

VND/ha/year. There are 3 factors affecting the profitability of rice production in the traditional rice farming model, including productivity, fertilizer costs, selling prices. For the organic rice farming model in the shrimp-rice system, there are 3 factors affecting profits, including productivity, fertilizer costs and pests in the field.

**Keywords:** Traditional rice farming, organic rice farming, economic efficiency, Ben Tre province

Ngày nhận bài: 03/6/2021  
Ngày phản biện: 04/7/2021

Người phản biện: PGT.TS. Nguyễn Huy Hoàng  
Ngày duyệt đăng: 30/7/2021

## PHÂN LẬP VÀ NHẬN DIỆN VI TẢO BIỂN DỊ DƯỠNG THUỘC CHI *Schizochytrium* CÓ TIỀM NĂNG LÀM THỨC ĂN TỰ NHIÊN TRONG NUÔI TRỒNG THỦY SẢN Ở BỜ BIỂN TRÀ VINH

Phạm Thị Bình Nguyễn<sup>1\*</sup>, Dương Hoàng Oanh<sup>1</sup>

### TÓM TẮT

Nghiên cứu này được thực hiện với mục đích tìm kiếm vi tảo biển thuộc chi *Schizochytrium*. Trong 240 mẫu lá Bần (*Sonneratia caseolaris* L.) và lá Đước (*Rhizophora apiculata* B.) được thu thập để phân lập vi tảo đã thu được 3 chủng có ký hiệu là CN27, DH41, DH79 thuộc chi *Schizochytrium* và 1 chủng có ký hiệu DH10 thuộc chi *Aurantiochytrium* tại Cầu Ngang (CN) và Duyên Hải (DH). Bằng phương pháp so sánh hình thái, phân tích PCR và giải trình tự gen đã xác định được 4 chủng vi tảo có quan hệ gần với các loài như: 2 chủng DH41, DH79 với loài *Schizochytrium mangrovei* (DQ367049); chủng CN27 với loài *Schizochytrium* sp. BR2 (DQ525180), chủng DH10 với loài *Aurantiochytrium* sp. B072 (JF266572). Kết quả thu được bộ sưu tập hình ảnh khuẩn lạc và tế bào của vi tảo CN27, DH41, DH79 thuộc chi *Schizochytrium* có khả năng sử dụng để sản xuất sinh khối cho nuôi trồng thủy sản nhằm thay thế nguồn dầu cá từ khai thác tự nhiên tại Trà Vinh.

**Từ khóa:** Vi tảo biển, chi *Schizochytrium*, nuôi trồng thủy sản, tỉnh Trà Vinh

### I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ngày nay, vi tảo ngày càng thu hút sự quan tâm đặc biệt không chỉ trong lĩnh vực nghiên cứu chuyên sâu về khoa học cơ bản mà còn trong lĩnh vực ứng dụng kinh tế. Ứng dụng của vi tảo rất đa dạng, từ xử lý ô nhiễm môi trường làm phân bón đến sử dụng làm thức ăn cho các động vật thủy sản, thức ăn chăn nuôi... bởi chúng có giá trị dinh dưỡng cao và chứa nhiều hợp chất có hoạt tính sinh học quý. Đặc biệt, tiềm năng của các nhóm vi tảo biển dị dưỡng (VTBDD) rất phổ biến vì có thể thay thế dầu cá trong việc cung cấp các  $\omega$ -3 PUFAs, squalene, nhiên liệu sinh học. Thraustochytrids là một họ trong 3 nhóm thuộc ngành Labyrinthulomycota, được nghiên cứu nhiều nhất vì một số chi của họ này là nguồn tiềm năng sản xuất công nghiệp các axit béo không bão hòa đa nối đôi mạch dài (LCPUFA) và các sắc tố carotenoid: xanthophyll,

astaxanthin, zeaxanthin, canthaxanthin, echinenone và  $\beta$ -carotene (Burja *et al.*, 2006). Trong đó, chi *Schizochytrium* có vai trò quan trọng như các sinh vật phân hủy nhờ tác dụng của việc sản xuất ra các enzyme ngoại bào, chi *Schizochytrium* có thể đóng vai trò rất quan trọng trong việc khoáng hóa các mảnh vụn hữu cơ ở đáy đại dương (Raghukumar, 2002). Vi tảo thuộc chi *Schizochytrium* còn đóng vai trò vô cùng quan trọng trong sự phát triển của hầu hết các đối tượng thủy hải sản bởi vi tảo có kích thước phù hợp, dễ tiêu hóa, ít gây ô nhiễm môi trường, nhiều loài không có độc tố và đặc biệt là giàu dinh dưỡng hàm lượng DHA (acid béo không bão hòa omega-3 docosahexaenoic acid) cao (chiếm > 30% so với TFA), protein, cacbohydrate, vitamin và các axit béo không bão hòa đa nối đôi (PUFAs). Chi *Schizochytrium* là một trong những chi thuộc nhóm Thraustochytrids có tiềm năng rất lớn đối với nghề nuôi trồng thủy sản (NTTS) bởi hàm lượng

<sup>1</sup> Khoa Nông nghiệp - Thủy sản, Trường Đại học Trà Vinh

\* Tác giả chính

DHA cao, kích thước tế bào phù hợp và có khả năng tạo huyền phù trong nước biển nên được sử dụng làm thức ăn trong NTTS (Barclay & Zeller, 1996).

Việc khảo sát sự hiện diện và phân lập được các dòng thuần có lợi thuộc chi *Schizochytrium* làm nguồn thức ăn tự nhiên cho ấu trùng tôm, cá đang là việc cấp thiết nhằm phát triển ngành công nghiệp thủy sản ở Trà Vinh nói riêng và Việt Nam nói chung. Vậy nên việc điều tra, nhận diện được vi tảo *Schizochytrium* là điều cần thiết giúp tìm nguồn cung cấp các dưỡng chất vô cùng có lợi có thể thay thế dầu cá, thức ăn tự nhiên cho vật nuôi hiện nay (Đặng Diễm Hồng, Hoàng Thị Lan Anh, 2016). Bài báo nhằm cung cấp nguồn dữ liệu ban đầu cho sự hiện diện của nhóm vi tảo biển có giá trị này ở tỉnh Trà Vinh, làm nền tảng cho các nghiên cứu ứng dụng tiếp theo trong tương lai.

## II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Đối tượng nghiên cứu

Các loài vi tảo biển dị dưỡng thuộc chi *Schizochytrium* được phân lập và nhận diện ở tỉnh Trà Vinh.

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

**Phương pháp thu và xử lý mẫu:** Các mẫu lá cây (Bần, Đước) đang trong giai đoạn phân hủy (màu vàng, nâu) ở rừng ngập mặn của tỉnh Trà Vinh được thu thập, rửa sạch bùn bằng nước biển tại nơi thu mẫu rồi cho vào túi nilon, sau khi mang về phòng thí nghiệm được trữ ngay trong tủ lạnh ở nhiệt độ 4 - 6°C. Tại vị trí các điểm thu mẫu đo đạc các chỉ tiêu môi trường. Sau đó, chọn những phần lá nguyên vẹn, loại bỏ những phần bị mục nát nhiều để rửa và loại bỏ bùn bám vào lá và rửa với 50% nước biển tự nhiên (NBTN) đã khử trùng 4 - 5 lần, mỗi lần rửa được đặt trong máy khuấy từ trong 20 phút (Trần Thị Xuân Mai và *ctv.*, 2015).

**Phân lập vi tảo:** Các mẫu lá đã xử lý khử trùng được đem cắt ra với kích thước khoảng 0,5 cm × 0,5 cm và cấy trực tiếp vào các đĩa petri có chứa môi trường glucose yeast extract peptone seawater (GYPS), thành phần gồm: 3,0 g glucose, 1,25 g yeast extract, 1,25 g peptone, thêm 50% NBTN cho đủ 1 lít, môi trường được làm đặc với 15 g agar/L, môi trường sau khi khử trùng ở 121°C trong 10 phút được làm nguội đến khoảng 60°C, sau đó bổ

sung 300 mg/L streptomycin (Strep) và 300 mg/L penicillin G (Peni) (Arafiles *et al.*, 2011). Những đĩa này được ủ trong tối ở nhiệt độ 28 ± 1°C trong 3 - 5 ngày. Khi xuất hiện những vùng trắng hoặc vàng nhạt xung quanh các rìa mép lá tiếp tục cấy chuyển các lần tiếp theo trên đĩa môi trường GYPS + Strep + Peni (300 mg/L) mới cho đến khi xuất hiện các khuẩn lạc rời và thuần.

**Nhận diện khuẩn lạc:** Các chủng sau khi được nuôi cấy thuần trên môi trường thạch GYPS, sau 2 - 4 tuần quan sát dưới vật kính độ phóng đại 4X, dựa vào đặc điểm hình thái của khuẩn lạc như bề mặt trơn lồi cho đến nhám lồi, bìa nguyên cho đến không đều hoặc răng cưa. Màu sắc khuẩn lạc của các chủng vi tảo *Schizochytrium* đa số là trắng đục, trắng ngà, kem và có sự thay đổi màu sắc theo tuổi của khuẩn lạc để nhận diện (Hoàng Thị Lan Anh và *ctv.*, 2010).

**Nhận diện tế bào:** Bước đầu xác định loài vi tảo biển dị dưỡng *Schizochytrium* bằng phương pháp so sánh hình thái trong phòng thí nghiệm: các mẫu tảo quan sát dưới vật kính có độ phóng đại khác nhau được chụp ảnh và định tên sơ bộ dựa trên các tài liệu chính như: Porter (1990); Raghukumar (1988a; 1988b); Yokoyama và cộng tác viên (2007).

**Phương pháp phân tích trình tự 18S rDNA:** DNA được tách chiết từ sinh khối theo phương pháp của Fawley và cộng tác viên (2004). Phương pháp khuếch đại phản ứng PCR từ DNA tổng số với các cặp mồi Laby F: 5'-CCT ATC AGC TGT CGA TGG TA-3' và Laby R: 5'-GGT TAA GAC TAC GAT GGT ATC TAA-3'. Sản phẩm PCR dự kiến có kích thước là 700 bp. Thành phần phản ứng PCR với tổng thể tích 20 µL, bao gồm 2,0 µL đệm 10X cho taq - DNA polymerase; 1,5 µL dNTP mỗi loại (2,5 mM); 1,0 µL Laby F và Laby R mỗi loại 10 mM; 1,0 µL DNA khuôn (50 - 100 mg/µL); 0,3 µL Taq polymerase (5U/µL) và 13,2 µL nước. Chu trình biến tính ở 94°C trong 5 phút. Chạy nhắc lại chu kỳ tại: 94°C/30 giây, 55°C/30 giây, 72°C/1 phút; tổng hợp 72°C/5 phút (Sambrook and Russell, 2001). Phân tích trình tự gen 18S rDNA tại Trung tâm Phân tích kỹ thuật cao. Sản phẩm được kiểm tra và điện di trên gel agarose 1%. So sánh độ tương đồng các trình tự nucleotide của một phần đoạn gen 18S rDNA với các loài thuộc chi *Schizochytrium*, *Aurantionchytrium*, *Thraustochytrium* đã được định tên và đăng ký mã số trên Genbank.

### 2.3. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện trong 12 tháng (03/2020 - 03/2021), tại bờ biển và rừng ngập mặn xã Mỹ Long - Cầu Ngang, xã Hiệp Thạnh - Duyên Hải. Mẫu thu về được phân tích tại các phòng thí nghiệm thuộc Khoa Nông nghiệp - Thủy sản, trường Đại học Trà Vinh.

### III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

#### 3.1. Các yếu tố môi trường tại nơi thu mẫu

Qua khảo sát các yếu tố môi trường tại nơi thu mẫu (Mỹ Long - Cầu Ngang, Hiệp Thạnh - Duyên Hải) trong 6 tháng bằng các dụng cụ kiểm tra tại chỗ cho kết quả như bảng 1.

**Bảng 1.** Thông số môi trường tại địa điểm thu mẫu và số chủng vi tảo phân lập được

Đợt thu	Địa điểm	Độ mặn (‰)	pH	Nhiệt độ (°C)	Số mẫu lá	Số chủng	Tổng số chủng
1	Duyên Hải	10	7,5	28	20	2	CN27, DH10, DH41
	Cầu Ngang	10	7,0	26	20	1	
2	Duyên Hải	15	7,0	29	20	1	CN27, DH41
	Cầu Ngang	15	6,5	28	20	1	
3	Duyên Hải	15	7,0	30	20	1	CN27, DH41
	Cầu Ngang	15	7,0	30	20	1	
4	Duyên Hải	20	7,0	30	20	3	CN27, DH10, DH41, DH79
	Cầu Ngang	18	7,0	29	20	1	
5	Duyên Hải	15	7,5	30	20	1	DH79, CN27
	Cầu Ngang	20	7,0	27	20	1	
6	Duyên Hải	15	7,5	30	20	3	CN27, DH10, DH41, DH79
	Cầu Ngang	15	7,0	28	20	1	

Theo các tác giả Yokochi và cộng tác viên (1998); Unagul và cộng tác viên (2005); Raghukumar (2008), chi *Schizochytrium* thuộc nhóm Thraustochytrids có thể sinh trưởng tốt trong khoảng pH 5 - 8, nhiệt độ từ 25 - 30°C, độ mặn dao động trong khoảng 0 - 30‰. Như vậy, qua kết quả các thông số môi trường ở bảng 1 tại 02 địa điểm thu mẫu trong 6 lần đều phù hợp cho sự hiện diện và phát triển của chi *Schizochytrium* với yếu tố pH dao động trong khoảng 6,5 - 7,0; nhiệt độ từ 26 - 30°C; độ mặn từ 10 - 20‰. Các chủng được phân lập từ môi trường rừng ngập mặn có độ mặn dao động rất lớn sẽ có khả năng chịu đựng độ mặn rộng hơn (Unagul *et al.*, 2006; Raghukumar, 2008).

#### 3.2. Kết quả phân lập chi *Schizochytrium*

Nghiên cứu đã thu thập 240 mẫu lá cây đang trong giai đoạn phân hủy trôi dạt ở các vùng bờ biển và rừng ngập mặn thuộc hai huyện bao gồm: Hiệp Thạnh (Duyên Hải) và Mỹ Long (Cầu Ngang). Qua quá trình xử lý và phân tích đã phân lập thành công 3 chủng thuộc chi *Schizochytrium* và thêm được 1 chủng thuộc chi *Aurantiochytrium* có quan hệ gần gũi với chi *Schizochytrium* thuộc nhóm vi tảo Thraustochytrids. Trong điều kiện phân lập tại

phòng thí nghiệm, độ mặn được duy trì ở 15‰ và pH dao động 6,0 - 6,2, mẫu được ủ trong tối ở nhiệt độ là 29°C, kết quả như sau:

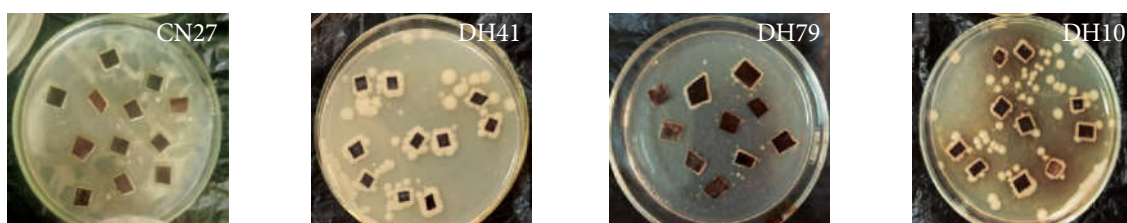
Mô tả hình thái nhận diện ban đầu: Qua quan sát khuẩn lạc đã cấy thuần bằng mắt thường và dưới vật kính 10X cho thấy các chủng có màu trắng đục, nhẵn, lồi hoặc phẳng, rặng cưa, trơn bóng, tập trung xung quanh các đường cấy. Quan sát dưới vật kính 60X - 100X nhận dạng được tế bào vi tảo dạng hình tròn, hình cầu, kết dính thành mảng, tập trung dày đặc hoặc rời rạc. Màu sắc tế bào từ trong suốt, xanh nhạt đến xanh đậm.

Các chủng *Schizochytrium* được nuôi trên môi trường thạch GYPS. Sau 72 - 120 giờ quan sát có sự khác biệt rõ rệt giữa khuẩn lạc về màu sắc, kích thước, viền khuẩn lạc, bề mặt. Kết quả được trình bày ở bảng 2 và hình 1, 2, 3, 4.

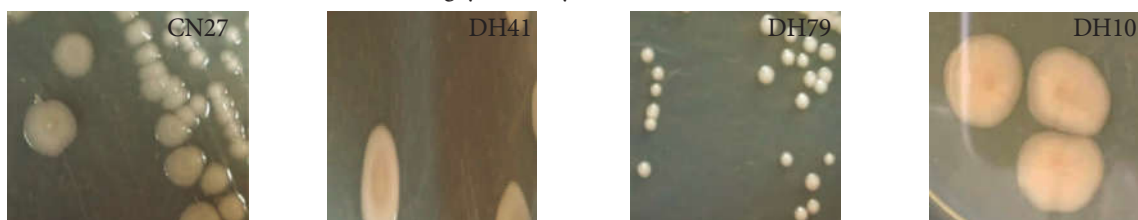
Khuẩn lạc của bốn chủng CN27, DH41, DH79, DH10 có hình tròn, kích thước không thay đổi quá lớn cho tới 72 giờ, tạo viền hoặc không tạo viền, bề mặt phẳng hoặc lồi. Riêng, khuẩn lạc chủng DH10 bề mặt phẳng, tạo viền mép mỏng. Trong khi đó, bề mặt khuẩn lạc chủng CN27, DH41, DH79 lại có bề mặt lồi, có viền hoặc không viền, trơn bóng.

**Bảng 2.** Hình dạng khuẩn lạc và tế bào các chủng thuộc chi *Schizochytrium* và chi *Aurantiochytrium*

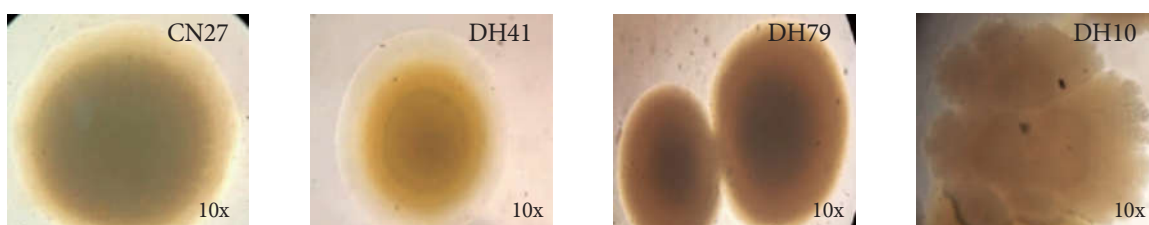
TT	Tên chủng	Đặc điểm khuẩn lạc	Tốc độ sinh trưởng khuẩn lạc	Đặc điểm tế bào
1	CN27	Khuẩn lạc màu trắng, viền răng cưa, bề mặt lồi, kích thước 6,3 - 9,6 mm	Tốc độ mọc trung bình (5 - 7 ngày nuôi cấy), còn nhỏ có màu trắng sữa, trên 7 ngày chuyển sang trắng ngà	Các tế bào tròn, kết dính thành từng cụm, tế bào chất màu xanh đậm
2	DH41	Khuẩn lạc màu trắng ngà, trơn bóng, bề mặt lồi, có nhân, kích thước 4,2 - 6,6 mm	Tốc độ mọc nhanh (3 - 5 ngày nuôi cấy), không thay đổi màu sắc	Tế bào có dạng hình thon dài, rời nhau, màu xanh nhạt
3	DH79	Dạng tròn, màu trắng đục, bề mặt lồi, kích thước 4 - 6,2 mm	Tốc độ mọc nhanh (3 - 5 ngày nuôi cấy), không thay đổi màu sắc	Tế bào dài, kích thước rất nhỏ, kết dính thành từng mảng
4	DH10	Khuẩn lạc màu trắng ngà, có mép viền mỏng, bề mặt phẳng, kích thước 6 - 10,5 mm	Tốc độ mọc nhanh (3 - 5 ngày nuôi cấy), còn nhỏ có màu trắng, trên 5 ngày chuyển sang trắng sữa	Các tế bào hình cầu, to, xung quanh có mạng lưới tia



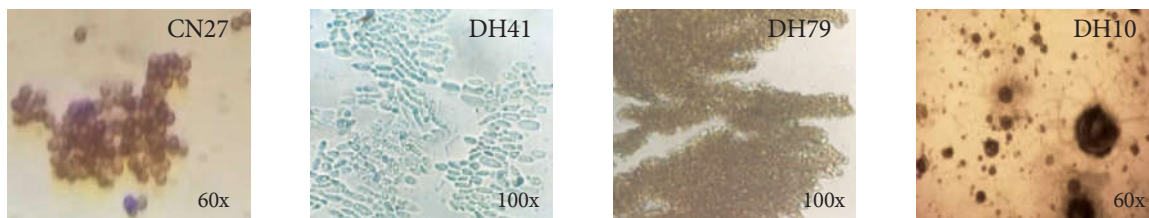
**Hình 1.** Các chủng thuộc chi *Schizochytrium* và *Aurantiochytrium* sau 3 ngày nuôi cấy trên đĩa thạch GYPS



**Hình 2.** Hình dạng khuẩn lạc thuần (sau 5 vòng phân lập) các chủng thuộc chi *Schizochytrium* và *Aurantiochytrium*



**Hình 3.** Hình dạng khuẩn lạc các chủng thuộc chi *Schizochytrium* và *Aurantiochytrium*



**Hình 4.** Hình dạng tế bào các chủng thuộc chi *Schizochytrium* và *Aurantiochytrium*

### 3.3. Kết quả định danh chi *Schizochytrium*

Sử dụng phương pháp so sánh hình thái và so sánh độ tương đồng các trình tự gen 18S rDNA với loài có mối quan hệ họ hàng gần đã được đăng ký trong ngân hàng dữ liệu gen NCBI. Kết quả ở bảng 3 cho thấy hai chủng DH41, DH79 có quan hệ gần với loài *Schizochytrium mangrovei* (có mã định danh là DQ367049 NCBI BLAST ngày 6/01/2021 và 9/3/2021). Chủng CN27 có quan hệ

gần với loài *Schizochytrium* sp. BR2 (có mã định danh là DQ525180; NCBI BLAST ngày 7/11/2020). Chủng DH10 nằm trong một cụm riêng biệt và có quan hệ gần với *Aurantiochytrium* sp. B072 (có mã định danh là JF266572; NCBI BLAST ngày 7/11/2020). Như vậy, 3 chủng CN27, DH41, DH79 thuộc chi *Schizochytrium* và chủng DH10 thuộc chi *Aurantiochytrium*.

**Bảng 3.** Kết quả định danh các chi *Schizochytrium* ở bờ biển Trà Vinh qua 6 đợt thu mẫu tại 2 địa điểm (Duyên Hải, Cầu Ngang)

TT	Ký hiệu chủng	Có quan hệ gần với chủng	Tỷ lệ tương đồng với đoạn gen 18S RNA	Mã định danh
1	CN27	<i>Schizochytrium</i> sp. BR2	99%	DQ525180
2	DH41	<i>Schizochytrium mangrovei</i>	92,24%	DQ367049
3	DH79	<i>Schizochytrium mangrovei</i>	92,24%	DQ367049
4	DH10	<i>Aurantiochytrium</i> sp. B072	99%	JF266572

Chi *Schizochytrium* là một trong những loài vi tảo được nghiên cứu nhiều nhất để sản xuất axit docosahexaenoic (DHA) là một axit béo omega-3 có tác dụng tích cực đối với sức khỏe con người. Loài *Schizochytrium* sp. được nuôi gia tăng sinh khối để sản xuất axit Docosahexaenoic (DHA) (Natalia Kujawska *et al.*, 2021) và có thể thay thế dầu cá làm thức ăn cho tôm (Kristy M. Allen *et al.*, 2019). Loài *Schizochytrium* sp. BR2 được nhận diện trong nghiên cứu “Tối ưu hóa sản xuất DHA và cải thiện hàm lượng astaxanthin trong *Schizochytrium limacinum* bị đột biến được phân lập từ rừng ngập mặn ở Thái Lan” (Chatdumrong *et al.*, 2007). *Schizochytrium mangrovei* được phát hiện từ nghiên cứu “Phát sinh loài Labyrinthulomycetes và những tác động của nó đối với quá trình mất lục lạp trong quá trình tiến hóa và đạt được nhờ có mạng lưới ngoại chất có khả năng tiết ra các enzym tiêu hóa để hấp thụ dinh dưỡng” (Clement *et al.*, 2009), loài này có thể sản xuất ra enzyme xenlulolase, amylase, xylanase, protease và pectinase (Raghukumar, 2002). *Aurantiochytrium* sp. B072 được xác định trong nghiên cứu “Các chất tạo thành axit béo và chất tăng sinh sinh học trong *Aurantiochytrium* sp. do ảnh hưởng của các tỷ lệ C/N khác nhau” (Chaisawang and Verduyn, 2011).

*Aurantiochytrium*. Qua khảo sát các yếu tố môi trường tại nơi thu mẫu đều phù hợp cho sự hiện diện và phát triển của chi *Schizochytrium*. Kết quả xây dựng được bộ sưu tập hình ảnh khuẩn lạc, tế bào và định tên các chủng DH41, DH79 có quan hệ gần với loài *Schizochytrium mangrovei*. Chủng CN27 có quan hệ gần với loài *Schizochytrium* sp. BR2. Chủng DH10 nằm trong một cụm riêng biệt và có quan hệ gần với *Aurantiochytrium* sp. B072.

### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Hoàng Thị Lan Anh, Đinh Thị Ngọc Mai, Ngô Thị Hoài Thu và Đặng Diễm Hồng, 2010. Phân lập chủng vi tảo biển dị dưỡng thuộc chi *Thraustochytrium* giàu DHA và carotenoid từ đầm ngập mặn Thị Nại - Bình Định. *Tạp chí Công nghệ sinh học*, số 8 (3A): 459-465.
- Đặng Diễm Hồng, Hoàng Thị Lan Anh, 2016. *Vi tảo biển dị dưỡng Labyrinthula, Schizochytrium, Thraustochytrium mới ở Việt Nam: Tiềm năng và thách thức*. NXB Khoa học tự nhiên và Công nghệ, Hà Nội: 626 trang.
- Trần Thị Xuân Mai, Nguyễn Thị Pha, Nguyễn Thị Liên và Nguyễn Văn Bé, 2015. Phân lập và nhận diện vi tảo biển dị dưỡng Thraustochytrid sản xuất carotenoid. *Tạp chí khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, 37 (1): 57-64.
- Arafiles, K.H.V., J.C.O. Alcantara, J.A.L. Batoon, F.S. Galura, P.R.F. Cordero, E.M. Leano and G.R. Dedele, 2011. Cultural optimization of Thraustochytrids for biomass and fatty and production. *Mycosphere*, 2(5): 521-531.
- Barclay W. and Zeller S., 1996. Nutritional enhancement of n-3 and n-6 fatty acids in rotifers and *Atermina*

### IV. KẾT LUẬN

Nghiên cứu bước đầu nhận diện được 3 chủng thuộc chi *Schizochytrium* và 1 chủng thuộc chi

- by feeding spray-dried *Schizochytrium* sp. *J. World Aquacult Soc.*, 27: 314-322.
- Burja A.M., Radianingtyas H., Windust A. & Barrow C.J.**, 2006. Isolation and characterization of polyunsaturated fatty acid producing *Thraustochytrium* species; screening of strains and optimization of omega-3 production. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 72: 1161-1169.
- Chaisawang, M. and Verduyn, C.**, 2011. Fatty acid formation fluxes and bioenergetics in *Aurantiochytrium* sp. on the effect of different C/N-ratios. *Biotechnology*, Mahidol University, p. 272.
- Chatdumrong, W., Yongmanitchai, W., Limtong, S. and Worawattanamateekul, W.**, 2007. Optimization of Docosahexaenoic Acid (DHA) Production and Improvement of Astaxanthin Content in a Mutant *Schizochytrium limacinum* Isolated from Mangrove Forest in Thailand. *Kasetsart J. (Nat. Sci.)*, 41: 324-334.
- Clement K.M. Tsui, Wyth Marshall, Rinka Yokoyama, Daisuke Honda, J. Casey Lippmeier, Kelly D. Craven, Paul D. Peterson, Mary L. Berbee**, 2009. Labyrinthulomycetes phylogeny and its implications for the evolutionary loss of chloroplasts and gain of ectoplasmic gliding. *Molecular phylogenetics and Evolution*, 50: 129-140.
- Fawley Marvin W., Fawley Karen**, 2004. A simple and rapid technique for the isolation of DNA from microalgae. *J. Phycol.*, 40: 223-225.
- Kristy M. Allen, Habte-Michael Habte-Tsion, Kenneth R. Thompson, Keith Filer, James H. Tidwell & Vikas Kumar**, 2019. Freshwater microalgae (*Schizochytrium* sp.) as a substitute to fish oil for shrimp feed. *Scientific Reports*, 2019 (9): 6187, accessed on 24/6/2021. Available from: <https://www.nature.com/articles/s41598-019-41020-8>.
- Natalia Kujawska, Szymon Talbierz, Marcin Dębowski, Joanna Kazimierowicz and Marcin Zieliński**, 2021. Optimizing Docosahexaenoic Acid (DHA) Production by *Schizochytrium* sp. Grown on Waste Glycerol. *Energies*, 2021 (14) 1685, accessed on 24/6/2021. Available from: <https://www.mdpi.com/1996-1073/14/6/1685/pdf>.
- Porter D.**, 1990. *Labyrinthulomycota*. In: Margulis L., Corliss J.O., Melkonian M., Chapman D., eds. Handbook of protozoa, Boston, MA: Jones and Bartlett, 388-398.
- Raghukumar S.**, 2002. Ecology of the marine protists, the labyrinthulomycetes (Thraustochytrids and Labyrinthulids). *Eur. J. Protistol.*, 38: 127-145.
- Raghukumar S.**, 1988a. Detection of the Thraustochytrids protist *Ulikenia visurgenis* in hydroid, using immunofluorescence. *Mar. Biol.*, 97: 253-258.
- Raghukumar S.**, 1988b. *Schizochytrium mangrovei* sp. Nov.: a Thraustochytrids from mangroves in India. *Trans. Brit. Mycol. Soc.*, 90: 627-631.
- Raghukumar S.**, 2008. Thraustochytrids marine protist: Production of PUFAs and other emerging technologies. *Mar. Biotechnol.*, 10: 631-640.
- Sambrook J. & Russell D.W.**, 2001. *Molecular cloning: A laboratory manual*. Cold spring harbor laboratory press, New York.
- Unagul P., Asantachai C., Phadungruengluij S., Suphantharika M. & Verduy C.**, 2005. Properties of the docosahexaenoic acid - producer *Schizochytrium mangrovei* Sk-02; effects of glucose, temperature and salinity and their interaction. *Bot. Mar.*, 48: 387-394.
- Unagul P., Asantachai C., Phadungruengluij S., Pongsuteeragul T., Suphantharika M. & Verduy C.**, 2006. Biomass and docosahexaenoic acid formation by *Schizochytrium mangrovei* Sk-02 at low salt concentrations. *Bot. Mar.*, 49: 182-190.
- Yokoyama R., Salleh B. & Honda D.**, 2007. Taxonomic rearrangement of the genus *Ulkenia* sensu lato base on morphology, chemotaxonomical characteristics, and 18S rRNA gene phylogeny (Thraustochytriaceae, Labyrinthulomycetes): emendation for *Ulkenia* and erection of *Botrochytrium*, *Parietichytrium*, and *Sicyoidochytrium* gen. nov. *Mycoscience*, 48: 329-341.
- Yokochi T., Honda D., Higashihara T. & Nakahara T.**, 1998. Optimization of docosahexaenoic acid production by *Schizochytrium limacinum* SR2. *Appl. Biotchnol.*, 49: 72-76.

## Isolation and identification of marine microalgae belonging to genus *Schizochytrium* with potential for natural food in aquaculture at the seaside of Tra Vinh province

Pham Thi Binh Nguyen, Duong Hoang Oanh

### Abstract

This study was carried out with the aim of finding marine microalgae belonging to the genus *Schizochytrium*. 3 microalgae strains marked as CN27, DH41, DH79 belonging to genus *Schizochytrium* and 1 strain marked as DH10 belonging to genus *Aurantiochytrium* were isolated from 240 collected leaf samples of *Sonneratia caseolaris* L. and *Rhizophora apiculata* B at Cau Ngang (CN) and Duyen Hai (DH). By morphological comparison, PCR analysis and

gene sequencing, four microalgae strains have been closely related to the species, as follows: 2 strains DH41, DH79 with *Schizochytrium mangrovei* (DQ367049); the strain CN27 with the species *Schizochytrium* sp. BR2 (DQ525180); the strain DH10 with the species *Aurantionchytrium* sp. B072 (JF266572). This study obtained a collection of colony and cell images of microalgae CN27, DH41, DH79 belonging to genus *Schizochytrium* which could be used to produce biomass for aquaculture to replace fish oil sources from natural exploitation in Tra Vinh.

**Keywords:** aquaculture feed, marine microalgae, genus *Schizochytrium*, Tra Vinh province,

Ngày nhận bài: 03/6/2021

Người phản biện: TS. Đoàn Thanh Loan

Ngày phản biện: 14/7/2021

Ngày duyệt đăng: 30/7/2021

## SỬ DỤNG CHỈ SỐ CẤU TRÚC QUẦN XÃ TẢO NỔI ĐỂ ĐÁNH GIÁ MỨC ĐỘ PHÚ DƯỠNG AO NUÔI TRỒNG THỦY SẢN TẠI Ý YÊN, NAM ĐỊNH

Nguyễn Thị Thu Hà<sup>1\*</sup>, Phạm Trọng Tuấn<sup>1</sup>, Đỗ Phương Chi<sup>2</sup>,  
Đình Tiến Dũng<sup>2</sup>, Trịnh Quang Huy<sup>1</sup>

### TÓM TẮT

Hiện tượng phú dưỡng là mối đe dọa nghiêm trọng đối với chất lượng nước và hoạt động của các hệ sinh thái dưới nước. Thành phần loài và cấu trúc quần xã tảo thể hiện sự thay đổi theo những thay đổi về lý hóa, sinh học và tình trạng dinh dưỡng của nước. Nghiên cứu này được thực hiện để đánh giá mức độ phú dưỡng tại các ao nuôi trồng thủy sản (NTTS) trên cơ sở chỉ số cấu trúc quần xã tảo. Mẫu được thu ở 2 thời điểm (xuân, hè) trong hai năm (2019-2020) tại 15 ao NTTS, trong đó ao nuôi quảng canh chiếm 20%, bán thâm canh chiếm 33,3% và thâm canh chiếm 46,7%. Kết quả nghiên cứu đã ghi nhận 45 chi tảo thuộc 6 ngành, trong đó chiếm ưu thế là tảo lục (17 chi), tảo cát (11 chi) và tảo lam (9 chi) với mật độ tảo tổng số là 1.200 đến 12.200 tế bào/mL, và mùa hè cao hơn mùa xuân. Tảo lam chiếm ưu thế ở hầu hết các ao NTTS, trung bình chiếm 53,7%, trong đó ao nuôi thâm canh có tỷ lệ cao nhất, còn tảo lục và tảo cát lần lượt chiếm 17,6 và 19,9%. Chỉ số cấu trúc tảo (AI) trên tảo lam (CyI), tảo lục (ChI) và tảo cát (DI) trong ao NTTS cho thấy các ao đều ở mức phú dưỡng đến siêu phú dưỡng, và có tương quan với tình trạng dinh dưỡng thông qua các chỉ số chất rắn lơ lửng (TSS), TN, TP và tổng coliform (mức ý nghĩa 0,05).

**Từ khóa:** Tảo nổi, phú dưỡng, ao thủy sản, chỉ số cấu trúc quần xã

### I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hiện nay, phú dưỡng là một hiện tượng suy giảm chất lượng nước phổ biến. Phú dưỡng sẽ dẫn đến sự phát triển quá mức của tảo do sự gia tăng tổng lượng photpho. Mức độ phú dưỡng được phân thành 4 nhóm: nghèo dinh dưỡng, trung dưỡng, phú dưỡng và siêu phú dưỡng. Sự phân loại này có được từ các nghiên cứu và kiểm nghiệm nhiều về phú dưỡng ở các nước trong tổ chức hợp tác và phát triển kinh tế (Organization for Economic Cooperation and Development (OECD)) từ những năm 1970 và những năm 1980 (Jorgensen, 1980).

Trong các thành phần dinh dưỡng, tùy vào tỷ

lệ giữa các thành phần mà N và P thay phiên nhau trở thành các nhân tố giới hạn sự phát triển của tảo, đồng thời kiểm soát mức độ phú dưỡng (Foekema *et al.*, 2005). Đánh giá mật độ tảo (thông qua mật độ tế bào hoặc nồng độ chlorophyll) trở thành tiêu chí quan trọng để đánh giá mức độ phú dưỡng (Wetzel, 2001) kết hợp với kết quả quan trắc chất lượng nước dựa vào các thông số dinh dưỡng trong nước. Một cách tiếp cận để đánh giá nước môi trường là sử dụng các tiêu chí trạng thái dinh dưỡng (El-Serehy và *ctv.*, 2018). Tiêu chí trạng thái dinh dưỡng có thể được biết đến dựa trên chỉ số trạng thái dinh dưỡng (TSI), được phân tích dựa trên nồng độ Chl-a (Patra và *ctv.*, 2017).

<sup>1</sup> Bộ môn Công nghệ Môi trường, Khoa Tài nguyên và Môi trường, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

<sup>2</sup> Trung tâm Phân tích và Chuyển giao Công nghệ Môi trường, Viện Môi trường Nông nghiệp

\* Tác giả chính