

## ẢNH HƯỞNG CỦA MẬT ĐỘ XUẤT PHÁT ĐẾN TĂNG TRƯỞNG CỦA VI TẢO *SKELETONEMA COSTATUM* (GREVILLE) CLEVE TRONG MÔI TRƯỜNG NƯỚC BIỂN NHÂN TẠO AQUIL\*

LÝ THỊ THÙY DUYÊN\*,  
VÕ HỒNG TRUNG\*\*, LÊ THỊ TRUNG\*\*\*

### TÓM TẮT

*Vi tảo là thực vật phù du có kích thước hiển vi, có cấu tạo đơn bào sống trôi nổi trong nước, trong đó tảo silic là ngành lớn nhất cả về số loài và sinh vật lượng. Mật độ nuôi cấy là một trong những yếu tố có liên quan mật thiết đến sinh khối và thời gian tảo đạt cực đại. Skeletonema costatum (Grev.) Cleve tăng trưởng tốt nhất trên môi trường Aquil\* ở mật độ nuôi cấy 30.000 tế bào/ml, ánh sáng 3.000 lux ± 500, nhiệt độ 25°C ± 2, cho chuỗi tế bào dài, sắc thể đậm màu, có đường cong tăng trưởng điển hình.*

**Từ khóa:** Skeletonema, Sắc thể, môi trường Aquil\*.

### ABSTRACT

***The morphological changes of cells accompany with the growth cycle of microalgae Skeletonema costatum (Greville) Cleve in the artificial seawater medium Aquil\****

*Microalgae as phytoplankton are unicellular algae in microscopic size floating in the water, in which diatom is the biggest phylum in term of species numbers and biomass. Initial cell density is one of the factors closely related to algal biomass and time when algae reach the maximum biomass. Skeletonema costatum (Greville) Cleve grows the best in the Aquil\* medium with initial cell density 30,000 cells/ml, light intensity 3,000lux ± 500, temperature 25°C ± 2: the long-chained cells, the darker chromatophores, and the typical growth curve.*

**Keywords:** Skeletonema, chromatophores, Aquil\* medium.

### 1. Mở đầu

Vi tảo là thực vật phù du có kích thước hiển vi, có cấu tạo đơn bào sống trôi nổi trong nước, có khả năng quang tự dưỡng, rất đa dạng về hình dạng, màu sắc, kích thước và môi trường phân bố.

Môi trường NBNT chứa các ion quan trọng và các tác nhân tạo chelat để duy trì đầy đủ hàm lượng các nguyên tố vi lượng trong dung dịch và các nhân tố tăng trưởng hữu cơ. Theo Droop (1961, 1962), sự hình thành chelat của các nguyên tố vi lượng, đệm pH và sự cân bằng hiệu thế oxy hóa khử, một số hay tất cả các đặc tính hóa lý này của một môi trường có thể quyết định đến sự tăng trưởng của loài thực vật phù du hơn là tỉ lệ của các ion chính (Fogg and Thake, 1987).

\* HVCH, Trường Đại học Sư phạm TP HCM

\*\* HVCH, Trường Đại học Sư phạm TP HCM

\*\*\* TS, Trường Đại học Sư phạm TP HCM

Mật độ tế bào trong dịch nuôi có liên quan đến khả năng cung cấp nguồn sống của môi trường, từ đó ảnh hưởng lớn đến sự tăng trưởng của vi tảo.

Việc xác định mật độ xuất phát thích hợp có vai trò quan trọng trong nghiên cứu sinh lý vi tảo, góp phần tạo cơ sở đề ra các phương pháp giúp chủ động điều khiển tốc độ tăng trưởng của tảo.

## 2. Vật liệu, phương pháp

### 2.1. Vật liệu

Vi tảo *Skeletonema costatum* (Greville) Cleve được thu từ nước biển ven bờ Đồng Hòa, xã Long Hòa, huyện Cần Giờ, TP Hồ Chí Minh.

### 2.2. Phương pháp

#### 2.2.1. Chuẩn bị môi trường

Môi trường Aquil\*, pH  $7 \pm 0,5$  (Sunda W. G., et. al., 2005), giữ ở nhiệt độ  $25^{\circ}\text{C} \pm 2$  tối đa 1 tháng.

Điều kiện nuôi: chu kỳ sáng tối 12:12, độ ẩm khoảng 50%, nhiệt độ:  $25^{\circ}\text{C} \pm 2$ , cường độ sáng:  $3000 \text{ lux} \pm 500$ .

#### 2.2.2. Quan sát hình thái tế bào

*Skeletonema costatum* được quan sát hình thái mỗi ngày và chụp hình dưới kính hiển vi quang học.

#### 2.2.3. Xác định mật độ tế bào

Mật độ tế bào được đếm bằng khung đếm hồng cầu và tính theo công thức:

$$D = \frac{n}{i} \times 10^4 \text{ tế bào/ml}$$

D: mật độ tế bào; n: tổng số tế bào trong các lần đếm; i: số lần đếm (Andersen and Thronsen, 2004).

#### 2.2.4. Xác định đường cong tăng trưởng

Đường cong tăng trưởng được xây dựng dựa trên mật độ tế bào xác định mỗi ngày.

#### 2.2.5. Xác định hệ số pha loãng

Để có được mật độ xuất phát ở các nghiệm thức và các bình nuôi là như nhau, hệ số pha loãng được tính:

$$\text{Hệ số pha loãng} = \frac{N}{n.V.D_i}$$

n: số lượt đếm mẫu gốc; N: tổng số tế bào đếm được trong n lượt; V: thể tích mỗi vùng đếm (ml); Di: mật độ xuất phát cần có (tế bào/ml).

#### 2.2.6. Xác định mật độ nuôi cấy thích hợp

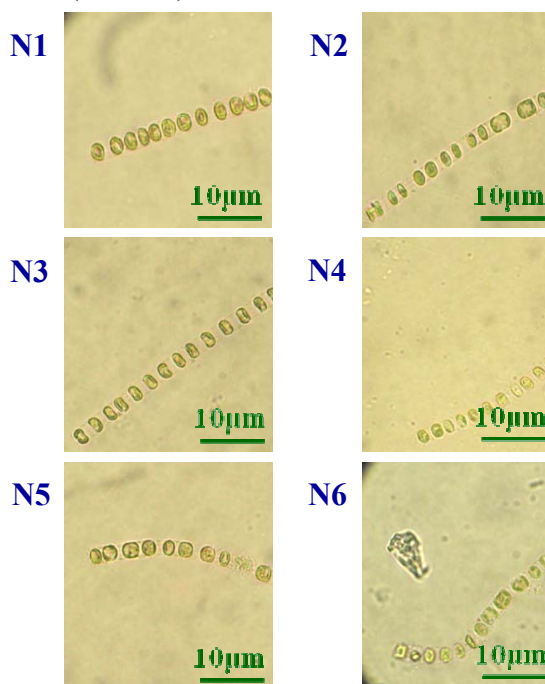
Các mật độ được khảo sát: 15.000 tế bào/ml; 30.000 tế bào/ml; 45.000 tế bào/ml, và được xác định dựa trên đường cong tăng trưởng, tốc độ tăng trưởng và hình thái tế bào.

### 3. Kết quả, thảo luận

#### 3.1. Tăng trưởng của *Skeletonema costatum* trong môi trường Aquil\*

##### 3.1.1. Hình thái tế bào

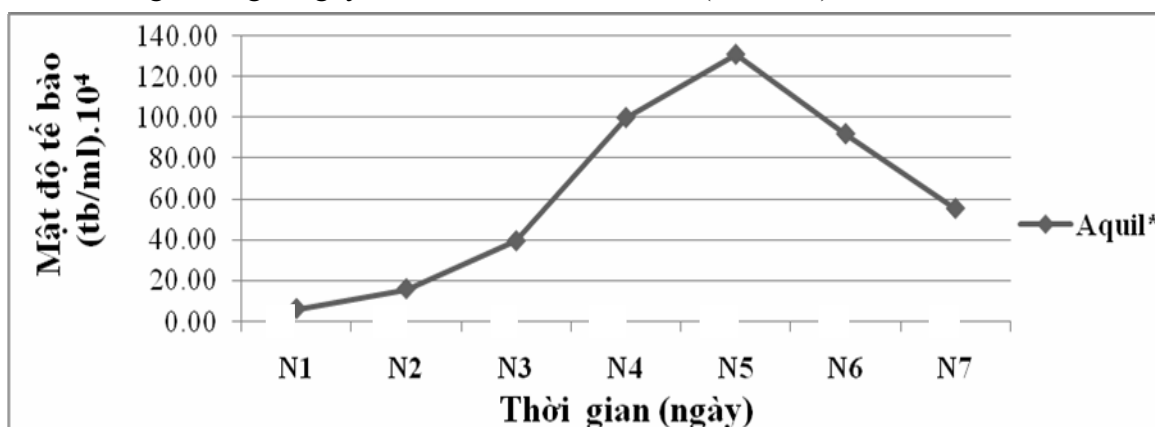
Các tế bào *S. costatum* có chuỗi dài, kích thước khá to, sắc thể chiếm phần lớn kích thước tế bào từ ngày thứ 1 đến ngày thứ 5. Từ ngày 3 đến ngày 5 có nhiều tế bào phân đôi. Ở ngày 5, các tế bào giảm kích thước đáng kể. Đến ngày 6, có hiện tượng thoát sắc tố, tế bào nhạt màu (ảnh 3.1).



Ảnh 3.1. Tế bào *Skeletonema costatum* trong môi trường Aquil\* từ ngày 1 đến ngày 6

##### 3.1.2. Mật độ tế bào - Đường cong tăng trưởng – Tốc độ tăng trưởng

Thời gian tăng trưởng của vi tảo trong môi trường Aquil\* kéo dài 7 ngày, pha log có đỉnh tăng trưởng ở ngày 5 với  $131.10^4$  tế bào/ml (hình 3.1).



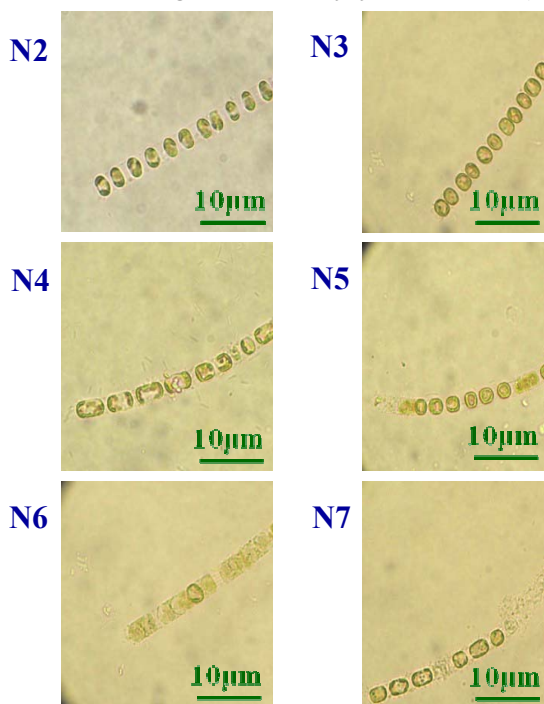
Hình 3.1. Đường cong tăng trưởng *Skeletonema costatum* trong môi trường Aquil\* theo thời gian

### 3.2. Khảo sát sự sinh trưởng ở các mật độ xuất phát khác nhau

#### 3.2.1. Hình thái tế bào

Từ ngày thứ 3 đến ngày thứ 6:

**Ở mật độ xuất phát 15.000 tb/ml:** tế bào kết chuỗi không dài. Vào ngày 2 và ngày 3 sắc thể to, đậm. Ngày 4, sắc thể phân mảnh, dồn sát vách tế bào. Vào các ngày tiếp sau, tế bào vi tảo bước vào giai đoạn suy yếu và chết (ảnh 3.2).



**Ảnh 3.2.** Hình thái tế bào *Skeletonema costatum* ở mật độ xuất phát 15.000 tb/ml từ ngày 2 đến ngày 7

**Mật độ xuất phát 30.000 tb/ml:** các tế bào kết chuỗi dài. Ở ngày 2 và ngày 3, tế bào to, khoảng cách giữa 2 tế bào gần, sắc thể chiếm trọn thể tích tế bào. Đến ngày 4, tế bào to nhưng sắc thể phân mảnh nằm sát vách tế bào. Sang ngày 5, tế bào tròn, đậm màu, sắc thể phân tán trong tế bào, số tế bào trong chuỗi tăng nhưng kích thước tế bào giảm đáng kể. Điều này cho thấy vi tảo đã trải qua giai đoạn sinh sản bằng phân đôi mạnh mẽ (ảnh 3.3, N5). Sắc thể nhạt hơn vào ngày 6. Ở ngày 7, nhiều tế bào khôi phục lại kích thước nhưng có hiện tượng thoát sắc tố (ảnh 3.3, N6, N7).

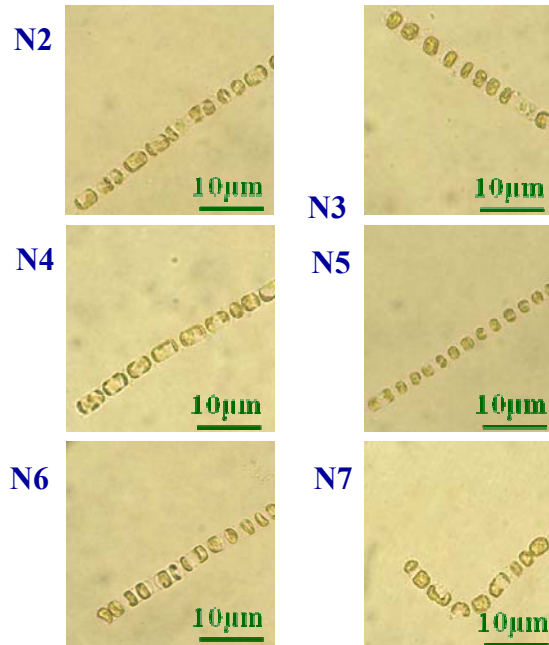
**Mật độ xuất phát 45.000 tb/ml:** tế bào kết chuỗi dài ngay từ ngày 2, tế bào to, tròn, khoảng cách giữa 2 tế bào gần nhau, sắc tố phân bố khá đều trong tế bào. Đến ngày 4, kích thước tế bào giảm, số tế bào trong chuỗi nhiều, khoảng cách giữa 2 tế bào xa nhau. Từ ngày 5, tế bào có chiều hướng suy vong (ảnh 3.4, N5, N6, N7).

#### 3.2.2. Mật độ tế bào - Đường cong tăng trưởng – Tốc độ tăng trưởng

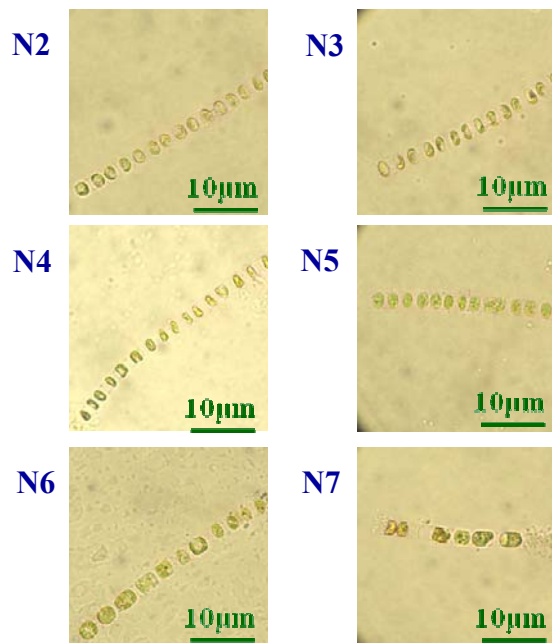
Ở mật độ xuất phát càng cao, thời gian pha log của quần thể dịch nuôi càng ngắn, vi tảo nhanh đạt đến mật độ cao nhất (bảng 3.1). Trong đó, mật độ tế bào cực đại ở điều

kiện mật độ xuất phát 30.000 tế bào/ml là  $112 \cdot 10^4$  tế bào/ml và cao hơn hai điều kiện xuất phát còn lại (bảng 3.1).

Mật độ xuất phát 30.000 tế bào/ml thích hợp cho sự tăng trưởng của tảo.



**Ảnh 3.3.** Hình thái tế bào *Skeletonema costatum* ở mật độ xuất phát 30.000 tb/ml từ ngày 2 đến ngày 7



**Ảnh 3.4.** Hình thái tế bào *Skeletonema costatum* ở mật độ xuất phát 45.000 tb/ml ngày 2 đến ngày 7

**Bảng 3.1.** Mật độ tế bào của *Skeletonema costatum* ở các mật độ xuất phát khác nhau

Thời gian (ngày)	Mật độ tế bào (tb/ml)		
	15.000	30.000	45.000
1	2,6 ± 0,02 <sup>a</sup>	5,85±0,19 <sup>a</sup>	10,3±0,12 <sup>a</sup>
2	2,94± 0,09 <sup>b</sup>	7,32± 0,07 <sup>a</sup>	31,5± 0,05 <sup>b</sup>
3	6,56± 0,16 <sup>c</sup>	23,6±0,06 <sup>b</sup>	77,9± 0,11 <sup>c</sup>
4	38,5±0,09 <sup>d</sup>	85,2±0,5 <sup>e</sup>	<b>93,4±0,09<sup>d</sup></b>
5	65,7±0,13 <sup>e</sup>	<b>112±0,14<sup>f</sup></b>	82,3±0,18 <sup>c</sup>
6	<b>103,4±0,16<sup>g</sup></b>	92,5±0,07 <sup>e</sup>	47,2±0,13 <sup>bc</sup>
7	93,7±0,7 <sup>f</sup>	75,9±0,07 <sup>d</sup>	50,2±0,13 <sup>bc</sup>
8	66,4±0,18 <sup>e</sup>	42,9±0,14 <sup>c</sup>	29,9±0,08 <sup>b</sup>

Các số trung bình trong cột với các mẫu tự khác nhau khác biệt có ý nghĩa ở mức  $p=0,05$   
Đơn vị tính:  $x 10^4$  tb/ml.

Sự thay đổi mật độ xuất phát có ảnh hưởng lớn đến sự tăng trưởng của vi tảo. Do đó, việc chọn mật độ xuất phát thích hợp rất cần thiết cho nghiên cứu sinh lí. Ở Việt Nam, trên loài *Skeletonema costatum*, nuôi trong bình tam giác với thể tích dịch nuôi là 50ml, Nguyễn Tấn Đại đã chọn mật độ xuất phát là 15.000 tế bào/ml. Khi cấy chuyển cùng mật độ trên vào 125ml dịch nuôi tảo tăng trưởng khá tốt nhưng pha cảm ứng dài hơn và mật độ cực đại thấp hơn ở điều kiện xuất phát là 30.000 tế bào/ml. Ở mật độ xuất phát 45.000 tế bào/ml, thời gian tăng trưởng của quần thể rút ngắn hơn, vi tảo nhanh chóng suy yếu. Có lẽ, do số lượng tế bào nhiều ngay từ đầu làm tăng khả năng cạnh tranh nguồn dinh dưỡng, nguồn sáng đồng thời cũng sớm giải phóng nhiều chất thải ra môi trường.

#### 4. Kết luận

*Skeletonema costatum* (Grev.) Cleve tăng trưởng tốt trong môi trường nước biển nhân tạo Aquil\*, với tốc độ tăng trưởng cao. Mật độ nuôi cấy thích hợp là 30.000 tế bào/ml.

**TÀI LIỆU THAM KHẢO**

1. Andersen P., Throndsen J. (2004), *Estimating cell numbers*. In: Hallegraeef G. M., Anderson D. M., Cembella A. D. (eds), *Manual on harmful marine microalgae*, Paris: UNESCO Publishing, pp. 99-130.
2. Droop (1962), *Algal physiology and biochemistry*, Botanical monograph., Vol (10).
3. Fogg G. E., Thake B. (1987), *Algae cultures and phytoplankton ecology*, The University of Wisconsin Press., Vol 3, pp. 12-42.
4. Sunda W. G., Price N. M., Morel F. M. M. (2005), *Trace metal ion buffers and their use in culture studies*, In: Andersen R. A. (ed.), *Algal culturing techniques*, Amsterdam: Elsevier Academic Press, pp. 35-63.

(Ngày Tòa soạn nhận được bài: 26-12-2011; ngày chấp nhận đăng: 24-4-2012)