 : 2008
	Phospho tổng số	TCVN 6202 : 2008

Kết quả phân tích	Tên mẫu		
	Buôn Phong 1	Buôn Phong 2	Buôn Phong 3
NH_4^+ (mg/l)	0,182	0,189	0,193
NO_3^- (mg/l)	0,088	0,089	0,091
Nitơ tổng số (mg/l)	1,980	2,000	2,030
PO_4^{3-} (mg/l)	0,065	0,064	0,068
Phospho tổng số(mg/l)	0,174	0,185	0,189

Phòng Phân tích trung tâm

Chuyên
GS. Nguyễn Chí Huyền

Viện CNSH và Môi Trường
CÔNG NGHỆ SINH HỌC VÀ MÔI TRƯỜNG
GS.TS. Nguyễn Anh Dũng

- Kết quả có giá trị với mẫu gửi tại thời điểm phân tích do khách hàng cung cấp.
- Mẫu được lưu trữ 15 ngày kể từ ngày trả kết quả phân tích.



Buôn Ma Thuột, ngày 21 tháng 06 năm 2019

PHIẾU TRẢ KẾT QUẢ PHÂN TÍCH

1. **Người gửi mẫu:** Ngô Thị Diễm My (0364 860 704)
2. **Địa chỉ:** 23/40 Mai Thị Lựu – P. Eatam – Tp.BMT – Đắk Lắk
3. **Tên mẫu:** Nước hồ Ea Nhái, nước hồ Buôn Phong
4. **Số lượng mẫu:** 06
5. **Ngày gửi mẫu:** 15/06/2019
6. **Ngày trả kết quả:** 21/06/2019

Tên mẫu	Chỉ tiêu phân tích	Phương pháp phân tích
Ea Nhái 1	Amoni (NH_4^+)	TCVN 5988-1995
Ea Nhái 2	Nitrat (NO_3^-)	TCVN 6180-1996
Ea Nhái 3	Nitơ tổng số	TCVN 6638 : 2000
Buôn Phong 1	Phosphat (PO_4^{3-} tính theo P)	TCVN 6202 : 2008
Buôn Phong 2	Phospho tổng số	TCVN 6202 : 2008
Buôn Phong 3		

Tên mẫu	Kết quả phân tích				
	NH_4^+ (mg/l)	NO_3^- (mg/l)	Nitơ tổng số (mg/l)	PO_4^{3-} (mg/l)	Phospho tổng số (mg/l)
Ea Nhái 1	0,11	0,20	1,85	0,063	0,176
Ea Nhái 2	0,11	0,20	1,68	0,065	0,185
Ea Nhái 3	0,11	0,21	1,74	0,065	0,186
Buôn Phong 1	0,11	0,26	1,56	0,050	0,175
Buôn Phong 2	0,11	0,22	1,40	0,045	0,163
Buôn Phong 3	0,12	0,25	1,46	0,053	0,182

Phòng Phân tích trung tâm

KTV. Đỗ Thị Tú Oanh

**Viện Công nghệ Sinh học và Môi trường****PGS-TS. Nguyễn Quang Vinh**

- Kết quả có giá trị với mẫu gửi tại thời điểm phân tích do khách hàng cung cấp.
- Mẫu được lưu trữ 15 ngày kể từ ngày trả kết quả phân tích.



Buôn Ma Thuột, ngày 22 tháng 07 năm 2019

PHIẾU TRẢ KẾT QUẢ PHÂN TÍCH

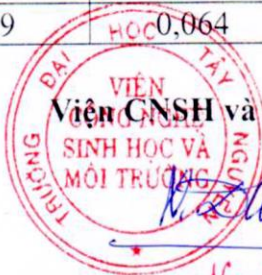
1. Người gửi mẫu: Ngô Thị Diễm My (0364 860 704)
2. Địa chỉ: 23/40 Mai Thị Lựu – P. Eatam – Tp.BMT – Đắk Lắk
3. Tên mẫu: Nước hồ Ea Nhái, nước hồ Buôn Phong
4. Số lượng mẫu: 06
5. Ngày gửi mẫu: 15/07/2019
6. Ngày trả kết quả: 22/07/2019

Tên mẫu	Chỉ tiêu phân tích	Phương pháp phân tích
Ea Nhái 1	Amoni (NH_4^+)	TCVN 5988-1995
Ea Nhái 2	Nitrat (NO_3^-)	TCVN 6180-1996
Ea Nhái 3	Nitơ tổng số	TCVN 6638 : 2000
Buôn Phong 1	Phosphat (PO_4^{3-} tính theo P)	TCVN 6202 : 2008
Buôn Phong 2	Phospho tổng số	TCVN 6202 : 2008
Buôn Phong 3		

Tên mẫu	Kết quả phân tích				
	NH_4^+ (mg/l)	NO_3^- (mg/l)	Nitơ tổng số (mg/l)	PO_4^{3-} (mg/l)	Phospho tổng số (mg/l)
Ea Nhái 1	0,140	0,196	1,28	0,059	0,154
Ea Nhái 2	0,126	0,198	1,31	0,059	0,171
Ea Nhái 3	0,182	0,252	1,54	0,064	0,161
Buôn Phong 1	0,112	0,141	1,40	0,065	0,132
Buôn Phong 2	0,084	0,145	1,52	0,056	0,124
Buôn Phong 3	0,098	0,154	1,29	0,064	0,137

Phòng Phân tích trung tâm


KTV. Đỗ Thị Tú Oanh


PGS. TS. Nguyễn Anh Dũng

Kết quả có giá trị với mẫu gửi tại thời điểm phân tích do khách hàng cung cấp.
Mẫu được lưu trữ 15 ngày kể từ ngày trả kết quả phân tích.



VIỆN CÔNG NGHỆ SINH HỌC VÀ MÔI TRƯỜNG

Institute of Biotechnology & Environment (IBE)

Địa chỉ: 567 Lê Duẩn, Tp. Buôn Ma Thuật, Đắk Lắk

Điện thoại: 02623.785.785 Fax: 02623.785785



Buôn Ma Thuật, ngày 22 tháng 08 năm 2019

PHIẾU TRẢ KẾT QUẢ PHÂN TÍCH

1. **Người gửi mẫu:** Ngô Thị Diễm My (0364 860 704)
2. **Địa chỉ:** 23/40 Mai Thị Lựu – P. Eatam – Tp.BMT – Đắk Lắk
3. **Tên mẫu:** Nước hồ Ea Nhái, nước hồ Buôn Phong
4. **Số lượng mẫu:** 06
5. **Ngày gửi mẫu:** 15/08/2019
6. **Ngày trả kết quả:** 22/08/2019

Tên mẫu	Chỉ tiêu phân tích	Phương pháp phân tích
Ea Nhái 1	Amoni (NH_4^+)	TCVN 5988-1995
Ea Nhái 2	Nitrat (NO_3^-)	TCVN 6180-1996
Ea Nhái 3	Nitơ tổng số	TCVN 6638 : 2000
Buôn Phong 1	Phosphat (PO_4^{3-} tính theo P)	TCVN 6202 : 2008
Buôn Phong 2	Phospho tổng số	TCVN 6202 : 2008
Buôn Phong 3		

Tên mẫu	Kết quả phân tích				
	NH_4^+ (mg/l)	NO_3^- (mg/l)	Nitơ tổng số (mg/l)	PO_4^{3-} (mg/l)	Phospho tổng số (mg/l)
Ea Nhái 1	0,235	0,280	2,76	0,099	0,408
Ea Nhái 2	0,196	0,219	2,34	0,094	0,407
Ea Nhái 3	0,207	0,235	2,54	0,094	0,395
Buôn Phong 1	0,140	0,294	1,17	0,057	0,311
Buôn Phong 2	0,140	0,238	1,17	0,060	0,300
Buôn Phong 3	0,126	0,275	1,19	0,056	0,327

Phòng Phân tích trung tâm

Thuyên
ThS. Nguyễn Thị Huyền

VIỆN CÔNG NGHỆ SINH HỌC VÀ MÔI TRƯỜNG
PGS. TS. Nguyễn Anh Dũng

- Kết quả có giá trị với mẫu gửi tại thời điểm phân tích do khách hàng cung cấp.
- Mẫu được lưu trữ 15 ngày kể từ ngày trả kết quả phân tích.



VIỆN CÔNG NGHỆ SINH HỌC VÀ MÔI TRƯỜNG

Institute of Biotechnology & Environment (IBE)

Địa chỉ: 567 Lê Duẩn, Tp. Buôn Ma Thuột, Đắk Lắk

Điện thoại: 02623.785.785

Fax: 02623.785785



Buôn Ma Thuột, ngày 25 tháng 09 năm 2019

PHIẾU TRẢ KẾT QUẢ PHÂN TÍCH

1. **Người gửi mẫu:** Ngô Thị Diễm My (0364 860 704)
2. **Địa chỉ:** 23/40 Mai Thị Lựu – P. Eatam – Tp.BMT – Đắk Lắk
3. **Tên mẫu:** Nước hồ Ea Nhái, nước hồ Buôn Phong
4. **Số lượng mẫu:** 06
5. **Ngày gửi mẫu:** 18/09/2019
6. **Ngày trả kết quả:** 25/09/2019

Tên mẫu	Chỉ tiêu phân tích	Phương pháp phân tích
Ea Nhái 1	Amoni (NH_4^+)	TCVN 5988-1995
Ea Nhái 2	Nitrat (NO_3^-)	TCVN 6180-1996
Ea Nhái 3	Nitơ tổng số	TCVN 6638 : 2000
Buôn Phong 1	Phosphat (PO_4^{3-} tính theo P)	TCVN 6202 : 2008
Buôn Phong 2	Phospho tổng số	TCVN 6202 : 2008
Buôn Phong 3		

Tên mẫu	Kết quả phân tích				
	NH_4^+ (mg/l)	NO_3^- (mg/l)	Nitơ tổng số (mg/l)	PO_4^{3-} (mg/l)	Phospho tổng số (mg/l)
Ea Nhái 1	0,154	0,196	1,61	0,092	0,218
Ea Nhái 2	0,160	0,198	1,65	0,097	0,222
Ea Nhái 3	0,168	0,203	1,68	0,102	0,226
Buôn Phong 1	0,140	0,210	1,33	0,079	0,131
Buôn Phong 2	0,137	0,207	1,32	0,078	0,128
Buôn Phong 3	0,146	0,216	1,33	0,079	0,132

Phòng Phân tích trung tâm

Chuyen

ThS. Nguyễn Thị Huyền



Viện CNSH và Môi Trường

Ph.D. TS. Nguyễn Anh Dũng

- Kết quả có giá trị với mẫu gửi tại thời điểm phân tích do khách hàng cung cấp.
- Mẫu được lưu trữ 15 ngày kể từ ngày trả kết quả phân tích.

**VIỆN CÔNG NGHỆ SINH HỌC VÀ MÔI TRƯỜNG****Institute of Biotechnology & Environment (IBE)**

Địa chỉ: 567 Lê Duẩn, Tp. Buôn Ma Thuột, Đắk Lắk

Điện thoại: 02623.785.785

Fax: 02623.785785



Buôn Ma Thuột, ngày 17 tháng 10 năm 2019

PHIẾU TRẢ KẾT QUẢ PHÂN TÍCH

1. **Người gửi mẫu:** Ngô Thị Diễm My (0364 860 704)
2. **Địa chỉ:** 23/40 Mai Thị Lựu – P. Eatam – Tp.BMT – Đắk Lắk
3. **Tên mẫu:** Nước hồ Ea Nhái, nước hồ Buôn Phong
4. **Số lượng mẫu:** 06
5. **Ngày gửi mẫu:** 10/10/2019
6. **Ngày trả kết quả:** 17/10/2019

Tên mẫu	Chỉ tiêu phân tích	Phương pháp phân tích
Ea Nhái 1	Amoni (NH_4^+)	TCVN 5988-1995
Ea Nhái 2	Nitrat (NO_3^-)	TCVN 6180-1996
Ea Nhái 3	Nitơ tổng số	TCVN 6638 : 2000
Buôn Phong 1	Phosphat (PO_4^{3-} tính theo P)	TCVN 6202 : 2008
Buôn Phong 2	Phospho tổng số	TCVN 6202 : 2008
Buôn Phong 3		

Tên mẫu	Kết quả phân tích				
	NH_4^+ (mg/l)	NO_3^- (mg/l)	Nitơ tổng số (mg/l)	PO_4^{3-} (mg/l)	Phospho tổng số (mg/l)
Ea Nhái 1	0,184	0,359	1,96	0,104	0,206
Ea Nhái 2	0,180	0,358	2,10	0,099	0,233
Ea Nhái 3	0,180	0,355	2,24	0,102	0,224
Buôn Phong 1	0,095	0,191	1,40	0,094	0,126
Buôn Phong 2	0,100	0,187	1,26	0,090	0,127
Buôn Phong 3	0,106	0,193	1,34	0,091	0,123

Phòng Phân tích trung tâm

Thuyên
ThS. Nguyễn Thị Huyền



Viện CNSH và Môi Trường

Nguyễn Anh Dũng
PGS.TS. Nguyễn Anh Dũng

- Kết quả có giá trị với mẫu gửi tại thời điểm phân tích do khách hàng cung cấp.
- Mẫu được lưu trữ 15 ngày kể từ ngày trả kết quả phân tích.



VIỆN CÔNG NGHỆ SINH HỌC VÀ MÔI TRƯỜNG

Institute of Biotechnology & Environment (IBE)

Địa chỉ: 567 Lê Duẩn, Tp. Buôn Ma Thuột, Đắk Lắk

Điện thoại: 02623.785.785

Fax: 02623.785785



Buôn Ma Thuột, ngày 19 tháng 11 năm 2019

PHIẾU TRẢ KẾT QUẢ PHÂN TÍCH

1. Người gửi mẫu: Ngô Thị Diễm My (0364 860 704)
2. Địa chỉ: 23/40 Mai Thị Lựu – P. Eatam – Tp.BMT – Đắk Lắk
3. Tên mẫu: Nước hồ Ea Nhái, nước hồ Buôn Phong
4. Số lượng mẫu: 06
5. Ngày gửi mẫu: 16/11/2019
6. Ngày trả kết quả: 19/11/2019

Tên mẫu	Chỉ tiêu phân tích	Phương pháp phân tích
Ea Nhái 1	Amoni (NH_4^+)	TCVN 5988-1995
Ea Nhái 2	Nitrat (NO_3^-)	TCVN 6180-1996
Ea Nhái 3	Nitơ tổng số	TCVN 6638 : 2000
Buôn Phong 1	Phosphat (PO_4^{3-} tính theo P)	TCVN 6202 : 2008
Buôn Phong 2	Phospho tổng số	TCVN 6202 : 2008
Buôn Phong 3		

Tên mẫu	Kết quả phân tích				
	NH_4^+ (mg/l)	NO_3^- (mg/l)	Nitơ tổng số (mg/l)	PO_4^{3-} (mg/l)	Phospho tổng số (mg/l)
Ea Nhái 1	0,195	0,163	2,34	0,092	0,261
Ea Nhái 2	0,198	0,163	2,04	0,097	0,233
Ea Nhái 3	0,200	0,170	2,10	0,103	0,248
Buôn Phong 1	0,135	0,117	1,18	0,086	0,098
Buôn Phong 2	0,148	0,119	1,29	0,091	0,121
Buôn Phong 3	0,137	0,120	1,21	0,093	0,138

Phòng Phân tích trung tâm

Thuyên
ThS. Nguyễn Thị Huyền



- Kết quả có giá trị với mẫu gửi tại thời điểm phân tích do khách hàng cung cấp.
- Mẫu được lưu trữ 15 ngày kể từ ngày trả kết quả phân tích.



VIỆN CÔNG NGHỆ SINH HỌC VÀ MÔI TRƯỜNG

Institute of Biotechnology & Environment (IBE)

Địa chỉ: 567 Lê Duẩn, Tp. Buôn Ma Thuột, Đắk Lắk

Điện thoại: 02623.785.785

Fax: 02623.785785



Buôn Ma Thuột, ngày 28 tháng 12 năm 2019

PHIẾU TRẢ KẾT QUẢ PHÂN TÍCH

1. Người gửi mẫu: Ngô Thị Diễm My (0364 860 704)
2. Địa chỉ: 23/40 Mai Thị Lựu – P. Eatam – Tp.BMT – Đắk Lắk
3. Tên mẫu: Nước hồ Ea Nhái, nước hồ Buôn Phong
4. Số lượng mẫu: 06
5. Ngày gửi mẫu: 23/12/2019
6. Ngày trả kết quả: 28/12/2019

Tên mẫu	Chỉ tiêu phân tích	Phương pháp phân tích
Ea Nhái 1	Amoni (NH_4^+)	TCVN 5988-1995
Ea Nhái 2	Nitrat (NO_3^-)	TCVN 6180-1996
Ea Nhái 3	Nitơ tổng số	TCVN 6638 : 2000
Buôn Phong 1	Phosphat (PO_4^{3-} tính theo P)	TCVN 6202 : 2008
Buôn Phong 2	Phospho tổng số	TCVN 6202 : 2008
Buôn Phong 3		

Tên mẫu	Kết quả phân tích				
	NH_4^+ (mg/l)	NO_3^- (mg/l)	Nitơ tổng số (mg/l)	PO_4^{3-} (mg/l)	Phospho tổng số (mg/l)
Ea Nhái 1	0,148	0,210	2,98	0,097	0,255
Ea Nhái 2	0,162	0,231	3,07	0,095	0,268
Ea Nhái 3	0,151	0,224	2,82	0,089	0,261
Buôn Phong 1	0,135	0,175	1,27	0,061	0,128
Buôn Phong 2	0,127	0,168	1,38	0,073	0,134
Buôn Phong 3	0,120	0,175	1,32	0,064	0,120

Phòng Phân tích trung tâm

ThS. Nguyễn Thị Huyền

Viện CNSH và Môi Trường



PGS.TS. Nguyễn Anh Dũng

- Kết quả có giá trị với mẫu gửi tại thời điểm phân tích do khách hàng cung cấp.
- Mẫu được lưu trữ 15 ngày kể từ ngày trả kết quả phân tích.



VIỆN CÔNG NGHỆ SINH HỌC VÀ MÔI TRƯỜNG

Institute of Biotechnology & Environment (IBE)

Địa chỉ: 567 Lê Duẩn, Tp. Buôn Ma Thuột, Đắk Lắk

Điện thoại: 02623.785.785

Fax: 02623.785785



Buôn Ma Thuột, ngày 9 tháng 01 năm 2020

PHIẾU TRẢ KẾT QUẢ PHÂN TÍCH

1. Người gửi mẫu: Ngô Thị Diễm My (0364 860 704)
2. Địa chỉ: 23/40 Mai Thị Lựu – P. Eatam – Tp.BMT – Đắk Lắk
3. Tên mẫu: Nước hồ Ea Nhái, nước hồ Buôn Phong
4. Số lượng mẫu: 06
5. Ngày gửi mẫu: 04/01/2020
6. Ngày trả kết quả: 9/01/2020

Tên mẫu	Chỉ tiêu phân tích	Phương pháp phân tích
Ea Nhái 1	Amoni (NH_4^+)	TCVN 5988-1995
Ea Nhái 2	Nitrat (NO_3^-)	TCVN 6180-1996
Ea Nhái 3	Nitơ tổng số	TCVN 6638 : 2000
Buôn Phong 1	Phosphat (PO_4^{3-} tính theo P)	TCVN 6202 : 2008
Buôn Phong 2	Phospho tổng số	TCVN 6202 : 2008
Buôn Phong 3		

Tên mẫu	Kết quả phân tích				
	NH_4^+ (mg/l)	NO_3^- (mg/l)	Nitơ tổng số (mg/l)	PO_4^{3-} (mg/l)	Phospho tổng số (mg/l)
Ea Nhái 1	0,159	0,245	3,31	0,088	0,203
Ea Nhái 2	0,174	0,275	3,53	0,092	0,221
Ea Nhái 3	0,182	0,258	3,46	0,091	0,210
Buôn Phong 1	0,141	0,177	1,23	0,046	0,087
Buôn Phong 2	0,137	0,158	1,39	0,054	0,096
Buôn Phong 3	0,139	0,163	1,42	0,052	0,092

Phòng Phân tích trung tâm

Ths. Nguyễn Chí Huyền



PGS.TS. Nguyễn Anh Dũng

- Kết quả có giá trị với mẫu gửi tại thời điểm phân tích do khách hàng cung cấp.
- Mẫu được lưu trữ 15 ngày kể từ ngày trả kết quả phân tích.



VIỆN CÔNG NGHỆ SINH HỌC VÀ MÔI TRƯỜNG

Institute of Biotechnology & Environment (IBE)

Địa chỉ: 567 Lê Duẩn, Tp. Buôn Ma Thuột, Đắk Lắk

Điện thoại: 02623.785.785 Fax: 02623.785785



Buôn Ma Thuột, ngày 20 tháng 02 năm 2020

PHIẾU TRẢ KẾT QUẢ PHÂN TÍCH

1. Người gửi mẫu: Ngô Thị Diễm My (0364 860 704)
2. Địa chỉ: 23/40 Mai Thị Lựu – P. Eatam – Tp.BMT – Đắk Lắk
3. Tên mẫu: Nước hồ Ea Nhái, nước hồ Buôn Phong
4. Số lượng mẫu: 06
5. Ngày gửi mẫu: 15/02/2020
6. Ngày trả kết quả: 20/02/2020

Tên mẫu	Chỉ tiêu phân tích	Phương pháp phân tích
Ea Nhái 1	Amoni (NH_4^+)	TCVN 5988-1995
Ea Nhái 2	Nitrat (NO_3^-)	TCVN 6180-1996
Ea Nhái 3	Nitơ tổng số	TCVN 6638 : 2000
Buôn Phong 1	Phosphat (PO_4^{3-} tính theo P)	TCVN 6202 : 2008
Buôn Phong 2	Phospho tổng số	TCVN 6202 : 2008
Buôn Phong 3		

Tên mẫu	Kết quả phân tích				
	NH_4^+ (mg/l)	NO_3^- (mg/l)	Nitơ tổng số (mg/l)	PO_4^{3-} (mg/l)	Phospho tổng số (mg/l)
Ea Nhái 1	0,290	0,261	2,86	0,091	0,282
Ea Nhái 2	0,293	0,270	2,91	0,116	0,296
Ea Nhái 3	0,294	0,282	2,98	0,103	0,304
Buôn Phong 1	0,134	0,117	1,03	0,072	0,134
Buôn Phong 2	0,126	0,103	1,03	0,091	0,128
Buôn Phong 3	0,131	0,106	1,09	0,084	0,149

Phòng Phân tích trung tâm

Ths. Nguyễn Thị Huyền



PGS-TS. Nguyễn Quang Vinh

- Kết quả có giá trị với mẫu gửi tại thời điểm phân tích do khách hàng cung cấp.
- Mẫu được lưu trữ 15 ngày kể từ ngày trả kết quả phân tích.



VIỆN CÔNG NGHỆ SINH HỌC VÀ MÔI TRƯỜNG
Institute of Biotechnology & Environment (IBE)
Địa chỉ: 567 Lê Duẩn, Tp. Buôn Ma Thuột, Đắk Lắk
Điện thoại: 02623.785.785 Fax: 02623.785785



Buôn Ma Thuột, ngày 27 tháng 03 năm 2020

PHIẾU TRẢ KẾT QUẢ PHÂN TÍCH

1. **Người gửi mẫu:** Ngô Thị Diễm My (0364 860 704)
2. **Địa chỉ:** 23/40 Mai Thị Lựu – P. Eatam – Tp.BMT – Đắk Lắk
3. **Tên mẫu:** Nước hồ Ea Nhái, nước hồ Buôn Phong
4. **Số lượng mẫu:** 06
5. **Ngày gửi mẫu:** 21/03/2020
6. **Ngày trả kết quả:** 27/03/2020

Tên mẫu	Chỉ tiêu phân tích	Phương pháp phân tích
Ea Nhái 1	Amoni (NH_4^+)	TCVN 5988-1995
Ea Nhái 2	Nitrat (NO_3^-)	TCVN 6180-1996
Ea Nhái 3	Nitơ tổng số	TCVN 6638 : 2000
Buôn Phong 1	Phosphat (PO_4^{3-} tính theo P)	TCVN 6202 : 2008
Buôn Phong 2	Phospho tổng số	TCVN 6202 : 2008
Buôn Phong 3		

Tên mẫu	Kết quả phân tích				
	NH_4^+ (mg/l)	NO_3^- (mg/l)	Nitơ tổng số (mg/l)	PO_4^{3-} (mg/l)	Phospho tổng số (mg/l)
Ea Nhái 1	0,392	0,192	3,75	0,103	0,321
Ea Nhái 2	0,361	0,190	3,50	0,114	0,372
Ea Nhái 3	0,383	0,198	3,75	0,109	0,348
Buôn Phong 1	0,273	0,105	2,51	0,089	0,264
Buôn Phong 2	0,270	0,098	2,80	0,081	0,231
Buôn Phong 3	0,282	0,101	2,37	0,086	0,245

Phòng Phân tích trung tâm

Thuyên
ThS. Nguyễn Chí Thuyên



Viện CNSH và Môi Trường

TS. Nguyễn Quang Vinh

- Kết quả có giá trị với mẫu gửi tại thời điểm phân tích do khách hàng cung cấp.
- Mẫu được lưu trữ 15 ngày kể từ ngày trả kết quả phân tích.



VIỆN CÔNG NGHỆ SINH HỌC VÀ MÔI TRƯỜNG

Institute of Biotechnology & Environment (IBE)

Địa chỉ: 567 Lê Duẩn, Tp. Buôn Ma Thuột, Đắk Lắk

Điện thoại: 02623.785.785

Fax: 02623.785785



Buôn Ma Thuột, ngày 29 tháng 04 năm 2020

PHIẾU TRẢ KẾT QUẢ PHÂN TÍCH

1. Người gửi mẫu: Ngô Thị Diễm My (0364 860 704)
2. Địa chỉ: 23/40 Mai Thị Lựu – P. Eatam – Tp.BMT – Đắk Lắk
3. Tên mẫu: Nước hồ Ea Nhái, nước hồ Buôn Phong
4. Số lượng mẫu: 06
5. Ngày gửi mẫu: 23/04/2020
6. Ngày trả kết quả: 29/04/2020

Tên mẫu	Chỉ tiêu phân tích	Phương pháp phân tích
Ea Nhái 1	Amoni (NH_4^+)	TCVN 5988-1995
Ea Nhái 2	Nitrat (NO_3^-)	TCVN 6180-1996
Ea Nhái 3	Nitơ tổng số	TCVN 6638 : 2000
Buôn Phong 1	Phosphat (PO_4^{3-} tính theo P)	TCVN 6202 : 2008
Buôn Phong 2	Phospho tổng số	TCVN 6202 : 2008
Buôn Phong 3		

Tên mẫu	Kết quả phân tích				
	NH_4^+ (mg/l)	NO_3^- (mg/l)	Nitơ tổng số (mg/l)	PO_4^{3-} (mg/l)	Phospho tổng số (mg/l)
Ea Nhái 1	0,368	0,179	3,46	0,098	0,279
Ea Nhái 2	0,366	0,182	3,50	0,107	0,286
Ea Nhái 3	0,360	0,182	3,56	0,102	0,281
Buôn Phong 1	0,231	0,099	2,31	0,088	0,226
Buôn Phong 2	0,229	0,107	2,38	0,079	0,210
Buôn Phong 3	0,232	0,101	2,33	0,084	0,217

Phòng Phân tích trung tâm

ThS. Nguyễn Thị Huyền



Viện CNSH và Môi Trường

PGS-TS. Nguyễn Quang Vinh

- Kết quả có giá trị với mẫu gửi tại thời điểm phân tích do khách hàng cung cấp.
- Mẫu được lưu trữ 15 ngày kể từ ngày trả kết quả phân tích.

Phụ lục 3: Số liệu phân tích các yếu tố thủy lý, thủy hóa trong môi trường nước hồ Ea Nhái và nước hồ Buôn Phong

Phụ lục 3.1. Số liệu phân tích các yếu tố thủy lý, thủy hóa trong môi trường nước hồ Ea Nhái

Tháng - Năm	Điểm thu mẫu	Nhiệt độ (°C)	Độ đục (NTU)	pH	N-NH₄ (mg/L)	N-NO₃ (mg/L)	P-PO₄ (mg/L)	TN (mg/L)	TP (mg/L)
5-2019	EN1	25.54	50.89	8.72	0.162	0.27	0.068	1.86	0.156
	EN1	25.46	50.87	8.7	0.159	0.265	0.071	1.86	0.152
	EN1	25.51	50.94	8.7	0.16	0.269	0.07	1.88	0.148
6-2019	EN1	25.93	49.34	7.89	0.108	0.198	0.058	1.85	0.176
	EN1	25.9	49.56	7.92	0.109	0.195	0.063	1.84	0.188
	EN1	25.88	49.61	7.95	0.112	0.206	0.06	1.85	0.182
7-2019	EN1	26.97	75.18	8.02	0.098	0.193	0.061	1.29	0.154
	EN1	27.01	77.07	7.98	0.096	0.197	0.062	1.28	0.151
	EN1	27.03	79.06	8.03	0.104	0.203	0.058	1.26	0.146
8-2019	EN1	28.49	67.98	8.26	0.236	0.276	0.098	2.77	0.413
	EN1	28.51	68.56	8.27	0.239	0.277	0.105	2.78	0.406
	EN1	28.51	68.95	8.22	0.243	0.281	0.101	2.74	0.409
9-2019	EN1	28.01	55.98	7.66	0.154	0.201	0.089	1.59	0.225
	EN1	28.04	56.17	7.61	0.149	0.196	0.087	1.65	0.218
	EN1	27.94	56.44	7.58	0.147	0.194	0.093	1.6	0.219
10-2019	EN1	30.45	43.31	7.9	0.178	0.357	0.098	1.94	0.211
	EN1	30.49	43.09	7.89	0.18	0.362	0.101	1.97	0.209
	EN1	30.55	43.20	7.9	0.183	0.361	0.109	1.98	0.206

Tháng - Năm	Điểm thu mẫu	Nhiệt độ (°C)	Độ đục (NTU)	pH	N-NH ₄ (mg/L)	N-NO ₃ (mg/L)	P-PO ₄ (mg/L)	TN (mg/L)	TP (mg/L)
11-2019	EN1	30.12	52.82	7.93	0.201	0.154	0.093	2.34	0.256
	EN1	30.08	53.19	7.91	0.205	0.157	0.087	2.31	0.254
	EN1	30.11	52.68	7.93	0.2	0.165	0.088	2.37	0.259
12-2019	EN1	31.37	40.16	8.04	0.152	0.215	0.103	2.97	0.253
	EN1	31.22	40.28	8.06	0.15	0.211	0.101	2.98	0.26
	EN1	31.31	40.01	8.09	0.148	0.209	0.097	2.98	0.257
1-2020	EN1	29.65	36.09	7.14	0.156	0.252	0.089	3.26	0.196
	EN1	29.75	36.28	7.05	0.158	0.245	0.088	3.37	0.204
	EN1	29.71	36.15	7.13	0.163	0.247	0.092	3.3	0.201
2-2020	EN1	34.11	39.06	8.23	0.289	0.261	0.086	2.88	0.288
	EN1	33.87	38.75	8.18	0.295	0.258	0.089	2.85	0.276
	EN1	34.01	38.55	8.2	0.287	0.261	0.094	2.84	0.28
3-2020	EN1	28.65	40.18	8	0.381	0.189	0.097	3.79	0.324
	EN1	28.69	39.96	8	0.387	0.195	0.105	3.75	0.318
	EN1	28.77	40.03	8.02	0.392	0.194	0.103	3.71	0.321
4-2020	EN1	31.68	40.17	8.29	0.371	0.178	0.102	3.43	0.285
	EN1	31.72	40.01	8.25	0.367	0.183	0.102	3.47	0.281
	EN1	31.7	40.11	8.28	0.368	0.182	0.097	3.49	0.275

Tháng - Năm	Điểm thu mẫu	Nhiệt độ (°C)	Độ đục (NTU)	pH	N-NH ₄ (mg/L)	N-NO ₃ (mg/L)	P-PO ₄ (mg/L)	TN (mg/L)	TP (mg/L)
5-2019	EN2	24.96	45.7	8.14	0.146	0.272	0.069	1.83	0.196
	EN2	25.04	45.94	8.07	0.148	0.265	0.068	1.89	0.204
	EN2	25.01	45.77	8.13	0.153	0.267	0.072	1.85	0.201
6-2019	EN2	25.98	52.76	8.04	0.11	0.201	0.067	1.69	0.195
	EN2	25.8	52.35	7.99	0.112	0.198	0.069	1.67	0.187
	EN2	25.91	52.08	8.01	0.109	0.201	0.073	1.67	0.19
7-2019	EN2	27.45	53.36	8.11	0.127	0.199	0.058	1.32	0.172
	EN2	27.49	53.07	8.11	0.129	0.205	0.063	1.31	0.169
	EN2	27.57	53.16	8.13	0.131	0.204	0.062	1.3	0.171
8-2019	EN2	27.98	61.31	8.23	0.201	0.218	0.092	2.32	0.417
	EN2	28.02	61.06	8.19	0.198	0.224	0.092	2.35	0.411
	EN2	28	61.22	8.22	0.199	0.222	0.087	2.36	0.403
9-2019	EN2	29.05	66.29	7.82	0.162	0.2	0.097	1.64	0.229
	EN2	28.95	66.26	7.8	0.159	0.196	0.101	1.64	0.223
	EN2	29.01	66.35	7.8	0.16	0.199	0.1	1.66	0.217
10-2019	EN2	30.03	47.35	7.92	0.177	0.356	0.097	2.1	0.225
	EN2	30	47.53	7.95	0.178	0.351	0.105	2.09	0.24
	EN2	29.98	47.61	7.98	0.183	0.371	0.1	2.1	0.233

Tháng - Năm	Điểm thu mẫu	Nhiệt độ (°C)	Độ đục (NTU)	pH	N-NH₄ (mg/L)	N-NO₃ (mg/L)	P-PO₄ (mg/L)	TN (mg/L)	TP (mg/L)
11-2019	EN2	29.87	49.34	8.01	0.196	0.154	0.102	2.06	0.236
	EN2	29.91	50.58	7.97	0.192	0.158	0.103	2.04	0.232
	EN2	29.93	51.89	8.02	0.208	0.162	0.097	2.01	0.224
12-2019	EN2	31.59	38.29	8.01	0.157	0.227	0.098	3.08	0.272
	EN2	31.61	38.61	8.02	0.159	0.228	0.105	3.09	0.267
	EN2	31.61	38.83	7.97	0.162	0.231	0.101	3.05	0.269
1-2020	EN2	29.21	37.07	7.13	0.175	0.281	0.089	3.47	0.225
	EN2	29.24	37.2	7.08	0.169	0.274	0.087	3.62	0.218
	EN2	29.14	37.38	7.05	0.167	0.272	0.093	3.51	0.219
2-2020	EN2	31.95	39.21	8.31	0.287	0.268	0.118	2.88	0.301
	EN2	31.99	39.01	8.3	0.29	0.272	0.121	2.92	0.299
	EN2	32.05	39.11	8.31	0.295	0.271	0.131	2.94	0.294
3-2020	EN2	29.02	40.06	8.24	0.362	0.183	0.114	3.5	0.364
	EN2	28.98	40.34	8.22	0.369	0.186	0.106	3.46	0.367
	EN2	29.01	39.95	8.24	0.36	0.196	0.108	3.54	0.369
4-2020	EN2	31.87	40.07	8.28	0.375	0.184	0.103	3.49	0.272
	EN2	31.72	40.19	8.3	0.37	0.181	0.101	3.5	0.28
	EN2	31.81	39.92	8.33	0.365	0.179	0.097	3.5	0.277

Tháng - Năm	Điểm thu mẫu	Nhiệt độ (°C)	Độ đục (NTU)	pH	N-NH ₄ (mg/L)	N-NO ₃ (mg/L)	P-PO ₄ (mg/L)	TN (mg/L)	TP (mg/L)
5-2019	EN3	25.46	49.39	8.24	0.137	0.323	0.079	1.82	0.17
	EN3	25.54	49.65	8.17	0.138	0.314	0.078	1.88	0.17
	EN3	25.51	49.47	8.23	0.143	0.316	0.082	1.84	0.17
6-2019	EN3	26.18	56.42	8.1	0.11	0.211	0.067	1.75	0.2
	EN3	26	55.94	8.05	0.112	0.208	0.069	1.73	0.19
	EN3	26.11	55.65	8.07	0.109	0.211	0.073	1.73	0.19
7-2019	EN3	27.95	58.07	8.14	0.176	0.249	0.058	1.56	0.16
	EN3	27.99	57.76	8.14	0.179	0.257	0.063	1.54	0.16
	EN3	28.07	57.86	8.16	0.181	0.255	0.062	1.52	0.16
8-2019	EN3	27.98	70.62	8.32	0.211	0.237	0.092	2.52	0.41
	EN3	28.02	70.37	8.28	0.208	0.244	0.092	2.55	0.4
	EN3	28	70.52	8.31	0.209	0.243	0.087	2.56	0.39
9-2019	EN3	28.04	99.98	7.74	0.172	0.2	0.097	1.67	0.24
	EN3	27.96	99.94	7.72	0.169	0.196	0.101	1.67	0.23
	EN3	28.01	100.08	7.72	0.17	0.199	0.1	1.69	0.23
10-2019	EN3	29.95	42.01	7.98	0.178	0.357	0.098	2.22	0.22
	EN3	29.99	41.79	7.97	0.18	0.362	0.101	2.25	0.22
	EN3	30.05	41.9	7.98	0.183	0.361	0.109	2.26	0.22
11-2019	EN3	29.22	54.92	7.99	0.201	0.164	0.103	2.1	0.25
	EN3	29.18	55.3	7.97	0.205	0.167	0.097	2.07	0.24
	EN3	29.21	54.77	7.99	0.2	0.175	0.098	2.13	0.25

Tháng - Năm	Điểm thu mẫu	Nhiệt độ (°C)	Độ đục (NTU)	pH	N-NH ₄ (mg/L)	N-NO ₃ (mg/L)	P-PO ₄ (mg/L)	TN (mg/L)	TP (mg/L)
12-2019	EN3	31.37	38.53	8.08	0.152	0.225	0.093	2.81	0.25
	EN3	31.22	38.64	8.1	0.15	0.221	0.091	2.82	0.26
	EN3	31.31	38.39	8.13	0.148	0.219	0.087	2.82	0.26
1-2020	EN3	29.03	38.95	7.2	0.177	0.257	0.087	3.46	0.21
	EN3	29	39.13	7.23	0.178	0.254	0.095	3.47	0.22
	EN3	28.98	39.17	7.26	0.183	0.268	0.09	3.46	0.21
2-2020	EN3	29.97	39.62	8.25	0.284	0.27	0.102	3	0.31
	EN3	30.01	40.61	8.21	0.278	0.276	0.103	2.98	0.3
	EN3	30.03	41.66	8.26	0.302	0.284	0.097	2.96	0.29
3-2020	EN3	28.79	39.93	8.31	0.374	0.197	0.108	3.76	0.35
	EN3	28.81	40.28	8.32	0.378	0.198	0.116	3.78	0.35
	EN3	28.81	40.5	8.27	0.385	0.201	0.111	3.72	0.35
4-2020	EN3	31.71	39.95	8.33	0.37	0.181	0.099	3.52	0.29
	EN3	31.75	40.09	8.28	0.358	0.176	0.097	3.62	0.28
	EN3	31.63	40.28	8.25	0.353	0.175	0.103	3.54	0.28

Phụ lục 3.2. Số liệu phân tích các yếu tố thủy lý, thủy hóa trong môi trường nước hồ Buôn Phong

Tháng - Năm	Điểm thu mẫu	Nhiệt độ (°C)	Độ đục (NTU)	pH	N-NH₄ (mg/L)	N-NO₃ (mg/L)	P-PO₄ (mg/L)	TN (mg/L)	TP (mg/L)
5-2019	BP1	26.89	23.95	7.58	0.231	0.096	0.093	2.33	0.22
	BP1	26.7	23.76	7.71	0.228	0.099	0.089	2.3	0.227
	BP1	26.81	23.63	7.53	0.231	0.104	0.09	2.29	0.24
6-2019	BP1	26.95	21.56	6.71	0.179	0.087	0.071	2	0.17
	BP1	26.99	21.45	6.65	0.185	0.095	0.07	1.98	0.17
	BP1	27.07	21.48	6.73	0.184	0.093	0.07	1.96	0.17
7-2019	BP1	25.98	19.33	7.54	0.109	0.265	0.051	1.55	0.18
	BP1	26.02	19.26	7.55	0.112	0.265	0.05	1.56	0.18
	BP1	26	19.3	7.48	0.111	0.252	0.049	1.57	0.18
8-2019	BP1	28.04	23.4	7.72	0.11	0.136	0.073	1.39	0.13
	BP1	27.96	23.39	7.63	0.108	0.142	0.071	1.39	0.13
	BP1	28.01	23.42	7.68	0.11	0.14	0.069	1.41	0.13
9-2019	BP1	26.96	28.67	7.22	0.139	0.284	0.06	1.16	0.307
	BP1	26.99	28.53	7.3	0.141	0.293	0.06	1.18	0.312
	BP1	27.04	28.6	7.38	0.14	0.303	0.059	1.18	0.313
10-2019	BP1	27.02	27.96	6.74	0.135	0.217	0.079	1.33	0.13
	BP1	26.98	28.15	6.68	0.137	0.203	0.078	1.31	0.13
	BP1	27.01	27.88	6.71	0.144	0.205	0.08	1.35	0.13

Tháng - Năm	Điểm thu mẫu	Nhiệt độ (°C)	Độ đục (NTU)	pH	N-NH ₄ (mg/L)	N-NO ₃ (mg/L)	P-PO ₄ (mg/L)	TN (mg/L)	TP (mg/L)
11-2019	BP1	28.06	20.11	6.92	0.102	0.196	0.088	1.4	0.134
	BP1	27.93	20.17	6.83	0.1	0.192	0.09	1.44	0.126
	BP1	28.01	20.03	6.74	0.1	0.184	0.089	1.35	0.127
12-2019	BP1	29.03	15.05	6.91	0.139	0.116	0.088	1.16	0.096
	BP1	29	15.12	6.99	0.137	0.126	0.094	1.2	0.098
	BP1	28.98	15.13	7.14	0.144	0.12	0.091	1.18	0.103
1-2020	BP1	32.06	22.34	6.82	0.135	0.183	0.062	1.28	0.13
	BP1	32.11	22.9	6.91	0.138	0.186	0.06	1.27	0.13
	BP1	32.14	23.49	7.02	0.142	0.174	0.058	1.25	0.13
2-2020	BP1	30.99	20.77	6.59	0.138	0.176	0.06	1.23	0.09
	BP1	31.01	20.95	6.67	0.139	0.189	0.059	1.24	0.09
	BP1	31.01	21.07	6.75	0.141	0.182	0.06	1.22	0.09
3-2020	BP1	31.21	23.61	7.99	0.131	0.119	0.072	1.02	0.131
	BP1	31.24	23.69	7.73	0.127	0.116	0.069	1.06	0.13
	BP1	31.16	23.8	7.62	0.126	0.124	0.07	1.02	0.129
4-2020	BP1	27.25	22.24	7.51	0.242	0.109	0.088	2.47	0.261
	BP1	27.35	22.36	7.41	0.235	0.108	0.092	2.56	0.258
	BP1	27.31	22.28	7.58	0.237	0.112	0.09	2.5	0.261

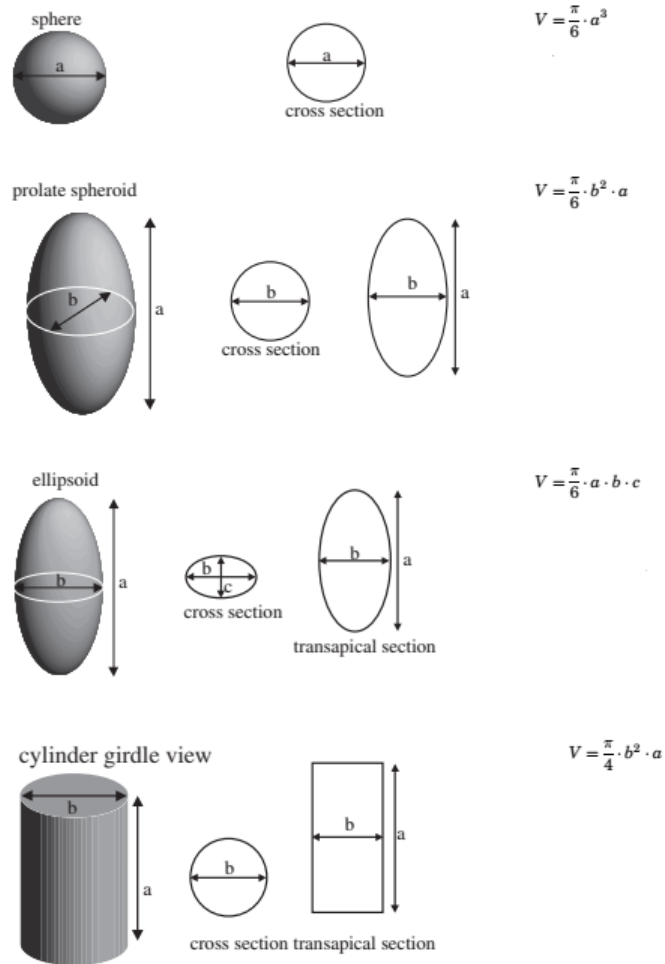
Tháng - Năm	Điểm thu mẫu	Nhiệt độ (°C)	Độ đục (NTU)	pH	N-NH ₄ (mg/L)	N-NO ₃ (mg/L)	P-PO ₄ (mg/L)	TN (mg/L)	TP (mg/L)
5-2019	BP2	26.76	23.53	7.67	0.235	0.113	0.078	2.34	0.217
	BP2	26.63	23.6	7.57	0.231	0.111	0.08	2.38	0.203
	BP2	26.71	23.44	7.47	0.229	0.107	0.079	2.41	0.205
6-2019	BP2	26.53	21.31	6.58	0.188	0.087	0.059	1.96	0.183
	BP2	26.5	21.41	6.62	0.185	0.095	0.063	2.03	0.186
	BP2	26.48	21.43	6.74	0.196	0.09	0.061	2	0.196
7-2019	BP2	25.47	19.99	7.65	0.106	0.224	0.051	1.41	0.16
	BP2	25.51	20.49	7.74	0.108	0.227	0.05	1.4	0.159
	BP2	25.53	21.02	7.71	0.112	0.213	0.049	1.38	0.16
8-2019	BP2	27.49	20.84	7.44	0.079	0.147	0.06	1.53	0.12
	BP2	27.51	21.02	7.47	0.079	0.158	0.059	1.53	0.12
	BP2	27.51	21.14	7.59	0.08	0.152	0.06	1.51	0.12
9-2019	BP2	27.51	27.99	7.78	0.141	0.237	0.061	1.16	0.302
	BP2	27.54	28.09	7.53	0.137	0.232	0.059	1.2	0.3
	BP2	27.44	28.22	7.43	0.136	0.248	0.06	1.16	0.298
10-2019	BP2	26.46	32.53	6.73	0.141	0.208	0.078	1.3	0.131
	BP2	26.54	32.7	6.75	0.137	0.205	0.082	1.34	0.129
	BP2	26.51	32.58	6.93	0.138	0.215	0.08	1.32	0.13
11-2019	BP2	27.59	17.12	6.77	0.1	0.182	0.093	1.27	0.124

Tháng - Năm	Điểm thu mẫu	Nhiệt độ (°C)	Độ đục (NTU)	pH	N-NH ₄ (mg/L)	N-NO ₃ (mg/L)	P-PO ₄ (mg/L)	TN (mg/L)	TP (mg/L)
	BP2	27.39	16.98	6.87	0.099	0.188	0.089	1.26	0.129
	BP2	27.51	16.89	6.72	0.1	0.198	0.09	1.25	0.136
12-2019	BP2	28.45	12.64	7.08	0.149	0.116	0.091	1.3	0.12
	BP2	28.49	12.57	7.03	0.154	0.126	0.089	1.29	0.12
	BP2	28.57	12.59	7.12	0.153	0.124	0.09	1.28	0.12
1-2020	BP2	32.18	23.14	7.03	0.129	0.173	0.071	1.37	0.13
	BP2	32.22	23.05	7.04	0.132	0.173	0.07	1.38	0.13
	BP2	32.2	23.11	6.97	0.131	0.165	0.069	1.39	0.13
2-2020	BP2	30.85	22.01	6.75	0.14	0.155	0.052	1.38	0.1
	BP2	30.75	22	6.66	0.137	0.162	0.051	1.38	0.1
	BP2	30.81	22.03	6.7	0.139	0.16	0.049	1.4	0.1
3-2020	BP2	31.35	23.46	7.61	0.129	0.098	0.09	1.02	0.129
	BP2	31.39	23.34	7.7	0.131	0.101	0.09	1.04	0.131
	BP2	31.45	23.4	7.8	0.13	0.109	0.088	1.04	0.131
4-2020	BP2	28.32	23.07	7.53	0.26	0.103	0.079	2.8	0.23
	BP2	28.28	23.23	7.45	0.265	0.097	0.078	2.76	0.23
	BP2	28.31	23	7.49	0.278	0.098	0.08	2.84	0.23

Tháng - Năm	Điểm thu mẫu	Nhiệt độ (°C)	Độ đục (NTU)	pH	N-NH ₄ (mg/L)	N-NO ₃ (mg/L)	P-PO ₄ (mg/L)	TN (mg/L)	TP (mg/L)
5-2019	BP3	27.07	22.89	7.47	0.222	0.102	0.082	2.35	0.22
	BP3	27.11	23.46	7.58	0.227	0.103	0.081	2.33	0.219
	BP3	27.13	24.07	7.52	0.233	0.097	0.078	2.29	0.221
6-2019	BP3	26.99	21.06	6.69	0.187	0.088	0.071	2.04	0.19
	BP3	27.01	21.24	6.77	0.188	0.095	0.069	2.04	0.19
	BP3	27.01	21.36	6.85	0.191	0.091	0.07	2.02	0.189
7-2019	BP3	26.01	22.71	7.63	0.121	0.247	0.051	1.44	0.181
	BP3	26.04	22.79	7.58	0.118	0.242	0.05	1.5	0.18
	BP3	25.94	22.9	7.68	0.116	0.258	0.05	1.45	0.179
8-2019	BP3	27.95	23.95	7.71	0.101	0.148	0.059	1.27	0.141
	BP3	28.05	24.07	7.65	0.098	0.147	0.061	1.31	0.139
	BP3	28.01	23.99	7.74	0.099	0.153	0.06	1.29	0.14
9-2019	BP3	27.59	42.59	7.39	0.131	0.268	0.062	1.2	0.315
	BP3	27.39	42.26	7.52	0.129	0.277	0.059	1.19	0.326
	BP3	27.51	42.04	7.34	0.131	0.292	0.06	1.18	0.345
10-2019	BP3	26.45	37.61	6.74	0.149	0.213	0.081	1.34	0.13
	BP3	26.49	37.41	6.69	0.154	0.231	0.08	1.33	0.13
	BP3	26.56	37.47	6.8	0.153	0.227	0.08	1.32	0.13
11-2019	BP3	27.98	24.44	6.82	0.109	0.194	0.092	1.33	0.12

Tháng - Năm	Điểm thu mẫu	Nhiệt độ (°C)	Độ đục (NTU)	pH	N-NH ₄ (mg/L)	N-NO ₃ (mg/L)	P-PO ₄ (mg/L)	TN (mg/L)	TP (mg/L)
	BP3	28.02	24.35	6.81	0.112	0.194	0.09	1.34	0.12
	BP3	28	24.41	6.76	0.111	0.184	0.088	1.35	0.12
12-2019	BP3	29.05	17.5	7.13	0.14	0.117	0.094	1.2	0.14
	BP3	28.95	17.49	7.06	0.137	0.122	0.091	1.2	0.14
	BP3	29.01	17.51	7.1	0.139	0.12	0.089	1.22	0.14
1-2020	BP3	32.15	23.76	6.89	0.119	0.176	0.06	1.31	0.119
	BP3	32.19	23.64	6.97	0.121	0.182	0.06	1.33	0.121
	BP3	32.25	23.7	7.05	0.12	0.196	0.059	1.33	0.121
2-2020	BP3	30.92	21.1	6.64	0.135	0.165	0.049	1.42	0.09
	BP3	30.88	21.25	6.58	0.137	0.155	0.049	1.4	0.09
	BP3	30.91	21.04	6.61	0.144	0.156	0.05	1.44	0.09
3-2020	BP3	31.57	23.39	7.72	0.133	0.113	0.078	1.09	0.155
	BP3	31.42	23.46	7.63	0.131	0.111	0.08	1.09	0.145
	BP3	31.51	23.3	7.53	0.129	0.107	0.079	1.08	0.147
4-2020	BP3	28.23	22.95	7.39	0.277	0.097	0.088	2.33	0.241
	BP3	28.2	23.05	7.33	0.273	0.105	0.094	2.41	0.245
	BP3	28.18	23.07	7.48	0.288	0.1	0.091	2.37	0.258

Phụ lục 4: Hình học và công thức tính thể tích các hình dạng VKL phổ biến



Hình học và công thức tính thể tích các hình dạng VKL phổ biến (Sun & Liu, 2003)

Phụ lục 5: Thể tích sinh học VKL ở hồ Ea Nhái và hồ Buôn Phong

Phụ lục 5.1. Thể tích sinh học VKL ở hồ Ea Nhái

Tháng - năm	Điểm thu mẫu	Mật độ <i>R. raciborskii</i> (tb/L)	Thể tích sinh học <i>R. raciborskii</i> (mm ³ /L)	Mật độ <i>R. curvata</i> (tb/L)	Thể tích sinh học <i>R. curvata</i> (mm ³ /L)	Mật độ <i>R. mediterranea</i> (tb/L)	Thể tích sinh học <i>R. mediterranea</i> (mm ³ /L)	Mật độ <i>Microcystis</i> (tb/L)	Thể tích sinh học <i>Microcystis</i> (mm ³ /L)	mật độ <i>Merismopedia tenuissima</i> (tb/L)	Thể tích sinh học <i>Merismopedia tenuissima</i> (mm ³ /L)	Mật độ <i>Lynbya</i> sp. (tb/L)	Thể tích sinh học <i>Lynbya</i> sp. (mm ³ /L)	Thể tích sinh học VKL (mm ³ /L)	CYN (µg/L)
Thg5-19	EN1	428.400.000	0,57	1.050.100	0,001	0	0	0	0	753.100	0,005	0	0	0,58	1,09
Thg6-19	EN1	583.390.000	1,17	970.300	0,002	0	0	0	0	705.060	0,005	0	0	1,18	0,95
Thg7-19	EN1	310.610.000	1,14	911.160	0,003	0	0	0	0	540.000	0,003	0	0	1,14	1,14
Thg8-19	EN1	2.299.550.000	4,10	790.600	0,001	0	0	0	0	491.080	0,003	0	0	4,10	1,19
Thg9-19	EN1	856.380.000	3,38	743.670	0,003	0	0	0	0	462.000	0,003	15.915.700	0,26	3,65	1,16
Thg10-19	EN1	1.805.400.000	13,14	891.670	0,006	0	0	0	0	650.100	0,004	17.021.000	0,28	13,43	1,28
Thg11-19	EN1	2.740.640.000	21,52	1.010.980	0,008	517.920	0,004	67.857	0,006	552.000	0,004	17.902.000	0,30	21,84	1,31
Thg12-19	EN1	2.206.080.000	19,94	1.015.253	0,009	698.710	0,006	81.176	0,007	561.100	0,004	94.307.000	1,56	21,53	1,21
Thg1-20	EN1	3.824.100.000	48,45	2.560.770	0,032	786.542	0,010	150.289	0,013	790.000	0,005	75.728.000	1,25	49,76	1,30
Thg2-20	EN1	3.983.700.000	44,74	3.680.220	0,041	987.021	0,011	774.566	0,067	880.870	0,006	99.708.000	1,65	46,51	1,37
Thg3-20	EN1	3.871.800.000	56,78	5.081.000	0,075	971.203	0,014	651.163	0,056	868.000	0,006	108.504.000	1,79	58,72	1,25
Thg4-20	EN1	3.042.000.000	46,49	5.150.540	0,079	1.059.172	0,016	11.561	0,001	1.907.000	0,012	0	0	46,60	1,32
Thg5-19	EN2	428.800.000	1,65	1.012.000	0,004	0	0	0	0	829.800	0,005	0	0	1,66	1,18
Thg6-19	EN2	258.870.000	0,55	1.102.000	0,002	0	0	0	0	670.000	0,004	0	0	0,56	1,19
Thg7-19	EN2	433.490.000	0,68	918.800	0,001	0	0	0	0	625.310	0,004	0	0	0,69	1,26
Thg8-19	EN2	2.162.880.000	4,26	930.230	0,002	0	0	0	0	540.700	0,003	0	0	4,26	1,19
Thg9-19	EN2	914.070.000	5,64	760.120	0,005	0	0	0	0	510.900	0,003	16.509.800	0,27	5,92	1,13
Thg10-19	EN2	2.222.970.000	24,24	870.230	0,009	0	0	0	0	463.100	0,003	16.808.500	0,28	24,53	1,25
Thg11-19	EN2	3.089.710.000	44,49	973.138	0,014	496.743	0,007	79.762	0,007	584.010	0,004	17.713.000	0,29	44,81	1,33
Thg12-19	EN2	2.583.680.000	32,24	1.050.670	0,013	700.432	0,009	82.353	0,007	595.270	0,004	98.603.000	1,63	33,90	1,29
Thg1-20	EN2	6.239.330.000	63,78	2.431.320	0,025	743.568	0,008	196.532	0,017	830.900	0,005	76.531.000	1,26	65,10	1,30
Thg2-20	EN2	4.412.840.000	56,43	4.050.710	0,052	879.643	0,011	786.127	0,068	1.050.100	0,007	98.723.100	1,63	58,19	1,42
Thg3-20	EN2	2.870.400.000	52,27	5.032.020	0,092	962.135	0,018	697.674	0,060	880.800	0,006	115.823.000	1,91	54,35	1,33
Thg4-20	EN2	4.826.250.000	76,67	4.565.440	0,073	997.543	0,016	57.803	0,005	2.040.500	0,013	0	0	76,77	1,35
Thg5-19	EN3	374.730.000	0,39	983.100	0,001	0	0	0	0	771.130	0,005	0	0	0,39	0,76
Thg6-19	EN3	291.370.000	0,61	881.500	0,002	0	0	0	0	581.600	0,004	0	0	0,62	1,15
Thg7-19	EN3	460.930.000	0,73	805.000	0,001	0	0	0	0	526.030	0,003	0	0	0,74	1,28

Tháng - năm	Điểm thu mẫu	Mật độ <i>R. raciborskii</i> (tb/L)	Thể tích sinh học <i>R. raciborskii</i> (mm ³ /L)	Mật độ <i>R. curvata</i> (tb/L)	Thể tích sinh học <i>R. curvata</i> (mm ³ /L)	Mật độ <i>R. mediterranea</i> (tb/L)	Thể tích sinh học <i>R. mediterranea</i> (mm ³ /L)	Mật độ <i>Microcystis</i> (tb/L)	Thể tích sinh học <i>Microcystis</i> (mm ³ /L)	mật độ <i>Merismopedia tenuissima</i> (tb/L)	Thể tích sinh học <i>Merismopedia tenuissima</i> (mm ³ /L)	Mật độ <i>Lynbya</i> sp. (tb/L)	Thể tích sinh học <i>Lynbya</i> sp. (mm ³ /L)	Thể tích sinh học VKL (mm ³ /L)	CYN (µg/L)
Thg8-19	EN3	2.441.740.000	2,86	947.800	0,001	0	0	0	0	494.070	0,003	0	0	2,86	1,27
Thg9-19	EN3	890.910.000	11,95	845.010	0,011	0	0	0	0	502.050	0,003	16.209.800	0,27	12,23	1,21
Thg10-19	EN3	2.796.010.000	34,79	1.010.540	0,013	0	0	0	0	453.200	0,003	16.609.000	0,27	35,08	1,25
Thg11-19	EN3	3.372.370.000	41,61	965.085	0,012	520.976	0,006	78.571	0,007	549.060	0,004	18.823.000	0,31	41,94	1,32
Thg12-19	EN3	2.218.800.000	38,98	1.024.980	0,018	702.318	0,012	81.176	0,007	667.240	0,004	95.615.000	1,58	40,60	1,31
Thg1-20	EN3	4.721.500.000	64,74	2.430.850	0,033	769.541	0,011	173.410	0,015	921.400	0,006	82.135.000	1,36	66,16	1,33
Thg2-20	EN3	3.447.680.000	68,32	3.951.770	0,078	971.054	0,019	832.370	0,072	920.900	0,006	116.683.000	1,93	70,42	1,15
Thg3-20	EN3	3.763.200.000	63,73	4.725.460	0,080	967.832	0,016	755.814	0,065	890.500	0,006	111.705.000	1,84	65,74	1,29
Thg4-20	EN3	4.917.900.000	77,34	5.225.490	0,082	1.018.723	0,016	46.243	0,004	1.990.100	0,013	0	0	77,45	1,36

Phụ lục 5.2. Thể tích sinh học VKL ở hồ Buôn Phong

Tháng	Điểm thu mẫu	Mật độ <i>R. raciborskii</i> (tb/L)	Thể tích sinh học <i>R. raciborskii</i> (mm³/L)	Mật độ <i>Anabaena</i> sp.2 (tb/L)	Thể tích sinh học <i>Anabaena</i> sp.2 (mm³/L)	Mật độ <i>Microcystis</i> (tb/L)	Thể tích sinh học <i>Microcystis</i> (mm³/L)	Thể tích sinh học VKL (mm³/L)	Hàm lượng CYN (µg/L)
Thg5-19	BP1	83.300.000	0,81	2.667.000	0,11	108.730.000	9,68	10,59	-0,42
Thg6-19	BP1	57.287.000	0,12	2.354.000	0,08	144.950.000	12,32	12,52	0,33
Thg7-19	BP1	50.740.000	0,19	2.895.000	0,09	72.389.000	6,26	6,54	0,24
Thg8-19	BP1	80.640.000	0,14	2.543.000	0,08	52.877.000	4,57	4,80	0,10
Thg9-19	BP1	93.513.000	0,37	2.565.000	0,08	87.966.000	7,57	8,02	0,39
Thg10-19	BP1	91.424.000	0,67	2.871.000	0,10	90.786.000	7,85	8,62	0,27
Thg11-19	BP1	222.240.000	1,74	3.537.000	0,13	198.721.000	16,69	18,57	0,29
Thg12-19	BP1	248.403.000	2,25	16.683.000	0,70	201.920.000	17,16	20,11	0,25
Thg1-20	BP1	131.320.000	1,66	84.840.000	3,69	374.766.000	32,42	37,78	0,37
Thg2-20	BP1	213.640.000	2,40	25.760.000	1,25	398.721.000	34,49	38,14	0,57
Thg3-20	BP1	309.792.000	4,54	34.560.000	1,68	270.537.000	42,36	48,58	0,47
Thg4-20	BP1	487.746.000	7,45	26.576.000	1,32	489.674.000	16,27	25,04	0,73
Thg5-19	BP2	98.175.000	0,80	3.680.000	0,13	110.283.000	9,82	10,75	-0,06
Thg6-19	BP2	54.267.000	0,12	1.987.000	0,07	138.590.000	11,78	11,96	0,20
Thg7-19	BP2	51.410.000	0,08	2.764.000	0,09	76.832.000	6,65	6,82	0,37
Thg8-19	BP2	81.280.000	0,16	2.439.000	0,08	55.344.000	4,79	5,03	0,39
Thg9-19	BP2	90.213.000	0,56	2.514.000	0,09	88.967.000	7,65	8,30	0,39
Thg10-19	BP2	71.698.000	0,78	3.102.000	0,13	91.254.000	7,89	8,80	0,30

Tháng	Điểm thu mẫu	Mật độ <i>R. raciborskii</i> (tb/L)	Thể tích sinh học <i>R. raciborskii</i> (mm ³ /L)	Mật độ <i>Anabaena</i> sp.2 (tb/L)	Thể tích sinh học <i>Anabaena</i> sp.2 (mm ³ /L)	Mật độ <i>Microcystis</i> (tb/L)	Thể tích sinh học <i>Microcystis</i> (mm ³ /L)	Thể tích sinh học VKL (mm ³ /L)	Hàm lượng CYN (µg/L)
Thg11-19	BP2	117.504.000	1,69	3.648.000	0,13	187.560.000	15,76	17,58	0,30
Thg12-19	BP2	258.570.000	3,23	13.475.000	0,56	178.234.000	15,15	18,94	0,29
Thg1-20	BP2	177.320.000	1,81	70.737.000	3,18	382.543.000	33,09	38,08	0,28
Thg2-20	BP2	348.923.000	4,46	31.250.000	1,54	389.786.000	33,72	39,72	0,53
Thg3-20	BP2	311.880.000	5,68	66.640.000	3,27	290.867.000	44,37	53,32	0,45
Thg4-20	BP2	699.270.000	11,11	38.454.000	1,73	512.930.000	17,01	29,85	0,71
Thg5-19	BP3	38.150.000	0,80	3.085.000	0,11	108.587.000	9,66	10,57	0,60
Thg6-19	BP3	63.323.000	0,13	2.134.000	0,08	147.920.000	12,57	12,78	0,24
Thg7-19	BP3	58.554.000	0,09	2.654.000	0,09	73.529.000	6,36	6,54	0,37
Thg8-19	BP3	84.000.000	0,10	2.765.000	0,09	53.779.000	4,65	4,84	0,46
Thg9-19	BP3	89.259.000	1,20	2.822.000	0,11	117.367.000	10,09	11,40	0,33
Thg10-19	BP3	77.718.000	0,97	3.347.000	0,13	87.594.000	7,58	8,68	-0,20
Thg11-19	BP3	100.640.000	1,24	3.476.000	0,13	137.939.000	11,59	12,95	0,37
Thg12-19	BP3	144.898.000	2,55	16.125.000	0,69	202.956.000	17,25	20,49	0,16
Thg1-20	BP3	171.908.000	2,36	61.425.000	2,62	37.394.000	3,23	8,21	0,42
Thg2-20	BP3	300.860.000	5,96	24.173.000	1,25	471.043.000	40,75	47,95	0,58
Thg3-20	BP3	445.280.000	7,54	52.288.000	2,18	295.936.000	43,40	53,12	0,29
Thg4-20	BP3	563.316.000	8,86	37.050.000	1,62	501.701.000	17,45	27,93	0,73

QUYẾT ĐỊNH
Về việc thành lập Hội đồng chấm luận án tiến sĩ cấp Đại học Huế

GIÁM ĐỐC ĐẠI HỌC HUẾ

Căn cứ Nghị định số 30/CP ngày 04 tháng 4 năm 1994 của Chính phủ về việc thành lập Đại học Huế;

Căn cứ Thông tư số 10/2020/TT-BGDĐT ngày 14 tháng 5 năm 2020 của Bộ trưởng Bộ Giáo dục và Đào tạo ban hành Quy chế tổ chức và hoạt động của đại học vùng và các cơ sở giáo dục đại học thành viên;

Căn cứ Nghị quyết số 36/NQ-HĐĐH ngày 20 tháng 5 năm 2022 của Hội đồng Đại học Huế ban hành Quy chế tổ chức và hoạt động của Đại học Huế;

Căn cứ Thông tư số 08/2017/TT-BGDĐT ngày 04 tháng 4 năm 2017 của Bộ trưởng Bộ Giáo dục và Đào tạo về việc ban hành Quy chế đào tạo trình độ tiến sĩ;

Căn cứ Quyết định số 1019/QĐ-ĐHH ngày 19 tháng 9 năm 2017 của Giám đốc Đại học Huế về việc ban hành Quy định đào tạo trình độ tiến sĩ;

Căn cứ Quyết định số 1723/QĐ-ĐHH ngày 28 tháng 12 năm 2018 về việc công nhận nghiên cứu sinh khoá năm 2018 của Giám đốc Đại học Huế và Quyết định số 282/QĐ-VCNSH ngày 28 tháng 12 năm 2018 về việc giao đề tài và cử người hướng dẫn nghiên cứu sinh khoá năm 2018 của Viện trưởng Viện Công nghệ sinh học, Đại học Huế;

Theo đề nghị của Trưởng Ban Đào tạo và Công tác sinh viên.

QUYẾT ĐỊNH:

Điều 1. Thành lập Hội đồng chấm luận án tiến sĩ cấp Đại học Huế với đề tài: **“Xác định thành phần loài và khả năng sinh độc tố Cylindrospermospin của vi khuẩn lam trong một số thủy vực ở Đắc Lắc”.**

Của Nghiên cứu sinh: **Ngô Thị Diễm My**

Ngành: **Sinh học**

Mã số: **9420101**

(Danh sách thành viên Hội đồng kèm theo Quyết định này)

Điều 2. Hội đồng có trách nhiệm đánh giá luận án theo đúng Quy chế đào tạo trình độ tiến sĩ của Bộ Giáo dục và Đào tạo và Quy định đào tạo trình độ tiến sĩ của Đại học Huế hiện hành.

Điều 3. Chánh Văn phòng Đại học Huế; Trưởng các Ban: Đào tạo và Công tác sinh viên; Tổ chức cán bộ; Kế hoạch, Tài chính và Cơ sở vật chất; Viện trưởng Viện Công nghệ sinh học và các Ông (Bà) có tên ở Điều 1 chịu trách nhiệm thi hành Quyết định này./.

Nơi nhận:

- Như Điều 3;
- Lưu: VT, ĐTCTSV.TTXH.



GIÁM ĐỐC

Lê Anh Phương

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
ĐẠI HỌC HUẾ

DANH SÁCH HỘI ĐỒNG CHẤM LUẬN ÁN TIẾN SĨ CẤP ĐẠI HỌC HUẾ

*(Ban hành kèm theo Quyết định số: 2166/QĐ-ĐHH ngày 30 tháng 12 năm 2022
của Giám đốc Đại học Huế)*

Cho luận án của Nghiên cứu sinh: **Ngô Thị Diễm My**

Đơn vị đào tạo: **Viện Công nghệ sinh học, Đại học Huế**

Người hướng dẫn:

- **PGS.TS. Nguyễn Thị Thu Liên, Trường Đại học Khoa học, Đại học Huế**
- **PGS.TS. Tôn Thất Pháp, Trường Đại học Khoa học, Đại học Huế**

T T	Họ và tên	Đơn vị công tác	Chức trách trong Hội đồng
1	PGS.TS. Trương Thị Hồng Hải	Viện Công nghệ sinh học, Đại học Huế	Chủ tịch
2	GS.TS. Đặng Diễm Hồng	Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam	Phản biện 1
3	GS.TS. Đoàn Như Hải	Viện Hải Dương học Nha Trang	Phản biện 2
4	PGS.TS. Phạm Thanh Lưu	Viện Sinh học nhiệt đới	Phản biện 3
5	TS. Nguyễn Thị Kim Cúc	Viện Công nghệ sinh học, Đại học Huế	Thư ký
6	PGS.TS. Phạm Thị Ngọc Lan	Trường Đại học Khoa học, Đại học Huế	Ủy viên
7	TS. Nguyễn Thị Đông Phương	Trường Đại học Sư phạm Kỹ thuật Đà Nẵng	Ủy viên

Danh sách gồm 07 thành viên./.



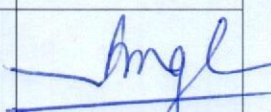
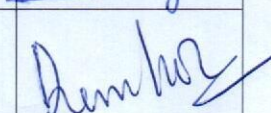
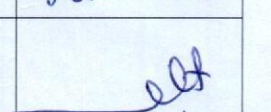
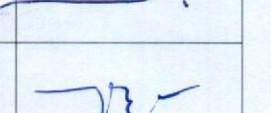
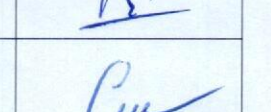
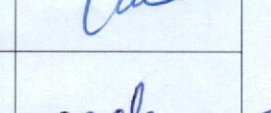
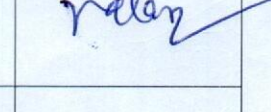
**DANH SÁCH CÁC THÀNH VIÊN HỘI ĐỒNG CÓ MẶT CHẤM LUẬN ÁN
TIẾN SĨ CẤP ĐẠI HỌC HUẾ**

Cho luận án Nghiên cứu sinh: **Ngô Thị Diễm My**

Đơn vị đào tạo: **Viện Công nghệ sinh học, Đại học Huế**

Người hướng dẫn:

- PGS.TS. Nguyễn Thị Thu Liên, Trường Đại học Khoa học, Đại học Huế
- PGS.TS. Tôn Thất Pháp, Trường Đại học Khoa học, Đại học Huế

T T	Họ và tên	Đơn vị công tác	Chức trách trong Hội đồng	Chữ ký
1	PGS.TS. Trương Thị Hồng Hải	Viện Công nghệ sinh học, Đại học Huế	Chủ tịch	
2	GS. TS. Đặng Diễm Hồng	Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam	Phản biện 1	
3	GS.TS. Đoàn Như Hải	Viện Hải Dương học Nha Trang	Phản biện 2	
4	PGS.TS. Phạm Thanh Lưu	Viện Sinh học nhiệt đới	Phản biện 3	
5	TS. Nguyễn Thị Kim Cúc	Viện Công nghệ sinh học, Đại học Huế	Thư ký	
6	PGS.TS. Phạm Thị Ngọc Lan	Trường Đại học Khoa học, Đại học Huế	Ủy viên	
7	TS. Nguyễn Thị Đông Phương	Trường Đại học Sư phạm Kỹ thuật, Đà Nẵng	Ủy viên	

Danh sách gồm 07 thành viên./.

BẢN NHẬN XÉT LUẬN ÁN TIỀN SĨ CẤP ĐẠI HỌC HUẾ

Họ và tên người nhận xét: Trương Thị Hồng Hải

Học hàm: PGS, Học vị: TS

Chuyên ngành: Khoa học nghề vườn/Chọn tạo giống phân tử

Cơ quan công tác: Viện Công nghệ sinh học, Đại học Huế

Chức trách trong hội đồng: Chủ tịch hội đồng

Họ và tên nghiên cứu sinh: Ngô Thị Diễm My

Chuyên ngành: Sinh học

Mã số: 9420101

Tên đề tài luận án: **Xác định thành phần loài và khả năng sinh độc tố *Cylindrospermopsin* của vi khuẩn lam trong một số thủy vực ở Đắc Lắc.**

Ý KIẾN NHẬN XÉT

1. Tính cần thiết, thời sự, ý nghĩa khoa học và thực tiễn của đề tài luận án.

Đắc Lắc là một tỉnh nằm trên địa bàn Tây Nguyên Việt Nam với nhiều vùng đất ngập nước có cấu trúc và nguồn gốc khác nhau (MOSTE, 2001). Nơi đây được mệnh danh là “**Xứ sở của hồ**” với phần lớn trong số chúng là hồ chứa. Bên cạnh vai trò tự nhiên của hồ như điều hòa khí hậu, điều tiết dòng chảy, hồ còn là nguồn cung cấp nước mặt chủ yếu cho các hoạt động sống như: cung cấp nước uống, nước sinh hoạt, chăn nuôi, trồng trọt, nuôi trồng thủy sản và dịch vụ du lịch (Sở NN&PTNN Đắc Lắc, 2018). Gần đây, do biến đổi khí hậu, Đắc Lắc đã xuất hiện những hiện tượng thời tiết cực đoan như: mưa lớn trong một thời gian ngắn, khô hạn kéo dài khắc nghiệt đã làm giảm lượng nước và tăng thời gian tồn lưu nước trong hệ thống hồ chứa. Điều này sẽ thúc đẩy quá trình phú dưỡng bên trong hệ thống hồ. Bên cạnh đó, việc thay đổi diện tích và mục đích sử dụng đất, canh tác nông nghiệp không hợp lý xung quanh vùng lưu vực đã đưa vào hồ một lượng

lớn dư lượng phân bón và thuốc trừ sâu hóa học. Cùng với lượng nước thải sinh hoạt, đây được xem là nguyên nhân làm suy giảm chất lượng nước, gây ra hiện tượng phú dưỡng trong các thủy vực dạng hồ ở Đắk Lắk. Hiện tượng này dẫn đến tăng độ đục, tăng hàm lượng dinh dưỡng và tăng sinh khối thực vật phù du, đặc biệt là nhóm loài vi khuẩn lam (VKL) độc hại. Một số chi VKL sinh độc tố có khả năng hình thành hiện tượng nở hoa (CyanoHABs) gây thiệt hại lớn về kinh tế, phá vỡ hệ sinh thái và tạo ra các loại độc tố tự nhiên giải phóng trực tiếp vào môi trường nước. Chính vì vậy, Luận án đã cung cấp những thông tin đầu tiên liên quan tới các loài tảo, các loài tảo độc có khả năng sinh độc tố CYN ở hai hồ Ea Nhái và Buôn Phong ở Đắk Lắk nhằm cung cấp bằng chứng về sự hiện diện của tảo độc và nguy cơ ảnh hưởng tới hệ sinh thái của hồ và sức khỏe con người. Kết quả nghiên cứu đạt được sẽ làm cơ sở cho việc dự báo nguy cơ ô nhiễm cũng như đề xuất biện pháp quản lý nhóm loài VKL độc hại, góp phần bảo vệ nguồn tài nguyên nước, bảo vệ sức khỏe cộng đồng.

2. Sự không trùng lặp của đề tài nghiên cứu so với các công trình, luận văn, luận án đã được công bố trong và ngoài nước của các tác giả khác; tính trung thực, rõ ràng, đầy đủ trong trích dẫn tài liệu tham khảo

Tại thời điểm hiện tại, kết quả nghiên cứu trình bày trong luận án không trùng lặp với các kết quả được công bố trong nước và trên thế giới

3. Sự phù hợp giữa tên đề tài với nội dung, giữa nội dung với chuyên ngành và mã số chuyên ngành.

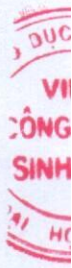
Kết quả nghiên cứu của luận án phù hợp với ngành đào tạo là Sinh học (Mã số: 9420101)

4. Độ tin cậy, tính hiện đại của các phương pháp đã sử dụng để nghiên cứu.

Các phương pháp nghiên cứu đảm bảo khoa học, logic và tin cậy từ các công trình được công bố ở các tạp chí có uy tín,

5. Đánh giá các kết quả nghiên cứu mới đạt được; những đóng góp mới cho sự phát triển khoa học của chuyên ngành; đóng góp mới cho phục vụ sản xuất, kinh tế, xã hội và đời sống. Ý nghĩa khoa học, giá trị và độ tin cậy của những kết quả đó.

Kết quả của luận án được công bố lần đầu về thành phần loài VKL và các loài VKL có khả năng sinh độc tố ở hai hồ lớn ở Đắk Lắk và đã xác định được các nhân tố quan trọng



liên quan tới sự biến động của các chủng vi khuẩn lam trong hồ. Điều này có ý nghĩa lớn trong việc dự báo nguy cơ của độc tố CYN trong những hồ nghiên cứu, làm cơ sở để phân tích độc tố này trong các hồ khác ở Đắk Lắk, đặc biệt là các hồ chứa nước sinh hoạt.

6. Những ưu điểm và nhược điểm về nội dung, kết cấu và hình thức của luận án. Những góp ý chỉnh sửa về hình thức, nội dung, phương pháp nghiên cứu, cấu trúc... của luận án

Ưu điểm: Kết quả của các nội dung nghiên cứu rõ ràng, phần tổng quan có đa dạng thông tin về độc tố CYN nghiên cứu; phương pháp nghiên cứu đầy đủ phần kết quả nghiên cứu có sự phân tích so sánh với những kết quả đã công bố để người đọc có được những thông tin liên quan tới nghiên cứu đã thực hiện trước đó.

Nhược điểm:

Phần tổng quan: Chưa nổi bật tính cấp thiết khi chọn hồ Ea Nhái và Buôn Phong để lấy mẫu nghiên cứu.

Phần kết quả

Cần làm rõ tại sao chủng CBP4 không mang gen độc B, C nhưng phân tích thấy có khả năng sinh độc tố CYN hàm lượng cao. Có thể kiểm tra lại hoặc bằng gen khác, hoặc bằng phương pháp khác để định loại lại có phải CBP4 là loài *R. raciborskii* hay không.

Phần kết luận

Kết luận quá dài, cần viết lại ngắn gọn tương ứng với các nội dung nghiên cứu.

7. Nội dung luận án đã được công bố trên tạp chí, kỷ yếu hội nghị khoa học nào và giá trị khoa học của các công trình đã công bố.

- 01 bài báo công bố trên Tạp chí Khoa học Đại học Huế: Khoa học Tự nhiên theo quy định đào tạo của ĐHH, 01 bài trên tạp chí Q3 Polish Journal of Environmental Studies, 01 bài đăng ở kỷ yếu hội nghị CNSHTQ 2020, 01 bài đăng ở tạp chí Q2 Vietnam Journal of Earth Sciences. Các kết quả bài báo trùng với kết quả của luận án.

8. Kết luận chung cần khẳng định mức độ đáp ứng các yêu cầu đối với một luận án tiến sĩ; bản tóm tắt luận án phản ánh trung thành nội dung cơ bản của luận án hay không.

Luận án có số liệu phong phú, kết quả đạt được có ý nghĩa khoa học, thực tiễn, có tính mới và ứng dụng cao. Bản tóm tắt luận án phản ánh được các nội dung nghiên cứu

16

Ý KIẾN ĐỀ NGHỊ

(Ghi rõ đồng ý hay không đồng ý cho NCS bảo vệ trước hội đồng
đánh giá luận án cấp Đại học Huế)

Đồng ý cho NCS Ngô Thị Diễm My bảo vệ trước hội đồng đánh giá luận án ở cấp Đại học Huế

Xác nhận của cơ quan

K.T. **VIỆN TRƯỞNG**
PHÓ VIỆN TRƯỞNG

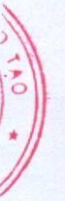


TS. Nguyễn Đức Huy

Huế, ngày 07 tháng 02 năm 2023

Người nhận xét ký tên

PGS.TS. Trương Thị Hồng Hải



Hà Nội, ngày 29 tháng 1 năm 2023

NHẬN XÉT LUẬN ÁN TIẾN SỸ

Tên đề tài: Xác định thành phần loài và khả năng sinh độc tố *Cylindrospermopsis* của vi khuẩn lam trong một số thủy vực ở Đắk Lắk

Chuyên ngành: Sinh học

Mã số: 9420101

Người nhận xét: GS. TS. NCVCC. Đặng Diễm Hồng **Phản biện 1**

Cơ quan công tác của người nhận xét: Viện Công nghệ sinh học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

NỘI DUNG NHẬN XÉT

Luận án của NCS Ngô Thị Diễm My có 126 trang kể cả phụ lục. Trong đó, chương 1 có Mở đầu 3 trang, Chương 1: 37 trang; Chương 2: 9 trang; Chương 3: 60 trang; Kết luận và kiến nghị: 2 trang; Danh mục các công trình đã công bố: 1 trang; Tài liệu tham khảo gồm 136 tài liệu (14 trang) trong đó có 59 tài liệu công bố trong vòng 5 năm trở lại đây (từ 2017-2023) chiếm 43,4%. Luận án có 4 phụ lục (26 trang). Luận án có 22 hình và 16 Bảng. Luận án nhìn chung trình bày đẹp, bố cục cân đối, hình ảnh và Bảng biểu rõ ràng, số liệu phong phú, đáng tin cậy, tài liệu tham khảo cập nhật. Về hình thức luận án đáp ứng hoàn toàn một luận án Tiến sĩ Sinh học.

1. Đề tài có phù hợp với chuyên ngành không?

Đề tài nghiên cứu của nghiên cứu sinh Ngô Thị Diễm My hoàn toàn phù hợp với chuyên ngành đào tạo là Sinh học (Mã số 9420101). Các kết quả nghiên cứu thu được của luận án hoàn toàn phù hợp với chuyên ngành đào tạo Sinh học.

2. Đề tài luận án, các số liệu, các kết quả nghiên cứu, các nhận xét, kết luận có trùng lặp với các luận án đã bảo vệ trong nước và ngoài nước không?

Theo như thông tin mà phản biện 1 có được cho đến thời điểm hiện tại thì đề tài luận án, các số liệu, các kết quả nghiên cứu, các nhận xét, kết luận không trùng lặp với bất cứ một luận án nào đã được bảo vệ trong nước và nước ngoài.

Tóm tắt luận án (cả tiếng Việt và tiếng Anh) đều phản ánh trung thực nội dung, kết quả thu được của luận án.

3. Việc trích dẫn tư liệu có rõ ràng, đầy đủ và trung thực không?

Các tài liệu được sử dụng trong luận án được trích dẫn đầy đủ, theo đúng quy định của luận án Tiến sĩ. Nội dung trích dẫn đã đảm bảo chính xác, trung thực phù hợp với vấn đề cần tham khảo và bàn luận. Tuy nhiên, phản biện 1 thấy các tài liệu là luận văn cao học có thể không được sử dụng là tài liệu tham khảo cho các luận án Tiến sĩ. Việc này cần xem xét cho chính xác hơn.

4. Kết quả nghiên cứu của luận án có đóng góp gì mới cho lĩnh vực khoa học chuyên ngành? Ý nghĩa khoa học, giá trị thực tiễn và độ tin cậy của các kết quả đó?

Kết quả nghiên cứu của đề tài về mặt khoa học đã cung cấp các dẫn liệu khoa học hoàn toàn mới ở Việt Nam và có giá trị cao về thành phần loài vi khuẩn lam (VKL) có khả năng sinh độc tố cylindrospermopsin (CYN) trong hồ Ea Nhái và Buôn Phong, Đắk Lắk; lần đầu tiên cung cấp dữ liệu về hàm lượng độc tố CYN trong tự nhiên và hàm lượng độc tố và gen sinh tổng hợp độc tố CYN của các chủng VKL phân lập từ 2 hồ nghiên cứu trong điều kiện tự nhiên và phòng thí nghiệm; xác định được các nhân tố môi trường chính gồm nhiệt độ, P- P_{04} , N- NH_4 , TP, TN ảnh hưởng đến sự biến động quần thể của nhóm loài VKL có khả năng sinh độc tố CYN trong các hồ nghiên cứu.

Luận án có đóng góp về mặt nghiên cứu khoa học như sau: Cung cấp danh lục thành phần loài VKL và VKL có khả năng sinh độc tố CYN trong hai hồ Ea Nhái và Buôn Phong, góp phần bổ sung vào danh lục thành phần loài VKL và VKL có khả năng tạo độc tố này trong thủy vực ở Việt Nam; Cung cấp thông tin về hàm lượng độc tố CYN trong hồ Ea Nhái và hồ Buôn Phong ở Đắk Lắk.

Những đóng góp về mặt thực tế của luận án là: Xác định được yếu tố môi trường chủ đạo kiểm soát sự sinh trưởng quần thể VKL có khả năng sinh độc tố CYN trong tự nhiên từ đó có biện pháp kiểm soát và kiểm chế sự phát triển bùng phát của nhóm loài VKL độc này; Kết quả nghiên cứu sẽ làm cơ sở cho việc dự báo nguy cơ ô nhiễm cũng như đề xuất biện pháp quản lý nhóm loài VKL độc hại, góp phần bảo vệ nguồn tài nguyên nước, bảo vệ sức khỏe cộng đồng.

5. Trong số các kết luận tác giả đưa ra trong luận án, đề nghị Phản biện cho biết những kết luận nào là kết luận mới?

Luận án có đưa ra 04 kết luận tương ứng với 3 nội dung nghiên cứu, tuy nhiên còn nội dung nghiên cứu xác định sự hiện diện của gen liên quan đến sinh độc tố CYN và hàm lượng độc tố của các chủng VKL phân lập được trong hai hồ nghiên cứu là chưa được đưa ra; các kết luận đưa ra là phù hợp với mục tiêu nghiên cứu cụ thể.

Theo phản biện thì cả 04 kết luận này đều là kết luận mới đối với 2 hồ được lựa chọn cho nghiên cứu là hồ Ea Nhái và Buôn Phong, Đắk Lắk. Tuy nhiên, kết luận 1, 2 và 4 cần viết ngắn gọn lại; cần bổ sung thêm kết luận về sự hiện diện của 1 hoặc cả 2 gen *cyrB* và *cyrC* mã hóa cho sinh tổng hợp độc tố CYN với việc ghi nhận được hàm lượng độc tố CYN ở các chủng VKL độc có khả năng sinh độc tố CYN trong điều kiện tự nhiên và trong điều kiện được nuôi ở phòng thí nghiệm.

6. Các bài báo của tác giả đã công bố có phản ánh các kết quả chủ yếu của luận án? Chất lượng các bài báo và nhận định của Phản biện về Tạp chí đã đăng bài của nghiên cứu sinh (NCS)?

NCS NT D My đã công bố được 4 bài báo được đăng trên các Tạp chí trong và ngoài nước có uy tín, có chất lượng rất tốt và là tác giả đứng đầu tên bao gồm: 01 bài trên tạp chí Pol. J. Environ. Stud, Vol. 31, No 4 (2022), 1-12; 01 bài đăng ở Vietnam Journal of Earth Sciences, 44(2), 257-272; 01 bài đăng tại tạp chí Khoa học Đại học Huế: Khoa học Tự nhiên, Tập 131, Số 1A, 43-49, 2022; 01 bài báo cáo toàn văn tại Hội nghị Công nghệ Sinh học toàn quốc 2020; trang 983-989. Nội dung của 4 bài báo nêu trên đều là các kết quả chính của Luận án. Các công bố được đăng ở các tạp chí khoa học nêu trên đều là các tạp chí chuyên ngành có uy tín khoa học cao trong và ngoài nước, có phản biện. Trong đó bài báo quốc tế Pol. J. Environ. Stud. thuộc danh mục SCI-E, Q3, có IF là 1,699.

Các công trình nghiên cứu này có chất lượng tốt, nội dung trong bài báo phù hợp và phản ánh trung thực với nội dung nghiên cứu và kết quả chủ yếu của luận án.

7. Đồng ý hay không đồng ý cho NCS bảo vệ luận án trước Hội đồng chấm luận án cấp Trường?

*** Phản biện 1 hoàn toàn đồng ý cho NCS Ngô Thị Diễm My bảo vệ luận án ở cấp Đại học Huế.**

Tuy nhiên, luận án cần chỉnh sửa một số lỗi nhỏ như sau:

- Mục tiêu nên viết ngắn gọn 3 ý như: (1) Đánh giá đa dạng về thành phần loài VKL; VKL có khả năng sinh độc tố CYN trong hồ Ea Nhái, hồ Buôn Phong ở Đắk Lắk; (2) Đánh giá rủi ro tiềm ẩn của nhóm VKL có khả năng sinh độc tố CYN; (3) Xác định được nhân tố môi trường chính ảnh hưởng đến sự biến động quần thể của các loài VKL có khả năng sinh độc tố CYN trong các hồ nghiên cứu.
- Về ý nghĩa khoa học: Thay thế “kết quả là cơ sở cho việc dự báo nguy cơ ô nhiễm” thành “cung cấp cơ sở khoa học cho việc dự báo”.
- Về những điểm mới của luận án: cần viết ngắn gọn lại, tránh trùng lặp ý
- Trang 12 và 18 thay đổi cho chính xác hơn: “nó kéo dài 43 kb” thành “nó có kích thước 43 kb”.
- Phần 1.2.4. Quá trình tổng hợp độc tố cylindrospermopsin có thể thêm sơ đồ tổng hợp CYN thì người đọc sẽ dễ nắm bắt và hiểu hơn (trang 12).

- Nhiều khái niệm cần viết rõ trước khi dùng ký hiệu như: một tổ hợp lai NRPS/PKS (trang 12); trang 13 gen liên quan đến quá trình tự chết (BAX và BCL2-2); phản ứng stress ô xy hóa (GPX1, GSP, GCLC và SOD1); giảm ô xy phản ứng ROS (trang 14); TNF- α cho rõ trước khi viết tắt (trang 15);
- Viết LD₅₀ cho đúng.
- Khi loài mới xuất hiện lần đầu tiên trong luận án, cần phải viết rõ tên chi. Ví dụ: *W. arhiza* thì cần phải viết rõ W là gì, tương tự *C. pyrenoidosa* (trang 16)...
- Cần viết lại cho dễ hiểu một số câu văn. Ví dụ: “Sự hiện diện của 1 amplicon dương tính khi điện di trên gel agarose cho thấy sự tồn tại của các loài VKL sản xuất CYN tiềm năng (trang 19); “Ngoài ra, NGS cho thấy sự vượt trội rõ rệt trong việc giám sát các đơn vị phân loại có mức độ phong phú thấp mà hầu như không thể phát hiện được bằng kính hiển vi” (trang 20). Trang 29, 30: viết cho đúng câu với hàm lượng (flux) photon tối ưu cho sự phát triển từ 50-120 $\mu\text{mol photon (PAR) m}^{-2}\text{s}^{-1}$
- Cần thay đổi NGS- next generation sequencing là giải trình tự gen thế hệ mới chứ không phải là giải trình tự thế hệ tiếp theo (trang 19).
- Cách viết 16-23S ITS và 1 số gen protein (rpo, rbc, psb, cpcBA, - IGS) là chưa chính xác, cần viết cho đúng (trang 20, 21). Viết đúng 16S - ITS-23S rRNA; gen mã hóa cho protein.
- Trang 30: thay môi trường ánh sáng thay đổi thành cường độ ánh sáng thay đổi.
- Trang 31: nên thay đổi xác định được 12 loài... thành ghi nhận được 12 loài.
- Phần 1.5. Điều kiện tự nhiên chung của khu vực nghiên cứu (trang 35-36), cần bổ sung thêm tài liệu tham khảo; bổ sung Sở NN & PTNT Đắk Lắk, 2018.

Chương 3

- Bảng 3.1 cần nêu rõ mùa mưa và mùa khô là khi nào ở phần thu mẫu (chương 2).
- Mục 3.1.2. Mô tả hình thái các vùng nghiên cứu: Cần đưa khóa phân loại và tài liệu tham khảo tương ứng cùng với mô tả của NCS thu được.
- Cần bổ sung cách đo kích thước tế bào vào phương pháp nghiên cứu
- *Lyngbya* sp. (Hình 7.5.d) thay bằng Hình 3.5d (trang 61)
- Trang 68, Hình 3.7 thiếu chú thích e, f, g, h; cần bổ sung thêm vào chú thích hình
- Bảng 3.2 phải chỉ rõ loài VKL nào thuộc hồ Buôn Phong; loài nào thuộc hồ Ea Nhá (trang 70)
- Trang 71: chữa *Microcystis* ssp. bằng *Microcystis* spp.
- Bỏ các ký hiệu đầu dòng đi (trang 81)
- Hình 3.11 cần bổ sung chú thích a, b, c, d, e, f, g, h, i là gì (trang 83)
- Trang 87-88: cần xem lại chỗ thì ghi nồng độ CYN trong các chủng dao động từ 0,16 đến 0,504 $\mu\text{g/g DW}$ chỗ thì ghi “trong đó chủng *R. raciboskii* có nồng độ cao nhất là 0,504 $\mu\text{g/g DW}$ nhưng ở trang 88 lại kết luận lượng độc tố trong các chủng ở những loài khác nhau, cao nhất ở chủng RMEN2 thuộc loài *R. mediterranea* 0,584 $\mu\text{g/g}$ trọng lượng khô và thấp nhất ở

chủng CBP3 thuộc loài *R. raciborskii* 0,016 µg/g trọng lượng khô. Cần thống nhất cách ghi g DW hay g trọng lượng khô trong toàn luận án.

- Tại sao Bảng 3.6 đưa hàm lượng độc tố CYN của 24 chủng VKL phân lập từ 2 hồ nghiên cứu (trong đó có 17 chủng phát hiện được hàm lượng CYN và 7 chủng không phát hiện thấy CYN) nhưng khi chạy PCR để xác định sự hiện diện của gen *cyrB* và *cyrC* lại chỉ chạy PCR với 21 chủng. Tức là chỉ sử dụng 21/24 mẫu và không có mẫu AcBP2, PLBP1, PLBP2. Việc không chọn 3 mẫu này cần có biện luận rõ ràng hơn trong luận án.

- Trang 90: có 6/21 chủng không xuất hiện cả 2 đoạn gen *cyrB* và *cyrC* gồm ABP8, ABP10, CBP3, CBP4, LyEN2, OsBP1 thuộc *Anabaena* sp.2; *R. raciborski*, *Lyngbya* sp.; *Oscillatoria* sp.3. Như vậy chủng OsBP1; LyEN2 và ABP10 không phát hiện được CYN và không có gen *cyrB* và *cyrC*; còn 3 chủng CBP4, CBP3, ABP8 có phát hiện thấy CYN lại không phát hiện được sự hiện diện của cả 2 gen trên?. Cần giải thích ngắn gọn hơn và có sức thuyết phục hơn (Bảng 3.8 trang 96).

Như vậy về logic khoa học: có mặt gen *cyrB/cyrC* nhưng có thể không xác định được hàm lượng độc tố CYN (sản phẩm của gen) thì các gen quyết định lên sinh tổng hợp độc tố đã không biểu hiện nên không có sản phẩm gen. Nhưng nếu xác định được hàm lượng CYN – sản phẩm gen mà lại không xác định được sự hiện diện của gen *cyrB/cyrC* thì mới cần xem xét lý do tại sao: có gen nhưng không có sản phẩm gen CYN thì có thể gen không biểu hiện hoặc lỗi do phản ứng PCR cho kết giả hoặc có thể 2 đoạn gen *cyrB/cyrC* chưa phải quyết định đến tổng hợp CYN mà có thể là các gen khác *cyrA-cyrJ*... cần khảo sát thêm sự có mặt của các cụm gen khác nữa.

Kết luận:

- Kết luận của luận án cần viết ngắn gọn lại. Thiếu kết luận về gen *cyrB*, *cyrC* liên quan đến sự ghi nhận được có và không có hàm lượng độc tố CYN ở các loài VKL có khả năng sinh độc tố.

Người nhận xét 1 có 1 câu hỏi nhỏ như sau:

Câu hỏi: Công bố của nghiên cứu sinh đăng trên Tạp chí Khoa học Đại học Huế: Khoa học tự nhiên có công bố thành phần loài VKL ở hồ Buôn Phong ghi nhận được 23 loài nhưng số liệu khoa học và kết luận của luận án lại ghi nhận được 26 loài. Cũng tương tự ở bài báo toàn văn đăng ở Hội nghị Công nghệ Sinh học công bố 33 loài VKL ghi nhận được ở 2 hồ Ea Nhái và hồ Buôn Phong nhưng trong luận án trình bày kết quả có 34 loài VKL được ghi nhận ở hai hồ nêu trên. NCS giải thích tại sao có sự khác biệt này?.

Kết luận chung: Luận án của NCS Ngô Thị Diễm My có số liệu phong phú, kết quả nghiên cứu thu được có tính cấp thiết cao, có ý nghĩa khoa học, có tính mới và tính ứng dụng trong thực tiễn cao trong việc giám sát, cảnh báo các loài vi khuẩn lam độc hại nhằm giảm thiểu tác hại do chúng gây ra đối với hệ sinh thái nước ngọt và an toàn cho sức khỏe người và động vật sống trong vùng 2 hồ Ea Nhái và hồ Buôn Phong của Đắk Lắk. Luận án có bố cục cân đối,

Bảng biểu hình ảnh rõ ràng, đáng tin cậy, các phương pháp nghiên cứu là chuẩn, hiện đại bảo đảm số liệu thu được có độ tin cậy cao. Kết luận và kiến nghị phù hợp với các kết quả nghiên cứu thu được. Nghiên cứu sinh đã công bố được 4 công bố và đứng đầu tên trên các tạp chí khoa học uy tín và có chất lượng cao trong và ngoài nước. Luận án của NCS My hoàn toàn đáp ứng được tiêu chuẩn của một luận án Tiến sĩ Sinh học.

Tôi hoàn toàn đồng ý đề NCS Ngô Thị Diễm My được bảo vệ luận án Tiến sĩ của mình trước Hội đồng cấp Đại học Huế. NCS Ngô Thị Diễm My hoàn toàn xứng đáng được nhận học vị Tiến sĩ chuyên ngành Sinh học.

Hà Nội, ngày 29 tháng 1 năm 2023

Xác nhận chữ ký của Viện CNSH

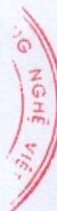
Người phản biện 1



PHÓ VIỆN TRƯỞNG
Nguyễn Trung Nam

A handwritten signature in blue ink, likely belonging to GS.TS.NCVCC. Đặng Diễm Hồng.

GS.TS.NCVCC. Đặng Diễm Hồng



BẢN NHẬN XÉT LUẬN ÁN TIẾN SĨ CẤP ĐẠI HỌC HUẾ

Họ và tên người nhận xét: Đoàn Như Hải

Chức danh khoa học: GS

Học vị: TS

Chuyên ngành: Thực vật học/Thủy Sinh học

Cơ quan công tác: Viện Hải Dương học

Chức trách trong hội đồng: Phản biện 2

Họ và tên nghiên cứu sinh: Ngô Thị Diễm My

Chuyên ngành: Sinh học

Mã số: 9420101

Đề tài luận án: **Xác định thành phần loài và khả năng sinh độc tố *Cylindrospermopsin* của vi khuẩn lam trong một số thủy vực ở Đắc Lắc**

Ý KIẾN NHẬN XÉT

1. Tính cần thiết, thời sự, ý nghĩa khoa học và thực tiễn của đề tài luận án:

Vi khuẩn lam (VKL) đóng vai trò quan trọng trong các thủy vực nước ngọt và thường được chọn là một trong những chỉ thị để đánh giá chất lượng nước. Nhiều loài của nhóm vi tảo này sản sinh các độc tố gây hại đến sức khỏe sinh vật và con người. Nghiên cứu về đối tượng vi khuẩn lam gây hại ở vùng nhiệt đới chưa nhiều, ở Việt Nam còn ít hơn nữa. Vì thế, đề tài luận án có ý nghĩa cả về mặt khoa học lẫn thực tiễn.

2. Sự không trùng lặp của đề tài nghiên cứu so với các công trình, luận văn, luận án đã công bố ở trong và ngoài nước; tính trung thực, rõ ràng và đầy đủ trong trích dẫn tài liệu tham khảo

Nghiên cứu VKL và VKL gây hại là những nghiên cứu không mới trên thế giới và đã được thực hiện từ rất lâu. Đối với các độc tố được sản sinh bởi VKL thì độc tố *Cylindrospermopsin* (CYN) là tương đối mới. *Cylindrospermopsin* được phát hiện từ 1992 và đã có nhiều tiến bộ trong việc phát triển phương pháp phát hiện cũng như cấu trúc độc tố từ hơn 4 thập kỷ qua. Tuy nhiên, nghiên cứu ở các thủy vực nhiệt đới còn ít. Vì vậy, các nội dung của luận án đã thực hiện là không trùng lặp. Nghiên cứu được trình bày rõ ràng từ phương pháp đến kết quả và đầy đủ nội dung như mục tiêu đã đề xuất. Các tài liệu tham khảo được trình bày và trích dẫn rõ ràng.

3. Sự phù hợp giữa tên đề tài với nội dung, giữa nội dung với chuyên ngành và mã số chuyên ngành.

Phù hợp

4. Độ tin cậy và tính hiện đại của phương pháp đã sử dụng để nghiên cứu.

Các phương pháp thu mẫu và phân tích mẫu VKL là thường quy ở Việt Nam và trên thế giới và được trích dẫn đầy đủ. NCS đã sử dụng các phương pháp phân tích độc tố cơ bản sử dụng phản ứng miễn dịch và phân tích hóa học trên sắc ký lỏng hiệu năng cao cho các dòng VKL phân lập được từ 2 thủy vực ở Đắk Lắk. Phương pháp phân lập và nuôi cấy là thường quy quốc tế và được trích dẫn đầy đủ với sự thành công của 24 chủng phân lập được. Các phân tích độc tố được hỗ trợ bởi các phân tích sinh học phân tử trên chỉ thị gen *cyrB* và *cyrC* đã cho kết quả tốt

5. Đánh giá các kết quả nghiên cứu mới của tác giả; đóng góp mới cho sự phát triển khoa học chuyên ngành; đóng góp mới cho phục vụ sản xuất, kinh tế, xã hội và đời sống. Ý nghĩa khoa học và độ tin cậy của những kết quả đó.

Kết quả mới mà luận văn đã mang lại ba gồm khẳng định 4 loài sản sinh độc tố CYN ở 2 hồ chứa trên cao nguyên Trung Bộ dựa trên 3 phương pháp phân tích: ELISA, HPLC và chỉ thị gen *cyrB* và gen *cyrC*.

6. Những ưu điểm và nhược điểm về nội dung, kết cấu và hình thức của luận án. Những góp ý chỉnh sửa về hình thức, nội dung, phương pháp nghiên cứu, cấu trúc ... của luận án.

Luận án là nghiên cứu hoàn chỉnh về thành phần loài VKL có khả năng sản sinh độc tố trong 01 thủy vực ở Đắk Lak và xác định loài sản sinh độc tố bằng các phương pháp phân tích khác nhau. Luận án đạt được kết quả nghiên cứu tốt và đã có xuất bản tốt trên tạp chí ISI và Scopus. Cách trình bày luận án là phù hợp và tuân thủ theo quy định của cơ sở đào tạo. Các phân được phân bố khá phù hợp với nội dung, các hình ảnh đẹp và ít lỗi chính tả.

Các đóng góp chung về chỉnh sửa bao gồm một vài điểm sau:

- 1- Các tài liệu tham khảo nên được cân trọng rà soát về cách thức tham khảo, nơi tham khảo và định dạng danh sách tham khảo. Tham khảo tài liệu lưu ý chủ yếu trong phần tổng quan và kết quả nghiên cứu. Liệt kê đầy đủ các chữ viết tắt.
- 2- Trong nội dung chính của luận án, phần tổng quan nên xem xét phương thức trình bày vấn đề liên quan đến tài liệu tham khảo gốc, các thuật ngữ sử dụng, hay cách diễn đạt thoát khỏi lối văn dịch.
- 3- Trong kết quả cần cân nhắc rút gọn và bổ sung (nếu có thể) một vài phần hay bảng biểu để tăng cường thông tin/nâng cao các kết quả đạt được của luận án.

Cụ thể, các ý đóng góp chi tiết như sau:

- Kết luận về tác động của CYN (trang 17) cần cẩn trọng hơn. Các nghiên cứu dẫn chứng có khác biệt về hình thức thí nghiệm (nuôi chung với loài sản sinh CYN và phơi nhiễm CYN) và nồng độ (từ 1 – 100 mG CYN) nên đương nhiên là kết quả khác nhau;
- Phần dẫn của mục 1.3, các đoạn sai nghĩa “các công trình này” (dẫn 1 tài liệu tổng quan) hay thừa (độc tố phát hiện trong 1 loài) cần được biên tập lại.
- Viết và sử dụng tên khoa học. Trong luận văn, việc viết tắt tên khoa học còn tùy tiện, viết tắt tên chi khi chưa viết tên chi đầy đủ và viết tắt tên chi với 3 ký tự. Thông thường, tên chi nếu viết tắt chỉ được viết trong những trường hợp/quy định sau: Viết tắt sau lần viết đầy đủ đầu tiên trong bài; chỉ viết tắt ký tự đầu tiên; không viết tắt ở đầu câu.
- Tên Latin cần kiểm tra lại. Ví dụ: sai tên loài *Daphnia sinensis*.
- Tài liệu tham khảo cần được kiểm tra cẩn thận. Vẫn còn tài liệu tham khảo có tham khảo nhưng chưa có trong danh sách. Tham khảo tài liệu thứ cấp nên được giảm thiểu tối thiểu **để đảm bảo tính công bằng cho các tài liệu gốc**. Hiện nay việc sử dụng tài liệu hầu như không bị cản trở gì, nhất là trong lĩnh vực giáo dục. Ví dụ, sử dụng tài liệu tổng quan của Yang và cộng sự (2021) trong phần độc tố/độc tính. Ví dụ khác, tác giả sử dụng tài liệu của Xiao và cs. (2020) khi nói về sự kiện ngộ độc ở Australia năm 1979 mà chưa/không kiểm tra các tài liệu thực tế đã đề cập đến vấn đề này và đã phổ biến (tự do) trong tư liệu khoa học (ví dụ Hawkins và cs. 1985, doi: [10.1128/aem.50.5.1292-1295.1985](https://doi.org/10.1128/aem.50.5.1292-1295.1985)).
- Việc tham khảo thứ cấp đôi khi dẫn đến sự thiếu trong sáng (hoặc lỗi) trong đoạn văn. Ví dụ, trang 13 “Straser và cs. (2013a, b) đã phát hiện thấy chu kỳ tế bào bị ngừng lại, (Yang và cs., 2021)” tham khảo cả 2 tài liệu và không rõ ai là người được tham khảo. Lưu ý Yang và cs. chỉ là tài liệu tổng quan nên khó là tác giả của nghiên cứu mà NCS đề cập đến. NCS có liệt kê Straser 2013 trong danh sách TLTK và chỉ có 1 tài liệu, không có tài liệu a và b.
- Tài liệu trích dẫn để nguyên tên tác giả “Marisa Freitas”
- Trích dẫn 2 lần (thừa) ở phần đầu câu và phần cuối câu của cùng 1 tài liệu (ví dụ trang 18-19).
- Chữ viết tắt: Còn nhiều chữ viết tắt của các thuật ngữ còn nhiều, cần rà soát và bổ sung.
- Nhiều câu, đoạn văn, thuật ngữ còn chưa rõ nghĩa do ảnh hưởng của dịch thuật. Ví dụ “nước trong hồ đang bị nở hoa”; “nhóm phân tử của các loài..”; “tạo độc tố như chất cảm nhiễm”; “biến đổi chủng trong những quần thể”; “biến đổi nội đặc hiệu”; không thể cho sợi/trichome là “cá thể”; có nên gọi “phân đoạn gen *cyrB*” để chỉ gen *cyrB*? (tương tự với *cyrC*);

Trong phần kết quả, các đề nghị sau đây cần được cân nhắc xem xét

- Tương ứng với mục tiêu của luận văn, kết quả nên chú trọng phần lớn về các loài VKL có khả năng sản sinh độc tố CYN và các yếu tố sinh thái liên quan. Các phần khác nên giảm thiểu nhiều nhất có thể được.
- Trong mô tả các loài VKL, NCS lưu ý bổ sung các tài liệu tham khảo về phân bố cũng như đặc điểm sinh học sinh thái khi dẫn ý/tư liệu liên quan. Nếu đây là danh lục (như mục tiêu của LV) thì chưa đủ và chưa đúng. Các mô tả loài nên thống nhất trong các loài và theo trình tự chung cũng như sử dụng thuật ngữ đúng. Tên tác giả (sau tên loài) cần thống nhất ghi năm (hay không ghi năm) và kiểm tra lại tên cho đúng (ví dụ: *Chrysosporium ovalisporum*)
- Nhiều hình ảnh mờ hoặc không rõ đặc trưng phân loại, cần thay thế các hình rõ hơn. Hình không thể sử dụng để xác định loài, hình 3.5b. Hình bị mờ và kéo dẫn sai kích thước là các hình 3.8a-h; 3.11, 3.12
- Bảng 3.2 nên bổ sung thông tin về loại độc tố và hàm lượng (nếu có) thì sẽ nâng cao giá trị thông tin hơn.
- Bảng 3.2 nên thêm các loài “có khả năng sinh độc tố CYN” đã dẫn ra ở phần 3.1.2 (ví dụ *Anabaena*). Các loài thuộc chi này có sản sinh độc tố vì vậy chúng cũng nên được thêm vào bảng 3.2. Đồng thời, phải thống nhất cụm từ “có khả năng sinh độc tố” trong toàn luận văn.
- Bảng 3.6. Nên bổ sung thông tin về loài và nơi phân lập của các chủng. Phần mô tả các chủng phân lập có thể rút gọn hơn vì đã mô tả loài rồi. Vì thế bổ sung thông tin trong bảng 3.6. có thể bù vào số dòng được rút gọn.
- Loài/chủng nuôi trồng đã xác định sản sinh độc tố CYN bằng phương pháp ELISA và HPLC rồi thì không nên gọi là “có khả năng” sản sinh độc tố CYN hay “tiềm tàng”;
- Mục 3.3.4 nên là tương quan giữa sự hiện diện gen *cyrB* và *cyrC* với khả năng sản sinh độc tố CYN.
- Các chủng không nên chỉ ghi ký hiệu tên chủng mà nên ghi tên khoa học và mã chủng kèm theo trừ khi tên loài đã được nhắc đến (với tên các chủng) trong cùng đoạn văn.
- Việc nhận định sự hiện diện của gen *cyrB* và *CyrC* không nhất thiết phải được giải thích theo chiều hướng là chủng/loài không có các gen này hay thiếu 1 trong 2 gen này. Việc phân tích PCR cho các gen này còn tùy thuộc vào các yếu tố kỹ thuật khác có thể ảnh hưởng đến sự xuất hiện của sản phẩm PCR.
- Các đề mục quá dài (>2 dòng) nên có phương án rút gọn lại.

Phần kết luận nên tập trung vào những nội dung chính mà luận văn thực hiện, không nên viết quá dài về các nội dung thứ yếu.

7. Nội dung luận án đã được công bố trên tạp chí, kỷ yếu hội nghị khoa học nào và giá trị khoa học của các công trình đã công bố.

Công trình công bố: Đã công bố 04 bài báo khoa học trong đó có 02 bài báo trong danh mục tạp chí quốc tế Scopus và ISI và 02 bài báo đăng trong tạp chí quốc gia và hội thảo quốc gia. Các bài báo trong tạp chí quốc tế bao gồm:

- + 01 Bài trong tạp chí Vietnam Journal of Earth Sciences, tạp chí trong danh mục Scopus (IF=1.5); trong danh mục SCIE mới nổi (năm 2021) và là Q2 trong SCImago
- + 01 bài trong tạp chí Polish Journal of Environmental Studies, tạp chí trong danh mục Q4 SCIE (IF=1.8) của Web of Science; Scopus (2.8); và SCImago (Q3).

Các công bố đều do NCS là tác giả chính và đều là các nội dung chủ yếu của luận án.

8. Kết luận chung cần khẳng định mức độ đáp ứng các yêu cầu đối với một luận án tiến sĩ; bản tóm tắt luận án phản ánh trung thành nội dung cơ bản của luận án hay không.

Luận án đáp ứng được các yêu cầu của một luận án Tiến sĩ. Bản tóm tắt (tiếng Việt và tiếng Anh) phản ánh được các nội dung cơ bản của luận án.

Ý KIẾN ĐỀ NGHỊ

(Ghi rõ đồng ý hay không đồng ý cho NCS bảo vệ trước hội đồng đánh giá luận án cấp Đại học Huế)

Với kết quả đạt được và các công trình xuất bản từ kết quả của luận án, nghiên cứu sinh xứng đáng nhận được học vị Tiến sĩ. Tôi đồng ý cho NCS bảo vệ trước hội đồng đánh giá luận án cấp Đại học Huế.

Xác nhận của cơ quan

VIỆN TRƯỞNG



Đào Việt Hà

HL, ngày *01* tháng *3* năm 2023

Người nhận xét ký tên

Đào Việt Hà

BẢN NHẬN XÉT LUẬN ÁN TIẾN SĨ CẤP ĐẠI HỌC HUẾ

Họ và tên người nhận xét: Phạm Thanh Lưu

Học hàm: PGS

Học vị: tiến sĩ

Chuyên ngành: Sinh thái học

Cơ quan công tác: Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ VN, Viện Sinh học nhiệt đới.

Chức trách trong hội đồng: Phản biện 3

Họ và tên nghiên cứu sinh: Ngô Thị Diễm My

Chuyên ngành: Sinh học

Mã số: 9420101

Tên đề tài luận án: **Xác định thành phần loài và khả năng sinh độc tố *Cylindrospermopsin* của vi khuẩn lam trong một số thủy vực ở Đắk Lắk.**

Ý KIẾN NHẬN XÉT

1. Tính cần thiết, thời sự, ý nghĩa khoa học và thực tiễn của đề tài luận án

Vi khuẩn lam (VKL) là nhóm sinh vật tiên nhân, quang tự dưỡng nhờ có một số sắc tố quang hợp trong tế bào. Chúng phân bố rộng và được tìm thấy ở nhiều môi trường khác nhau, đặc biệt là trong môi trường nước ở các ao hồ, sông suối kênh rạch, chúng thường phát triển mạnh trong các môi trường bị phú dưỡng gây ra hiện tượng nở hoa và kèm theo đó là sự sản sinh một số độc tố ra môi trường gây độc cho con người và hệ sinh thái. Ở nước ta nhiều trường hợp nở hoa và sản sinh độc tố microcystins đã được ghi nhận trong các thủy vực từ bắc vào nam.

Độc tố *Cylindrospermopsins* (CYN) là nhóm độc tố được sinh ra bởi các nhóm VKL nước ngọt như *Aphanizomenon*, *Cylindrospermopsis*, *Dolichospermum*, *Lyngbya*, *Oscillatoria*,... Tuy nhiên cho đến nay các nghiên cứu về loại độc tố này trong các thủy vực ở nước ta còn khá hạn chế, đặc biệt là ở các thủy vực tỉnh Đắk Lắk hầu như chưa có thông tin.

Do đó luận án: “**Xác định thành phần loài và khả năng sinh độc tố *Cylindrospermopsin* của vi khuẩn lam trong một số thủy vực ở Đắk Lắk**” mang tính thời sự và ý nghĩa khoa học thực tiễn, góp phần kiến thức và hiểu biết về VKL và độc tố CYN ở các thủy vực tỉnh Đắk Lắk nói riêng và cho Việt Nam nói chung.



2. Sự không trùng lặp của đề tài nghiên cứu so với các công trình, luận án đã công bố ở trong và ngoài nước; tính trung thực, rõ ràng và đầy đủ trong trích dẫn tài liệu tham khảo

Đề tài nghiên cứu “**Xác định thành phần loài và khả năng sinh độc tố *Cylindrospermopsin* của vi khuẩn lam trong một số thủy vực ở Đắc Lắc**” của NCS Ngô Thị Diễm My là hoàn toàn mới và không trùng lặp với các công trình nghiên cứu, luận án, luận văn đã công bố ở trong và ngoài nước.

Các tài liệu tham khảo được NCS trích dẫn đầy đủ và rõ ràng.

3. Sự phù hợp giữa tên đề tài với nội dung, giữa nội dung với chuyên ngành và mã số chuyên ngành

Tên đề tài nghiên cứu phù hợp với nội dung đã thực hiện và hoàn toàn phù hợp với chuyên ngành Sinh học.

4. Độ tin cậy và tính hiện đại của phương pháp đã sử dụng để nghiên cứu

Tác giả sử dụng các phương pháp nghiên cứu khoa học thường quy, truyền thống như khảo sát thu mẫu, phân tích định tính, định loại VKL bằng phương pháp hình thái so sánh nhờ sử dụng hiển vi quang học, phân tích định lượng và thể tích sinh học VKL bằng phương pháp buồng đếm. Bên cạnh đó, NCS còn sử dụng các phương pháp sinh học phân tử để xác định sự hiện diện của các gen sinh độc tố CYN trong các chủng phân lập, phân tích định lượng độc tố CYN bằng ELISA và HPLC. Các số liệu được xử lý thống kê nhờ sử dụng phương pháp phân tích thành phần chính (PCR) và tương quan Pearson để phân tích và tìm ra các mối quan hệ giữa các yếu tố sinh học và hóa lý.

Các phương pháp NCS sử dụng là phù hợp, hiện đại và đáng tin cậy, được nhiều nhà khoa học trong và ngoài nước sử dụng.

5. Đánh giá các kết quả nghiên cứu mới đạt được; những đóng góp mới cho sự phát triển khoa học của chuyên ngành; đóng góp mới cho phục vụ sản xuất, kinh tế, xã hội và đời sống. Ý nghĩa khoa học, giá trị và độ tin cậy của những kết quả đó

Những kết quả mới cũng là những điểm sáng của luận án như: Thu thập và ghi nhận 34 loài VKL ở hai hồ Ea Nhái (19 loài) và Buôn Phong (26 loài); Tất cả các Taxa trong luận án đều được mô tả chi tiết và minh họa rõ bằng hình ảnh; Tác giả đã phân tích và xác định hàm lượng độc tố CYN trong các mẫu nước thu liên tục 12 tháng từ 2 hồ; Tác giả cũng đã phân lập nuôi cấy hơn 20 chủng thuộc các nhóm VKL có tiềm năng sản sinh CYN từ 2 hồ này, đồng thời phân tích sự hiện diện của 2 gen *cyrB* và *cyrC* cũng như phân tích hàm lượng độc tố CYN từ các chủng này.

Mối liên quan giữa VKL độc tố CYN và các yếu tố hóa lý cũng được phân tích và lý giải.

Đây là những kết quả đầu tiên và quan trọng về VKL, độc tố CYN cũng như về chất lượng môi trường nước ở 2 hồ này. Các kết quả này là đáng tin cậy và đóng vai trò quan

trọng cho công tác quản lý rủi ro về ô nhiễm độc tố VKL và môi trường nước nói chung ở hai thủy vực này.

6. Ưu điểm và nhược điểm về nội dung, kết cấu và hình thức của luận án. Những góp ý chỉnh sửa về hình thức, nội dung, phương pháp nghiên cứu, cấu trúc... của luận án

Ưu điểm

Tác giả đã tìm hiểu nhiều tài liệu liên quan về VKL và độc tố CYN và đưa ra được phần tổng quan khá rõ nét về tình hình nghiên cứu của VKL và độc tố CYN ở các quốc gia trên thế giới và VN.

Các phương pháp được mô tả đầy đủ rõ ràng đáp ứng tốt để giải quyết các nội dung nghiên cứu và đạt được các mục tiêu đề ra.

Phần kết quả được trình bày đầy đủ, các số liệu được mô tả và thảo luận khá chi tiết với các nghiên cứu trong và ngoài nước trước đây.

Các hình ảnh trong luận án rõ, đẹp, chi tiết và có giá trị học thuật cao. Cho thấy tác giả đã dành nhiều thời gian, công sức và làm việc miệt mài cho luận án.

Tổng số 136 tài liệu tham khảo được nghiên cứu và trích dẫn, cũng như được liệt kê đầy đủ trong danh mục TLTK.

Các số liệu, hình ảnh thu thập ngoài thực địa, phân tích trong phòng thí nghiệm liên quan đến nội dung luận án cũng được trình bày đầy đủ và chi tiết trong phần phụ lục.

Những góp ý chỉnh sửa

Mục tiêu và nội dung

Nội dung nghiên cứu tr3 tránh viết lặp lại so với mục tiêu, nội dung nên đề cập đến các hạng mục công việc cần triển khai thực hiện để đạt được các mục tiêu đề ra.

Phần tổng quan

Nhiều nội dung (đoạn văn) ở phần tổng quan (tr4, 5, 11, 12, 13, 35, 36...) không thấy trích dẫn tài liệu tham khảo. Tác giả cần bổ sung TLTK để đảm bảo thông tin tham khảo có độ tin cậy.

Một số câu, thuật ngữ ở phần tổng quan cần phải xem lại: “Tổng hàm lượng CYN (dạng hạt và hòa tan) cao nhất” tr10. Nhiệt độ càng cao (18-140 $\mu\text{mol photon/m/s}$)...tr11. Câu “Nó kéo dài 43 kb và mã hóa cho 15 khung đọc mở” nên là “Gene này kéo dài...”; Tác dụng độc hại của CYN...tr15, nên là Tác động...; khám nghiệm tử thi bò ở tr14; “thống trị” ở trang 17 nên là “ưu thế”.

Một số thuật ngữ viết chưa nhất quán: thylakoit/thylakoid (tr 7), ADN/DNA, tr13, 19, 16s rARN/16s rRNA tr20,...; cách viết tắt các tên khoa học (tr9, 11,...), nhiều thuật ngữ viết tắt chưa có danh sách viết tắt: PHO, NRPS/PKS tr12, ROS tr 13, NGS tr19-20,

UPLC, LC, MS, LCMS....cách format viết đơn vị ug/L, g/ml tr14, tb/ml, tế bào/ml tr32, $\mu\text{S cm}^{-1}$, mmol photon $\text{m}^2 \text{s}^{-1}$ tr25, 29, ...

Một số thuật ngữ “tiếp xúc” tr13, 14,...nên điều chỉnh lại là “phơi nhiễm”

Hạn chế viết tắt ở đầu đoạn văn (ví dụ: VKL, CYN,...xuất hiện khá nhiều ở đầu đoạn văn).

Một số đoạn thông tin hơi mâu thuẫn với nhau: tr11, đoạn nói về CYN liên quan nghịch với nhiệt độ, nhưng câu tiếp theo “Một cuộc khảo sát kéo dài một năm cũng cho thấy nhiệt độ có tương quan thuận đáng kể với CYN,...”.

Đoạn Bên cạnh đó, 91 con Bò nông đốm...tr15 nên gom chung vô đoạn nói về sự cố gây chết ở động vật do CYN ở tr14. Đoạn ở cuối tr16 nói về độc tính của CYN đối với ĐVPD “Tương tự, Lei và cs (2020)...” tương tự gì ở các câu đầu và câu sau?

Tr10 mục 1.2.3 nói về hàm lượng độc tố CYN trên các thủy vực trên thế giới sau đó trình bày ảnh hưởng của CYN bởi các yếu tố môi trường, chưa được logic và rõ ràng. Nên tách biệt ra 1 mục ảnh hưởng từ các yếu tố môi trường ngoài tự nhiên và trong phòng thí nghiệm lên hàm lượng và sinh tổng hợp CYN.

Một số đoạn trùng lặp thông tin tr12 và tr18 mô tả về gen cyr chịu trách nhiệm sinh tổng hợp độc tố CYN. Mục 1.4 tr22 trình bày nghiên cứu về độc tố CYN trên thế giới và VN, cũng trình bày lặp lại về hàm lượng CYN ở các thủy vực như mục 1.2.3 tr10, rồi các yếu tố môi trường ảnh hưởng ,..., thông tin có vẻ lặp đi lặp lại, nên xem xét gom chung những đoạn có thông tin liên quan vào 1 mục, tránh rải rác/dàn trải và trùng lặp.

Phần tổng quan tác giả lấy thông tin nhiều từ tài liệu “Yang và cs, 2021”, đây là 1 bài tổng quan, nhiều thông tin về các nghiên cứu cụ thể điển hình liên quan, tác giả không nên trích dẫn từ tài liệu này là Yang và cs, 2021 mà cần phải kiểm tra/đối chiếu với tài liệu gốc và trích dẫn nguồn tài liệu gốc. Tài liệu Nguyễn Thị Thanh/Hoàng Thị Thanh, 2011 ở tr 31, 32 = Hoàng Thị Thanh, 2010?

Nhìn chung, phần tổng quan, tác giả đã tổng quan được nhiều thông tin liên quan đến chủ đề của luận án, tuy nhiên cách trình bày còn thiếu cô đọng, hơi lan man và dài dòng, tác giả cần rà soát lại và tổng quan đề cập theo từng chủ đề, trình bày có hệ thống hơn, tránh dàn trải và trùng lặp, bên cạnh đó tác giả cần đúc kết lại những điểm chính ở các nghiên cứu trước cũng như đề cập đến những điểm yếu/những hạn chế ở những nghiên cứu trước đây, từ đó làm nổi bật lên tính mới, tính cần thiết của luận án.

Phương pháp

Một số thuật ngữ: thực vật phù du nên chỉnh lại = vi khuẩn lam, vì tác giả không làm về thực vật phù du (tr39,40,...); Kiểm tra định tính thay = phân tích thành phần loài tr39.

Hình 2.1 tr39, xem lại vị trí của quần đảo Trường sa trên bản đồ.

Phương pháp tính thể tích sinh học (tr41) chưa được trình bày cụ thể, cần phải mô tả chi tiết hơn cách đo đạc và công thức tính toán như thế nào cho mỗi nhóm VKL vì tế bào VKL có nhiều hình dạng khác nhau.

Phương pháp đếm VKL tr41 “Nếu số lượng sợi quá ít...quá nhiều...” thế nào là quá ít, quá nhiều, thiếu tính học thuật, cần đưa ra con số cụ thể. Tác giả dùng buồng đếm Sedgewick rafter để định lượng VKL, đối với 1 số nhóm có tính lắng tốt như *Oscillatoria* thì ok, tuy nhiên đối với một số nhóm lắng kém như *Microcystis*, *Raphidiopsis*, *Arthrospira*,...vì trong tế bào có nhiều không bào khí, do đó có xu hướng nổi trên lớp mặt, vì vậy khó đảm bảo độ tin cậy để định lượng bằng phương pháp này, phương pháp này chỉ thấy và đếm được những tế bào lắng ở lớp đáy của buồng đếm. Một số phương pháp khác như sử dụng buồng đếm hồng cầu riêng cho nhóm *Microcystis*, or buồng đếm Utermohl.

“Phân lập VKL có khả năng tạo CYN” tr42-43, nên ghi cụ thể các chi nào?

Tr42 môi trường Z8, thông thường không trình bày theo cách này, nếu có chỉ cần liệt kê một số nhóm chất dinh dưỡng chính kèm nồng độ.

Phương pháp phân tích bằng Elisa nên viết lại và liên kết các bước thành đoạn văn (tr44).

Lượng sinh khối thu và sử dụng để phân tích HPLC là bao nhiêu mg cho mỗi mẫu cần đề cập (tr44-45).

Một số bảng (2.2 tr45, 2.3, tr46) chưa trích dẫn trong câu.

Các phương pháp phân tích amoni, nitrate,...ở bảng 2.2 tr45 nên trình bày tóm tắt phương pháp phân tích thành lời văn không chỉ nêu tên phương pháp.

Phương pháp khuếch đại gene có sử dụng positive và netive control hay không cũng cần đề cập tr46.

Phương pháp xử lý số liệu: Các nhận định về sự thay đổi biến động của các yếu tố môi trường, thể tích sinh học VKL, độc tố CYN,... theo tháng/theo mùa ở 2 hồ (tr72, 75, 97,...) cần phải có xử lý thống kê so sánh sự khác biệt kèm giá trị P-value. Ngoài ra, các số liệu để phân tích PCR và Pearson cần phải xác định phân phối chuẩn hoặc phải hoán chuyển để có phân phối chuẩn trước khi đưa vào phân tích.

Kết quả và thảo luận

Ở bảng 3.1 tr48: tác giả khảo sát 12 tháng nhưng kết quả lại trình bày theo mùa, như thế chưa có sự logic giữa phương pháp và kết quả.

Hình 3.2 tương tự kết quả trình bày chung chung, không cho thấy được sự biến động thành phần loài và mật độ của mỗi nhóm loài VKL theo thời gian.

Kết quả đề cập nhiều đến sự nở hoa của *R. raciborskii* tr52 ở hồ Ea Nhái, nên có thêm 1 vài hình ảnh minh họa cho vấn đề này.



Mục 3.1.2 (tr53) Mô tả hình thái các loài VKL, nên trình bày sắp xếp theo thứ tự ở bảng 3.1 để tiện theo dõi.

Thước tỉ lệ ở một số hình 3.6 tr67 nên xoay ngang lại.

Mục 3.2.1 tr72 Thể tích sinh học của các loài VKL, nên thành lập thêm 2 hình minh họa thể tích sinh học các nhóm VKL chính và nhóm còn lại theo tháng ở 2 hồ.

Bảng 3.3, 3.4 tr74, 76 có sự mâu thuẫn với bảng 3.2 tr70, vì một số loài sử dụng trong bảng này không thấy trong bảng 3.2.

Hình 3.9; 3.10 tr74, 76: hình không thể hiện được các nội dung như tên hình trình bày.

Hai kết quả hàm lượng CYN/L ở 2 hồ và hàm lượng CYN trong sinh khối khô của các chủng phân lập không có sự tương đồng. Theo cách tính thông thường $1 \text{ mm}^3 = 1 \text{ mg}$, trọng lượng khô = 10% trọng lượng ướt. Theo hình 3.9, 3.10, sinh khối VKL ở hồ Ea Nhái khoảng $60 \text{ mm}^3 = 6 \text{ mg}$ trọng lượng khô, và ở hồ Buôn Phong khoảng $10 \text{ mm}^3 = 1 \text{ mg}$ trọng lượng khô. Nồng độ CYN ở hồ Ea Nhái khoảng 1.2 ug/L , hồ Buôn Phong khoảng 0.5 ug/L . Trong khi đó hàm lượng CYN trung bình từ các chủng phân lập ở 2 hồ là rất thấp chỉ $\sim 0.5 \text{ ug/g DW}$ (so với ngoài tự nhiên ở hồ Ea Nhái $6 \text{ mg DW} = 1.2 \text{ ug/L CYN}$, ở hồ Buôn Phong là $1 \text{ mg} = 0.5 \text{ ug/L CYN}$). Tác giả lý giải cho vấn đề này như thế nào?

Tác giả không thu và phân tích sinh khối khô nở hoa ngoài tự nhiên? Dẫn đến khó so sánh và thiếu bằng chứng để giải thích cho các số liệu độc tố, cũng như nhận định nhóm loài nào là nhóm VKL chính sản sinh CYN ở hai hồ. Hoặc xem lại phương pháp phân tích HPLC.

Bảng 3.8 tr96 trùng lặp với số liệu ở các bảng 3.6 và 3.7 nên gom lại thành 1 bảng.

Biến số phi sinh học có liệt kê độc tố CYN: cần xem lại ở một số vị trí như tr98.

Hình 3.18 và 3.19 tr100, 102, trong phân tích thành phần chính PCR là phương pháp phân tích đa biến, kết quả thường được thể hiện theo không gian đa chiều. Ở các kết quả này tác giả cần đề cập trục 1 và trục 2 (là 2 hướng quan trọng nhất) giải thích/chiếm được bao nhiêu % sự thay đổi (variation)?

Tr81-85 mô tả hình thái các chủng phân lập: chỉ nên mô tả thêm những đặc điểm khác biệt của các chủng này trong điều kiện nuôi cấy so với hình thái ngoài tự nhiên (nếu có), không nên trình bày mô tả lặp lại thông tin như ở phần trước đó. Các hình ảnh minh họa 3.11-3.13 cũng vậy.

Luận án chỉ dừng lại ở mức độ mô tả phân loại học theo phương pháp cổ điển là hình thái so sánh, cần tiếp tục có thêm những nghiên cứu về sinh học phân tử, giải trình tự gene cho các loài VKL này.

Một số nhận định về loài chính sản sinh CYN ở hai thủy vực nghiên cứu tr104 và ở một số phần kết luận còn hơi chủ quan. Tác giả lập luận hồ Buôn Phong *R. raciborskii* là

loài chính sinh độc tố CYN, trong khi đó tác giả bỏ qua sinh khối của *Microcystis* (nhóm này chiếm ưu thế đến 84% ở hồ Buôn Phong). Mặc dù chưa có ghi nhận về chi *Microcystis* sản sinh CYN tuy nhiên tác giả cũng cần trình bày và thảo luận thêm về vấn đề này.

Một số nhận định về sinh khối *R. raciborskii* tương quan thuận với nitơ hòa tan ở hồ Buôn Phong (tr105) cần xem lại, theo kết quả ở hình 3.19 và bảng 3.12, thì sinh khối của loài này chỉ tương quan thuận với NH_4 nhưng tương quan nghịch với NO_3^- .

7. Nội dung luận án đã được công bố trên tạp chí, kỷ yếu hội nghị khoa học nào và giá trị khoa học của các công trình đã công bố.

Kết quả của luận án cũng đã được công bố trong 4 bài báo, trong đó có 1 bài trên tạp chí trong danh mục SCIE, 1 bài trong danh mục Scopus, 1 bài trên tạp chí ĐH khoa học Huế, và 1 báo cáo tại hội nghị CNSH toàn quốc. Các công bố này là uy tín và là nguồn thông tin đáng tin cậy để tham khảo cho các nghiên cứu tiếp theo. Đây cũng là những đóng góp có ý nghĩa thiết thực cho lĩnh vực nghiên cứu về VKL và độc tố VKL.

8. Kết luận chung cần khẳng định mức độ đáp ứng các yêu cầu đối với một luận án tiến sĩ; bản tóm tắt luận án phản ánh trung thành nội dung cơ bản của luận án hay không

Với các kết quả nghiên cứu cũng như các công trình khoa học đã công bố trên các tạp chí uy tín trong nước và quốc tế. Tôi đánh giá cao giá trị học thuật và nội dung của luận án này.

Nội dung và kết quả của luận án đáp ứng đủ các yêu cầu của một luận án tiến sĩ chuyên ngành Sinh học.

Bản tóm tắt của luận án phản ánh đúng nội dung cơ bản của luận án.

Xác nhận của cơ quan công tác

PHÓ VIỆN TRƯỞNG



Nguyễn Văn Cứ

Người nhận xét

PGS.TS. Phạm Thanh Lưu



BẢN NHẬN XÉT LUẬN ÁN TIẾN SĨ CẤP ĐẠI HỌC HUẾ

Họ và tên người nhận xét: Nguyễn Thị Kim Cúc

Học vị: TS

Chuyên ngành: Khoa học y sinh (công nghệ sinh học)

Cơ quan công tác: Viện Công nghệ sinh học, Đại học Huế

Chức trách trong hội đồng: Ủy viên thư ký

Họ và tên nghiên cứu sinh: Ngô Thị Diễm My

Chuyên ngành: Sinh học

Mã số: 9420101

Tên đề tài luận án: **Xác định thành phần loài và khả năng sinh độc tố *Cylindrospermopsin* của vi khuẩn lam trong một số thủy vực ở Đắc Lắc.**

Ý KIẾN NHẬN XÉT

1. Tính cần thiết, thời sự, ý nghĩa khoa học và thực tiễn của đề tài luận án.

Độc tố tảo đã được quan tâm nghiên cứu ở Việt Nam, tuy nhiên thì các công bố liên quan tới độc tố *Cylindrospermopsin* (CYN) còn rất hạn chế. Đây một trong những độc tố ngoại bào của vi khuẩn lam có ảnh hưởng tới nhiều cơ quan của người và động vật, khó bị phân huỷ dưới tác động của nhiệt độ, ánh sáng và pH. Độc tố này thường được phát hiện ở nước ngọt và một số thực phẩm.

Đắc Lắc là xứ sở của hồ nhưng gần đây do sự thay đổi khí hậu, hệ thống hồ ở đây đang chịu ảnh hưởng của hiện tượng phú dưỡng, là một trong những nguyên nhân thúc đẩy sự phát triển của thực vật phù du, điển hình như các loài tảo độc trong các hồ này. Một số nghiên cứu trước đây đã đề cập tới sự có mặt của các nhóm loài vi khuẩn lam có khả năng sinh độc tố CYN mà chưa có nghiên cứu sâu về độc tố này, vì vậy cần có một nghiên cứu cụ thể để xác định thành phần loài và xác định những loài có khả năng sinh độc tố CYN trong một số thủy vực nhằm cung cấp danh lục thành phần loài VKL và VKL có khả năng sinh độc tố CYN trong hai hồ nước ở Đắc Lắc, góp phần bổ sung vào danh lục thành phần loài VKL và VKL có khả năng tạo độc tố này trong các thủy vực ở Việt Nam.

Đánh giá sự biến động quần thể VKL sinh độc tố CYN và hàm lượng độc tố CYN trong hai hồ nước. Từ đó xác định yếu tố môi trường chủ đạo kiểm soát sự sinh trưởng quần thể VKL sinh độc tố CYN trong tự nhiên để có biện pháp kiểm soát và kiểm chế sự phát triển bùng phát của nhóm loài VKL độc này để làm cơ sở cho việc

dự báo nguy cơ ô nhiễm cũng như đề xuất biện pháp quản lý nhóm loài VKL độc hại, góp phần bảo vệ nguồn tài nguyên nước, bảo vệ sức khỏe cộng đồng.

2. Sự không trùng lặp của đề tài nghiên cứu so với các công trình, luận văn, luận án đã được công bố trong và ngoài nước của các tác giả khác; tính trung thực, rõ ràng, đầy đủ trong trích dẫn tài liệu tham khảo

Đề tài không trùng lặp với nghiên cứu của các công trình, luận văn, luận án đã được công bố trong và ngoài nước của các tác giả khác; Các số liệu công bố có tính trung thực, rõ ràng, đầy đủ trong trích dẫn tài liệu tham khảo.

3. Sự phù hợp giữa tên đề tài với nội dung, giữa nội dung với chuyên ngành và mã số chuyên ngành.

Nội dung, kết quả nghiên cứu của luận án phù hợp với tên đề tài và hoàn toàn phù hợp với chuyên ngành Sinh học và mã số chuyên ngành **94.20.101**, đáp ứng với mục tiêu nghiên cứu đã đề ra.

4. Độ tin cậy, tính hiện đại của các phương pháp đã sử dụng để nghiên cứu.

Luận án đã sử dụng các phương pháp nghiên cứu thường quy như thu và xử lý mẫu ngoài thực địa, phân lập và nuôi cấy vi khuẩn lam, phân tích độc tố bằng kỹ thuật ELISA và HPLC, phân tích các thông số môi trường, phân tích sự hiện diện của gen liên quan đến sự sinh độc tố CYN. Các phương pháp này đảm bảo độ chính xác và đủ để thực hiện các nội dung nghiên cứu. Các thiết kế thực nghiệm là hợp lý có cơ sở khoa học nên các kết quả mà tác giả thu được có độ tin cậy cao đồng thời các số liệu được xử lý thống kê hợp lý.

5. Đánh giá các kết quả nghiên cứu mới đạt được; những đóng góp mới cho sự phát triển khoa học của chuyên ngành; đóng góp mới cho phục vụ sản xuất, kinh tế, xã hội và đời sống. Ý nghĩa khoa học, giá trị và độ tin cậy của những kết quả đó.

Những điểm mới của luận án: Là công trình nghiên cứu đầu tiên về thành phần loài VKL có khả năng sinh độc tố CYN trong hồ nước ở tỉnh Đắk Lắk nói chung và Việt Nam nói riêng. Luận án đã cung cấp dữ liệu về hàm lượng độc tố CYN trong tự nhiên, hàm lượng độc tố và gen sinh tổng hợp độc tố CYN trong các chủng VKL phân lập từ hồ Ea Nhái và hồ Buôn Phong ở Đắk Lắk. Đồng thời luận án cũng xác định được các nhân tố môi trường chính ($P-PO_4$, $N-NH_4$, TP, TN và nhiệt độ) ảnh hưởng đến sự biến động quần thể của nhóm loài VKL có khả năng sinh độc tố CYN trong các thủy vực này.

Các nhận xét và bàn luận hợp lý và sát với đề tài. Luận án đã giải quyết được mục tiêu và nội dung đặt ra có cơ sở khoa học. Các kết quả thu được có tính mới cung cấp các dẫn liệu khoa học về khả năng sinh độc tố và hàm lượng CYN trong hồ nước ở tỉnh Đắk Lắk. Đây là nguồn tài liệu tham khảo tin cậy cho giảng dạy và nghiên cứu khoa học ở lĩnh vực liên quan.

6. Những ưu điểm và nhược điểm về nội dung, kết cấu và hình thức của luận án. Những góp ý chỉnh sửa về hình thức, nội dung, phương pháp nghiên cứu, cấu trúc... của luận án

Hình thức luận án được trình bày đúng theo quy định của Cơ sở đào tạo. Luận án có bố cục khá cân đối và hợp lý, hình thức trình bày sạch đẹp, bảng biểu hình ảnh minh họa rõ ràng, ít lỗi chính tả, số liệu đáng tin cậy, phụ lục và bảng phân tích số liệu có xử lý thống kê đầy đủ, tài liệu tham khảo có địa chỉ rõ ràng.

Tổng quan các vấn đề nghiên cứu được trình bày rõ ràng, có cơ sở khoa học, nêu bật được các luận điểm liên quan đến lĩnh vực nghiên cứu. Với 4 nội dung đặt ra được thể hiện qua phần kết quả nghiên cứu và bàn luận khá rõ nét làm nổi bật vấn đề nghiên cứu được đặt ra.

Một số lưu ý để chỉnh sửa hoàn thiện:

Hình thức:

Viết hoá một số từ như “gradient, stress, oxy hoá (ko oxi),

Với một số thuật ngữ khi dịch cần sử dụng từ chính xác tiếng Việt (Gan to mềm (tổn thương hoặc thay đổi cấu trúc gan); tự chết (chết theo chương trình), oxy hoá phản ứng ROS, tế bào hạt, tử thi bò (xác bò), khả năng ăn thịt của động vật phù du, đo lường và giải trình tự thể hệ tiếp theo (giải trình tự thể hệ mới), hấp thụ miễn dịch enzyme liên kết (...), một số tên loài nếu không có tên tiếng Việt nên để danh pháp quốc tế (cá sói, rau má dù, bèo dấm, thủy uẩn thảo....).

Tổng quan tài liệu:

- Nên có phần tổng quan thêm về tảo lam độc: trình bày về chi/loài nào sinh độc tố nào, từ đó làm cơ sở thêm cho việc tập trung vào *Cylindrospermopsis*.
- Nên có phần tổng quan về phương pháp phân loại tảo bằng hình thái hoá sinh.
- Nên đổi vị trí mục 1.3.2 thành 1.3.1 và ngược lại
- Mục 1.5 cần xem lại TLTK, ví dụ sở TMMT thì báo cáo năm nào thì mới có giá trị tham khảo

Phân phương pháp

- Việc NCS thu 144 mẫu định tính và 504 mẫu định lượng có khác gì nhau không, tại sao không thu mẫu tại 1 vị trí rồi chia ra làm nhiều thí nghiệm; mẫu định tính làm hai thí nghiệm nhưng trình bày chưa rõ, vì nếu cố định thì ko phân lập được nữa; tóm lại mục 2.2.1 trình bày làm khó cho người đọc.
- Phân tính mật độ tế bào, thành phần môi trường cần có tài liệu tham khảo
- 2.2.2.4 và 2.2.2.5 nên gộp vào 1 mục là phương pháp phân tích độc tố CYN, trong đó có 2 mục nhỏ là ELISA và HPLC

Phản kết quả

- Về kết quả xác định thành phần loài, hai hồ đều có chung kết luận về việc phân bố đồng đều theo không gian nhưng khác về thời gian, nên xem xét gộp kết luận cho khỏi dài dòng.
- Trang 52 đoạn đầu giải thích thành phần loài trong hồ Ea Nhái và Buôn Phong có tảo nở hoa nên ít, làm sao tác giả kết luận như vậy, có vẻ khiên cưỡng hoặc phải có TLTK
- Trang 53 đoạn đầu tiên lại lặp lại việc phân bố đồng đều theo không gian nhưng khác về thời gian..., có cần thiết không hoặc nên viết một cách ngắn gọn hơn để tránh cảm giác bị lặp lại
- Để có thể mô tả hình thái cái loài nghiên cứu ở trang 53 thì cần có thông tin cho phần tổng quan về các khoá phân loại hình thái.
- Phần phân loại nêu ra có 34 loài nhưng khi mô tả hình thái chỉ có 32 loài; hình minh hoạ chỉ có 31 loài, các loài còn lại sao không mô tả.
- Nhìn bảng 3.2 không thấy rõ loài sinh độc tố nào của Ea Nhái loài nào của Buôn Phong, nên bổ sung thêm thông tin loại nào tương ứng hồ nào; nếu có thể hãy nói rõ độc tố gan là độc tố gì; độc tố thần kinh là cái nào.
- Có những đoạn kết luận hơi vội; phần tổng quan tác giả có trích dẫn loài *R. raciborskii* có thể ko sinh CYN (phân lập từ hồ Dầu Tiếng) nhưng ở trang 73 đoạn cuối cùng tác giả lại nghĩ là nguồn tạo CYN chủ yếu, không thể kết luận hay gợi ý khi không có bằng chứng khoa học là có gen tổng hợp CYN hay có CYN ở môi trường thuần khiết.
- Bảng 3.2 nói rằng *Chrysosporum ovalisporum* và *Raphidiopsis raciborskii* có khả năng tạo CYN, trong đó *Chrysosporum ovalisporum* chỉ có trong mùa khô ở Buôn Phong nhưng khi phân tích hàm lượng độc tố (mục 3.2.2.2.) không đề cập tới loài này mà lại đề cập loài *Anabaena* sp2, đề nghị xem lại; tương tự trang 86 tác giả cũng đề cập *Anabaena* sp2 có khả năng sinh độc tố, vậy *Chrysosporum ovalisporum* tài liệu tham khảo có sinh nhưng nghiên cứu của tác giả không sinh CYN hay thế nào, cần làm rõ.
- Nên nêu thẳng tên phương pháp thay vì phương pháp miễn dịch và phương pháp hoá học vì trong mỗi đề mục này NCS chỉ đề 1 phương pháp duy nhất (Phương pháp ELISA; Phương Pháp HPLC)

Kết luận

Kết luận số 1. Quá dài nên tập trung ý chính và kết luận Buôn Phong tương tự bảng 3.2 (*Chrysosporum ovalisporum* và *Raphidiopsis raciborskii*) vậy là khác với phân tích nói tới *Raphidiopsis raciborskii* và *Anabaena* sp2.

Kết luận số 2. Thông tin loài tạo CYN không khớp với kết luận số 1.

Kết luận số 3 cũng không giống 4 loài ở kết luận số 1.

- Một số câu hỏi : đã nêu trong phần góp ý và không có câu hỏi riêng.

7. Nội dung luận án đã được công bố trên tạp chí, kỷ yếu hội nghị khoa học nào và giá trị khoa học của các công trình đã công bố.

Luận án đã công bố 04 bài báo: trong đó có 02 bài báo quốc tế (1 SCIE - *Polish journal of environmental studies*; 1 ESCI - *Vietnam Journal of Earth Sciences*), 01 bài báo trên tạp chuyên ngành trong nước (*Tạp chí Khoa học Đại học Huế, chuyên san Khoa học tự nhiên*), 01 bài trong *Báo cáo khoa học hội nghị Công nghệ Sinh học toàn quốc*. Đây là các tạp chí chuyên ngành có uy tín trong và ngoài nước, các bài báo có nội dung phù hợp với nội dung của luận án, phản ánh kết quả của đề tài.

8. Kết luận chung cần khẳng định mức độ đáp ứng các yêu cầu đối với một luận án tiến sĩ; bản tóm tắt luận án phản ánh trung thành nội dung cơ bản của luận án hay không.

Nội dung và hình thức luận án của NCS Ngô Thị Diễm My đã đáp ứng đầy đủ các yêu cầu đối với một luận án Tiến sĩ, phù hợp với mã số của chuyên ngành Sinh học, mã số 9420101. Bản tóm tắt luận án phản ánh cơ bản nội dung của luận án.

Tôi đánh giá cao đề tài nghiên cứu của NCS và kính đề nghị Hội đồng chấm luận án Tiến sĩ cấp Đại học Huế cho phép tác giả bảo vệ trước Hội đồng.

Thừa Thiên Huế, ngày 03 tháng 02 năm 2023

Xác nhận của cơ quan



PGS.TS. Trương Thị Hồng Hải

Người nhận xét ký tên

TS. Nguyễn Thị Kim Cúc

BẢN NHẬN XÉT LUẬN ÁN TIẾN SĨ CẤP ĐẠI HỌC HUẾ

Họ và tên người nhận xét: Phạm Thị Ngọc Lan

Học hàm: PGS Học vị: TS

Chuyên ngành: Sinh lí thực vật

Cơ quan công tác: khoa Sinh học, Đại học Khoa học, Đại học Huế

Chức trách trong hội đồng: Ủy viên

Họ và tên nghiên cứu sinh: Ngô Thị Diễm My

Chuyên ngành: Sinh học Mã số: 9420101

Tên đề tài luận án: **Xác định thành phần loài và khả năng sinh độc tố *Cylindrospermopsin* của vi khuẩn lam trong một số thủy vực ở Đắc Lắc.**

Ý KIẾN NHẬN XÉT

1. Tính cần thiết, thời sự, ý nghĩa khoa học và thực tiễn của đề tài luận án.

Cylindrospermopsin (CYN) là một trong những loại độc tố của vi khuẩn lam (VKL) được nghiên cứu phổ biến do sự phân bố rộng, khả năng tích lũy sinh học và gây độc tính trên nhiều cơ quan ở người và động vật. CYN có tính ổn định hóa học cao, tan mạnh trong nước và tốc độ phân hủy chậm dưới ảnh hưởng của các yếu tố phi sinh học trong tự nhiên làm tăng nguy cơ tiếp xúc và hấp thụ độc tố của các loài sinh vật thủy sinh, gây ra nhiều rủi ro tiềm ẩn và khó khăn trong việc sử dụng và quản lý nguồn nước.

Trên địa bàn tỉnh Đắc Lắc gần đây, hiện tượng nước đổi màu, xuất hiện mùi khó chịu thường xuyên xảy ra vào mùa khô trong một số hồ chứa đồng thời sự xuất hiện của loài VKL sinh độc tố CYN đã được quan sát thấy. Những nghiên cứu trước đây chủ yếu tập trung vào điều tra thành phần loài thực vật phù du; biến động cấu trúc quần xã thực vật phù du mà chưa có các công trình nghiên cứu về nhóm loài VKL độc và khả năng sinh độc tố CYN của nhóm loài này trong các thủy vực ở Đắc Lắc. Vì vậy, “Xác định thành phần loài và khả năng sinh độc tố *cylindrospermopsin* của vi khuẩn lam trong một số thủy vực ở Đắc Lắc” bên cạnh cung cấp thành phần loài VKL có khả năng sinh độc tố CYN, kết quả sẽ làm cơ sở cho việc dự báo nguy cơ ô nhiễm, rủi ro tiềm ẩn của các loài VKL độc trong vấn đề sử dụng và quản lý nguồn nước. Đề tài có tính thời sự, ý nghĩa khoa học và thực tiễn cao.

Ý nghĩa khoa học và thực tiễn:

Cung cấp danh lục thành phần loài VKL và VKL có khả năng sinh độc tố CYN trong hai hồ nước ở Đắc Lắc, góp phần bổ sung vào danh lục thành phần loài VKL và VKL có khả năng tạo độc tố này trong các thủy vực ở Việt Nam.

Đánh giá sự biến động quần thể VKL sinh độc tố CYN và hàm lượng độc tố CYN trong hai hồ nước. Từ đó xác định yếu tố môi trường chủ đạo kiểm soát sự sinh trưởng quần thể VKL sinh độc tố CYN trong tự nhiên để có biện pháp kiểm soát và kiểm chế sự phát triển bùng phát của nhóm loài VKL độc này.

Kết quả sẽ làm cơ sở cho việc dự báo nguy cơ ô nhiễm cũng như đề xuất biện pháp quản lý nhóm loài VKL độc hại, góp phần bảo vệ nguồn tài nguyên nước, bảo vệ sức khỏe cộng đồng.

2. Sự không trùng lặp của đề tài nghiên cứu so với các công trình, luận văn, luận án đã được công bố trong và ngoài nước của các tác giả khác; tính trung thực, rõ ràng, đầy đủ trong trích dẫn tài liệu tham khảo

Đề tài không trùng lặp với nghiên cứu của các công trình, luận văn, luận án đã được công bố trong và ngoài nước của các tác giả khác; Các số liệu công bố có tính trung thực, rõ ràng, đầy đủ trong trích dẫn tài liệu tham khảo.

3. Sự phù hợp giữa tên đề tài với nội dung, giữa nội dung với chuyên ngành và mã số chuyên ngành.

Nội dung, kết quả nghiên cứu của luận án phù hợp với tên đề tài và hoàn toàn phù hợp với chuyên ngành Sinh học và mã số chuyên ngành **94.20.101**, đáp ứng với mục tiêu nghiên cứu đã đề ra.

4. Độ tin cậy, tính hiện đại của các phương pháp đã sử dụng để nghiên cứu.

Luận án đã sử dụng các phương pháp nghiên cứu thường quy như thu và xử lý mẫu ngoài thực địa, phân lập và nuôi cấy vi khuẩn lam, phân tích độc tố bằng kỹ thuật ELISA và HPLC, phân tích các thông số môi trường, phân tích sự hiện diện của gen liên quan đến sự sinh độc tố CYN. Các phương pháp này đảm bảo độ chính xác và đủ để thực hiện các nội dung nghiên cứu. Các thiết kế thực nghiệm là hợp lý có cơ sở khoa học nên các kết quả mà tác giả thu được có độ tin cậy cao đồng thời các số liệu được xử lý thống kê hợp lý.

5. Đánh giá các kết quả nghiên cứu mới đạt được; những đóng góp mới cho sự phát triển khoa học của chuyên ngành; đóng góp mới cho phục vụ sản xuất, kinh tế, xã hội và đời sống. Ý nghĩa khoa học, giá trị và độ tin cậy của những kết quả đó.

Những điểm mới của luận án: Là công trình nghiên cứu đầu tiên về thành phần loài VKL có khả năng sinh độc tố CYN trong hồ nước ở tỉnh Đắc Lắc. Luận án đã cung cấp dữ liệu về hàm lượng độc tố CYN trong tự nhiên, hàm lượng độc tố và gen sinh tổng hợp độc tố CYN trong các chủng VKL phân lập từ hồ Ea Nhái và hồ Buôn Phong ở Đắc Lắc. Đồng thời luận án cũng xác định được các nhân tố môi trường

chính (P-PO₄, N-NH₄, TP, TN và nhiệt độ) ảnh hưởng đến sự biến động quần thể của nhóm loài VKL có khả năng sinh độc tố CYN trong các thủy vực này.

Các nhận xét và bàn luận hợp lý và sát với đề tài. Luận án đã giải quyết được mục tiêu và nội dung đặt ra có cơ sở khoa học. Các kết quả thu được có tính mới cung cấp các dẫn liệu khoa học về khả năng sinh độc tố và hàm lượng CYN trong hồ nước ở tỉnh Đắk Lắk. Đây là nguồn tài liệu tham khảo tin cậy cho giảng dạy và nghiên cứu khoa học ở lĩnh vực liên quan.

6. Những ưu điểm và nhược điểm về nội dung, kết cấu và hình thức của luận án. Những góp ý chỉnh sửa về hình thức, nội dung, phương pháp nghiên cứu, cấu trúc... của luận án

Hình thức luận án được trình bày đúng theo quy định của Cơ sở đào tạo. Luận án có bố cục khá cân đối và hợp lý, hình thức trình bày sạch đẹp, bảng biểu hình ảnh minh họa rõ ràng, ít lỗi chính tả, số liệu đáng tin cậy, phụ lục và bảng phân tích số liệu có xử lý thống kê đầy đủ, tài liệu tham khảo có địa chỉ rõ ràng.

Tổng quan các vấn đề nghiên cứu được trình bày rõ ràng, có cơ sở khoa học, nêu bật được các luận điểm liên quan đến lĩnh vực nghiên cứu. Với 4 nội dung đặt ra được thể hiện qua phần kết quả nghiên cứu và bàn luận khá rõ nét làm nổi bật vấn đề nghiên cứu được đặt ra.

Một số lưu ý để chỉnh sửa hoàn thiện:

Hình thức:

- Thống nhất cách diễn đạt tên Latin đúng nghĩa và đúng quy định: viết tắt tên chỉ chỉ một chữ in, không diễn đạt “chủng *R. raciborskii*”
- Thống nhất sử dụng thuật ngữ Anh – Việt: ni tơ – nitrogen, phot pho – phospho, axit, ADN-DNA...
- Các lỗi chính tả: không sử dụng số nhiều “s” trong văn bản tiếng Việt, thống nhất sử dụng từ ml – mL, 0.5 mg -> 0,5 mg, trọng lượng -> khối lượng, không có dấu cách khi viết °C.

Nội dung:

- Cần tách mục tiêu chung và mục tiêu cụ thể, diễn đạt thêm “được”
- TQTL: Nên cô đọng hơn khi giới thiệu về vi khuẩn lam, lưu ý khi diễn đạt
- Kết quả: Một số ảnh chụp tế bào tối và mờ, nếu là in màu thì sẽ rõ hơn nhiều; Xử lý số liệu nên nêu số lần lặp lại, bảng 3.6 chưa có xử lý thống kê; xem lại số chủng phân lập ở bảng 3.6 là 24 nhưng diễn đạt là 19 (tr 86).
- TLTK: không nên đưa luận văn thạc sĩ vào TLTK, một số TLTK tiếng Việt và tiếng Anh viết chưa đúng qui định

7. Nội dung luận án đã được công bố trên tạp chí, kỷ yếu hội nghị khoa học nào và giá trị khoa học của các công trình đã công bố.

Luận án đã công bố 04 bài báo: trong đó có 01 bài báo quốc tế (*Pol. J. Environ.*

Study), 02 bài báo trên tạp chuyên ngành trong nước (Vietnam Journal of Earth Sciences, Tạp chí Khoa học Đại học Huế), 01 bài trong Báo cáo khoa học hội nghị Công nghệ Sinh học toàn quốc. Đây là các tạp chí chuyên ngành có uy tín trong và ngoài nước, các bài báo có nội dung phù hợp với nội dung của luận án, phản ánh kết quả của đề tài.

8. Kết luận chung cần khẳng định mức độ đáp ứng các yêu cầu đối với một luận án tiến sĩ; bản tóm tắt luận án phản ánh trung thành nội dung cơ bản của luận án hay không.

Nội dung và hình thức luận án của NCS Ngô Thị Diễm My đã đáp ứng đầy đủ các yêu cầu đối với một luận án Tiến sĩ, phù hợp với mã số của chuyên ngành Sinh học, mã số 9420101. Bản tóm tắt luận án phản ánh cơ bản nội dung của luận án.

Chúng tôi đánh giá cao đề tài nghiên cứu của NCS và kính đề nghị Hội đồng chấm luận án Tiến sĩ cấp Đại học Huế cho phép tác giả bảo vệ trước Hội đồng.

Xác nhận của cơ quan công tác Thừa Thiên Huế, ngày 03 tháng 02 năm 2023

Người nhận xét ký tên

Xác nhận PGS.TS. Phạm Thị Ngọc Lan
nguyên cán bộ của trường và chữ kí bên là đúng
Huế, ngày 06 tháng 02 năm 2023

Hiệu trưởng trường ĐHKH



PTP.P. TRƯỞNG PHÒNG TC&HC
Nguyễn Thị Thanh Huyền

nglan

PGS.TS. Phạm Thị Ngọc Lan

BẢN NHẬN XÉT LUẬN ÁN TIẾN SĨ CẤP ĐẠI HỌC HUẾ

Họ và tên người nhận xét: TS. Nguyễn Thị Đông Phương

Học hàm:

Học vị: Tiến sĩ

Chuyên ngành: Công nghệ sinh học

Cơ quan công tác: Trường Đại học Sư phạm Kỹ thuật Đà Nẵng – Đại học Đà Nẵng

Chức trách trong hội đồng: Ủy viên

Họ và tên nghiên cứu sinh: Ngô Thị Diễm My

Chuyên ngành: Sinh học

Mã số: 9420101

Tên đề tài: Xác định thành phần loài và khả năng sinh độc tố Cylindrospermopsin của vi khuẩn lam trong mộ số thủy vực ở Đắk Lắk

Ý KIẾN NHẬN XÉT

1. Tính cần thiết, thời sự, ý nghĩa khoa học và thực tiễn của đề tài luận án

Luận án đánh giá sự đa dạng về thành phần loài vi khuẩn lam (VKL) và VKL có khả năng sinh độc tố CYN trong hồ Ea Nhái và hồ Buôn Phong ở Đắk Lắk. Đây là những thủy vực có tiếng ở địa phương này, nhưng từ trước đến nay các đề tài đánh giá thành phần các loài tảo có mặt trong thủy vực ở Việt Nam là rất ít. Việc đánh giá này có thể đánh giá rủi ro tiềm ẩn của nhóm loài VKL có khả năng sinh độc tố CYN thông qua đánh giá sự biến động thể tích sinh học và hàm lượng độc tố CYN trong môi trường tự nhiên cũng như khả năng sinh độc tố này của các chủng VKL phân lập được trong hồ Ea Nhái và hồ Buôn Phong ở Đắk Lắk. Nếu đề tài này làm được các việc này thì có thể giải thích được sự thay đổi môi trường ảnh hưởng đến hiện tượng nở hoa trong các thủy vực.

2. Sự không trùng lặp của đề tài nghiên cứu so với các công trình, luận văn, luận án đã được công bố trong và ngoài nước của các tác giả khác; tính trung thực, rõ ràng, đầy đủ trong trích dẫn tài liệu tham khảo



Đề tài có hướng nghiên cứu tương tự như các công bố của các nhà khoa học trên thế giới đã nghiên cứu, tuy nhiên được thực hiện ở Việt Nam. Nên việc trích dẫn tài liệu tham khảo là phù hợp.

3. Sự phù hợp giữa tên đề tài với nội dung, giữa nội dung với chuyên ngành và mã số chuyên ngành

Phù hợp

4. Độ tin cậy, tính hiện đại của các phương pháp đã sử dụng để nghiên cứu

Luận án có phần tổng quan tài liệu dài 29 trang, phần đối tượng và phương pháp nghiên cứu dài chỉ có 9 trang, phần kết quả và thảo luận dài 52 trang. Các phần này không cân xứng, trong đó phần phương pháp nghiên cứu quá ít, viết sơ sài và lược bỏ rất nhiều các phân tích định tính và định lượng. Các nội dung không thực sự cần thiết với của luận án ví dụ thành phần môi trường Z8 không nên để vào phần nội dung của phương pháp nghiên cứu, có thể đưa vào phần phụ lục.

Tuy các kết quả đạt được chưa cao, nhưng những đóng góp của đề tài này phù hợp cho việc đánh giá các loài VKL sinh độc tố ở 2 thủy vực Ea Nhái và Buôn Phong.

5. Đánh giá các kết quả nghiên cứu mới đạt được; những đóng góp mới cho sự phát triển khoa học của chuyên ngành; đóng góp mới cho phục vụ sản xuất, kinh tế, xã hội và đời sống. Ý nghĩa khoa học, giá trị độ tin cậy của những kết quả đó.

- Thời gian nghiên cứu ghi rõ thời gian lấy mẫu, xác định thành phần loài là khi nào, không thể là thời gian làm luận án.

- Phần phân tích các thông số môi trường và sự hiện diện của gen liên quan đến sự sinh độc tố CYN cần phải viết lại, cách viết rất lộn xộn, không theo hệ thống, ví dụ các đoạn môi cần để vào bảng, các phương pháp phân tích cũng vậy.

- Kết quả phân tích của các mẫu phân lập được so sánh với nhiều tác giả như Hoff-Rissetti và cs., 2013, Yilmaz và Phillips, 2011 được kết luận là cần thiết kể một môi mới dành riêng cho *cyrA*, nhưng trong nghiên cứu này không thấy đột phá mới.

- Bảng 3.9 là bảng thông số môi trường của hồ Ea Nhái trong thời gian khảo sát của luận án, tuy nhiên các giá trị min – max đo không có độ lặp, giá trị tin cậy và sai số ý nghĩa, và bảng này cũng không đưa ra được các giá trị ở mức cho phép của các tiêu chuẩn của Bộ tài nguyên và môi trường. Vì thế, việc khẳng định các giá trị T-N và T-P tương đối cao ở hồ Ea Nhái là chủ quan.

- Trong nghiên cứu các thông số môi trường, tỷ lệ C : N cũng ảnh hưởng không nhỏ đến sự tồn tại của các loài tảo, điều này rất quan trọng trong việc sống còn của sự tồn tại của các loài thuộc tảo. Sự giàu trải các thông số N – NH_4 , N – NO_3 trong các phân tích mà thiếu đi sự phân tích hàm lượng Carbon sẽ là một sự thiếu sót lớn.

6. Những ưu điểm và nhược điểm về nội dung, kết cấu và hình thức của luận án. Những góp ý chỉnh sửa về hình thức, nội dung, phương pháp nghiên cứu, cấu trúc... của luận án

- Ưu điểm: Sau quá trình chỉnh sửa luận án đã có phần rất rõ ràng, về nội dung và kết quả nghiên cứu đáp ứng với mục tiêu của luận án.

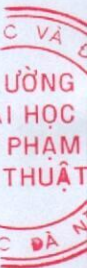
- Nhược điểm: đã nêu trong phần 4 và 5. Thêm 01 chút để luận án chỉnh chu hơn, khi chỉnh sửa các hình vẽ và bảng biểu, nên chỉnh sửa cả mục lục chứa các hình vẽ và bảng biểu đó. Ví dụ, tiêu đề các hình vẽ 3.9 – 3. 11 đã chỉnh sửa trong nội dung của luận án nhưng trong mục lục vẫn còn giữ nguyên, nội dung của các tiêu đề này hoàn toàn giống nhau, cần chỉnh sửa theo nội dung của luận án.

7. Nội dung luận án đã được công bố trên tạp chí, kỷ yếu hội nghị khoa học nào và giá trị khoa học của các công trình đã công bố.

- Phù hợp

8. Kết luận chung cần khẳng định mức độ đáp ứng các yêu cầu đối với một luận án tiến sĩ; bản tóm tắt luận án phản ánh trung thành nội dung cơ bản của luận án hay không

- Phù hợp



Ý KIẾN ĐỀ NGHỊ

Đồng ý cho NCS bảo vệ trước hội đồng đánh giá luận án cấp Đại học Huế.

Huế, ngày 02. tháng 03. năm 2023

Xin nhận chủ tịch hội

Là của TS. Nguyễn Thị Đông Phương

Nguyễn Thị Đông Phương



Thừa Thiên Huế, ngày 28 tháng 3 năm 2023

**BẢN GIẢI TRÌNH CHỈNH SỬA LUẬN ÁN TIẾN SĨ THEO KẾT LUẬN
CỦA HỘI ĐỒNG ĐÁNH GIÁ LUẬN ÁN TIẾN SĨ CẤP ĐẠI HỌC HUẾ**

Họ tên nghiên cứu sinh: Ngô Thị Diễm My

Tên luận án: *Xác định thành phần loài và khả năng sinh độc tố cylindrospermopsin của
vi khuẩn lam trong một số thủy vực ở Đắc Lắc*

Chuyên ngành: Sinh học

Mã số: 9420101

GV hướng dẫn: PGS.TS. Nguyễn Thị Thu Liên

PGS.TS. Tôn Thất Pháp

Nơi đào tạo: Viện Công nghệ sinh học, Đại học Huế

Căn cứ theo biên bản họp hội đồng đánh giá luận án tiến sĩ cấp Đại học Huế

❖ Nghiên cứu sinh đã chỉnh sửa

1. Hình thức

- Nghiên cứu sinh đã rà soát, chỉnh sửa một số từ ngữ, thuật ngữ chưa phù hợp, diễn đạt chưa rõ ý theo góp ý của hội đồng. Đã viết hóa một số từ và một số thuật ngữ theo những ý kiến đóng góp của hội đồng.

- Nghiên cứu sinh đã rà soát cân trọng về cách thức tham khảo, nơi tham khảo và định dạng danh sách tham khảo theo những ý kiến đóng góp của hội đồng.

- Nghiên cứu sinh đã liệt kê đầy đủ các chữ viết tắt theo những ý kiến đóng góp của hội đồng.

2. Nội dung

2.1. Mục tiêu

- Nghiên cứu sinh đã viết ngắn gọn lại phần mục tiêu theo những ý kiến đóng góp của hội đồng.

2.2. Tổng quan

- Nghiên cứu sinh đã bổ sung thông tin về sơ đồ của quá trình tổng hợp độc tố CYN và hình ảnh các gen tham gia quá trình tổng hợp độc tố ở các chủng vi khuẩn lam khác nhau để thấy được các gen liên quan đến quá trình sinh tổng hợp CYN theo những ý kiến đóng góp của hội đồng.
- Nghiên cứu sinh đã bổ sung thông tin để làm nổi bật tính cấp thiết của đề tài khi chọn hai hồ theo những ý kiến đóng góp của hội đồng.

2.3. Phương pháp

- Nghiên cứu sinh đã viết chi tiết hơn, đã làm rõ thời gian lấy mẫu và thời gian phân tích thành phần loài theo những ý kiến đóng góp của hội đồng.
- Nghiên cứu sinh đã viết lại phần phân tích các thông số môi trường và gen sinh tổng hợp độc tố CYN cũng như bổ sung phương pháp đo thể tích tế bào theo những ý kiến đóng góp của hội đồng.

2.4. Kết quả

- Nghiên cứu sinh đã bổ sung, viết lại một số biện luận về kết quả nghiên cứu đạt được với các công bố khác trong và ngoài nước theo những ý kiến đóng góp của hội đồng.
- Nghiên cứu sinh đã bổ sung, làm rõ chủng CBP4 không mang gen độc *cyrB* và *cyrC* nhưng xác định được hàm lượng độc tố cao theo ý kiến đóng góp của hội đồng.
- Nghiên cứu sinh đã bổ sung biện luận vì sao không chọn 3 mẫu AcBP2, PLBP1 và PLBP2 để chạy PCR theo những ý kiến đóng góp của hội đồng.
- Nghiên cứu sinh đã bổ sung phân tích thống kê ở một số bảng biểu theo những ý kiến đóng góp của hội đồng.

2.5. Kết luận

- Nghiên cứu sinh đã viết ngắn gọn lại phần kết quả để tương ứng với các nội dung nghiên cứu theo những ý kiến đóng góp của hội đồng.
- Nghiên cứu sinh đã bổ sung kết luận về gen *cyrB*, *cyrC* liên quan đến sự ghi nhận có và không có hàm lượng độc tố CYN ở các loài VKL có khả năng sinh độc tố theo những ý kiến đóng góp của hội đồng.

GV hướng dẫn 1

GV hướng dẫn 2

Nghiên cứu sinh



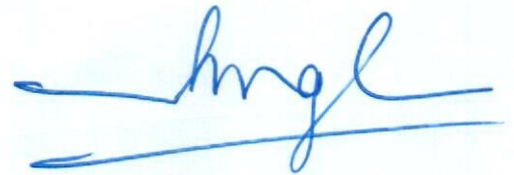
Nguyễn Thị Thu Liên

Tôn Thất Pháp

Ngô Thị Diễm My

Thư kí hội đồng

Chủ tịch hội đồng



Nguyễn Thị Kim Cúc

Trương Thị Hồng Hải



Thừa Thiên Huế, ngày 8 tháng 3 năm 2023

BIÊN BẢN
HỌP HỘI ĐỒNG ĐÁNH GIÁ LUẬN ÁN TIẾN SĨ CẤP ĐẠI HỌC HUẾ

1. Họ và tên nghiên cứu sinh: Ngô Thị Diễm My

Khóa: 2018

Ngành: Sinh học

Mã số: 9420101

Tên đề tài: **Xác định thành phần loài và khả năng sinh độc tố *Cylindrospermopsis* của vi khuẩn lam trong một số thủy vực ở Đắc Lắc**

2. Thành phần hội đồng: Theo quyết định số 2166/QĐ-ĐHH ngày 30 tháng 12 năm 2022 của Giám đốc Đại học Huế gồm các thành viên sau:

STT	HỌC HÀM, HỌC VỊ, HỌ VÀ TÊN	CHỨC TRÁCH TRONG HỘI ĐỒNG
1	PGS.TS. Trương Thị Hồng Hải Viện Công nghệ sinh học, Đại học Huế	Chủ tịch Hội đồng
2	TS. Nguyễn Thị Kim Cúc Viện Công nghệ sinh học, Đại học Huế	Thư ký Hội đồng
3	GS.TS. Đặng Diễm Hồng Viện Công nghệ sinh học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam	Phản biện 1
4	GS.TS. Đoàn Như Hải Viện Hải Dương học Nha Trang	Phản biện 2
5	PGS.TS. Phạm Thanh Lưu Viện sinh học nhiệt đới	Phản biện 3
6	PGS.TS. Phạm Thị Ngọc Lan Đại học Khoa học, Đại học Huế	Ủy viên
7	TS. Nguyễn Thị Đông Phương Trường Đại học Sư phạm Kỹ thuật Đà Nẵng	Ủy viên

Số thành viên có mặt: 07/ 07thành viên.

3. Diễn biến chi tiết buổi bảo vệ như sau:

3.1. Khai mạc buổi bảo vệ luận án tiến sĩ cấp Đại học Huế

Hội đồng đánh giá luận án tiến sĩ cấp Đại học Huế được thành lập theo quyết định số 2166/ QĐ-ĐHH ngày 30/12/2022 của Giám đốc Đại học Huế tuyên bố lý do, giới thiệu đại biểu và đọc quyết định thành lập Hội đồng.

Giới thiệu chủ tịch hội đồng - PGS.TS. Trương Thị Hồng Hải, điều khiển buổi đánh giá luận án tiến sĩ cấp Đại học Huế tại Đại học Huế.

3.2. Chủ tịch Hội đồng thông qua chương trình làm việc

Chủ tịch Hội đồng thông báo danh sách thành viên Hội đồng có mặt 07/07 thành viên, như vậy Hội đồng đủ điều kiện cho buổi bảo vệ làm việc.

Chủ tịch Hội đồng thông qua chương trình làm việc của Hội đồng và toàn bộ thành viên Hội đồng đã đồng ý về chương trình làm việc.

3.3. Hội đồng thông qua điều kiện bảo vệ

Thư ký hội đồng công bố các điều kiện để bảo vệ của nghiên cứu sinh Ngô Thị Diễm My như sau:

- Nghiên cứu sinh đã hoàn thành chương trình đào tạo theo đúng quy định tại khoản 5, 6 Điều 5 của Quyết định số 1019/QĐ-ĐHH ngày 19 tháng 9 năm 2017 của Giám đốc Đại học Huế về việc ban hành Quy định về đào tạo trình độ tiến sĩ, cụ thể nghiên cứu sinh đã hoàn thành:

STT	Tên học phần/ chuyên đề/ tiểu luận tổng quan	Mã số	Số tín chỉ	Điểm
2 học phần bắt buộc				
1	Di truyền phân tử và hệ gen	HPTSSH-01	2	8,4
2	Bảo tồn đa dạng sinh học	HPTSSH-02	2	8,5
2 học phần tự chọn				
1	Sinh học biển	HPTSSH-03	2	9,0
2	Tin sinh học ứng dụng	HPTSSH-11	2	9,3
3 chuyên đề				
1	Các công cụ phân tử trong nhận dạng sinh vật	CDTSSH-03	2	9,3
2	Sinh học tảo và ứng dụng	CDTSSH-09	2	9,4
3	Độc tố học	CDTSSH-11	2	9,2
1 tiểu luận tổng quan				
1	Xác định thành phần loài và khả năng sinh độc tố <i>Cylindrospermopsis</i> của vi khuẩn lam trong một số thủy vực ở Đăk Lăk		2	9,3

- Luận án đáp ứng đầy đủ yêu cầu ở Điều 17 của Quyết định số 1019/QĐ-ĐHH ngày 19 tháng 9 năm 2017 của Giám đốc Đại học Huế về việc ban hành Quy định về đào tạo trình độ tiến sĩ.

- Tập thể hướng dẫn đã có văn bản khẳng định chất lượng của luận án và đồng ý cho nghiên cứu sinh được bảo vệ luận án trước hội đồng cấp Đại học Huế.

- Nghiên cứu sinh đã có 04 bài báo đăng trên các tạp chí:

+ (2022). Population dynamics of *Raphidiopsis raciborskii* and cylindrospermopsin concentration in Ea Nai reservoir in Dak Lak province, Vietnam. *Pol. J. Environ. Study* 31(4) 1-12. DOI: 10.15244/pjoes/146704.

+ (2022). Cyanobacterium *Raphidiopsis raciborskii* and its toxin in Buon Phong reservoir, Dak Lak province, Vietnam. *Vietnam Journal of Earth Sciences* 1-16. DOI: 10.15625/2615-9783/16997.

+ (2022). Nở hoa của loài vi khuẩn lam độc *Raphidiopsis raciborskii* tại hồ Buôn Phong, tỉnh Đắk Lắk. *Tạp chí Khoa học Đại học Huế: Khoa học Tự nhiên* 131(1A) 43-49. DOI: 10.26459/-hueunijns.v131i1A.6341

+ (2020). Thành phần loài vi khuẩn lam ở hồ Ea Nhái và hồ Buôn Phong tỉnh Đắk Lắk. Báo cáo khoa học hội nghị Công nghệ Sinh học toàn quốc 2020, NXB Đại học Huế, 983-989.

3.4. Nghiên cứu sinh trình bày luận án

Nghiên cứu sinh Ngô Thị Diễm My trình bày tóm tắt nội dung luận án tiến sĩ trong thời gian 25 phút.

3.5. Các ý kiến đánh giá và góp ý của thành viên Hội đồng

Chi tiết các ý kiến của thành viên hội đồng xem bản nhận xét của các thành viên hội đồng đính kèm biên bản này. Sau đây là những nhận xét cơ bản của các thành viên hội đồng:

- **Ý nghĩa khoa học của đề tài luận án:**

+ **Đề tài có ý nghĩa khoa học thể hiện:**

Vi khuẩn lam (VKL) đóng vai trò quan trọng trong các thủy vực nước ngọt và thường được chọn là một trong những chỉ thị để đánh giá chất lượng nước. Nhiều loài của nhóm vi tảo này sản sinh các độc tố gây hại đến sức khỏe sinh vật và con người. Nghiên cứu về đối tượng vi khuẩn lam gây hại ở vùng nhiệt đới chưa nhiều, đặc biệt là ở Việt Nam càng hạn chế. Với nghiên cứu này, đề tài đã cung cấp danh lục thành phần loài VKL và VKL có khả năng sinh độc tố CYN trong hai hồ Ea Nhái và Buôn Phong, góp phần bổ sung vào danh lục thành phần loài VKL và VKL có khả năng tạo độc tố này trong thủy vực ở Việt Nam; cung cấp thông tin về hàm lượng độc tố CYN trong hồ Ea Nhái và hồ Buôn Phong ở Đắk Lắk. Do đó, đề tài luận án mang tính thời sự và ý nghĩa khoa học, góp phần kiến thức và hiểu biết về VKL và độc tố CYN ở các thủy vực tỉnh Đắk Lắk nói riêng và cho Việt Nam nói chung

+ Đề tài có ý nghĩa thực tiễn thể hiện:

Những đóng góp về mặt thực tế của luận án là: Xác định được yếu tố môi trường chủ đạo kiểm soát sự sinh trưởng quần thể VKL có khả năng sinh độc tố CYN trong tự nhiên từ đó có biện pháp kiểm soát và kiểm chế sự phát triển bùng phát của nhóm loài VKL độc này; Kết quả nghiên cứu cung cấp cơ sở cho việc dự báo nguy cơ ô nhiễm cũng như đề xuất biện pháp quản lý nhóm loài VKL độc hại, góp phần bảo vệ nguồn tài nguyên nước, bảo vệ sức khỏe cộng đồng. Ngoài ra, việc đánh giá rủi ro tiềm ẩn của nhóm loài VKL có khả năng sinh độc tố CYN thông qua đánh giá sự biến động thể tích sinh học và hàm lượng độc tố CYN trong môi trường tự nhiên cũng như khả năng sinh độc tố này của các chủng VKL phân lập được trong hồ Ea Nhái và hồ Buôn Phong ở Đắk Lắk có thể giải thích được sự thay đổi môi trường ảnh hưởng đến hiện tượng nở hoa trong các thủy vực.

- Sự hợp lý, độ tin cậy và tính hiện đại của các phương pháp nghiên cứu:

NCS đã sử dụng các phương pháp nghiên cứu khoa học thường quy, truyền thống như khảo sát thu mẫu, phân tích định tính, định loại VKL bằng phương pháp hình thái so sánh nhờ sử dụng hiển vi quang học, phân tích định lượng và thể tích sinh học VKL bằng phương pháp buồng đếm. Các phương pháp thu mẫu và phân tích mẫu VKL là thường quy ở Việt Nam và trên thế giới và được trích dẫn đầy đủ. NCS đã sử dụng các phương pháp phân tích độc tố cơ bản sử dụng phản ứng miễn dịch và phân tích hóa học trên sắc ký lỏng hiệu năng cao cho các dòng VKL phân lập được từ 2 thủy vực ở Đắk Lắk. Phương pháp phân lập và nuôi cấy là thường quy quốc tế và được trích dẫn khá đầy đủ. Các phân tích độc tố đã được thực hiện bằng kỹ thuật PCR với chỉ thị gen *cyrB* và *cyrC* cho kết quả tốt.

- Đánh giá kết quả đạt được, những đóng góp mới và giá trị của những đóng góp đó:

Kết quả của luận án được công bố lần đầu về thành phần loài VKL và các loài VKL có khả năng sinh độc tố ở hai hồ lớn ở Đắk Lắk và đã xác định được các nhân tố quan trọng liên quan tới sự biến động của các chủng vi khuẩn lam trong hồ. Điều này có ý nghĩa lớn trong việc dự báo nguy cơ của độc tố CYN trong những hồ nghiên cứu, làm cơ sở để phân tích độc tố này trong các hồ khác ở Đắk Lắk, đặc biệt là các hồ chứa nước sinh hoạt.

Các nhận xét và bàn luận hợp lý và sát với đề tài. Luận án đã giải quyết được mục tiêu và nội dung đặt ra có cơ sở khoa học, có số liệu phong phú, kết quả nghiên cứu thu được có tính cấp thiết cao, có ý nghĩa khoa học, có tính mới và tính ứng dụng trong thực tiễn cao trong việc giám sát, cảnh báo các loài vi khuẩn lam độc hại nhằm giảm thiểu tác hại do chúng gây ra đối với hệ sinh thái nước ngọt và an toàn cho sức khỏe người và động vật sống trong vùng 2 hồ Ea Nhái và hồ Buôn Phong của Đắk Lắk

Cụ thể, luận án đã Thu thập và ghi nhận 34 loài VKL ở hai hồ Ea Nhái (19 loài) và Buôn Phong (26 loài); Tất cả các ngành/chi/loài trong luận án đều được mô tả chi tiết và minh họa rõ bằng hình ảnh; Tác giả đã phân tích và xác định hàm lượng độc tố CYN trong các mẫu nước thu liên tục 12 tháng từ 2 hồ; Tác giả cũng đã phân lập nuôi cấy hơn 20 chủng thuộc các nhóm VKL có tiềm năng sản sinh CYN từ 2 hồ này, đồng thời phân tích sự hiện diện của 2 gen *cyrB* và *cyrC* cũng như phân tích hàm lượng độc tố CYN từ các chủng này và khẳng định được 4 loài sản sinh độc tố CYN ở 2 hồ dựa trên 3 phương pháp phân tích: ELISA, HPLC và chỉ thị gen *cyrB* và gen *cyrC*. Mỗi liên

quan giữ VKL độc tố CYN và các yếu tố hóa lý cũng được phân tích và lý giải. Đây là những kết quả đầu tiên và quan trọng về VKL, độc tố CYN cũng như về chất lượng môi trường nước ở 2 hồ này. Các kết quả này là đáng tin cậy và đóng vai trò quan trọng cho công tác quản lý rủi ro về ô nhiễm độc tố VKL và môi trường nước nói chung ở hai thủy vực này.

- Những ưu điểm và nhược điểm, thiếu sót, những điểm cần bổ sung và sửa chữa:

+ Ưu điểm:

Luận án là nghiên cứu hoàn chỉnh về thành phần loài VKL có khả năng sản sinh độc tố trong 01 thủy vực ở Đak Lak và xác định loài sản sinh độc tố bằng các phương pháp phân tích khác nhau.

Hình thức luận án được trình bày đúng theo quy định của Cơ sở đào tạo. Luận án có bố cục khá cân đối và hợp lý, hình thức trình bày sạch đẹp, bảng biểu hình ảnh minh họa rõ ràng, ít lỗi chính tả, số liệu đáng tin cậy, phụ lục và bảng phân tích số liệu có xử lý thống kê đầy đủ, tài liệu tham khảo có địa chỉ rõ ràng. Tổng quan các vấn đề nghiên cứu được trình bày rõ ràng, có cơ sở khoa học, nêu được các luận điểm liên quan đến lĩnh vực nghiên cứu. Với 4 nội dung đặt ra được thể hiện qua phần kết quả nghiên cứu và bàn luận khá rõ nét làm nổi bật vấn đề nghiên cứu được đặt ra

Có số liệu phong phú, kết quả nghiên cứu thu được có tính cấp thiết cao, có ý nghĩa khoa học, có tính mới và tính ứng dụng trong thực tiễn cao trong việc giám sát, cảnh báo các loài vi khuẩn lam độc hại nhằm giảm thiểu tác hại do chúng gây ra đối với hệ sinh thái nước ngọt và an toàn cho sức khỏe người và động vật sống trong vùng 2 hồ Ea Nhái và hồ Buôn Phong của Đăk Lăk. Kết luận và kiến nghị phù hợp với các kết quả nghiên cứu thu được

Nhược điểm:

- Hình thức:

+ Một số từ ngữ, thuật ngữ sử dụng chưa phù hợp, diễn đạt chưa rõ, cần chỉnh sửa lại (*chi tiết trong Bản nhận xét*).

+ Về hình thức, cần Việt hoá một số từ như “gradient, stress, oxy hoá (ko oxi); với một số thuật ngữ khi dịch cần sử dụng từ chính xác tiếng Việt (*chi tiết trong Bản nhận xét*).

+ Các tài liệu tham khảo nên được cân trọng rà soát về cách thức tham khảo, nơi tham khảo và định dạng danh sách tham khảo.

+ Liệt kê đầy đủ các chữ viết tắt.

- Nội dung:

+ Phần tổng quan

Chưa thật sự làm nổi bật tính cấp thiết khi chọn hồ Ea Nhái và Buôn Phong để lấy mẫu nghiên cứu;

Nên có phần tổng quan thêm về tảo lam độc: trình bày về chi/loài nào sinh độc tố nào, từ đó làm cơ sở thêm cho việc tập trung vào *Cylindrospermopsis*; tổng quan về phương pháp phân loại tảo bằng hình thái hoá sinh;

Cách trình bày tổng quan còn thiếu cô đọng. NCS cần rà soát lại và tổng quan đề cập theo từng chủ đề, trình bày có hệ thống hơn, tránh dàn trải và trùng lặp, bên cạnh đó cần đúc kết lại những điểm chính ở các nghiên cứu trước cũng như đề cập đến những điểm yếu/những hạn chế ở những nghiên cứu trước đây, từ đó làm nổi bật lên tính mới, tính cần thiết của luận án.

+ *Phần phương pháp*

Phần phương pháp nghiên cứu viết còn chưa rõ ràng, cần trình bày và mô tả cụ thể hơn về các phương pháp sử dụng, một số ví dụ như : Thời gian nghiên cứu, cần ghi rõ thời gian lấy mẫu, xác định thành phần loài là khi nào;

Phân phân tích các thông số môi trường và sự hiện diện của gen liên quan đến sự sinh độc tố CYN cần phải viết lại rõ ràng, có hệ thống;

Phân đo thể tích tế bào phải đưa vào phương pháp

+ *Phần kết quả:*

Cần làm rõ tại sao chủng CBP4 không mang gen độc B, C nhưng phân tích thấy có khả năng sinh độc tố CYN hàm lượng cao. Có thể kiểm tra lại hoặc bằng gen khác, hoặc bằng phương pháp khác để định loại lại có phải CBP4 là loài *R. raciborskii* hay không

Cần viết lại một số đoạn phân tích cho cô đọng và tránh lặp lại. Một số kết luận còn chủ quan, cần xem xét chỉnh sửa (*chi tiết trong Bản nhận xét*).

Cần biện luận rõ ràng vì sao không chọn 3 mẫu AcBP2, PLBP1, PLBP2 để chạy PCR.

Trong kết quả cần cân nhắc rút gọn và bổ sung (nếu có thể) một vài phần hay bảng biểu để tăng cường thông tin/nâng cao các kết quả đạt được của luận án.

+ *Phần kết luận*

Kết luận của luận án cần viết ngắn gọn lại cho tương ứng với các nội dung nghiên cứu. Thiếu kết luận về gen *cyrB*, *cyrC* liên sự ghi nhận được có và không có hàm lượng độc tố CYN ở các loài VKL có khả năng sinh độc tố.

- **Nhận xét về chất lượng các bài báo khoa học:**

Các thành viên Hội đồng đều có cùng nhận xét về các bài báo khoa học của tác giả luận án đều là các công bố trên các tạp chí chuyên ngành có uy tín trong và ngoài nước, có nội dung phù hợp với nội dung của luận án, phản ánh kết quả chủ yếu của luận văn.

- **Kết luận:**

Các thành viên Hội đồng đều có cùng kết luận: luận án của NCS Ngô Thị Diễm My đã đáp ứng đầy đủ các yêu cầu đối với một luận án Tiến sĩ, phù hợp với mã số của chuyên ngành Sinh học, mã số 9420101. Bản tóm tắt luận án phản ánh cơ bản nội dung của luận án.

3.6. Nghiên cứu sinh giải thích các ý kiến của các thành viên Hội đồng:

Nghiên cứu sinh đã trả lời câu hỏi của Phản biện 1 GS.TS. Đặng Thị Diễm Hồng về số lượng loài trong các công bố chưa khớp với số lượng trong luận án là do tại thời điểm công bố hình ảnh và số liệu của một số loài chưa đầy đủ nên chỉ công bố những cái đã có

Nghiên cứu sinh trả lời câu hỏi của Phản biện 2. GS. TS. Đoàn Như Hải liên quan tới việc có chiến lược gì để ngăn tảo độc nở hoa, nghiên cứu sinh đã bàn luận về việc kiểm soát sự phú dưỡng của hồ (do nuôi cá lồng bè, do canh tác..) nên phải có tuyên truyền giải thích để giảm ô nhiễm hữu cơ vào hồ.

Nghiên cứu sinh trả lời câu hỏi của phản biện 3. PGS.TS. Phạm Thanh Lưu:

- liên quan tới hàm lượng độc tố trong tự nhiên và nuôi cấy khác nhau là do giới hạn nghiên cứu, nhưng sẽ có những so sánh sâu hơn về độc tố CYN trong nuôi cấy ở các giai đoạn khác nhau và trong tự nhiên

- Liên quan tới mật độ tế bào thay đổi theo mùa với biên độ lớn nhưng hàm lượng độc tố ít thay đổi nghiên cứu sinh giải thích rằng có thể có những loại tảo đáy cũng sinh CYN mà trong nghiên cứu của mình chưa phân lập/ghi nhận được.

Nghiên cứu sinh trả lời câu hỏi của thành viên hội đồng PGS.TS. Phạm Thị Ngọc Lan về việc thời điểm thu sinh khối tế bào tảo nuôi cấy để phân tích độc tố CYN tại pha log có phải tối ưu không, là do giới hạn thí nghiệm chỉ phân tích ở pha tế bào sinh trưởng cực đại, các giai đoạn khác chưa khảo sát nên chưa thể trả lời và sẽ có những nghiên cứu tiếp theo để có thể làm rõ gợi ý này.

Các thành viên khác không có câu hỏi, các thành viên có câu hỏi hoàn toàn nhất trí và đánh giá cao các câu trả lời của NCS.

3.7. Hội đồng họp kín đánh giá kết quả

- Hội đồng bầu ban kiểm phiếu và nhất trí bầu:

+ GS.TS. Đặng Thị Diễm Hồng làm trưởng ban,

+ PGS.TS. Nguyễn Thanh Lưu làm ủy viên,

+ TS. Nguyễn Thị Đông Phương làm ủy viên,

- Ban kiểm phiếu thông qua kết quả trước Hội đồng và đã được toàn thể nhất trí.

(có biên bản kiểm phiếu đính kèm theo biên bản này)

- Hội đồng thông qua nghị quyết với các nội dung sau:

+ *Ý nghĩa khoa học và thực tiễn của luận án:*

Độc tố *Cylindrospermopsins* (CYN) là nhóm độc tố được sinh ra bởi các nhóm VKL nước ngọt như *Aphanizomenon*, *Cylindrospermopsis*, *Dolichospermum*, *Lyngbya*, *Oscillatoria*,... Tuy nhiên cho đến nay, các nghiên cứu về loại độc tố này trong các thủy vực ở nước ta còn khá hạn chế, đặc biệt là ở các thủy vực tỉnh Đắk Lắk hầu như chưa có thông tin. Luận án cung cấp danh lục thành phần loài VKL và VKL có khả năng sinh độc tố CYN trong hai hồ Ea Nhái và Buôn Phong, góp phần bổ sung vào danh lục thành phần loài VKL và VKL có khả năng tạo độc tố này trong thủy vực ở Việt Nam; cung cấp thông tin về hàm lượng độc tố CYN trong hồ Ea Nhái và hồ Buôn Phong ở Đắk Lắk. Do đó, luận án có ý nghĩa khoa học, góp phần kiến thức và hiểu biết về VKL và độc tố CYN ở các thủy vực tỉnh Đắk Lắk nói riêng và cho Việt Nam nói chung.

Đồng thời, luận án có ý nghĩa thực tiễn quan trọng khi xác định được yếu tố môi trường chủ đạo kiểm soát sự sinh trưởng quần thể VKL có khả năng sinh độc tố CYN trong tự nhiên từ đó có biện pháp kiểm soát và kiểm chế sự phát triển bùng phát của nhóm loài VKL độc này, làm cơ sở cho việc dự báo nguy cơ ô nhiễm cũng như đề xuất biện pháp quản lý nhóm loài VKL độc hại, góp phần bảo vệ nguồn tài nguyên nước, bảo vệ sức khỏe cộng đồng.

+ *Độ tin cậy của các luận điểm khoa học nêu trong luận án:*

NCS đã sử dụng các phương pháp nghiên cứu khoa học thường quy, truyền thống như khảo sát thu mẫu, phân tích định tính, định loại VKL bằng phương pháp hình thái so sánh nhờ sử dụng hiển vi quang học, phân tích định lượng và thể tích sinh học VKL bằng phương pháp buồng đếm. Các phương pháp thu mẫu và phân tích mẫu VKL là

thường quy ở Việt Nam và trên thế giới và được trích dẫn đầy đủ. NCS đã sử dụng các phương pháp phân tích độc tố cơ bản sử dụng phản ứng miễn dịch và phân tích hóa học trên sắc ký lỏng hiệu năng cao cho các dòng VKL phân lập được từ 2 thủy vực ở Đắk Lắk. Phương pháp phân lập và nuôi cấy là thường quy quốc tế và được trích dẫn đầy đủ với sự thành công của 24 chủng phân lập được. Các phân tích độc tố được hỗ trợ bởi các phân tích sinh học phân tử trên chỉ thị gen *cyrB* và *cyrC* đã cho kết quả tốt.

+ *Những điểm mới của công trình:*

Luận án đã cung cấp danh lục thành phần loài VKL và VKL có khả năng sinh độc tố CYN trong hai hồ Ea Nhái và Buôn Phong ở Đắk Lắk, góp phần bổ sung vào danh lục thành phần loài VKL và VKL có khả năng sinh độc tố này trong các thủy vực ở Việt Nam; đồng thời cung cấp thông tin về hàm lượng độc tố CYN trong hồ Ea Nhái và Buôn Phong ở Đắk Lắk. Ngoài ra cũng đã phân tích được các yếu tố môi trường chủ đạo liên quan tới sự phát triển của các loài tảo độc ở hai hồ Ea Nhái và Buôn Phong.

+ *Sự phù hợp của tên đề tài với nội dung và mã số ngành:*

Tên đề tài phù hợp với nội dung nghiên cứu và ngành Sinh học, mã số: 9420101.

+ *Những thiếu sót cần chỉnh sửa:*

Hình thức:

+ Cần chỉnh sửa/viết hoá lại một số thuật ngữ cho phù hợp và Việt hoá.

+ Các tài liệu tham khảo nên được cân trọng rà soát về cách thức tham khảo, nơi tham khảo và định dạng danh sách tham khảo. Liệt kê đầy đủ các chữ viết tắt.

Nội dung:

Mục tiêu

Viết lại ngắn gọn hơn

Phân tổng quan

Bổ sung thông tin về các gen liên quan tới tổng hợp độc tố CYN; tính cấp thiết của đề tài;

Phân phương pháp

Phân phương pháp nghiên cứu viết chi tiết hơn;

Cần làm rõ thời gian lấy mẫu, xác định thành phần loài là khi nào

Phân kết quả:

Bổ sung/sắp xếp lại các biện luận về kết quả nghiên cứu đạt được với các công bố khác trong và ngoài nước

Kết luận của luận án cần viết ngắn gọn lại cho tương ứng với các nội dung nghiên cứu. Thiếu kết luận về gen *cyrB*, *cyrC* liên sự ghi nhận được có và không có hàm lượng độc tố CYN ở các loài VKL có khả năng sinh độc tố.

Bổ sung phân tích thống kê ở một số bảng biểu

Phân kết luận

Kết luận cần viết ngắn gọn lại cho tương ứng với các nội dung nghiên cứu;

Bổ sung kết luận về hai gen liên quan tới độc tố CYN là *cyrB/cyrC*

Đánh giá chung:

Nội dung và hình thức luận án của NCS Ngô Thị Diễm My đã đáp ứng đầy đủ các yêu cầu đối với một luận án Tiến sĩ, phù hợp với mã số của chuyên ngành Sinh học, mã số 9420101. Bản tóm tắt luận án phản ánh cơ bản nội dung của luận án. Hội đồng đánh giá cao đề tài nghiên cứu của NCS.

Hội đồng thống nhất đề nghị Chủ tịch hội đồng và Thư ký hội đồng giám sát việc chỉnh sửa của nghiên cứu sinh sau khi bảo vệ trước hội đồng đánh giá luận án tiến sĩ cấp Đại học Huế.

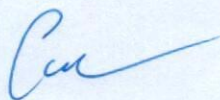
3.8. Hội đồng công bố kết quả và nghị quyết

- Trưởng ban kiểm phiếu đọc biên bản kiểm phiếu và công bố kết quả đánh giá của Hội đồng.

- Chủ tịch Hội đồng đọc nghị quyết của hội đồng đánh giá luận án tiến sĩ cấp Đại học Huế cho nghiên cứu sinh Ngô Thị Diễm My.

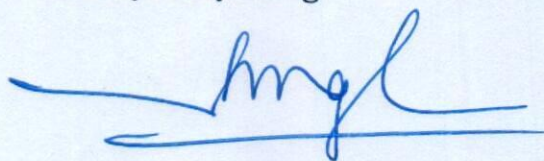
- Hội đồng đề nghị Giám đốc Đại học Huế công nhận (*không công nhận*) học vị và cấp bằng tiến sĩ chuyên ngành Sinh học cho nghiên cứu sinh Ngô Thị Diễm My.

Thư ký Hội đồng



Nguyễn Thị Kim Cúc

Chủ tịch Hội đồng



Trương Thị Hồng Hải

Xác nhận của đơn vị đào tạo



PGS.TS. Trương Thị Hồng Hải



Thừa Thiên Huế, ngày 08 tháng 03 năm 2023

BIÊN BẢN KIỂM PHIẾU
(Dùng trong buổi đánh giá luận án tiến sĩ cấp Đại học Huế)

Ngày 08 tháng 03 năm 2023, Hội đồng đánh giá luận án tiến sĩ cấp Đại học Huế được thành lập theo Quyết định số 2166/QĐ-ĐHH ngày 30 tháng 12 năm 2022 của Giám đốc Đại học Huế cho nghiên cứu sinh Ngô Thị Diễm My, ngành Sinh học đã bầu ra Ban kiểm phiếu với thành phần như sau:

- 1/ G.S.TS. Đặng Diễm Hồng: Trưởng Ban
- 2/ PGS.TS. Phạm Thanh Lưu: Ủy viên
- 3/ T.S. Nguyễn Thị Đông Phương: Ủy viên

Ban kiểm phiếu đã tiến hành kiểm phiếu với kết quả như sau:

Số phiếu phát ra: 07 Số phiếu thu vào: 07
Số phiếu hợp lệ: 07 Số phiếu không hợp lệ: 0
Số phiếu tán thành: 07 Số phiếu không tán thành: 0

ỦY VIÊN

(ký và ghi họ tên)

Phạm Thanh Lưu

ỦY VIÊN

(ký và ghi họ tên)

Nguyễn Thị Đông Phương

TRƯỞNG BAN

(ký và ghi họ tên)

Đặng Diễm Hồng

Thừa Thiên Huế, ngày 8 tháng 3 năm 2023

NGHỊ QUYẾT CỦA HỘI ĐỒNG ĐÁNH GIÁ LUẬN ÁN TIẾN SĨ CẤP ĐẠI HỌC HUẾ

Tên đề tài: **Xác định thành phần loài và khả năng sinh độc tố *Cylindrospermopsis* của vi khuẩn lam trong một số thủy vực ở Đắc Lắc**

- Nghiên cứu sinh: **Ngô Thị Diễm My**
- Khóa: **2018**
- Ngành: **Sinh học**
- Mã số: **9420101**

Hội đồng chấm luận án tiến sĩ cấp Đại học Huế, được thành lập theo quyết định số 2166/ QĐ-ĐHH ngày 30/12/2022 của Giám đốc Đại học Huế, đã họp vào lúc 8h00, ngày 08/03/2023 tại Đại học Huế. Sau khi thảo luận, Hội đồng đã thống nhất với quyết nghị về luận án như sau:

1. Kết luận về tính cấp thiết, ý nghĩa khoa học và thực tiễn của luận án

Độc tố *Cylindrospermopsis* (CYN) là nhóm độc tố được sinh ra bởi các nhóm VKL nước ngọt như *Aphanizomenon*, *Cylindrospermopsis*, *Dolichospermum*, *Lyngbya*, *Oscillatoria*,... Tuy nhiên cho đến nay, các nghiên cứu về loại độc tố này trong các thủy vực ở nước ta còn khá hạn chế, đặc biệt là ở các thủy vực tỉnh Đắc Lắc hầu như chưa có thông tin. Luận án cung cấp danh lục thành phần loài VKL và VKL có khả năng sinh độc tố CYN trong hai hồ Ea Nhái và Buôn Phong, góp phần bổ sung vào danh lục thành phần loài VKL và VKL có khả năng tạo độc tố này trong thủy vực ở Việt Nam; cung cấp thông tin về hàm lượng độc tố CYN trong hồ Ea Nhái và hồ Buôn Phong ở Đắc Lắc. Do đó, luận án có ý nghĩa khoa học, góp phần kiến thức và hiểu biết về VKL và độc tố CYN ở các thủy vực tỉnh Đắc Lắc nói riêng và cho Việt Nam nói chung.

Đồng thời, luận án có ý nghĩa thực tiễn quan trọng khi xác định được yếu tố môi trường chủ đạo kiểm soát sự sinh trưởng quần thể VKL có khả năng sinh độc tố CYN trong tự nhiên từ đó có biện pháp kiểm soát và kiểm chế sự phát triển bùng phát của nhóm loài VKL độc này, làm cơ sở cho việc dự báo nguy cơ ô nhiễm cũng như đề xuất biện pháp quản lý nhóm loài VKL độc hại, góp phần bảo vệ nguồn tài nguyên nước, bảo vệ sức khỏe cộng đồng.

2. Kết luận về phương pháp nghiên cứu, mức độ chính xác của dữ liệu sử dụng

NCS đã sử dụng các phương pháp nghiên cứu khoa học thường quy, truyền thống như khảo sát thu mẫu, phân tích định tính, định loại VKL bằng phương pháp hình thái so sánh nhờ sử dụng hiển vi quang học, phân tích định lượng và thể tích sinh học VKL bằng phương pháp buồng đếm. Các phương pháp thu mẫu và phân tích mẫu VKL là thường quy ở Việt Nam và trên thế giới và được trích dẫn đầy đủ. NCS đã sử

dụng các phương pháp phân tích độc tố cơ bản sử dụng phản ứng miễn dịch và phân tích hóa học trên sắc ký lỏng hiệu năng cao cho các dòng VKL phân lập được từ 2 thủy vực ở Đắk Lắk. Phương pháp phân lập và nuôi cấy là thường quy quốc tế và được trích dẫn đầy đủ với sự thành công của 24 chủng phân lập được. Các phân tích độc tố được hỗ trợ bởi các phân tích sinh học phân tử trên chỉ thị gen *cyrB* và *cyrC* đã cho kết quả tốt.

3. Kết luận về những thành công và đóng góp mới của luận án về lý luận và thực tiễn

Luận án đã cung cấp danh lục thành phần loài VKL và VKL có khả năng sinh độc tố CYN trong hai hồ Ea Nhái và Buôn Phong ở Đắk Lắk, góp phần bổ sung vào danh lục thành phần loài VKL và VKL có khả năng sinh độc tố này trong các thủy vực ở Việt Nam; đồng thời cung cấp thông tin về hàm lượng độc tố CYN trong hồ Ea Nhái và Buôn Phong ở Đắk Lắk. Ngoài ra cũng đã phân tích được các yếu tố môi trường chủ đạo liên quan tới sự phát triển của các loài tảo độc ở hai hồ Ea Nhái và Buôn Phong.

4. Kết luận về sự phù hợp của tên đề tài với nội dung và mã số ngành:

Tên đề tài phù hợp với nội dung nghiên cứu và ngành Sinh học, mã số: 9420101.

5. Kết luận về các hạn chế và yêu cầu chỉnh sửa

Luận án còn một số thiếu sót cần bổ sung chỉnh sửa về hình thức và nội dung theo biên bản của hội đồng và các góp ý của các thành viên hội đồng.

6. Kết luận về việc trả lời câu hỏi, trình độ hiểu biết của nghiên cứu sinh

Nghiên cứu sinh đã trả lời đầy đủ những câu hỏi mà các thành viên hội đồng đặt ra. Các thành viên hội đồng đánh giá cao sự hiểu biết sâu của NCS trong lĩnh vực nghiên cứu.

7. Kết luận chung

- Kết quả bỏ phiếu:

Có 07/07 phiếu tán thành luận án.

Có 0/07 phiếu không tán thành luận án.

- Kết luận về giá trị khoa học và thực tiễn của luận án, kết luận về trình độ và năng lực của nghiên cứu sinh:

Đảm bảo tính khoa học và thực tiễn

- Kết luận yêu cầu về chỉnh sửa của luận án:

- Hình thức:

+ Cần chỉnh sửa/viết hoá lại một số thuật ngữ cho phù hợp và Việt hoá.

+ Các tài liệu tham khảo nên được cân trọng rà soát về cách thức tham khảo, nơi tham khảo và định dạng danh sách tham khảo. Liệt kê đầy đủ các chữ viết tắt.

- Nội dung:

+ Mục tiêu

Viết lại ngắn gọn hơn

+ Phần tổng quan

Bổ sung thông tin về các gen liên quan tới tổng hợp độc tố CYN; tính cấp thiết của đề tài;



+ *Phân phương pháp*

Phần phương pháp nghiên cứu viết chi tiết hơn;

Cần làm rõ thời gian lấy mẫu, xác định thành phần loài là khi nào

+ *Phần kết quả:*

Bổ sung/sắp xếp lại các biện luận về kết quả nghiên cứu đạt được với các công bố khác trong và ngoài nước

Kết luận của luận án cần viết ngắn gọn lại cho tương ứng với các nội dung nghiên cứu. Thiếu kết luận về gen *cyrB*, *cyrC* liên sự ghi nhận được có và không có hàm lượng độc tố CYN ở các loài VKL có khả năng sinh độc tố.

Bổ sung phân tích thống kê ở một số bảng biểu

+ *Phần kết luận*

Kết luận cần viết ngắn gọn lại cho tương ứng với các nội dung nghiên cứu;

Bổ sung kết luận về hai gen liên quan tới độc tố CYN là *cyrB/cyrC*

- **Kết luận về việc đề nghị cấp bằng tiến sĩ và nhận học vị tiến sĩ:**

Hội đồng đề nghị Đại học Huế công nhận kết quả bảo vệ luận án tiến sĩ và cấp bằng tiến sĩ cho NCS Ngô Thị Diễm My sau khi đã chỉnh sửa theo góp ý của hội đồng.

Thư ký Hội đồng

Nguyễn Thị Kim Cúc

Chủ tịch Hội đồng

Trương Thị Hồng Hải



Xác nhận của đơn vị đào tạo



TS. Nguyễn Đức Huy