

ĐẠI HỌC HUẾ
VIỆN CÔNG NGHỆ SINH HỌC

NGÔ THỊ ĐIỂM 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**

TÓM TẮT 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 THẮT PHÁP**

HUẾ, 2022

Công trình được hoàn thành tại: Viện Công nghệ Sinh học,
Đại học Huế

Người hướng dẫn khoa học: PGS. TS. Nguyễn Thị Thu Liên
PGS. TS. Tôn Thất Pháp

Phản biện 1

.....
.....
.....

Phản biện 2

.....
.....
.....

Phản biện 3

.....
.....
.....

Luận án sẽ được bảo vệ tại Hội đồng chấm luận án cấp Đại học
Huế, họp tại cơ quan Đại học Huế,
vào hồi.....giờ..... ngày..... tháng..... năm.....

Có thể tìm hiểu luận án tại thư viện:

1. Thư viện quốc gia Việt Nam.
2. Trung tâm học liệu Đại học Huế.
3. Thư viện Viện Công nghệ Sinh học, Đại học Huế.

MỞ ĐẦU

Đắk Lắk 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.

Cylindrospermopsis (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 (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 (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 kiểm 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-PO₄, N-NH₄, 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 về vi khuẩn lam

VKL là sinh vật nhân sơ, xuất hiện ở dạng đơn bào, tập đoàn hoặc đa bào dạng sợi. Tế bào VKL có thể có hình cầu, hình elip, hình thùy, hình trụ, hình nón hoặc hình đĩa. Chúng không có roi và thành tế bào cấu tạo bằng peptidoglycan giống vi khuẩn. 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). VKL không có sinh sản hữu tính, chỉ sinh sản dinh dưỡng phân đôi tế bào hay tạo đoạn và sinh sản vô tính bằng nội bào tử và ngoại bào tử. Bào tử nghỉ (akinet) cũng được hình thành để giúp VKL vượt qua được điều kiện bất lợi của môi trường.

1.1.2. Phân loại vi khuẩn lam

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. Do bản chất nhân sơ của VKL, Stainer và cs. (1978) đề xuất sử dụng phương pháp đa pha 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. 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 cs., 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. Toàn bộ hệ thống phân loại VKL 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 gen, các đặc điểm siêu cấu trúc và những dữ liệu của nhiều cây phát sinh loài đã được công bố (Komárek và cs., 2014).

1.2. Độc tố cylindrospermopsin

1.2.1. Cấu trúc hóa học

Cylindrospermopsin là loại độc tố dạng vòng hepatotoxic, có công thức phân tử là $C_{15}H_{21}N_5O_7S$ và trọng lượng là 415,43 Dalton . Độc tố này là một alkaloid với một trung tâm guanidine moiety ba vòng liên kết một nhóm sunfat và một hydroxymethyl uracil. 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-deoxydesul-phocylindro-spermopsin và 7-deoxydesulpho-12-acetylcy-lindrospermopsin (Chorus và Welker., 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. 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. Tốc độ phân hủy CYN chậm dưới ảnh hưởng của các yếu tố phi sinh học trong tự nhiên (Stefanova và cs., 2020).

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

Nồng độ CYN trung bình lần lượt là 0,54; 0,70; 2,25; 1,12; 2,5 và 2,35 $\mu\text{g/L}$ ở các nước Châu Âu, Châu Á, Châu Đại Dương, Bắc Mỹ, Nam Mỹ và Châu Phi. Tổng hàm lượng CYN (dạng hạt và hòa tan) cao nhất được báo cáo là 1050 $\mu\text{g/L}$ từ nguồn cung cấp nước nông trại ở trung tâm Queensland. Các vùng nước có nồng độ CYN lớn hơn hoặc bằng 1 $\mu\text{g/L}$ 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).

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

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. Khi tiếp xúc ánh sáng với cường độ từ 15–340 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$, *C. ovalisporum* tạo ra tổng CYN nằm trong khoảng từ 1,32 $\mu\text{g}/\text{mg DW}$ ở 340 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ đến 6,37 $\mu\text{g}/\text{mg DW}$ ở 60 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$. 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). Tác động của 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 (Yang và cs., 2021).

1.2.5. Quá trình sinh tổng hợp độc tố CYN

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*) nhận ra guanidinoacetate và xúc tác sự hình thành của dị vòng chứa N. Bốn gen PKS, từ *CyrC* – *CyrF* xúc tác thêm cho sự kéo dài của chuỗi polyketide tạo ra cấu trúc ba vòng. *CyrG* và *CyrH* xúc tác hình thành của vòng uracil. Các phản ứng điều chỉnh được xúc tác bởi *CyrI*, *CyrJ* và *CyrN* để sulfat hóa ở C12 và hydroxyl hóa ở C7. *CyrK* được giả thuyết là một chất vận chuyển CYN. Hai enzym 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 ADN 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).

1.2.6. Độc tính của CYN

1.2.6.1. Độc tính đối với người

Các nghiên cứu đi sâu vào sự tổn thương của hệ gen. Sự phân mảnh ADN, 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 tiếp xúc khác nhau. Ví dụ: dòng tế bào nguyên bào lympho

ở người WIL2-NS tiếp xúc với nồng độ 1-10 mg/mL trong 48 giờ; dòng tế bào Caco-2 tiếp xúc với 0,5-2 mg/mL trong 24 giờ; dòng tế bào u gan ở người HepG2 sau 12 giờ tiếp xúc 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., 2014). CYN cũng thể hiện độc tính miễn dịch và độc tính nội tiết. 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. 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 tiếp xúc với 1 g/ml CYN đã ức chế việc sản xuất progesterone cơ bản ($p < 0,01$). Tương tự, 6 giờ tiếp xúc với 1 g/ml CYN đã ức chế sản xuất progesterone do hCG kích thích ($p < 0,01$).

1.2.6.2. Độc tính đối với động vật

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 (Moraes và Magalhães, 2018). Liều gây chết trung bình sau khi tiêm phúc mạc (LD_{50}) của CYN tinh khiết ở chuột là 2,1 mg/kg và 0,2 mg/kg trong 24 giờ và 5–6 ngày (Ohtani và cs., 1992). CYN cũng bị nghi ngờ là nguyên nhân gây chết cá và chim. Sự nở hoa độc hại của *R. raciborskii* xảy ra thường xuyên ở Hồ Alek-sandrovac ở Serbia với độ phong phú cao nhất là $2,38 \times 10^6$ sợi/mL và ba tấn cá chép đã chết trong hồ vào tháng 12 năm 2012. Một tháng trước sự kiện này, hàm lượng CYN ngoại bào đạt đến nồng độ tối đa là 24,28 $\mu\text{g/L}$, điều này ngụ ý rằng CYN có liên quan trong đợt gây tử vong của loài cá này (Đorđević và cs., 2015).

1.2.6.3. Độc tính đối với thực vật

Đối với *Azolla filiculoides*, một loại dương xỉ thủy sinh, sự tăng trưởng bị ức chế 99,8% do tăng hoạt động GST sau bảy ngày tiếp xúc với 5000 $\mu\text{g/L}$ CYN, trong khi nó không thay đổi ở nồng độ thấp hơn (Santos và cs., 2015). 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 *Lemna 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 $\mu\text{g/ml}$. Trái ngược với những kết quả trên, quá trình kích thích sự tăng trưởng rễ ở cây rau má dù (*Hydrocotyle verticillata*) khi tiếp xúc với 400 $\mu\text{g/L}$ CYN đã được quan sát (Kinnear và cs., 2008). Bên cạnh đó, 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 đã được quan sát trong nghiên cứu của Flores-Rojas và cs. (2020) (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). 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 *Microcystis aeruginosa*.

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

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), cụm gen *cyr* kéo dài 43 kb và chứa 15 khung đọc mở mã hóa tất cả các enzym cần thiết cho quá trình sinh tổng hợp, quá trình điều hòa và quá trình bài tiết độc tố. Hai gen *cyrC* và *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 này 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.

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. ADN ban đầu được chiết xuất từ các mẫu môi trường hoặc mẫu nuôi cấy. Sau đó, gen *cyr* được khuếch đại bằng cách sử dụng các đoạn mồi PCR

đặc hiệu được thiết kế theo trình tự *cyr* trong ngân hàng gen (GenBank). 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. Campo và cs., (2013) lần đầu tiên phát triển xét nghiệm TaqMan qPCR để phát hiện *Chr. Ovalisporum* sản sinh CYN trong các mẫu môi trường.

1.3.3. Phương pháp xác định độc tố CYN

1.3.3.1. Phương pháp miễn dịch

Phương pháp hấp thụ miễn dịch enzym liên kết (ELISA) là phương pháp đầy triển vọng do độ nhạy, tính đặc hiệu và 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.

1.3.3.2. Phương pháp hóa học

Sắc ký lỏng (LC) là một phương pháp hiệu quả để phân tách và định lượng CYN, hiển thị 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 và giảm đáng kể việc sử dụng dung môi. 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. 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. Điều này làm cho LC-MS/MS trở thành một kỹ thuật phân tích có độ đặc hiệu cao.

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

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 môi 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 môi M13 và M14 cũng được sử dụng để xác định sự hiện diện của các gen 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. Các gen *cyrB* và *cyrC* đã trở thành chỉ thị để thăm dò, kiểm soát các loài VKL tạo CYN trong các nguồn nước một cách nhanh chóng và chính xác (Wiedner và cs., 2007).

Trên thế giới, nhiều loài VKL được xác định tạo CYN nhưng những nghiên cứu sinh thái về nhóm loài này còn hạn chế, chủ yếu tập trung vào những loài gây nở hoa phổ biến trong các thủy vực trên thế giới. Trừ một số trường hợp ngoại lệ, đa số sự nở hoa *Ch. ovalisporum* xảy ra ở nhiệt độ nước trên 25 °C trong các vùng nước có độ mặn từ thấp đến trung bình, 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 nitơ và photpho cao, trong khi những vùng khác nở hoa xảy ra ở nơi các hàm lượng chất dinh dưỡng hòa tan có thể thiếu (Bowling và cs., 2018).

Bên cạnh *C. ovalisporum*, *R. raciborskii* cũng được xếp vào danh sách loài VKL gây hại phổ biến. Sự thống trị 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. 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 nitơ và photpho. Trong tự nhiên, quần thể *R. raciborskii* được ưu tiên phát triển hơn các loài khác khi bổ sung photpho 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 photpho thấp. *R. raciborskii* vẫn có thể hình thành nở hoa khi nồng độ photpho thường gần hoặc thấp hơn giới hạn phát hiện (Burford và cs., 2006; Prentice và cs., 2015), đó là kết quả của khả năng hấp thụ và lưu giữ P vượt trội của nó (Burford và cs., 2016). Nhiều nghiên cứu đã chỉ ra rằng *R. raciborskii* ưa thích sử dụng nguồn nitơ vô cơ (amoni, nitrat) và nitơ hữu cơ (urê) hòa tan hơn sự cố định nitơ với sự ưu tiên

rõ ràng đối với amoni dựa trên cả tỷ lệ tăng trưởng và tốc độ hấp thụ (Burford và cs., 2018). Một số nghiên cứu đã chỉ ra rằng sinh khối của *R. raciborskii* trong điều kiện có đầy đủ nitơ cao hơn 20-50 lần so với trong điều kiện thiếu nitơ và tốc độ phát triển của *R. raciborskii* tăng lên theo nồng độ nitơ (Yema và cs., 2016). 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). 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 (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 (Wener và cs., 2020). 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 mmol photon (PAR) m² 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 mmol photon (PAR) m² 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 mmol photon (PAR) m² s⁻¹. 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 (pH 8-9,4). 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.

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 nitơ trong thời gian dài thông qua sự phân hủy các sắc tố bao gồm cả chất diệp lục a. *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

Nguyen và cs. (2007) 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). Bốn chủng *R. raciborskii* (CR1BHB, CR4BHB, CR2DAI và CR3DAI) được phân lập ở Biển Hồ và Đúc 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, Phạm và cs. 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 (Phạm và cs., 2015). 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 *Daphnia 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). Khác với các chủng ở hồ Dầu Tiếng, các chủng *R. raciborskii* được phân lập trong một số thủy vực ở Huế, Gia lai lại sản sinh ra độc tố CYN khi kiểm tra bằng phương pháp HPLC và ELISA. Bên cạnh đó, các loài có tiềm 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).

1.4.3. Ở Đắk Lắk

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.

CHƯƠNG 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

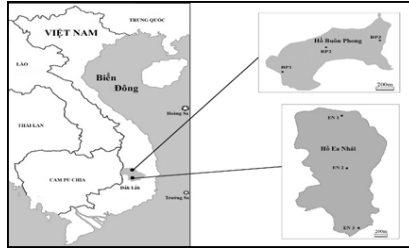
2.1. Đối tượng, địa điểm và thời gian nghiên cứu

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 hình 2.1.



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.

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 được thu thập bằng lưới vớt sinh vật phù du (kích thước mắt lưới 20 μm) 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 được thu thập bằng một ống nhựa có gắn thiết bị Luppe, dài 2 m và đường kính 10 cm. 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 phông phần nước trên còn lại 100 mL (Findlay và Kling, 2001).

Mẫu nuôi và mẫu phân tích độc tố được thu theo Nguyen và cs., (2017).

Mẫu phân tích thông số môi trường: Mẫu nước dưới bề mặt được thu 3 lần tại mỗi vị trí lấy mẫu bằng các chai nhựa polypropylene đã làm sạch. 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

2.2.2.1. Phân tích định tính

Những loài VKL được xác định bằng phương pháp so sánh hình thái. Phân loại dựa trên các tài liệu tham khảo của Dương Đức Tiến, 1996; Komárek và Anagnostidis, 1989; Komárek và cs., 1999, 2005, 2014.

2.2.2.2. Phân tích định lượng

Số lượng tế bào VKL được đếm bằng buồng đếm Sedgewick-Rafter (Karlson và cs., 2010). Thể tích sinh học được tính theo phương pháp của Safi và cs. (2009) và Chorus và Welker. (2021).

2.2.2.3. Phương pháp phân lập và nuôi cấy

Phân lập bằng cách sử dụng pipet Pasteur đã được sửa đổi (Kotai và cs., 1972). Các chủng phân lập được nuôi cấy trong môi trường Z8 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).

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). Hàm lượng CYN được xác định theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

2.2.2.5. Phân tích độc tố bằng kỹ thuật HPLC

Độc tố được chiết từ các mẫu sinh khối VKL theo phương pháp của Nguyen và cs. (2007). CYN được phân tích trong hệ thống HPLC Thermo. Trong cột, các thành phần được tách ra và Detector (UV) phát hiện CYN ở bước sóng 262 nm. CYN 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.

2.2.2.6. Phân tích các thông số môi trường

Các yếu tố hóa lý như: Nhiệt độ và pH được đo tại chỗ bằng máy thử cầm tay đa thông số PCSTestr 35. Độ đục (NTU) được đo trực tiếp tại hiện trường bằng máy đo Lovibond - Đức. Các phân tích hóa học được thực hiện theo tiêu chuẩn Việt Nam (TCVN).

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

Tách chiết ADN tổng số được thực hiện theo quy trình CTAB của Doyle và Doyle (1987) với một số sửa đổi.

Các phân đoạn gen *cyrB* và *cyrC* được khuếch đại bằng PCR với hai cặp mồi oligonucleotit M4/M5 và M13/M14 (Schembri và cs, 2001). 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. Phản ứng khuếch đại ADN được thực hiện trong chu trình nhiệt (iCycler, Bio-Rad).

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 lên thể tích sinh học VKL tạo CYN và nồng độ CYN trong 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, 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).

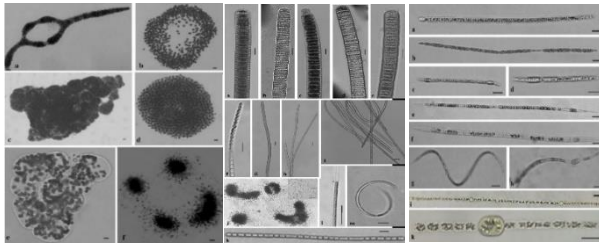
Bảng 3.1. Thành phần loài VKL ở hồ Ea Nhái và hồ Buôn Phong tỉnh Đắk Lắk

STT	Tên khoa học	Hồ Ea Nhái (EN)		Hồ Buôn phong (BP)	
		Mùa mưa	Mùa khô	Mùa mưa	Mùa khô
Chroococcales					
Merismopediaceae					
1	<i>Aphanocapsa holsatic</i>	-	+	+	+
2	<i>Merismopedia tenuissima</i>	+	+	+	+
3	<i>Woronichinia compacta</i>	-	-	+	+
4	<i>Woronichinia naegelian</i>	-	-	+	+
5	<i>Snowella fennica</i>	-	-	+	-
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 novaerckii</i>	-	-	+	+
12	<i>Microcystis natans</i>	-	-	+	+
13	<i>Microcystis</i> sp.1	-	-	-	+
14	<i>Microcystis</i> sp.2	-	-	-	+
Oscillatoriales					
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	-	+	-	+
Phormidiaceae					
21	<i>Phormidium willei</i>	+	+	-	-
22	<i>Phormidium acticulatum</i>	+	+	-	-
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>	-	+	-	-
Nostocales					
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>Chrysochlorum ovalisporum</i>	-	-	-	+

Tại hồ Buôn Phong, có 26 loài VKL phân bố trong 3 bộ, 5 họ và 10 chi với bộ Chroococcales chiếm số lượng nhiều nhất cho cả họ, chi và loài. Tại hồ Ea Nhái, 19 loài VKL phân bố trong 3 bộ, 5 họ và 10 chi với Oscillatoriales là bộ có số lượng họ, chi, loài cao nhất ở hồ Ea Nhái. *Microcystis* là chi có số lượng loài nhiều nhất trong quần xã VKL ở cả hai hồ Buôn Phong và hồ Ea Nhái. Kết quả này hoàn toàn phù hợp với những nghiên cứu của một số tác giả khi thấy rằng *Microcystis* là chi giàu loài nhất trong quần xã VKL ở 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 Nito (Nito trong hồ không giới hạn), đặc biệt là bộ Chroococcales và bộ Oscillatoriales bao gồm chi *Microcystis* và *Oscillatoria* (Havens và cs., 2013).

3.1.2. Mô tả hình thái các loài VKL nghiên cứu



Hình 3.3; 3.6; 3.8. Các loài VKL trong hồ Ea Nhái và hồ Buôn phong

3.1.3. Các loài VKL có khả năng sản 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. 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 (*Ch. 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 4 loài VKL có khả năng sinh độc tố CYN bao gồm: *Ch. ovalisporum*, *R. raciborskii*, *R. mediterranea* và *R. curvata*. Điều này cho thấy nguy cơ ô nhiễm độc tố cũng như rủi ro tiềm ẩn về vấn đề sức khỏe.

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.

3.2.1.2. Hàm lượng độc tố CYN trong hồ Ea Nhái

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 $1,24 \pm 0,08$ $\mu\text{g/L}$. Nồng độ CYN cao hơn được tìm thấy trong mùa khô (1,27-1,34 $\mu\text{g/L}$) so với mùa mưa (1,01-1,26 $\mu\text{g/L}$) (Hình 3.9).

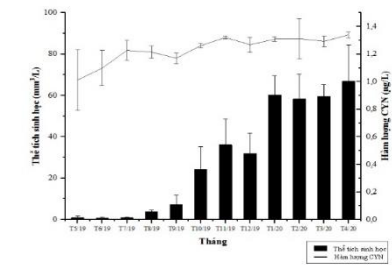
So sánh mức độ tương quan giữa nồng độ CYN với thể tích sinh học của các loài VKL có khả năng tạo độc tố này cho thấy trong số bốn loài VKL sản xuất CYN tiềm năng: *R. raciborskii*, *R. curvata*, *R. mediterranea* và *Lyngbya* sp. đã được xác định trong hồ Ea Nhái, mối tương quan đáng kể đã được tìm thấy giữa hàm lượng CYN và thể tích sinh học của 4 loài *R. raciborskii*, *R. curvata*, *R. mediterranea* và *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 mm^3/L . Do đó, chúng tôi nghĩ rằng, loài *R. raciborskii*,

với thể tích sinh học tương đối cao (lên tới 66,8 mm³/L), trong quần xã VKL hồ Ea Nhái có thể là nguồn tạo CYN chủ yếu trong suốt thời gian nghiên cứu.

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 từ tháng 5/2019 đến tháng 4/2020.

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. 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. Loài *Anabaena* sp.2 có tiềm năng tạo CYN hiện diện quanh năm trong hồ chứa với thể tích sinh học thấp nhất hồ từ 0,08-3,16 mm³/L.

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 cao nhất rơi vào cuối mùa khô (tháng 4) và thấp nhất là đầu mùa mưa (tháng 5) (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 (tiềm năng tạo CYN) cũng cho thấy mối tương

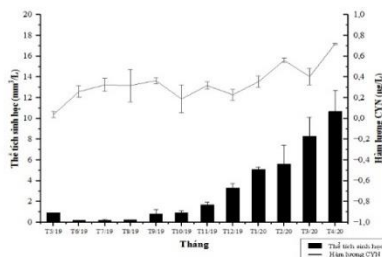
quan với CYN khi $p < 0,05$, yếu hơn so với mối tương quan giữa giữa *R. raciborskii* và CYN. Trái lại, các loài *Microcystis* spp. được biết đến là nhóm loài chính tạo độc tố gan microcystin (MC) không cho thấy mối tương quan nào với nồng độ độc tố CYN trong hồ (Bảng 3.4). Từ đó, chúng tôi nghĩ rằng, 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 từ tháng 5/2019 đến tháng 4/2020.

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

3.3.1. Kết quả phân lập và nuôi cấy

Từ 72 mẫu thu từ tháng 5/2019 đến tháng 4/2020, chúng tôi phân lập được 24 chủng thuộc 8 loài. 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	<i>Anabaena</i> sp.2	ABP3	Buôn Phong
4		ABP8	
5		ABP10	
6		CENG	
7	<i>Raphidiopsis raciborskii</i>	CEN0	Ea Nhái
8		CEN7	
9		CEN10	
10	<i>Raphidiopsis raciborskii</i>	CEN11	Buôn Phong
11		CBP2	
12		CBP3	
13		CBP4	
14		CBP5	

15		RCEN0	
16	<i>Raphidiopsis curvata</i>	RCEN1	Ea Nhái
17		RCEN2	
18		RCEN3	
19	<i>Raphidiopsis mediterranea</i>	RMEN2	Ea Nhái
20		RMEN3	
21		LyEN2	
22	<i>Oscillatoria</i> sp.3	OsBP1	Buôn Phong
23	<i>Planktolingbya</i>	PLBP1	Buôn Phong
24	<i>circumcreta</i>	PLBP4	

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

Kết quả phân tích hàm lượng độc tố CYN bằng phương pháp HPLC cho thấy, không phát hiện thấy độc tố CYN trong nuôi cấy các chủng của các loài *D. circinalis*, *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. (Bảng 3.8).

Nhìn chung, trong hai hồ nghiên cứu, hàm lượng độc tố trong các chủng ở những loài khác nhau thì không giống nhau, cao nhất ở chủng RMEN2 thuộc loài *R. mediterranea* (0,584 µg/g trọng lượng khô) và thấp nhất ở chủng CBP3 thuộc loài *R. raciborskii* (0,016 µg/g trọng lượng khô). Bên cạnh đó, khả năng tạo độc tố trong các chủng trên 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

Trong 21 chủng phân lập được từ hai hồ chứa thì có 13 chủng xuất hiện đồng thời cả 2 phân đoạn gen *cyrB* và *cyrC*; 1 chủng chỉ xuất hiện phân đoạn gen *cyrB* mà không thấy có sự hiện diện của gen *cyrC* (ABP3). 1 chủng chỉ xuất hiện phân đoạn gen *cyrC* mà không thấy có sự hiện diện của gen *cyrB* (RCEN3). Khi phân tích trên 6 chủng thuộc 4 loài *Anabeana* sp.2; *R. raciborskii*; *Lyngbya* sp. và *Oscillatoria* sp.3 thì đều không thấy sự hiện diện cả hai phân đoạn gen *cyrB* và *cyrC* (ABP8, ABP10, CBP4, CBP5, LyEN2 và OsBP1) (bảng 3.8).

3.3.4. Mối tương quan giữa các gen tổng hợp độc tố và kết quả thăm dò độc tố CYN trong các chủng nuôi cấy.

Chúng tôi ghi nhận trong số 21 chủng của 6 loài *R. raciborskii*, *R. curvata*, *R. mediterranea*, *Anabeana* 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*. 4 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* (bảng 3.8).

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	<i>CyrB</i> / <i>CyrC</i>	Hàm lượng độc tố CYN ($\mu\text{g/g DW}$)	STT	Chủng	<i>CyrB</i> / <i>CyrC</i>	Hàm lượng độc tố CYN ($\mu\text{g/g DW}$)
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

Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã xác định được 4 loài VKL có khả năng 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.

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

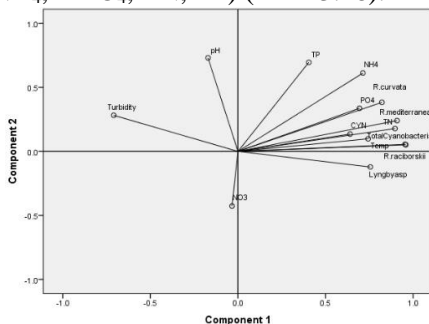
3.4.1.1. Các thông số môi trường trong hồ Ea Nhái

Nhiệt độ nước dao động từ 25,5 °C đến 32,0 °C. Các giá trị pH thay đổi từ tối thiểu là 7,1 đến tối đa là 8,3. Giá trị độ đục (NTU) cao hơn được ghi nhận trong thời kỳ mưa (tháng 5 đến tháng 10). 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 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. Nồng độ TP trung bình dao động từ 0,16 - 0,4 mg/L và nồng độ TN trung bình dao động từ 1,4 - 3,67 mg/L. 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).

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 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).



Hình 3.18. Phân tích thành phần chính (PCA) dựa trên các yếu tố sinh học và phi sinh học trong thời kỳ 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

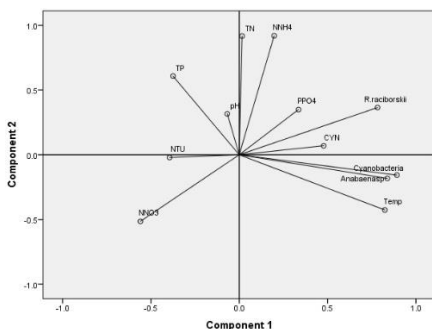
3.4.2.1. Các thông số môi trường trong hồ Buôn Phong

Nhiệt độ nước thay đổi theo mùa và các giá trị cao hơn được ghi nhận vào mùa khô, dao động từ 25,8 °C - 32,2 °C. Giá trị pH dao động từ 6,7 - 7,7. Độ đục (NTU) dao động từ 15,1 - 33,0 NTU, được vào mùa mưa cao hơn mùa khô. Nồng độ amoni (N-NH₄) không có sự

khác biệt rõ ràng 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. Nồng độ orthophosphat-P hòa tan (P-PO₄) thay đổi từ 0,05 đến 0,09 mg/L. Nồng độ trung bình của tổng nitơ (TN) dao động từ 1,05 - 2,56 mg/L, cao hơn của tổng phốt pho (TP), dao động từ 0,09 - 0,31 mg/L. Dựa trên nồng độ trung bình của tổng phốt pho (TP), chất lượng nước của hồ Buôn Phong được xếp vào loại phú dưỡng (OECD, 1982).

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

Chúng tôi đã sử dụng 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).



Hình 3.19. Phân tích thành phần chính dựa trên các yếu tố sinh học và phi sinh học trong thời kỳ từ tháng 5/2019 đến tháng 4/2020 tại hồ buôn phong.

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. Trong đó, loài *R. raciborskii* 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 (nitơ và phốt pho) là nhân tố môi trường chủ đạo ảnh hưởng đến sự nở hoa của loài VKL độc này trong cả hai hồ 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 $\mu\text{g/L}$ và trong nước hồ Buôn Phong dao động 0,04 - 0,72 $\mu\text{g/L}$.

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 chủ đạo quyết định đến sự phát triển của nhóm loài này trong các thủy vực nước ngọt ở Đắk Lắk 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 phi 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.