

MỘT SỐ ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC CỦA *LABYRINTHULA* Ở VÙNG BIỂN PHÍA BẮC VIỆT NAM

NGUYỄN ĐÌNH HUNG, HOÀNG SỸ NAM,
HOÀNG LAN ANH, ĐẶNG ĐIỂM HỒNG

Viện Công nghệ sinh học

Labyrinthula là một chi vi tảo biển sống dị dưỡng, có tế bào dạng hình thoi, chuyển động nhẹ nhàng dọc theo mạng lưới ngoại chất. Mạng lưới này có thể tiêu hoá được vi khuẩn, nấm men và một số sinh vật khác [8]. Theo Porter (1990), *Labyrinthula* là chi duy nhất thuộc họ Labyrinthuliidae (Labyrinthulid), lớp Labyrinthulea, ngành Heterokonta, giới Chromista. Hiện có 8 loài thuộc chi này được công nhận trong đó có loài *Labyrinthula zosterae* được biết đến như là nguyên nhân tàn phá loài cỏ biển *Zostera marina* trong những năm 1930 [8].

Gần đây, *Labyrinthula* thu hút sự quan tâm nghiên cứu, bởi chúng có thể sản sinh các axit béo không bão hoà mạch dài (long chain polyunsaturated fatty acids - LCPUFAs) với hàm lượng cao [9]. Trong số đó, axit docosahexaenoic (DHA, C22: 6n-3) có vai trò làm giảm các chứng bệnh liên quan tới hệ tim mạch, đồng thời có những tác dụng tích cực đối với hoạt động của não và mắt [3, 6, 7]. Sử dụng sinh khối *Labyrinthula* phối trộn cùng một số loại vi tảo biển và nấm men khác nhằm tạo ra phổ axit béo rộng hơn, cung cấp cho ngành nuôi trồng thủy sản hoặc làm thực phẩm chức năng cho con người đang là hướng nghiên cứu chính trên thế giới.

Nằm trong vùng khí hậu nhiệt đới gió mùa, với trên 3200 km bờ biển, Việt Nam có một khu hệ động, thực vật biển rất đa dạng trong đó có *Labyrinthula*. Năm 2005, *Labyrinthula* bắt đầu được nghiên cứu tại Phòng Công nghệ Tảo, Viện Công nghệ sinh học. Kết quả phân lập loại vi tảo này ở 5 vùng biển phía Bắc Việt Nam, bao gồm Quảng Ninh (QN), Hải Phòng (HP), Thái Bình (TB), Nam Định (ND) và Thanh Hoá (TH)

phần nào cho thấy điều kiện khí hậu và dinh dưỡng có những ảnh hưởng quyết định đến sự đa dạng của loại vi tảo này.

I. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Vật liệu

- Tiến hành thu thập các mẫu lá cây, rong cỏ biển trôi dạt ở các vùng bờ biển: Hạ Long (Quảng Ninh), Đồ Sơn (Hải Phòng), Diêm Điền (Thái Bình), Hải Hậu (Nam Định) và Sầm Sơn (Thanh Hoá) từ tháng 6 đến tháng 10/2005. Các mẫu lá đang trong giai đoạn phân huỷ có màu vàng và nâu đen, là nguồn vật liệu để phân lập *Labyrinthula*.

- GPYA là môi trường được dùng cho phân lập có thành phần như đã công bố [4], có bổ sung vi khuẩn *Psychrobacter phenylpyruvicus* như là một yếu tố kích thích sinh trưởng của *Labyrinthula*.

- Sau khi phân lập, *Labyrinthula* được nuôi cấy trên môi trường PYA-SBO như đã công bố [4].

2. Phương pháp

- *Labyrinthula* được phân lập theo phương pháp của Yokochi và cs. [10] có một số cải tiến cho phù hợp với điều kiện phòng thí nghiệm của Việt Nam [4].

- Xác định tốc độ sinh trưởng bằng phương pháp đếm số tế bào bằng buồng đếm Burkerturk.

- Hàm lượng lipit tổng số được phân tích theo phương pháp của Bligh và Dyer có một số cải tiến phù hợp với điều kiện của Việt Nam [2].

- Phân tích thành phần và hàm lượng axit

Công trình được hỗ trợ về kinh phí của Chương trình nghiên cứu cơ bản.

béo không bão hoà bằng phương pháp sắc kí khí lỏng theo Kumon và cs. [6, 7].

- Điều kiện nuôi cấy tối ưu của *Labyrinthula* trên môi trường rắn được tiến hành theo công bố của Hoàng Minh Hiền và cs., 2006 [5].

II. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

1. Phân lập *Labyrinthula*

276 mẫu lá cây đã được thu thập từ 5 vùng

biển nói trên (có cả vùng rừng ngập mặn sát biển). Chúng tôi đã phát hiện được 124 mẫu lá có sự hiện diện của *Labyrinthula*. Sau một thời gian phân lập và nuôi cấy, chúng tôi thu được 54 chủng phát triển ổn định trong điều kiện phòng thí nghiệm. Ký hiệu tên tạm thời của các chủng phân lập được như trong công bố trước đây Hoàng Lan Anh và cs., 2005 [4]. Thời gian, một số đặc điểm địa lý của từng vùng khi thu mẫu được tóm tắt ở bảng 1.

Bảng 1

Một số đặc điểm của khu vực thu mẫu

Địa điểm thu mẫu	Thời gian thu mẫu	D (km)	d (km)	Cảng cá (< 1 km)	Khai thác du lịch (bãi tắm)
Hạ Long - Quảng Ninh	8/9/05	5	> 5	Không	Bãi Cháy
Đồ Sơn - Hải Phòng	20/6/05	5	5	Không	Đồ Sơn
Diêm Điền - Thái Bình	1/11/05	0	1	có	Không có
Hải Hậu - Nam Định	7/7/05	> 5	> 5	Không	Thịnh Long
Tĩnh Gia - Thanh Hoá	6/10/05	1	1	có	Không có

Ghi chú: D. Khoảng cách từ điểm thu mẫu tới rừng ngập mặn; d. Khoảng cách từ điểm thu mẫu tới khu nuôi trồng thủy sản.

Bảng 2

Kết quả phân lập *Labyrinthula* từ 5 vùng biển được nghiên cứu

Địa điểm thu mẫu	Nồng độ muối	Nhiệt độ	Số mẫu lá	Số chủng phát hiện	Số chủng phát hiện/ Số mẫu lá (%)	Số chủng nuôi ổn định trong phòng TN
Hạ Long - Quảng Ninh	30‰	23°C	54	15	27,78	12
Đồ Sơn - Hải Phòng	23‰	25°C	72	14	19,44	6
Diêm Điền - Thái Bình	22‰	19°C	46	43	93,48	15
Hải Hậu - Nam Định	25‰	25°C	50	7	14,00	7
Tĩnh Gia - Thanh Hoá	25‰	20°C	54	45	83,33	14

Kết quả phân lập *Labyrinthula* từ 5 vùng biển nghiên cứu được chỉ ra trên bảng 2. Từ kết quả trong bảng 1 và 2, chúng tôi có một số nhận xét sau:

Hầu hết *Labyrinthula* đều được phát hiện thấy ở các mẫu lá có sống lá, đang trong giai đoạn phân huỷ, có màu vàng hoặc nâu đen. Trong một số ít trường hợp, *Labyrinthula* cũng được phân lập thành công từ các lá của thực vật thủy sinh như bèo lục bình, nhưng không nhiều. Chúng tôi hoàn toàn không phát hiện thấy *Labyrinthula* trên các mẫu tảo hay rong cỏ biển

(số liệu không chỉ ra ở đây). Điều này có thể là do bề mặt rong, cỏ biển rất nhớt đã làm giảm khả năng bám dính của tế bào *Labyrinthula* trên bề mặt của chúng, gây khó khăn cho việc phân lập thành công chúng từ rong, cỏ biển. Tuy nhiên, đây mới chỉ là giả thuyết về việc hầu như chỉ phát hiện thấy *Labyrinthula* trên bề mặt các lá có sống lá, trôi nổi ở các vùng ven biển nghiên cứu và để làm sáng tỏ hơn nữa giả thiết nêu trên, chúng tôi cần có những nghiên cứu tiếp theo.

Ở tất cả các địa điểm thu mẫu, chúng tôi đều

phát hiện thấy có *Labyrinthula*. Điều này cho thấy *Labyrinthula* có phân bố rộng trong điều kiện khí hậu của Việt Nam. Tuy nhiên, sự phân bố là không đều và khá đặc trưng cho từng vùng biển được nghiên cứu. Các yếu tố vi khí hậu như nhiệt độ, nồng độ muối và dinh dưỡng của nước biển có thể là những yếu tố mang tính quyết định cho sự đa dạng của *Labyrinthula*. Trong đó, theo chúng tôi dinh dưỡng của môi trường biển là một yếu tố quan trọng nhất. Diêm Điền (Thái Bình) và Tĩnh Gia (Thanh Hóa) là hai địa điểm đã phát hiện thấy sự có mặt của *Labyrinthula* nhiều nhất (43/46 chếm 93,48% và 54/45 chiếm 83,33% mẫu lá được thu thập, tương ứng). Đây là hai vùng rừng ngập mặn nằm sát biển, gần các khu chế xuất, nuôi trồng thủy sản và cảng cá nên rất có thể hàm lượng các chất dinh dưỡng có trong nước biển cao hơn các vùng biển khác, thuận lợi cho *Labyrinthula* phát triển. Ngược lại, Bãi Cháy (Quảng Ninh), Đồ Sơn (Hải Phòng), Hải Hậu (Nam Định) đều là các vùng biển tương đối sạch, được khai thác cho các hoạt động du lịch. Do vậy, số lượng lá có các chủng *Labyrinthula* spp. được phát hiện ít hơn.

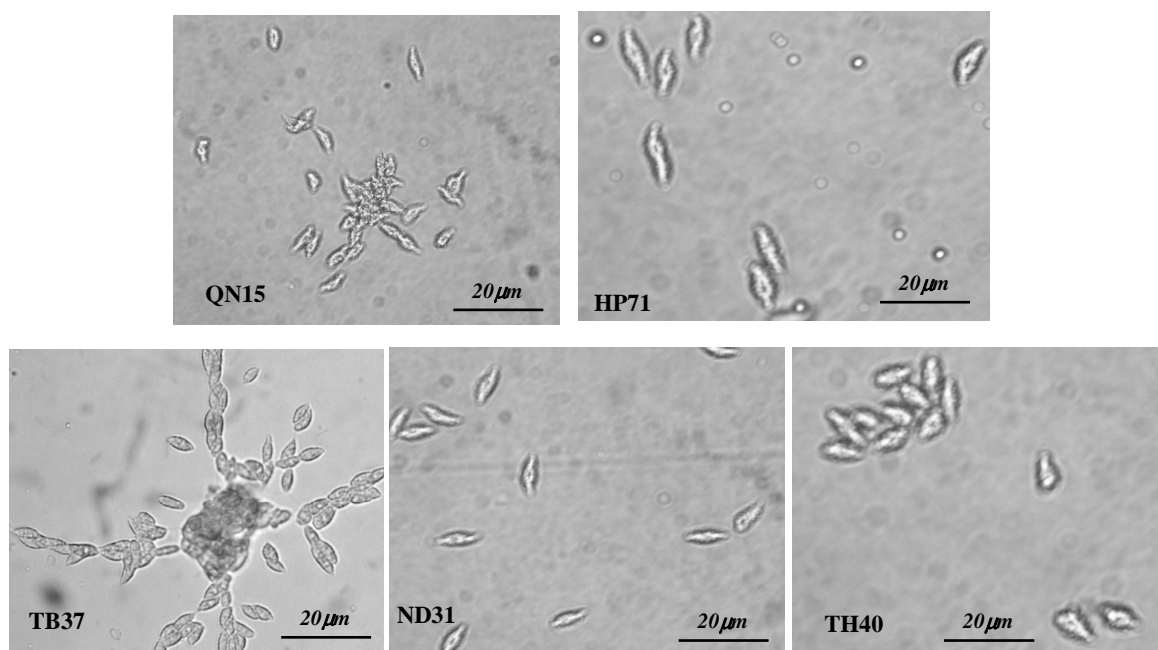
Bảng 2 cũng cho thấy, mặc dù số lượng chủng *Labyrinthula* phát hiện được ở Thái Bình và Thanh Hoá là rất lớn, nhưng khả năng tồn tại

và phát triển ổn định được trong điều kiện phòng thí nghiệm của các chủng này giảm đi đáng kể so với số lượng chủng được phát hiện ban đầu. Điều này phản ánh khả năng thích nghi kém và không ổn định của *Labyrinthula* trong điều kiện nuôi cấy ở phòng thí nghiệm.

Hình 1 minh họa ảnh chụp tế bào của các chủng đại diện phân lập từ 5 tỉnh nói trên (ảnh chụp trên kính hiển vi quang học Nikon eclipse 50i, Nhật Bản với độ phóng đại 400 lần).

2. Một số đặc điểm của các chủng phân lập

Sau khi phân lập và nuôi cấy ổn định các chủng trên môi trường rắn, chúng tôi đã xây dựng được một tập đoàn giống gồm 54 chủng *Labyrinthula* spp. và tiến hành lựa chọn các chủng tiềm năng có khả năng sinh tổng hợp DHA và DPA cao dựa trên cả 3 chỉ tiêu bao gồm: tốc độ sinh trưởng, hàm lượng lipid tổng số và hàm lượng axit béo không bão hòa cao trước khi chuyển sang nuôi cấy trên môi trường lỏng thu sinh khối. Tốc độ sinh trưởng được xác định thông qua số lượng tế bào. Bảng 3 là kết quả đếm số lượng tế bào của các chủng *Labyrinthula* spp. phân lập được ở Quảng Ninh, Hải Phòng, Thái Bình, Nam Định và Thanh Hoá.



Hình 1. Hình dạng tế bào của chủng QN15, HP71, TB37, ND31 và TH40 trong môi trường PYA-SBO sau 7 ngày nuôi cấy

Bảng 3

Số lượng tế bào của các chủng *Labyrinthula* spp. phân lập từ tỉnh Quảng Ninh, Hải Phòng, Thái Bình, Nam Định, Thanh Hóa ở các thời điểm nuôi cấy khác nhau trên môi trường PYA-SBO

Ký hiệu chủng	Số lượng tế bào (10^6 tế bào/ml môi trường)				
	0 ngày	4 ngày	7 ngày	14 ngày	21 ngày
QN1	0,024	3,495	8,468	8,751	7,016
QN3	0,011	3,474	3,989	2,835	2,712
QN5	0,019	0,238	0,143	2,614	7,036
QN13	0,024	5,219	3,504	3,344	3,308
QN15	0,025	0,264	0,340	0,848	0,016
QN20	0,011	0,262	0,880	0,052	0,000
QN29	0,013	0,022	4,731	11,095	7,604
QN35	0,069	4,495	5,719	25,156	18,240
QN37	0,016	4,867	5,010	5,383	0,704
QN42	0,035	3,780	6,362	5,437	5,888
QN44	0,054	0,233	0,295	12,503	4,380
QN48	0,050	6,068	19,398	27,856	7,182
HP11	0,003	2,961	6,330	6,780	12,290
HP43	0,003	6,820	10,471	15,520	30,510
HP48	0,001	1,700	4,310	5,680	11,051
HP60	0,001	12,970	13,741	14,181	15,580
HP67	0,001	1,490	5,300	6,830	8,900
HP71	0,001	0,370	2,531	3,430	8,611
TB3	0,031	4,801	7,201	11,101	5,436
TB6	0,042	1,501	1,803	13,502	4,427
TB9	0,071	6,404	1,703	7,101	13,308
TB10	0,119	4,776	12,074	15,467	10,745
TB20	0,072	0,408	1,309	3,502	10,063
TB21	0,011	1,000	3,210	5,601	4,380
TB24	0,021	7,602	8,801	8,203	10,400
TB27	0,011	6,104	6,304	6,801	4,901
TB28	0,082	0,806	6,509	12,603	3,711
TB31	0,053	3,902	16,703	15,503	17,512
TB32	0,021	6,405	9,805	16,604	7,275
TB37	0,062	2,602	9,201	23,301	10,951
TB40	0,021	0,304	5,103	10,304	8,717
TB41	0,023	6,405	12,201	9,000	6,901
TB46	0,021	1,902	7,902	6,401	4,702
ND21	0,004	0,580	1,811	7,791	12,164
ND23	0,001	0,048	2,372	7,362	12,861
ND31	0,002	1,061	2,441	3,773	13,742
ND32	0,003	0,590	2,652	4,984	5,493
ND38	0,001	0,362	1,113	2,221	6,374
ND43	0,002	2,021	4,914	14,342	13,881
ND50	0,001	1,351	1,661	2,223	9,922
TH5	0,079	1,385	7,308	16,812	20,834
TH11	0,097	5,992	11,477	20,412	16,122

TH12	0,126	9,289	10,646	10,644	17,176
TH13	0,081	17,616	16,320	29,438	17,279
TH18	0,045	4,713	9,579	13,396	17,892
TH25	0,019	24,468	34,487	30,250	23,508
TH26	0,066	4,099	7,856	25,572	13,966
TH28	0,093	2,516	7,135	20,567	17,574
TH37	0,125	5,389	8,608	16,968	25,036
TH38	0,109	4,330	6,898	14,407	10,053
TH39	0,102	6,417	7,250	24,760	7,545
TH40	0,095	7,467	10,743	10,924	4,725
TH53	0,108	6,377	9,776	12,609	12,695
TH54	0,077	4,362	8,952	14,827	17,037

Từ kết quả ở bảng 3 cho chúng ta thấy, các chủng *Labyrinthula* spp. phân lập được có tốc độ sinh trưởng khác nhau. Một số chủng có tốc độ sinh trưởng đạt cao nhất ở 14 ngày nuôi cấy. Trong khi đó, ở một số chủng khác, tốc độ sinh trưởng vẫn tăng cho đến tận ngày thứ 21. Do thời gian có hạn và với mục đích trước mắt là sàng lọc nhanh được các chủng có tốc độ sinh trưởng cao, nên với những chủng vẫn tăng sinh trưởng đến ngày 21, chúng tôi sẽ tiến hành thí nghiệm với thời gian dài ngày hơn nữa.

Như vậy, chúng tôi đã sàng lọc được 35 chủng có tốc độ sinh trưởng tương đối cao trong số 54 chủng *Labyrinthula* spp. phân lập được như sau: Quảng Ninh có 5 chủng (QN1, QN29, QN35, QN44, QN48); Hải Phòng - 4 (HP11, HP43, HP48, HP60); Thái Bình - 10 (TB3, TB6,

TB10, TB24, TB28, TB31, TB32, TB37, TB40, TB41); Nam Định - 4 (ND21, ND23, ND31, ND43) và Thanh Hóa - 12 (TH5, TH11, TH12, TH13, TH18, TH25, TH26, TH28, TH37, TH39, TH53 và TH54).

- Phân tích hàm lượng lipit tổng số và hàm lượng axit béo không bão hoà (PUFA): với mục đích sàng lọc nhanh các chủng *Labyrinthula* spp. có hàm lượng lipit tổng số cao, chúng tôi đã tiến hành tách chiết lipit tổng số của các chủng *Labyrinthula* spp. phân lập từ 5 địa điểm nghiên cứu sau 7 ngày nuôi cấy trên môi trường PYA-SBO. Sử dụng môi trường PYA-SBO có cấy trái vi khuẩn *Psychrobacter phenylpyruvicus* làm mẫu đối chứng (C). Kết quả phân tích được chỉ ra ở bảng 4.

Bảng 4

Kết quả phân tích hàm lượng lipit tổng số của một số chủng *Labyrinthula* spp. phân lập ở Quảng Ninh, Hải Phòng, Thái Bình, Nam Định và Thanh Hóa

Tỉnh	Mẫu	Hàm lượng lipit tổng số (g/g TLK*)
Quảng Ninh	QN1	0,113
	QN3	0,053
	QN5	0,101
	QN13	0,163
	QN15	0,118
	QN20	0,214
	QN29	0,145
	QN35	0,092
	QN37	0,413
	QN42	0,280
	QN44	0,118
QN48	0,229	
Hải Phòng	HP11	0,020
	HP43	0,210

	HP48	0,098
	HP60	0,221
	HP67	0,135
	HP71	0,068
Thái Bình	TB3	0,188
	TB6	0,438
	TB9	0,180
	TB10	0,143
	TB20	0,198
	TB21	0,398
	TB24	0,238
	TB27	0,191
	TB28	0,548
	TB31	0,102
	TB32	0,121
	TB37	0,388
	TB40	0,248
	TB41	0,163
	TB46	0,054
Nam Định	ND21	0,312
	ND23	0,073
	ND31	0,123
	ND32	0,005
	ND38	0,051
	ND43	0,063
	ND50	0,085
Thanh Hoá	TH5	0,398
	TH11	0,248
	TH12	0,231
	TH13	0,578
	TH18	0,278
	TH25	0,368
	TH26	0,188
	TH28	0,238
	TH37	0,142
	TH38	0,198
	TH39	0,398
	TH40	0,388
	TH48	0,230
TH53	0,178	
TH54	0,408	

Ghi chú: TLK*. trọng lượng khô: trọng lượng môi trường và mẫu sau khi sấy.

Theo công bố của Kumon và cs., 2002, 2003 [6, 7], hàm lượng lipid tổng số của các chủng *Labyrinthula* sp. L59 và S3 - 2 chiếm khoảng 0,26 g/g TLK. Do vậy, với các chủng *Labyrinthula* phân lập của Việt Nam, chúng tôi

sẽ lấy ngưỡng hàm lượng lipid tổng số $\geq 0,2$ g/g TLK và các chủng thoả mãn điều kiện này được coi là chủng có hàm lượng lipid tổng số cao. Từ kết quả được trình bày ở bảng 4, chúng tôi có danh sách 24 chủng tạm coi là có hàm lượng lipid

tổng số cao như sau: Quảng Ninh có 4 chủng (QN20, QN37, QN42, QN48); Hải Phòng - 2 (HP43, HP60); Thái Bình - 6 (TB6, TB21, TB24, TB28, TB37, TB40); Nam Định - 1 (ND21); Thanh Hoá - 11 (TH5, TH11, TH12, TH13, TH18, TH25, TH28, TH39, TH40, TH48, TH54).

- Phân tích thành phần axit béo không bão

hoà bằng sắc ký khí lỏng (GLC): kết quả phân tích hàm lượng axit béo không bão hoà (w-3 và w-6) như n-6 DPA và DHA ở các chủng *Labyrinthula* spp. phân lập từ các tỉnh, thành phố: Hải Phòng, Quảng Ninh, Nam Định phân tích bằng sắc ký khí lỏng (GLC) được trình bày trên bảng 5.

Bảng 5

Hàm lượng axit béo n-6DPA và DHA ở một số chủng *Labyrinthula* spp. được phân lập ở vùng biển Quảng Ninh, Hải Phòng và Nam Định sau 7 ngày nuôi cấy trên môi trường PYA-SBO

Ký hiệu mẫu	DPA (%) g/g TLK	DHA (%) g/g TLK	LCPUFA* (%) g/g TLK	Hàm lượng LCPUFA (g/l)
QN1	3,14	0,62	3,76	0,04
QN3	4,99	7,13	12,12	0,14
QN5	1,46	4,05	5,51	0,12
QN13	0,38	0,27	0,65	0,02
QN15	1,09	1,8	2,89	0,05
QN20	2,44	0,92	3,36	0,11
QN29	2,54	0,96	3,5	0,06
QN35	0,84	0,83	1,67	0,03
QN37	3,78	5,88	9,66	0,12
QN42	2,88	4,56	7,64	0,14
QN44	0,88	1,53	2,41	0,06
QN48	2,24	1,79	4,03	0,11
HP11	1,5	1,6	3,1	0,03
HP43	2,6	5,6	8,2	0,11
HP48	2,7	3,4	6,1	0,02
HP60	1,61	1,45	3,06	0,09
HP67	2,3	2,7	5,0	0,07
HP71	2,8	5,5	8,3	0,09
ND21	3,4	6,6	10,0	0,14
ND23	2,3	5,4	7,7	0,11
ND31	3,6	6,1	9,8	0,11
ND32	5,2	6,6	11,8	0,12
ND43	4,1	4,2	8,3	0,06
ND50	2,9	5,1	7,9	0,11

Ghi chú: LCPUFA (long chain polyunsaturated fatty acids) - axit béo không bão hòa có mạch các bon dài.

Từ kết quả bảng 5 có thể thấy rằng thành phần axit béo không bão hòa có mạch các bon dài chỉ có n-6DPA và DHA là chủ yếu và hàm lượng của chúng đạt 0,14 mg/g-agar (hoặc 0,14 g/l) đối với chủng ND21, QN3, QN42 và 0,12 g/l - ND32, QN5 và QN37; 0,11 g/l đối với chủng HP43, ND23, ND31, ND50, QN20 và QN48. Cho đến nay, chưa có một công trình nào công bố về sự có mặt của thành phần n-6DPA và

DHA ở các loài vi tảo của Việt Nam. Khi so sánh thành phần axit béo không bão hòa này với một số loài tảo khác như *Pavlova lutheri*, *Phaeodactylum tricorutum* UTEX646, *Isochrysis galbana* PCC1... đã được công bố cho thấy rằng hàm lượng của các axit béo ở loài vi tảo biển này cao hơn rất nhiều [1, 3]. Việc phân tích thành phần PUFA có giá thành rất đắt ở Việt Nam. Do vậy, nhờ sự giúp đỡ của Viện

ngiên cứu Khoa học và Công nghệ công nghiệp tiên tiến, Nhật Bản, chúng tôi cũng chỉ mới phân tích được chỉ tiêu nêu trên ở một số chủng phân lập được ở Hải Phòng, Nam Định và Quảng Ninh, còn các chủng ở Thanh Hoá và Thái Bình đang được tiếp tục phân tích. Tuy nhiên, với mục đích là tìm được phương pháp sàng lọc nhanh chóng các chủng *Labyrinthula* có hàm lượng lipit và PUFA cao, song lại phải phù hợp với điều kiện nghiên cứu của Việt Nam, chúng tôi nhận thấy có mối tương quan giữa hàm lượng lipit tổng số (bảng 4) và hàm lượng PUFA (bảng 5) như sau: tất cả các chủng có hàm lượng lipit tổng số $\geq 0,2$ g/g TLK đều có hàm lượng PUFA $\geq 0,11$ g/l - đây là những chủng triển vọng, được quan tâm. Ngoài ra, cũng có những chủng có hàm lượng PUFA đạt $\geq 0,11$ g/l, song hàm lượng lipit tổng số lại $< 0,2$ g/g TLK. Như vậy,

trong điều kiện của Việt Nam, các chủng có hàm lượng lipit tổng số đạt $\geq 0,2$ g/g TLK sẽ được chọn là những chủng tiềm năng sinh PUFA cao để nghiên cứu tiếp tục. Như vậy, nếu lấy ngưỡng về hàm lượng DPA và n-6DHA đạt trên 0,11 g/l thì chúng tôi có danh sách 12 chủng thuộc 3 tỉnh Hải Phòng, Nam Định và Quảng Ninh được coi là có triển vọng sinh hàm lượng axit béo đa nối đôi cao như sau: HP43; ND21, ND23, ND31, ND32, ND50, QN3, QN5, QN20, QN37, QN42 và QN48.

Kết quả được trình bày từ bảng 3 đến bảng 5 được tổng hợp lại trong bảng 6. Bảng 6 chỉ ra danh sách các chủng *Labyrinthula* spp. vừa có tốc độ sinh trưởng và hàm lượng lipit tổng số cao lại có hàm lượng DHA + DPA cao, có triển vọng sử dụng chúng trong nuôi cấy trên môi trường lỏng để thu sinh khối lớn sau này.

Bảng 6

Bảng tổng hợp kết quả về số lượng tế bào, hàm lượng lipit tổng số, hàm lượng DPA và DHA phân tích bằng GLC của các chủng phân lập được ở 5 tỉnh Quảng Ninh, Hải Phòng, Thái Bình, Nam Định và Thanh Hóa

Tỉnh	Tên mẫu	Tốc độ sinh trưởng (10 ⁶ tế bào/ml) sau 21 ngày nuôi cấy	Lipit tổng số (g/g TLK)	Hàm lượng DPA và DHA (g/l)	Mẫu được chọn
Quảng Ninh*	QN1	8,751	0,133	0,04	
	QN3	2,835	0,053	0,14	
	QN5	2,614	0,101	0,12	+
	QN13	3,344	0,163	0,02	
	QN15	0,848	0,188	0,05	
	QN20	0,052	0,214	0,11	
	QN29	11,099	0,145	0,06	
	QN35	25,156	0,09	0,03	
	QN37	5,383	0,41	0,12	+
	QN42	5,937	0,280	0,14	+
	QN44	12,503	0,118	0,06	
	QN48	27,856	0,229	0,11	+
Hải Phòng	HP11	12,290	0,02	0,03	
	HP43	30,510	0,210	0,11	+
	HP48	11,051	0,098	0,02	
	HP60	15,580	0,22	0,09	
	HP67	8,900	0,135	0,07	
	HP71	8,611	0,068	0,09	
Thái Bình*	TB3	11,101	0,188		
	TB6	13,502	0,438		+
	TB9	7,101	0,180		
	TB10	15,478	0,14		
	TB20	3,502	0,198		

	TB21	5,601	0,398		
	TB24	8,203	0,238		
	TB27	6,801	0,191		
	TB28	12,603	0,548		+
	TB31	15,503	0,10		
	TB32	16,604	0,12		
	TB37	23,301	0,388		+
	TB40	10,304	0,248		+
	TB41	9,000	0,163		
	TB46	6,401	0,05		
Nam Định	ND21	12,164	0,31	0,14	+
	ND23	12,861	0,073	0,11	+
	ND31	13,742	0,12	0,11	+
	ND32	5,493	0,05	0,12	+
	ND38	6,374	0,05		
	ND43	13,881	0,063	0,06	
	ND50	9,922	0,085	0,11	+
Thanh Hoá	TH5	20,834	0,398		+
	TH11	16,122	0,248		+
	TH12	17,176	0,23		+
	TH13	17,279	0,578		+
	TH18	17,892	0,278		+
	TH25	23,508	0,368		+
	TH26	13,966	0,188		
	TH28	17,574	0,238		+
	TH37	25,036	0,14		
	TH38	10,053	0,198		
	TH39	7,545	0,398		
	TH40	4,725	0,388		
	TH53	12,695	0,178		
TH54	17,037	0,408		+	

Ghi chú: * chỉ tốc độ sinh trưởng sau 14 ngày nuôi cấy.

Qua kết quả chỉ ra trên bảng 6 tại 3 tỉnh Hải Phòng, Nam Định và Quảng Ninh chúng tôi xác định được 10 chủng vừa có tốc độ sinh trưởng và hàm lượng axit béo không bão hòa n-6DPA và DHA cao như sau: HP43, ND21, ND23, ND31, ND32, ND50; QN5, QN37, QN42, QN48.

Với mục đích là sàng lọc nhanh chóng được những chủng vừa có tốc độ sinh trưởng cao lại vừa có hàm lượng lipid và axit béo không bão hòa cao, kết quả của bảng 6 đã cho thấy: đối với các chủng được chọn là chủng có tiềm năng phân lập ở Hải Phòng, Quảng Ninh, Nam Định dựa trên chủ yếu vào chỉ tiêu hàm lượng DHA và n-6DPA cao ($\geq 0,11$ g/l). Với 10 chủng được chọn ở 3 tỉnh này chỉ có 3 chủng hội tụ đủ cả 3 yếu tố vừa có tốc độ sinh trưởng, hàm lượng lipid

tổng số và cả hàm lượng DHA + n-6 DPA cao, trong đó có 5 chủng được chọn có hàm lượng lipid tổng số cao tương ứng với chỉ tiêu hàm lượng DHA + DPA cao (5/10). Nếu tính đến tốc độ sinh trưởng cao, với hàm lượng DHA + DPA cao, thì có 7/10 chủng được chọn. Do việc phân tích hàm lượng axit béo không bão hòa DHA và DPA bằng sắc ký khí lỏng là rất đắt ở Việt Nam nên chúng tôi khuyến cáo đầu tiên nên sàng lọc chọn các chủng vừa có tốc độ sinh trưởng và hàm lượng lipid cao, vì chúng cũng có thể là các chủng đạt tiêu chuẩn có khả năng sinh DHA và DPA cao. Do vậy, để phù hợp với điều kiện phòng thí nghiệm của Việt Nam và chủ động trong việc chọn chủng tiềm năng, chúng ta chỉ cần tiến hành sàng lọc nhanh chóng dựa trên hai

chỉ tiêu là tốc độ sinh trưởng và hàm lượng lipid tổng số cao.

Như vậy, theo kết quả được chỉ ra trên bảng 6 cho thấy còn 4 chủng của tỉnh Thái Bình - TB6, TB28, TB37, TB40 và 8 chủng của tỉnh Thanh Hoá - TH5, TH11, TH12, TH13, TH18, TH25, TH28, TH54 cũng sẽ là những chủng có tiềm năng sinh hàm lượng PUFA cao vì chúng đã có tốc độ sinh trưởng và hàm lượng lipid tổng số rất cao. Mặc dù vậy, chúng còn phải được tiếp tục khẳng định thêm chỉ tiêu về hàm lượng axit béo không bão hoà bằng sắc kí khí lỏng.

Hàm lượng LCPUFA của các chủng phân lập ở tỉnh Thái Bình và Thanh Hoá vẫn đang được tiếp tục phân tích. Trong 54 chủng phân lập được chỉ ra trên bảng 6, tạm thời chúng tôi đã chọn ra 2 chủng (HP43, ND50) có các thông số cao về tốc độ sinh trưởng, hàm lượng lipid tổng số và hàm lượng axit béo không bão hoà DHA và n-6 DPA cao để tiến hành nuôi cấy chúng trên môi trường lỏng, thu sinh khối *Labyrinthula* làm thức ăn giàu DHA và n-6 DPA cho Rotifer và Artemia. Việc tối ưu điều kiện nuôi cấy trên môi trường lỏng của 2 chủng nêu trên và thử nghiệm sử dụng sinh khối của chúng giàu DHA và n-6 DPA làm thức ăn tươi sống cho Rotifer và Artemia đang được tiến hành. Kết quả của các thí nghiệm nêu trên sẽ được công bố trong các công trình tiếp theo.

III. KẾT LUẬN

Với các kết quả thu được trình bày ở trên, chúng tôi rút ra một số kết luận như sau:

1. Với qui trình phân lập tối ưu, 54 chủng *Labyrinthula* spp. đã thu được từ các địa điểm nghiên cứu và chúng đã sinh trưởng ổn định trong điều kiện phòng thí nghiệm (Quảng Ninh có 12 chủng, Hải Phòng - 6, Thái Bình - 15, Nam Định - 7, Thanh Hoá - 14).

2. Đã đưa ra được phương pháp sàng lọc nhanh các chủng phân lập được dựa trên tốc độ sinh trưởng, hàm lượng lipid tổng số và hàm lượng DHA và n-6 DPA. Đã tạm thời xác định được 10 chủng tiềm năng trong tập đoàn giống 54 chủng là: HP43, ND21, ND23, ND31, ND32, ND50, QN5, QN37, QN42, QN48. Ngoài ra còn có 4 chủng của tỉnh Thái Bình - TB6, TB28, TB37, TB40 và 8 chủng của tỉnh Thanh Hoá -

TH5, TH11, TH12, TH13, TH18, TH25, TH28, TH54 cũng là những chủng có tiềm năng vì chúng đã có tốc độ sinh trưởng và hàm lượng lipid tổng số song cao mặc dù còn phải được khẳng định thêm chỉ tiêu hàm lượng axit béo không bão hoà bằng sắc kí khí lỏng.

3. Hai chủng HP43, ND50 cũng đã được chọn để thử nghiệm nuôi cấy trên môi trường lỏng thu sinh khối *Labyrinthula* giàu DHA và n-6 DPA và thử nghiệm làm thức ăn tươi sống cho Artemia và Rotifer, phục vụ cho nuôi trồng thủy sản.

Lời cảm ơn: công trình hoàn thành với sự hỗ trợ kinh phí của chương trình nghiên cứu cơ bản trong khoa học tự nhiên, Bộ Khoa học và Công nghệ và đề tài cấp Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam 2007-2008. Chúng tôi xin chân thành cảm ơn ThS. Kumon Y - Viện nghiên cứu Khoa học và Công nghệ công nghiệp tiên tiến, Tsukuba, Nhật Bản đã giúp đỡ trong việc xác định thành phần và hàm lượng các axit béo không bão hoà DHA và n-6 DPA.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Alonso D. L. et al.**, 1994: J. Phycol., 30: 553-558.
2. **Bligh E. G. and Dyer.**, 1959: Can. J. Biochem. Physiol., 37: 911-917.
3. **De Swaaf M. E., Pronk J. T, Sijtsma L.**, 2003: Appl. Microbiol. Biotechnol., 61: 40-43.
4. **Hoàng Lan Anh và cs.**, 2005: Tạp chí Công nghệ sinh học, 3(3): 373-379.
5. **Hoàng Minh Hiền và cs.**, 2006: Tạp chí Sinh học, 28(3): 54-60.
6. **Kumon Y. et al.**, 2003: Appl. Microbiol. Biotechnol., 63: 22-28.
7. **Kumon Y. et al.**, 2002: Appl. Microbiol. Biotechnol., 60: 275-280.
8. **Porter D.**, 1990: Handbook of protoctista. John and Bartlett, Boston.
9. **Sakata T. et. al.**, 2000: Fish Sci., 66: 84-90.
10. **Yokochi T. et al.**, 2001: Mar. Biotechnol., 3: 68-73.

SOME BIO-CHARACTERISTICS OF *LABYRINTHULA* FROM THE NORTH COASTS OF VIETNAM

**NGUYEN DINH HUNG, HOANG SY NAM,
HOANG LAN ANH, DANG DIEM HONG**

SUMMARY

Labyrinthula is a heterotrophic microalgal genus with spindle - shape bodies and a gliding movement along ectoplasmic networks. The ectoplasmic network of *Labyrinthula* can digest bacteria, yeast and other organisms. They started to attract attention because of their ability to produce polyunsaturated fatty acids (PUFAs) such as docosahexaenoic acid (DHA, C22: 6n-3) and docosapentaenoic acid (DPA; C22: 5n-6) which are important for metabolism of human and animals.

This microalgal genus is diverse in species compositions because of climate and water quality of Vietnam sea are suitable for them. 276 fallen-leaf samples are collected from five northern coasts of Vietnam: Quangninh, Haiphong, Thainginh, Namdinh, Thanhhoa. 54 strains *Labyrinthula* spp. are isolated successfully. After screening based on optimal cultural conditions in solid medium, we have identified 10 strains among them having high growth rate, content of total lipid and producing high amount of PUFAs such as QN5, QN37, QN42, QN48; HP43; ND21, ND23, ND31, ND32, ND50. 10 above - mentioned strains have been used with purpose to obtain biomass for further investigations.

Ngày nhận bài: 16-8-2006