

KẾT QUẢ PHÂN LẬP MỘT SỐ LOÀI VI KHUẨN LAM (CYANOBACTERIA) CÓ TẾ BÀO DỊ HÌNH TRONG ĐẤT TRỒNG Ở TỈNH ĐẮC LẮK

Vô Hành⁽¹⁾, Hồ Sỹ Hạnh⁽¹⁾, Lê Nhân Trí⁽¹⁾, Dương Đức Tiến⁽²⁾

⁽¹⁾ Khoa Sinh học, Trường Đại học Vinh

⁽²⁾ Trung tâm Công nghệ Sinh học, Đại học Quốc gia Hà Nội

1. Đặt vấn đề

Vi khuẩn lam (VKL) là những sinh vật tiên nhân có đời sống quang tự dưỡng. Trong số đó có những loài có khả năng cố định nitơ khí quyển (N_2) nên đã góp phần quan trọng trong sự duy trì độ phì nhiêu của đất. Năm 1928, Drews đã phân lập và chứng minh khả năng cố định nitơ khí quyển của VKL, từ đó đến nay chúng là đối tượng đã thu hút nhiều nhà khoa học đi sâu nghiên cứu nhằm mục đích sử dụng VKL như nguồn phân bón sinh học.

Ở Việt Nam, các nghiên cứu về VKL có khả năng cố định nitơ đã được một số tác giả tiến hành [3], [5], [6], [7], [8, 10]. Những công trình này tập trung chủ yếu ở vùng đồng bằng của một số tỉnh, thành phố Bắc Bộ và sông Cửu Long. Ở Tây Nguyên nói chung và Đắk Lắk nói riêng hầu như chưa được nghiên cứu. Trong bài này, chúng tôi giới thiệu một số loài VKL có tế bào dị hình đã được phân lập từ đất trồng của tỉnh Đắk Lắk nhằm cung cấp nguyên liệu cho những nghiên cứu tiếp theo về sinh lí, sinh hoá và khả năng cố định nitơ của chúng.

2. Phương pháp nghiên cứu

- Đã tiến hành thu thập 216 mẫu đất trồng lúa và đất trồng bông của các huyện Ea Súp, Krông Pắc, Lắk, Buôn Đôn và Cư Jút vào mùa khô (tháng 4) và mùa mưa (tháng 9) của năm 2002 và 2003.

- Các loài phân lập được nuôi trồng trong môi trường BG-11 có đậm ở dạng lỏng và môi trường thạch đĩa.

- Phương pháp phân lập và nuôi trồng theo [8].

- Mô tả VKL được tiến hành dưới kính hiển vi quang học có độ phóng đại từ 400-1000 lần, mẫu VKL được vẽ và chụp ảnh hiển vi.

- Định loại chủ yếu dựa vào các tài liệu [1], [2], [9].

3. Kết quả và thảo luận

Trên cơ sở phân tích, điều tra thành phần loài VKL trong đất trồng lúa [4] và đất trồng bông ở các địa điểm trên, chúng tôi đã phân lập được 9 loài và dưới loài thuộc 6 chi (*Anabaena*; *Nostoc*; *Cylindrospermum*; *Calothrix*; *Scytonema* và *Westiellopsis*).

• Chi *Anabaena* Bory, 1822

Trichom có chiều rộng đồng đều hoặc hơi thu nhỏ lại ở đầu sợi, không có bao hoặc bao ít nhiều trải rộng lỏng lẻo, bình thường tản mềm trải rộng, mỏng, rời rạc hay thành đám. Tế bào dị hình thường nằm xen với tế bào dinh dưỡng. Bào tử đơn độc hoặc thành chuỗi dài được hình thành gần tế bào dị hình hoặc hai bên tế bào dị hình.

1. *Anabaena iyengaril* var. *tenuis* Rao, C. B (Hình 1)

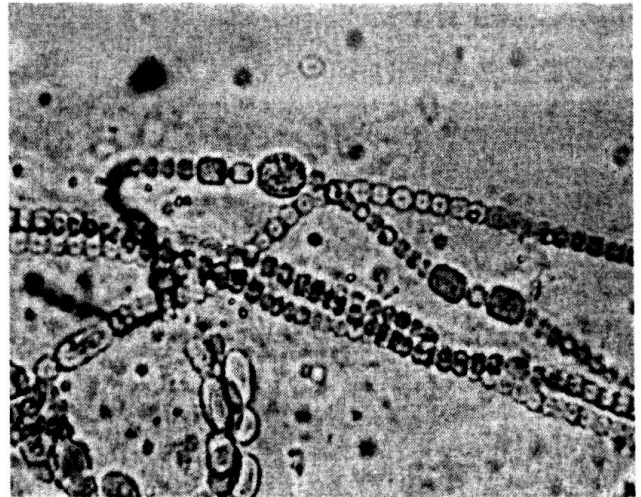
Tản mọc trải rộng ở bề mặt đất, hoặc mỏng, nổi tự do, có màu lam tái. Trichom đơn độc, thẳng hoặc cong, đều đặn, rộng $3,5 \div 4,5 \mu\text{m}$. Tế bào cuối dạng hình nón với đỉnh tròn lại. Tế bào dạng hình trống ngắn có chiều dài bằng chiều rộng hoặc chiều dài ngắn hơn rộng, tế bào dài $3 \div 6,4 \mu\text{m}$. Tế bào dị hình dạng trống đôi khi hình cầu rộng $4,8 \div 6,4 \mu\text{m}$, dài $5,2 \div 9 \mu\text{m}$. Bào tử hình elip hay hình trụ nằm hai bên tế bào dị hình hoặc nằm cạnh tế bào dị hình, rộng $7,5 \div 9,6 \mu\text{m}$ ($10,5 \mu\text{m}$), dài $9 \div 19$ ($12 \div 24$) μm .

Trong môi trường nuôi cấy, tản phát triển lan toả trên môi trường thạch đĩa, lúc đầu có màu lam tái, về sau hình thành bào tử thì có màu lam vàng.

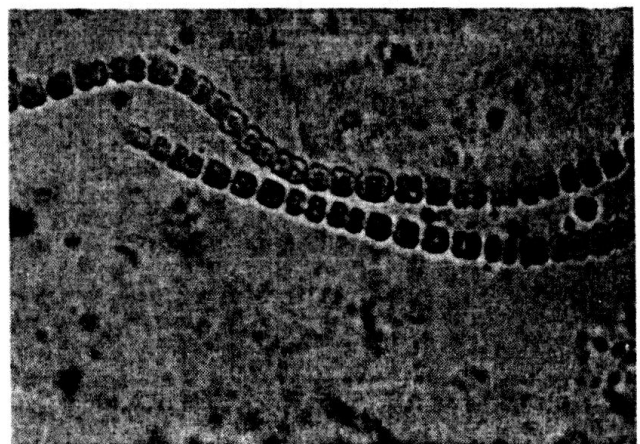
Mẫu được phân lập từ đất trồng lúa xã Ea Rốc (huyện Ea Súp)

2. *Anabaena iyengaril* var. *attenuata* Rao, C. B. (Hình 2)

Phát triển thành tản nhầy, màu lam thẫm, Trichom đơn độc, thẳng hoặc cong, thuôn nhẹ về tận cùng, chỗ rộng nhất $4 \div 4,2 \mu\text{m}$, gần ở tận cùng rộng $1,5 \div 2 \mu\text{m}$. Tế bào dạng trống, chiều rộng bằng chiều dài hoặc chiều dài lớn hơn chiều rộng. Tế bào dị hình hình trống, rộng $5 \div 6 \mu\text{m}$, dài $6 \div 9,4 \mu\text{m}$. Bào tử hình elíp, rộng $11,7 \div 15,6 \mu\text{m}$, dài $15,4 \div 19,5 \mu\text{m}$.



Hình 1: *Anabaena iyengaril* var. *tenuis* Rao, C. B. (x 600)



Hình 2: *Anabaena iyengaril* var. *attenuata* Rao, C. B.

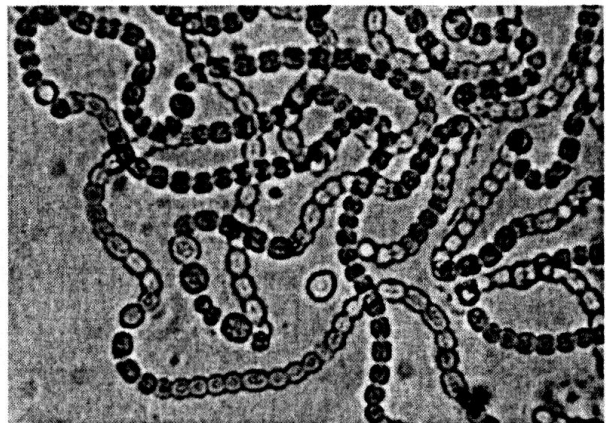
Trong môi trường nuôi cấy chúng phát triển yếu hơn *A. iyengarai* var. *tenuis*
 Mẫu được phân lập từ đất trồng lúa Công ty 719 (huyện Krông Păk)

• **Chi *Nostoc* Vaucher, 1803**

Tảo dạng cục nhầy, sên sệt hoặc dai như da, thoát đầu có dạng hình cầu đến thuôn dài, sau đó dạng bản đặc hoặc xấp sống tự do hay bám, Trichom cong queo, ngoằn ngoèo hoặc bện vào nhau rối rắm, có bao riêng biệt hay bao nhầy chung. Tế bào hình cầu, hình trụ hay hình trống. Tế bào dị hình xen giữa, trong trường hợp còn non thì ở tận cùng trichom. Bào tử hình cầu hay thuôn dài được hình thành xa tế bào dị hình và xếp thành chuỗi. Trong môi trường nuôi cấy tảo đoạn có kích thước nhỏ hơn sợi trưởng thành.

1. *Nostoc calcicola* Breb. ex Born. et Flah. (Hình 3)

Tảo nhầy, hình cầu chia thùy không đều, có màu lam sẫm bám vào đất. Trichom dài, eo thắt ở vách ngăn ngang, màu xanh lam. Tế bào hình trống rộng $2,5 \div 4,1 \mu\text{m}$. Tế bào dị hình đơn độc, xen giữa, hình cầu có đường kính $5,1 \mu\text{m}$ hoặc ở cuối có dạng hình trống rộng $3,4 \mu\text{m}$, dài $4 \mu\text{m}$. Bào tử hình cầu, đơn độc hay thành chuỗi, đường kính $4,1 \div 6,8 \mu\text{m}$, xen giữa các tế bào dinh dưỡng, màng nhầy.

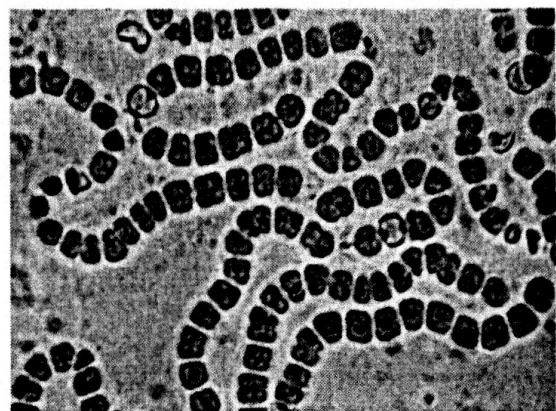


Hình 3: *Nostoc calcicola* Breb. in Menegh. ex Born. et Flah (x600)

Trong nuôi cấy trên môi trường thạch đĩa tảo đoạn phóng thích về mọi phía để hình thành coloni, chúng phát triển có dạng nham nhỏ, sau đó được gắn kết với nhau. Mẫu được phân lập từ đất ruộng trồng lúa xã Ea Phê (huyện Krông Păk).

2. *Nostoc coeruleum* Lyngb. (Hình 4)

Tảo hình cầu, màu lam sáng. Trichom có kích thước đồng đều, hoà trộn lỏng lẻo. Tế bào hình trống ngắn, rộng $5,1 \div 6,8 \mu\text{m}$, tế bào cuối tròn lại ở mặt tự do. Tế bào dị hình có dạng hình cầu.



Hình 4. *Nostoc coeruleum* Lyngb. (x600)

Khi nuôi cấy, ở giai đoạn non và trưởng thành có màu lam sáng, giai đoạn sau chuyển màu vàng và lụi dần đi. Tảo đoạn được phóng thích và phát triển ra ngoại vi theo hình phóng xạ.

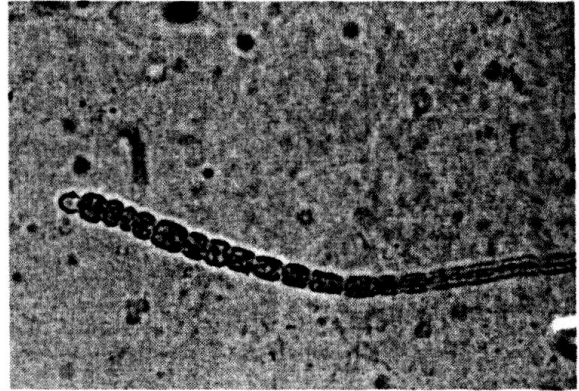
Mẫu được phân lập từ đất ruộng lúa xã Ea Róc (huyện Ea Súp).

• *Chi Calothrix Ag., 1824*

Sợi đơn độc hoặc tập hợp thành đám nhầy nhỏ, không phân nhánh, bao chắc nhìn thấy rõ ở gốc sợi. Tế bào dị hình luôn ở gốc ít gặp ở phía trong của sợi. Bào tử hình thành đơn độc hoặc thành chuỗi gần tế bào dị hình.

1. *Calothrix braunii* Born. et Flah. (Hình 5)

Sợi không phân nhánh, dài, đơn độc, phần gốc rộng $6,8 \div 10 \mu\text{m}$, giữa $6,8 \div 8,5 \mu\text{m}$, phần cuối rộng $5,1 \mu\text{m}$. Bao không màu, mỏng, không phân lớp. Trichom eo thắt ở vách ngăn ngang giữa các tế bào. Tế bào ở gốc rộng $4,5 \div 5,1 \mu\text{m}$, có thể tới $7 \mu\text{m}$, giữa rộng $2 \div 5,1 \mu\text{m}$. Tế bào có chiều dài và rộng hầu như bằng nhau. Tế bào dị hình đơn độc ở gốc, dạng bán cầu, rộng $3,4 \div 4,5 \mu\text{m}$.



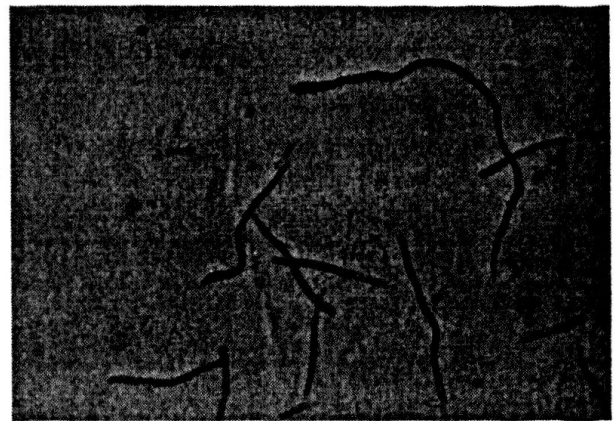
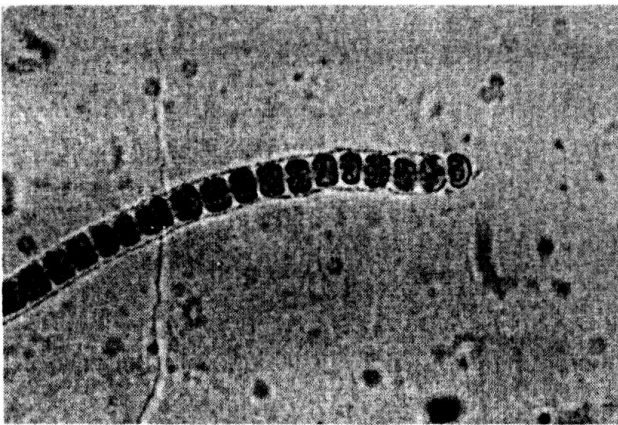
Hình 5. *Calothrix braunii* Born. et Flah. (x600)

Khi nuôi cấy, mẫu phát triển theo lối toả tròn mọc tốt trong môi trường thạch đĩa cũng như trong môi trường lỏng.

Mẫu được phân lập từ đất ruộng lúa xã Ea Rốc (huyện Ea Súp).

2. *Calothrix marchica* var. *crassa* Rao, C. B. (Hình 6)

Sợi rất dài tập trung thành khóm, kích thước của sợi tương đối đồng đều, hơi thuôn nhẹ về phía đỉnh. Sợi $8,5 \div 13,6 \mu\text{m}$, bao mỏng vững chắc. Trichom rộng $8,5 \div 11,9 \mu\text{m}$, eo thắt



Hình 6. *Calothrix marchica* var. *crassa* Rao, C. B.
a. Phần gốc (x600); b. Trichom (x120)

ở vách ngăn ngang, kết thúc sợi không có lông. Tế bào tận cùng tròn lại. Chiều dài tế bào lớn hơn chiều rộng hoặc ngược lại. Heterocyst đơn độc ở gốc hình bán cầu hoặc hơi cầu, có chiều rộng $8,5 \mu\text{m}$, dài $5,1 \mu\text{m}$.

Khi nuôi trồng chúng phát triển mạnh. Tảo đoạn được hình thành và thoát ra khỏi bao, số lượng tế bào đoạn tảo thay đổi.

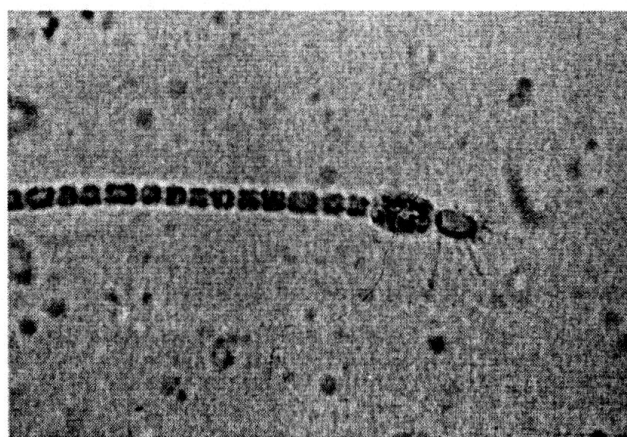
Mẫu được phân lập từ đất trồng bông ở nông trường Phước Sơn (huyện Krông Pák).

• **Chi *Cylindrospermum* Kuetz., 1843**

Tảo nhầy thường có màu nâu xỉn, bám trên đất ẩm hay bờ ruộng, trichom có chiều rộng đồng nhất, ngắn, không có bao nhưng có lớp nhầy mềm mại bao ngoài. Tế bào hình trụ, eo thắt ở vách ngang. Tế bào dị hình ở một đầu hay hai đầu của trichom. Bào tử đơn độc, lớn hơn tế bào dinh dưỡng và sát với tế bào dị hình

Cylindrospermum stagnale forma *variabilis* Prasad, B.N. (Hình 7)

Tảo mềm mại, bao nhầy trải rộng, màu lam sáng. Trichom thắt hẹp ở vách ngăn ngang, có màu xanh lam, tế bào hình trụ hoặc vuông, đường kính 5,1 µm, dài 6,8 µm. Heterocyst ở cuối 2 đầu có dạng hình trứng hay elíp, rộng 5,1÷6,8 µm, dài 8,5µ÷15 µm, màng ngoài heterocyst có gai. Bào tử hình trụ, góc tròn lại, rộng 15,3 µm, dài 22,8 µm luôn nằm sát cạnh tế bào dị hình, màng nhẵn.



Hình 7: *Cylindrospermum stagnale* forma *variabilis* Prasad, B.N. (x 600)

Khi nuôi cấy chúng phát triển lan toả trên môi trường thạch theo kiểu hình hoa thị.

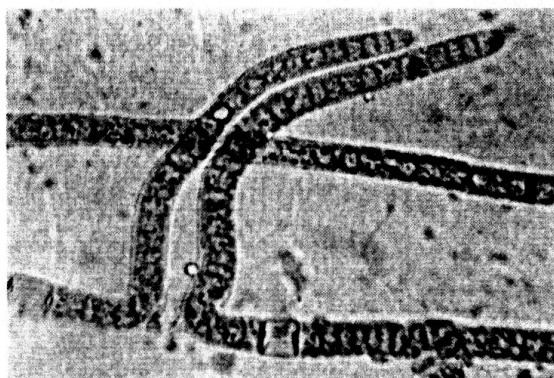
Mẫu được phân lập từ đất ruộng lúa xã Eaphê (huyện Krông Pák).

• **Chi *Scytonema* Ag.,1824**

Sợi phân nhánh giả, nhánh giả đơn độc hoặc từng cặp. Trichom đơn độc ở trong bao, thẳng, tảo đoạn hình thành ở phía đỉnh. Bào tử thấy ở một số loài, thường có hình cầu hay trứng.

Scytonema ocellatum Lyngb. ex Born. et Flah. (Hình 8)

Tảo bán khí, màu lam sẫm hay lam sáng. Sợi rất dài, chiều rộng của sợi 10,2 ÷16,3 µm, phân nhánh giả. Bao chắc và tạo lớp. Trichom rộng 6,8÷8,5 µm, không eo thắt ở vách ngăn ngang. Tế bào dạng hình vuông hay hình trống ngắn, chiều rộng 6,8÷8,5 µm, dài bằng rộng hoặc ngắn hơn rộng, màu lam. Tế bào dị hình



Hình 8: *Scytonema ocellatum* Lyngb. ex Born. et Flah. (x600)

dẹt hình đĩa hay hình chữ nhật (gần vuông) góc tròn, kích thước $6,8 \times 6,8 \mu\text{m}$.

Trong nuôi trồng, tản hình thành kiểu lan toả và phát triển nhanh trong môi trường thạch đĩa và môi trường lỏng.

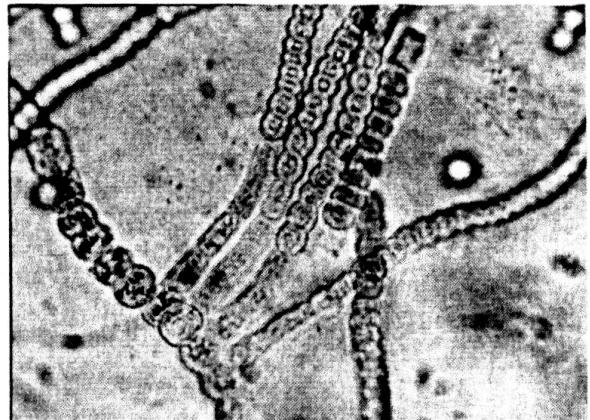
Mẫu được phân lập từ đất trồng lúa Ea Rốc (huyện Ea Súp).

• **Chi *Westiellopsis* Janet, 1941**

Tản dạng sợi phân nhánh thực và có 2 loại sợi: sợi chính (sợi nguyên sinh) có kích thước lớn hơn bò lan trên giá thể; sợi nhánh (sợi thứ cấp) mọc thẳng đứng, mảnh, không có bao và gồm một dãy tế bào. Tế bào dị hình (heterocysts) phân bố ở giữa. Phần cuối của sợi nhánh thường rộng ra do sự phân chia ngang và dọc của tế bào để hình thành chuỗi tế bào tròn (Pseudohormocysts), nội chất của chúng thoát ra ngoài như các nội bào tử (endospore) và phát triển thành tản mới.

Westiellopsis sp. (Hình 9)

Tản bán khí, dạng sợi phân nhánh thực có giới hạn rõ ràng tạo nên những "khóm" màu xanh lam sáng, đường kính của tản $0,5 \div 1 \text{ cm}$. Sợi chính hơi nhô lên, bò lan trên bề mặt, cấu tạo bởi các tế bào dạng hình trứng ngắn hoặc có chiều dài lớn hơn chiều rộng. Sợi rộng $8,5 \div 10,2 \mu\text{m}$, eo thắt ở vách ngăn ngang giữa các tế bào. Tế bào rộng $8,5 \mu\text{m}$, dài $10,2 \mu\text{m}$. Sợi nhánh (sợi thứ cấp) mọc dựng đứng, mảnh, không eo thắt ở vách ngăn ngang, rộng $5,1 \mu\text{m}$, hơi thuôn nhẹ về phía đỉnh. Tế bào hình trụ, rộng $5,1 \mu\text{m}$, dài $10,2 \div 12 \mu\text{m}$. Tế bào dị hình có dạng hình trụ góc tròn, phân bố trên sợi chính và sợi nhánh, kích thước rộng $5,1 \div 8,5 (10,2) \mu\text{m}$, dài $11,9 \div 13,6 \mu\text{m}$. Pseudohormocysts được hình thành trên đầu sợi nhánh, endospores đơn độc trong mỗi tế bào của Pseudohormocyst, đường kính $8,5 \div 11,9 \mu\text{m}$.



Hình 9. *Westiellopsis* sp. (x600)

Khi nuôi cấy lúc đầu tản có màu xanh lam sáng về sau có màu nâu vàng. Tản phát triển tốt trên môi trường thạch và môi trường lỏng.

Mẫu được phân lập từ đất ruộng lúa xã Ea Phê (huyện Krông Pắc).

4. Kết luận

Qua phân tích 216 mẫu đất trồng lúa và đất trồng bông ở Đắk Lắk, bước đầu chúng tôi phát hiện được 26 loài và dưới loài VKL dạng sợi có tế bào dị hình, trong số đó đã phân lập được 9 loài và dưới loài. Những loài đã phân lập chúng đều sinh trưởng, phát triển tốt trên môi trường thạch đĩa và môi trường lỏng. Chúng là nguyên liệu cho những nghiên cứu tiếp theo.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Desikachary, T. V.. *Cyanophyta*, Indian Council of Agric. Res., New Delhi, 1959, 686pp.
2. Gollerbakh M.M.và cộng sự. *Tảo lam. Định loại tảo nước ngọt USSR*, Tập 2, NXB Khoa học Xô viết, Matxcơva, 1953. (Tiếng Nga), 636tr.
3. Võ Hành, Đỗ Thị Trường. Kết quả nghiên cứu bước đầu về khả năng cố định Nitơ phân tử của một số loài Vi khuẩn lam trong đất trồng lúa huyện Hoà Vang, TP Đà Nẵng, *Tạp chí Sinh học* **23**(3C)(2001), tr.10-13.
4. Hồ Sỹ Hạnh, Võ Hành, Kết quả điều tra Vi khuẩn lam trong đất trồng lúa tỉnh Đắk Lắk. "Những vấn đề nghiên cứu cơ bản trong Khoa học sự sống", NXB Khoa học và Kỹ thuật 2004, tr. 88-91.
5. Phùng Thị Nguyệt Hồng, Một vài nghiên cứu về thanh tảo có tế bào dị hình ở đồng bằng sông Cửu Long, *Báo cáo khoa học "Hội thảo quốc gia nuôi trồng và sử dụng các tế bào tự dưỡng"*, tháng 11/1992, Ủy ban Khoa học Kỹ thuật, Hà Nội, 9tr.
6. Nguyễn Thị Minh Lan và cộng sự. Một số kết quả nghiên cứu về chi *Anabaena* Bory và *Nostoc* Vaucher được phân lập từ ruộng lúa huyện Thanh Trì, Hà Nội, *Tạp chí Sinh học* **23** (3a)(2001), tr.45-47.
7. Trần Văn Nhị và cộng sự. Bước đầu nghiên cứu Vi khuẩn lam (Cyanobacteria) cố định đạm ở Việt Nam, *Tạp chí Sinh học* **6**(2)(1984), tr.9-13.
8. Dương Đức Tiến, *Vi khuẩn lam cố định Nitơ trong ruộng lúa*, NXB Nông nghiệp, Hà Nội, 1994, 88tr.
9. Dương Đức Tiến, *Phân loại Vi khuẩn lam ở Việt Nam*, NXB Nông nghiệp, 1996, 200tr.
10. Dương Đức Tiến và cộng sự, Lây nhiễm Tảo lam cố định đạm trên đất trồng lúa Hoài Đức, *Báo cáo đề tài cấp thành phố UBKH Hà Nội*, tháng 12/1990, Sở Khoa học và Công nghệ, Hà Nội, 12tr.

VNU. JOURNAL OF SCIENCE, Nat., Sci., & Tech., T.XXII, N₀1, 2006

**THE RESULT OF ISOLATING SOME SPECIES OF HETEROCYST
CYANOBACTERIA FROM AGRICULTURAL SOIL OF DAKLAK
PROVINCE**

Vo Hanh⁽¹⁾, Ho Sy Hanh⁽¹⁾, Le Nhan Tri⁽¹⁾, Duong Duc Tien⁽²⁾

(1) Vinh University

(2) Centre of Biotechnology, VNU

Through investigating 216 samples of rice and cotton cultivating soil of DakLak province, 26 species and subspecies of heterocyst cyanobacteria were found. Nine of them were isolated. They were *Anabaena iyengarii* var. *tenuis*, *A. iyengarii* var. *attenuata*, *Nostoc calcicola*, *Nostoc coeruleum*, *Calothrix braunii*, *C. marchica* var. *crassa*, *Cylindrospermum stagnale* forma *variabilis*, *Scytonema ocellatum*, *Westiellopsis* sp., All of them grew well on agar medium and aquatic medium.