

ĐÁNH GIÁ ẢNH HƯỞNG CỦA DẦU DIESEL (Pha hòa tan) LÊN HAI LOÀI TẢO *Chaetoceros muelleri* và *Skeletonema costatum*

HOÀNG TRUNG DU

Tóm tắt: Những ảnh hưởng của dầu diesel (WSF- pha hòa tan) lên 2 loài tảo *Chaetoceros muelleri* (C. muelleri) và *Skeletonema costatum* (S. costatum) được xem xét qua các thí nghiệm kiểm định độc tố. Kết quả đã chỉ ra các mức ảnh hưởng của nồng độ dầu lên các chỉ số như mật độ tế bào, chlorophyll a, và năng suất của hai loài tảo phổ biến trong vực nước ven bờ. Sự dụng chỉ số kiểm định để đánh giá mức độ độc tính của dầu cho thấy đối với từng loài tảo khác nhau sẽ chịu đựng ở các mức ảnh hưởng "stress" của dầu diesel cũng khác nhau. Các chỉ số về độc tính của dầu gây ra sự ức chế tốc độ phát triển của tảo như: với IC25 là $224.8\mu\text{gWSF/l} \pm 42.4$, đối với loài tảo C. muelleri và $454\mu\text{gWSF/l} \pm 18$ tương ứng đối với tảo S. costatum. Trong khi đó ảnh hưởng của dầu gây ức chế 50% (IC50) đối với cả hai loài tảo đều $> 500\mu\text{g/l}$.

Ảnh hưởng của dầu qua các chỉ số sinh thái như hàm lượng chlorophyll a, năng suất, cũng chỉ ra sự suy giảm tương ứng với hàm lượng nhiễm bẩn dầu tăng. Mức độ suy giảm 50% so với đối chứng bắt đầu xảy ra từ nồng độ $125\mu\text{gWSF/l}$ trở lên với tảo C. muelleri và $250\mu\text{gWSF/l}$ với tảo S. costatum. Đồng thời với những yếu điểm về mặt sinh thái học, chlorophyll a được xem xét đưa vào sử dụng trong kiểm định độc tố của các chất hóa học trên tảo, và có khả năng ứng dụng cho việc đánh giá những vùng nước có dấu hiệu nhiễm bẩn dầu, nhằm cảnh báo sớm nguy cơ sinh thái ở các vùng nước ven biển bị đe dọa ô nhiễm dầu.

Key word: Kiểm định độc tố, ức chế, chlorophyll a, dầu diesel

I. MỞ ĐẦU

Nhiễm bẩn dầu thải là một thực tế mang tính toàn cầu, chúng bắt nguồn từ những nguyên nhân: Giao thông vận tải và vận chuyển dầu – Khai thác thăm dò dầu khí ngoài khơi – Các hoạt động khác trên biển như xử lý, phân phối và kinh doanh dầu, đánh bắt cá, du lịch - Các hoạt động có liên quan đến sử dụng dầu trong các lưu vực, thải vào sông và được sông tải ra biển.... Việt Nam đang đứng trước sự đe dọa ngày càng gia tăng của tình trạng ô nhiễm dầu trong nước biển do các hoạt động nhập nhệp và ráo riết ở các cảng biển và vận tải biển trong nước và Quốc tế, do việc sử dụng các sản phẩm dầu mỏ và các hoạt động thăm dò, khai thác ngoài khơi. Nhìn chung hàm lượng hydrocarbon dầu vực nước ven bờ cao hơn ở ngoài khơi (FAO, 1982, Nguyễn Minh Sơn và cộng sự, 1999).

Các thành phần hòa tan của dầu thô và các sản phẩm tinh chế đều có các độc tính tùy thuộc vào tính chất và mức độ của từng loại lên thực vật và động vật biển. Dầu nhiên liệu thường được sử dụng để hoạt động trong các động cơ máy (thường là dầu diesel), trong đó chúng có chứa các hydrocarbon thơm và các hydrocarbon này thường được xem là thành phần dầu có độ độc cấp tính, đồng thời chúng cũng có các ảnh hưởng độc mãn tính, và được coi là chất có khả năng gây ung thư. Độ độc của dầu diesel phụ thuộc vào số lượng vòng thơm của chúng và các chất hoạt động bề mặt (với những nhóm hydrophobic như alkyl phenol và R_2CHOH là có độc tố cao)

Một số nhà khoa học đã thực hiện những nghiên cứu về ảnh hưởng của ô nhiễm dầu cho rằng hệ sinh thái biển ven bờ là nơi có độ nhạy cảm nhất đối với việc ô nhiễm dầu như: cửa sông, vùng đất ngập nước (rừng ngập mặn, bãi triều, ..), rạn san hô, và thảm cỏ biển (GESAMP, 1993, Patin, 1982). Những ảnh hưởng sinh học của các dầu thải phụ thuộc vào loại dầu và thời lượng tiếp xúc tới các hệ sinh thái trong tự nhiên. Chất ô nhiễm này gây độc cho sinh vật và làm biến đổi đặc điểm môi trường sống; Ở ngưỡng gây độc có thể giết chết sinh vật trong một thời gian ngắn; ở dưới ngưỡng thì làm giảm khả năng hoạt động sống và kiếm mồi. Ô nhiễm dầu trong nước có ảnh hưởng độc tính mạnh lên thực vật phù du (UNEP/EAS, 1996). Với hàm lượng dầu ô nhiễm cao làm giảm tốc độ sinh trưởng, khả năng sinh sản và tập đoàn hóa của san hô cũng như tác động tiêu cực đến hoạt động bắt mồi và bài tiết (Loya and Rinkewich, 1987, Grigg and Dollar, 1990).

Nghiên cứu ảnh hưởng nhiễm bẩn dầu trên sinh vật trong điều kiện phòng thí nghiệm là nhằm xác định tác động có hại của dầu thải lên sinh vật thí nghiệm, với các phương pháp thí nghiệm và xử lý phù hợp (Malallah *et al.*, 1996; Barron *et al.*, 1999; Long *et al.*, 2003; Adebayo, 2005). Kết quả phòng thí nghiệm sẽ làm cơ sở khoa học ứng dụng trong giám sát sinh học (biomonitoring). Đã có một số nghiên cứu đã dùng các chỉ số như chlorophyll huỳnh quang như là chỉ thị ảnh hưởng của các hydrocarbon thơm (Christopher *et al.*, 2001), các kim loại nặng (Macfarlane và Burchett, 2001) các thuốc trừ sâu diệt cỏ lên sự phát triển của thực vật (Berard *et al.*, 2004) hoặc sử dụng sắc tố thực vật trong việc định lượng sinh khối và tốc độ phát triển của các vi tảo (James *et al.*, 2001).

Qua bài báo này chúng tôi với mục đích nghiên cứu biến động của một số chỉ số sinh thái như hàm lượng chlorophyll *a*, mật độ tế bào, năng suất sơ cấp khi loài tảo nghiên cứu được tiếp xúc với môi trường dầu hòa tan trong nước biển. Với kỹ thuật kiểm định độc tố được sử dụng như là một phương pháp đánh giá nguy cơ sinh thái của dầu đối với tảo.

II. TÀI LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Mẫu sinh vật - bố trí và thực hiện thí nghiệm

Tảo dùng trong thí nghiệm

Giống tảo *Chaetoceros muelleri* và *Skeletonema costatum* được nuôi giữ giống tại phòng tảo thuộc Trung tâm nghiên cứu nuôi trồng thủy sản 3 và phòng Sinh vật phù du - Viện Hải dương học. Sau đó tảo được nuôi sinh khối để đạt mật độ ban đầu là từ 10^5 - 10^6 tb/ml (Để khi sử dụng trong các thí nghiệm mật độ tảo ban đầu là 10^4 tb/ml). Tảo dùng để kiểm định được cấy chuyền liên tục để giữ giống được mới và được kiểm tra trước khi sử dụng vào thí nghiệm. Đối với tảo silic nói chung, *S. costatum* và *C. muelleri* nói riêng ba loại muối dinh dưỡng đóng vai trò quan trọng để sự duy trì sinh trưởng, phát triển của tảo là: Nitơ, phốt pho, silic. Thành phần môi trường bao gồm:

- Dung dịch 1: NaNO_3 , $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$
- Dung dịch 2: ZnCl_2 , $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, $\text{CaSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$.

Dung dịch gốc của dầu hòa tan trong nước biển được tạo ra bằng việc sử dụng dầu diesel nhiên liệu được khuấy mạnh trong nước biển đã được lọc qua màng lọc $0.7\mu\text{m}$ với tốc độ khoảng 1000 vòng/phút, trong thời gian là 8 giờ, sau đó được tách ra làm 2 pha hòa tan và không hòa tan - lấy pha hòa tan (còn gọi là *Water Soluble Fraction-WSF*) để dùng trong thí nghiệm.

Thí nghiệm được thực hiện trong phòng thí nghiệm kiểm định độc tố tại Phòng Sinh thái và Môi trường Biển, Viện Hải dương học. Thí nghiệm được thực hiện trong điều kiện nhiệt độ phòng ổn định (nhiệt độ = $26 \pm 1^\circ\text{C}$), ánh sáng được cung cấp bằng đèn huỳnh quang với cường độ sáng là 3800 lux và được chiếu sáng liên tục 24/24 giờ. Các lô thí nghiệm được thực hiện với 3 mẫu song song (replicate) tại mỗi nồng độ khác nhau, thời lượng tiếp xúc của sinh vật đối với dầu là 96 giờ và tất cả đều được cung cấp một lượng dinh dưỡng ban đầu như nhau. Ngoài ra còn thực hiện mẫu đối chứng với nước biển sạch và thực hiện theo qui trình thí nghiệm của ASTM, 1994.

Các yếu tố nhiệt độ, pH, độ mặn và oxy hòa tan được đo trực tiếp bằng máy đo YSI tại các nồng độ kiểm định. Thời gian thí nghiệm trên 2 loài tảo là 96 giờ, mẫu ở trong các bình được lấy ra để xác định các thông số:

- Hàm lượng hydrocarbon dầu thực tế được xác định trước và sau các đợt thí nghiệm, mẫu được chiết trong dung môi n-hexan, sau đó được đo trên máy sắc ký khí HP-GC 6890, với đầu dò FID 300°C , cột sắc ký mao quản HP-1, chạy trên chương trình nhiệt độ (US EPA, 1996).

- Chlorophyll *a*, *b*, *c*: Mẫu được lắc đều và lọc qua màng lọc Wathman GF/F, sau đó được chiết trong dung môi Aceton 90%. và đo trên máy quang phổ UV/Vis và tính theo công thức của Parson *et al* (1984).

- Năng suất sơ cấp: sử dụng phương pháp C^{14} , được đo trên máy nhấp nháy lỏng (Liquid Scintillation Counter) (Grasshof, 1994).

- Mật độ tảo: Sau 96 giờ thí nghiệm và mẫu dùng để tính mật độ tảo được thu với 3 lần lặp / bình, mẫu được cố định bằng Lugol 5%, sau đó được đếm trên kính hiển vi ở vật kính 40x, với buồng đếm hồng cầu.

2. Xử lý số liệu

Ảnh hưởng của dầu diesel lên tốc độ sinh trưởng của tảo được tính theo công thức:

$$\% \text{ ức chế (inhibition)} = (U_{ck} - U_{tox}) * 100 / U_{ck}$$

Trong đó: U_{tox} là tốc độ sinh trưởng ở từng nồng độ có hiện diện dầu diesel trong thí nghiệm. U_{ck} là tốc độ sinh trưởng của tảo ở bình đối chứng.

Ảnh hưởng ức chế (%) của dầu lên lượng chlorophyll *a* được xác định theo công thức (Fargasova, 1997):

$$\% I^{ch} = (1 - c/Kchl) * 100$$

Trong đó: *c* là lượng chlorophyll *a* tại nồng độ dầu tiếp xúc; *Kchl* là lượng chlorophyll *a* ở lô đối chứng

Số liệu được thống kê và phân tích trên phần mềm Excel và ToxCalc (Tidepool Scientific Software, McKinlayville, CA). các chỉ số kiểm định NOEC- (No Observed Effects Concentration) và LOEC- (Lowest Observed Effects Concentration), được phân tích cùng với IC25, IC50 (Inhibitory Concentration ở 25% và 50%), để đánh giá độc tính của dầu ảnh hưởng lên sự phát triển của 2 loài tảo.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Từ kết quả chi tiết về mật độ tế bào (bảng 1a, b, c và 2a, b) chúng tôi nhận thấy rằng ảnh hưởng của dầu lên sự phát triển của tảo đó là sự ức chế tốc độ sinh trưởng của tảo, với thời lượng tiếp xúc ở 96 giờ thì sự ức chế > 10% (so với đối chứng) lên sự phát triển của tảo *C. muelleri* xảy ra tại nồng độ từ 125 μ gWSF/l trở lên (bảng 3). Trong khi đó khi sử dụng phần mềm tính toán Toxcalc, kết quả chỉ ra rằng nồng độ dầu không gây ảnh hưởng (NOEC) là 31.25 μ gWSF/l và nồng độ dầu thấp nhất gây hiệu ứng (LOEC) là 62.5 μ gWSF/l trong toàn bộ các đợt thí nghiệm trên tảo *C. muelleri*; Nồng độ dầu gây ức

chế lên tốc độ phát triển của tảo ở 25% (IC 25) trung bình là 224.8 μ gWSF/l \pm 42.4 (dao động từ 176 - 269 μ g/l) và nồng độ gây ức chế ở 50% (IC 50) đều > 500 μ gWSF/l (bảng 4).

Bảng 1a. Thí nghiệm đợt 1: từ ngày 5.8.2004 - 9.8.2004, Trên loài tảo: *Chaetoceros mulleri*

Ký hiệu	Số lần lặp N=3	Mật độ tảo (tbx10 ⁴ /ml)	Chl-a mg.m ⁻³	N/Suất mgC/m ³ /h
Đối chứng	Trung bình	117.3	288.1	395.4
	Stdev	17.9	33.0	
C _{31.25μg/L}	Trung bình	89.7	233.8	377.2
	Stdev	12.7	129.5	
C _{62.5μg/L}	Trung bình	83.0	203.1	281.2
	Stdev	4.6	11.7	
C _{125μg/L}	Trung bình	57.0	184.5	273.0
	Stdev	4.0	59.9	
C _{250μg/L}	Trung bình	35.7	227.5	344.1
	Stdev	4.2	26.5	
C _{500μg/L}	Trung bình	15.0	136.0	91.0
	Stdev	2.0	87.4	

*Stdev: Độ lệch chuẩn

Bảng 1b. Thí nghiệm đợt 2: từ ngày 19.8.2004 - 23.08.2004, Trên loài tảo: *Chaetoceros mulleri*

Ký hiệu	Số lần lặp N=3	Mật độ tảo (tbx10 ⁴ /ml)	Chl-a mg.m ⁻³	N/Suất mgC/m ³ /h
Đối chứng	Trung bình	129.3	252.0	500.59
	Stdev	7.1	18.1	
C _{31.25μg/L}	Trung bình	108.3	222.5	434.39
	Stdev	5.1	18.7	
C _{62.5μg/L}	Trung bình	96.7	116.3	146.58
	Stdev	4.0	6.0	
C _{125μg/L}	Trung bình	65.0	130.8	136.59
	Stdev	2.6	61.0	
C _{250μg/L}	Trung bình	41.0	83.0	152.45
	Stdev	4.0	9.4	
C _{500μg/L}	Trung bình	18.0	65.2	89.83
	Stdev	3.0	9.4	

*Stdev: Độ lệch chuẩn

Bảng 1c. Thí nghiệm đợt 3: từ ngày 20/09 đến 24/09/2004, Trên loài tảo: *Chaetoceros mulleri*

Ký hiệu	Số lần lặp N=3	Mật độ tảo (tbx10 ⁴ /ml)	Chl-a mg.m ⁻³	N/Suất mgC/m ³ /h
Đối chứng	Trung bình	106.3	275.0	279.29
	Stdev	18.9	89.4	
C _{31.25} µg/L	Trung bình	101.3	228.3	334.39
	Stdev	10.2	8.6	
C _{62.5} µg/L	Trung bình	75.3	135.5	180.69
	Stdev	7.5	2.9	
C ₁₂₅ µg/L	Trung bình	58.0	138.6	187.99
	Stdev	4.6	22.8	
C ₂₅₀ µg/L	Trung bình	24.0	84.9	110.59
	Stdev	4.0	13.7	
C ₅₀₀ µg/L	Trung bình	11.3	38.9	34.67
	Stdev	3.2	14.8	

*Stdev: Độ lệch chuẩn

Bảng 1d. Thí nghiệm đợt 4: từ ngày 04/10 đến 08/10/2004, Trên loài tảo: *Chaetoceros mulleri*

Ký hiệu	Số lần lặp N=3	Mật độ tảo (tbx10 ⁴ /ml)	Chl-a mg.m ⁻³	N/Suất mgC/m ³ /h
Đối chứng	Trung bình	144.3	292.3	192.23
	Stdev	7.5	53.2	
C _{31.25} µg/L	Trung bình	109.0	186.1	207.78
	Stdev	11.4	53.0	
C _{62.5} µg/L	Trung bình	87.3	161.4	188.23
	Stdev	3.5	62.2	
C ₁₂₅ µg/L	Trung bình	54.0	79.5	105.61
	Stdev	6.2	5.3	
C ₂₅₀ µg/L	Trung bình	32.3	68.3	107.17
	Stdev	4.5	14.5	
C ₅₀₀ µg/L	Trung bình	14.0	58.7	52.41
	Stdev	6.0	8.6	

*Stdev: Độ lệch chuẩn

Các giá trị tính toán về % ức chế sự phát triển của tảo *S. costatum*, cho thấy % ức chế >10% chỉ xảy ra ở nồng độ dầu là 500µgWSF/l. Ở nồng độ nhỏ hơn hầu 125 µgWSF/l thì sự ức chế phát triển là không đáng kể, điều này có khác so với trên tảo *C.muelleri*. Chi số tính toán về độc tính của dầu với phần mềm Toxcalc cho thấy: chỉ số NOEC là 31.25µgWSF/l và LOEC là

62.5 μ gWSF/l tương tự như ảnh hưởng của dầu đối với tảo *C. muelleri*. Tuy nhiên, chỉ số IC25 lại cao hơn rất nhiều, trung bình là 454 μ gWSF/l \pm 18 (khoảng từ 437 - 473 μ gWSF/l). Điều này có thể thấy ngưỡng chịu đựng “stress” của tảo *S. costatum* gây ra bởi dầu cao hơn tảo *C. muelleri*

Bảng 2a. Thí nghiệm đợt 1: từ ngày 24/10 đến 29/10/2004, Trên loài tảo: *Skeletonema mulleri*

Ký hiệu	Số lần lặp n	Mật độ tảo (10 ⁴ tb/ml)	Chl-a mg.m ⁻³	N/Suất mgC/m ³ /h
Đối chứng	Trung bình	135.3	82.3	364.7
	Stdev	7.0	5.4	
C _{31.25μg/L}	Trung bình	113.0	95.5	220.0
	Stdev	4.4	21.4	
C _{62.5μg/L}	Trung bình	114.3	100.6	241.5
	Stdev	7.8	25.0	
C _{125μg/L}	Trung bình	99.3	65.2	262.2
	Stdev	5.1	8.1	
C _{250μg/L}	Trung bình	81.3	78.3	213.8
	Stdev	8.0	10.9	
C _{500μg/L}	Trung bình	37	59.4	
	Stdev	36.7	59.2	186.9
Đối chứng	Stdev	4.5	0.9	

Bảng 2b. Thí nghiệm đợt 2: từ ngày 29/10 đến 03/11/2004

Ký hiệu	Số lần lặp n	Mật độ tảo (10 ⁴ tb/ml)	Chl-a mg.m ⁻³	N/Suất mgC/m ³ /h
Đối chứng	Trung bình	116.7	50.8	192.7
	Stdev	5.0	7.5	
C _{31.25μg/L}	Trung bình	108.7	79.1	172.9
	Stdev	4.0	22.1	
C _{62.5μg/L}	Trung bình	97.0	63.0	144.8
	Stdev	1.4	14.2	
C _{125μg/L}	Trung bình	99.0	122.5	161.3
	Stdev	4.2	4.5	
C _{250μg/L}	Trung bình	85.7	78.4	196.0
	Stdev	4.7	11.4	
C _{500μg/L}	Trung bình	26.7	13.3	20.7
	Stdev	4.0	9.3	

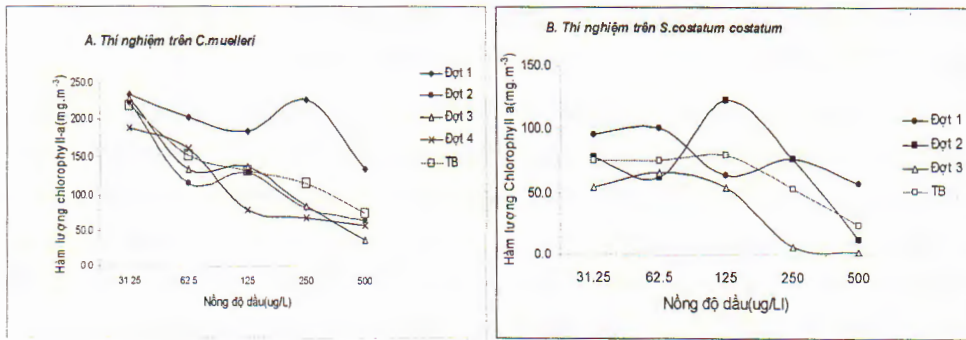
Bảng 3. Kết quả tính về % ức chế tốc độ phát triển trong thí nghiệm trên tảo với thời lượng tiếp xúc là 96h với các nồng độ dầu khác nhau

C. muelleri	31.25mg WSF/l	62.5mg WSF/l	125mg WSF/l	250mg WSF/l	500mg WSF/l
Đợt 1	5.34	6.97	14.88	24.73	42.99
Đợt 2	3.30	5.64	13.84	23.35	40.34
Đợt 3	0.79	7.16	12.77	31.73	47.91
Đợt 4	5.03	9.53	19.25	29.65	46.58
<i>S. costatum</i>					
Đợt 1	6.1	5.9	8.7	12.6	28.4
Đợt 2	1.3	3.7	3.3	6.3	30.8
Đợt 3	3.6	5.0	4.4	9.3	27.2

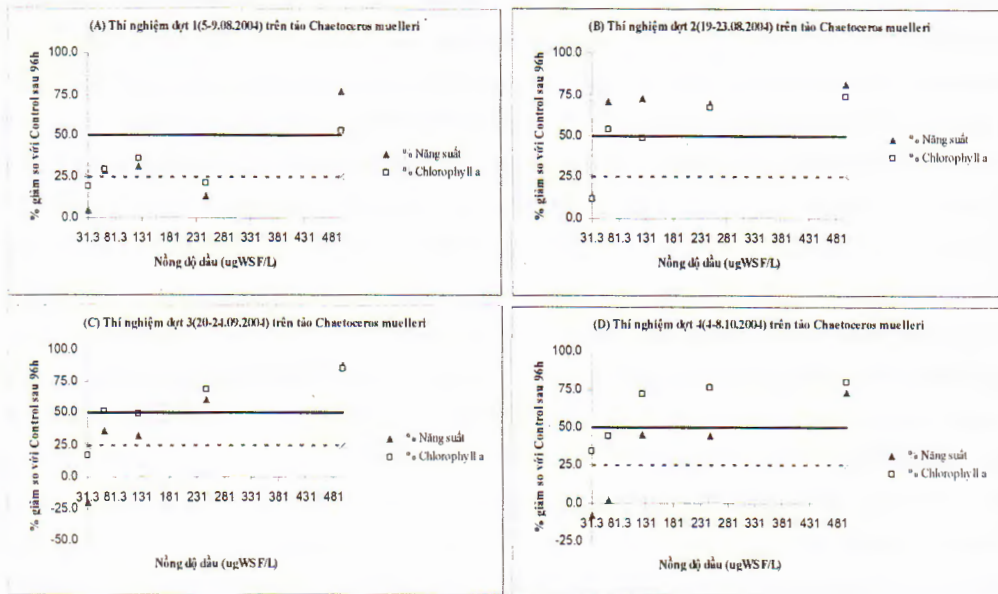
Bảng 4. Các chỉ số kiểm định về độc tính của dầu lên tảo sử dụng phần mềm tính toán ToxCalc

Đợt thí nghiệm	Replicates	Thời lượng tiếp xúc(giờ)	Chỉ số kiểm định ($\mu\text{g WSF/l}$)			
			NOEC	LOEC	IC₂₅	IC₅₀
<i>C. muelleri</i>						
Đợt 1	3	96h	< 31.25	31.25	250	>500
Đợt 2	3	96h	31.25	62.5	269	>500
Đợt 3	3	96h	31.25	62.5	204	>500
Đợt 4	3	96h	31.25	62.5	176	>500
<i>S. costatum</i>						
Đợt 1	3	96h	<31.25	31.25	473	>500
Đợt 2	3	96h	31.25	62.5	437	>500
Đợt 3	3	96h	31.25	62.5	452	>500

Những ảnh hưởng của dầu lên sự phát triển của tảo có thể xem xét qua các kết quả chỉ số sinh thái như: hàm lượng sắc tố chlorophyll, năng suất, mật độ tế bào tảo. Qua kết quả của các đợt thí nghiệm đã chỉ ra rằng các chỉ số có sự suy giảm tương ứng với hàm lượng dầu tăng dần, lượng sắc tố chlorophyll *a* tại các thí nghiệm có thời lượng tiếp xúc 96giờ với các nồng độ dầu khác nhau giảm một cách rõ rệt (hình 1). Xu hướng trên cũng thấy rõ ở các giá trị về năng suất, đồng thời từ các số liệu tính phần trăm suy giảm cho thấy ở mức độ 25% so với đối chứng xảy ra bắt đầu tăng từ nồng độ 62.5 $\mu\text{g/L}$.(hình 2)



Hình 1: Sự suy giảm của chlorophyll *a* trong các thí nghiệm trên tảo: (A) *C. muelleri* và (B) *S. costatum* đối với độc tính của dầu diesel



Hình 2: Sự suy giảm của chlorophyll *a* và năng suất tại các nồng độ so với mẫu đối chứng tại các đợt thí nghiệm trên tảo *C. muelleri*

Từ kết quả nghiên cứu cho thấy mức độ độc tính của dầu ảnh hưởng lên tảo được thể hiện qua sự thảng giáng của hàm lượng sắc tố chlorophyll *a*, năng suất quang hợp. Nhưng mức độ ảnh hưởng của dầu có sự khác nhau đối với từng loài tảo. Sự phát triển của tảo ảnh hưởng rất mạnh với dầu hòa tan, trước tiên là số lượng tế bào giảm khi có tiếp xúc với dầu, tiếp đến là lượng sắc tố chlorophyll (đặc biệt là chlorophyll-*a*). Tại hầu hết các thí nghiệm đã chỉ ra rằng hàm lượng chlorophyll tăng hay giảm trong khi tảo nuôi có tiếp xúc với dầu, nó có thể cho thấy những ảnh hưởng của dầu với sự ức chế ở từng mức độ nào đó. Điều đó là do tác động của dầu lên quá trình quang hợp, dẫn tới sự phá hủy sắc tố trong tế

bào tảo hoặc cũng có thể là một nhân tố kích thích ở tại nồng độ thấp với một số loài tảo. Nhưng với nồng độ dầu cao hơn chúng gây sự ức chế mạnh.

Một số nghiên cứu cũng đã chỉ ra với thời lượng tiếp xúc 12 ngày, ở nồng độ dầu 0.01mg/l thì sự phát triển của các tế bào tảo *Euglena gracilis* không thấy ảnh hưởng, trong khi đó ở nồng độ dầu 0.001mg/l thì tảo *Scenedesmus quadricauda* bị ức chế hoàn toàn (US National Research Council, 1985). Trong khi đó với kết quả từ hàm lượng chlorophyll a và năng suất bằng C^{14} của nghiên cứu cho thấy rằng ở nồng độ dầu trong khoảng 125 μ gWSF/l ($I^{ch} \geq 50\%$) đã có đủ khả năng gây ức chế mạnh đến tảo *C.muelleri*, tuy nhiên với tảo *S.costatum* phải là >250 μ gWSF/l. So sánh theo một số nghiên cứu trong UNEP/WHO/ILO, 1996 cho rằng với hàm lượng dầu từ 130 μ g/l chúng đã gây ức chế phát triển của một số loài tảo và mức độ ức chế sẽ còn phụ thuộc vào từng loài với những độ nhạy khác nhau với dầu. Bởi vậy, những kết quả của đề tài tương đối phù hợp. Tuy nhiên, giá trị này sẽ dao động tùy thuộc vào từng đối tượng loài tảo sử dụng làm kiểm định, như với tảo *S. costatum* và *C. muelleri* là tảo silic phân bố khá phổ biến ở trong vùng biển ven bờ. Mặc dù cả hai loài tảo đều có cùng nồng độ không có hiệu ứng ảnh hưởng của dầu là 31.25 μ gWSF/l (chỉ số NOEC) và nồng độ thấp nhất gây ảnh hưởng là 62.5 μ gWSF/l (chỉ số LOEC). Tuy nhiên ở trên tảo *C. Muelleri* là sự ức chế tốc độ phát triển còn *S. costatum* là khả năng kích thích (điều này có thể xảy ra). Điều này có thể lý giải bởi *S. costatum* là loài thường phân bố ở vùng cửa sông, chúng có khả năng chịu sự thăng giáng lớn về độ mặn, đồng thời vùng cửa sông cũng là nơi thường có xảy ra những hiện tượng nhiễm bẩn dầu nhẹ, do đó loài tảo này chúng có khả năng chịu được ở với nồng độ dầu thấp (chịu đựng "stress" bởi dầu), và sẽ không gây độc cho chúng. Chỉ ở mức ô nhiễm cao hơn (> 250 μ gWSF/l) chúng mới bị ảnh hưởng ức chế, và ở mức hàm lượng dầu thấp hơn chúng có thể trở thành tác nhân kích thích sinh trưởng (Dennington *et al.*, 1975; Chan và Chui, 1985). Tuy nhiên, với nồng độ dầu lớn hơn chúng đều bị ức chế như một số loài tảo khác và không nằm ra ngoài ngưỡng ảnh hưởng sinh thái của dầu là 0.5mg/l.

Việc thí nghiệm kiểm định độc tố của dầu trên 2 loài tảo quan trọng trong việc xem xét sự khác nhau, với phản ứng khác nhau của tảo khi tiếp xúc với cùng một chất có độc tính như dầu diesel. Mức độ thay đổi giữa các loài khác nhau đã được chứng minh trên một số loài tảo, và một số hợp chất (Klaine và Lewis, 1999). Tuy nhiên, việc xây dựng và sử dụng các chỉ số khác nhau dùng để đánh giá mức độ độc tính ở các nghiên cứu cho thấy chúng phụ thuộc rất nhiều vào từng loại chất gây độc và sinh vật kiểm định. Chúng ta cũng nhận thấy rằng tất cả các chương trình giám sát có thể cung cấp các chỉ số nhạy cảm đối với nồng độ các chất được lựa chọn nghiên cứu. Những ô nhiễm các chất hóa học đều có những ảnh hưởng độc hại, và mức độ độc hại của chúng thường được đánh giá dựa trên các mối liên hệ tới sinh học (Long *et al.*, 2003; Macfarlane và Burchett, 2001). Việc ước

tính độ tin cậy của sinh vật thủy sinh như là một chỉ thị của các điều kiện ô nhiễm và chất lượng nước, cần phải xem xét với các sinh vật khác nhau, và không được tách rời các mối liên hệ sinh học.

Các thí nghiệm trong nghiên cứu này ngoài việc sử dụng chỉ số mật độ tế bào tảo trong kiểm định độc tố như là thông số truyền thống, chúng tôi đã sử dụng thêm các chỉ số chlorophyll và năng suất dùng để xem xét những ảnh hưởng của dầu lên tảo đơn loài. Bởi ảnh hưởng của dầu lên sự phân chia tế bào của chúng còn trực tiếp ảnh hưởng lên cả cấu trúc tế bào: như ức chế các nhân chloroplast trong quá trình quang hóa, hoặc phá hủy các sắc tố, chính điều này ảnh hưởng gián tiếp tới lượng sắc tố chlorophyll a được hình thành và khả năng quang hợp. Sự giảm chlorophyll bao hàm cả sự giảm các hoạt động quang hợp, và làm giảm quá trình cố định carbon “carbon fixation”

Với kết quả thu được từ sự suy giảm hàm lượng sắc tố, số lượng mật độ tế bào khi tảo tiếp xúc với nhiễm bẩn dầu ở các nồng độ khác nhau. Kết hợp với các chỉ số đánh giá về độc tính của dầu lên khả năng phát triển của tảo có thể xem đánh giá ảnh hưởng của dầu lên tảo trong qui mô phòng thí nghiệm. Các chỉ số này vẫn còn một số hạn chế bởi nó chỉ dùng với từng tảo đơn loài, vì vậy nó có những hạn chế nhất định trong việc áp dụng ngoài hiện trường.

Mặc dù còn những hạn chế, nhưng nghiên cứu trên có thể đáp ứng được những tiêu chí khi ứng dụng để đánh giá ảnh hưởng của dầu trên tảo cho kết quả nhanh chóng, không tốn kém, và có độ tin cậy. Vì vậy, kết quả nghiên cứu dẫn ra rằng chlorophyll-a là một trong những chỉ số sinh thái quan trọng cần được làm chỉ thị sinh học để đánh giá nguy cơ sinh thái của ô nhiễm dầu khi kết hợp với ứng dụng kiểm định độc tố lên trên tảo. Tuy nhiên, để có được những đánh giá đầy đủ hơn đòi hỏi các thí nghiệm phải được thử nghiệm trên nhiều loài. Từ đó đủ cơ sở dùng để đánh giá những vùng nước có dấu hiệu nhiễm bẩn dầu, nhằm cảnh báo sớm nguy cơ sinh thái ở các vùng nước ven biển bị đe dọa ô nhiễm dầu. Bởi tảo chính là một chuỗi mắt xích quan trọng trong hệ sinh thái thủy vực, một khi có những tác động bất lợi tới môi trường chúng là loài sẽ có những dấu hiệu ảnh hưởng sớm nhất.

Lời cảm ơn: Chúng tôi xin chân thành cảm ơn tới phòng Sinh vật phù du - Viện Hải dương học đã cung cấp tảo giống trong nghiên cứu, cùng các đồng nghiệp trong phòng Sinh thái và Môi trường Biển - Viện Hải dương học đã giúp đỡ trong việc tổ chức các thí nghiệm trong nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Adebay Akeem Otitoloju, (2005).** Crude oil plus dispersant: always a boon or bane?. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 60: 198-202
2. **ASTM, (1994).** Standard guide for conducting acute toxicity tests with fishes, macro- invertebrates, and amphibians. Method E729-88a. In : *Annual Book of ASTM Standard*. American Society for Testing and Materials, Philadelphia PA
3. **Barron, M.G, T. Podrabsky, S. Ogle, R.W. Ricker. (1999).** Are aromatic hydrocarbon the primary determinants of petroleum toxicity to aquatic organism? *Aquatic Toxicology*, 46: 253-268.
4. **Berard, A., F. Rimet, Y. Capowiez, C. Leboulanger, (2004).** Procedures for determining the pesticide sensitivity of indigenous soil algae: possible bioindicator of soil contamination. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, Vol 46, Issue 1: 24-31.
5. **Chan K-Y & Chiu SY (1985)** The effects of diesel oil and oil dispersants on growth, photosynthesis, and respiration of *Chlorella salina*. *Arch Environ Contam Toxicol*, 14: 325-331
6. **Christopher, A. M., K.R. Solomon, B.M. Greenberg, (2001).** Chlorophyll fluorescence as bioindicator of effects on growth in aquatic macrophytes from mixture of polycyclic aromatic hydrocarbon. *Environmental Toxicology and Chemistry*, Vol 20, No 4: 890-898.
7. **Dennington VN, George JJ, & Wyborn CHE., (1975).** The effects of oils on growth of freshwater phytoplankton. *Environ Pollut*, 8: 233-237.
8. **FAO, (1982).** The review of the health of the oceans. *FAO/IMO/UNESCO/WMO/WHO/IAEA/UNEP Joint Group of Experts on Scientific Aspects of Marine Pollution*. Rep. Stud. GESAMP, 15:108 page
9. **GESAMP, (1993).** Impact of Oil and related chemical and wastes on the marine environment. *GESAMP Reports and Studies No. 50*. IMO, London, UK. 180page
10. **James, L. P., T. L. Richardson, D. F. Millie, H. W. Paerl, (2001).** Application of photopigments for quantifying microalgal community composition and in situ growth rates. *Organic Geochemistry*, 32: 585-595
11. **Klaine, S. J, M. A. Lewis. (1999).** Algal and Plant Toxicity Testing.p:163-184. In: *Quantifying and Measuring Ecotoxicology Effects*

12. **Long, S. M., K. J. Ryder, and D. A. Holdway, (2003).** The use of respiratory enzymes as biomarker of petroleum hydrocarbon exposure in *Mytilus edulis planulatus*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 55: 261-270
13. **Loya, Y and Rinkevich, B. (1987).** Effects of petroleum hydrocarbon on Coral. In: Salvat, B(Ed) *Human impacts on Coral Reefs: Facts and Recommendation*. Attene Museum E.P.H.E, French Polynesia, pp: 91-102
14. **Macfarlane, G. R and M. D. Burchett, (2001).** Photosynthetic pigments and peroxidase activity as indicator of heavy metal stress in the grey mangrove, *Avicennia marina* (Forsk) Vierh. *Marine Pollution Bulletin*, vol 42, No. 3: 233-240
15. **McPherson, C., P. Chapman, G. Vigers, and Kah-Sin Ong, (1999).** ASEAN Marine Water Quality Criteria: Contextual framework, Principles, Methodology and Criteria for Oil and Grease. Published by EVS Environment Consultants Ltd and Dept. of Fisheries Malaysia. 27page
16. **Nguyễn Minh Sơn, Phạm Văn Ninh, Phan Ngọc Vinh, Nguyễn Thị Việt Liên, Lê Văn Thành, 1999.** Đánh giá ô nhiễm dầu chưa rõ nguồn gốc ở vùng biển ven bờ Việt Nam: 1255 – 1262. Trong: *Tuyển tập báo khoa học- Hội nghị KHCN Biển toàn quốc lần 4*, Hà Nội, 1998
17. **Parson, T., Y. Maita and C. Lalli. 1984.** A Manual of Chemical and Biological Methods for Analysis Seawater. Pergamon Press. 173 pp
18. **Patin, S. A. (1982).** Pollution and Biological Resources of the Oceans. Butterworth Scientific, London. 287page
19. **UNEP/WHO/ILO, (1996).** International Programme on Chemical Safety. Environmental Health Criterial 171: Diesel Fuel and Exhaust Emission
20. **US National Research Council., (1985).** Oil in the sea. Inputs, fates, and effects. Washington DC, National Academy Press, 587 pp
21. **US, EPA, 1996.** The Laboratory Manual for Physical and Chemical Method SW 846. US EPA Office of Solid Waste and Emergency Response, Washington DC, USA.

ASSESSMENT ON EFFECTS OF DIESEL OIL ON TWO ALGAL SPECIES CHAETOCEROS MUELLERI AND SKELETONEMA COSTATUM

HOANG TRUNG DU

Summary: *The effects of diesel oil on the algal species are carried on C. muelleri and S. costatum by using toxicology test. The results showed the different effects of diesel concentrations on parameters (such as: density cells, chlorophyll a and primary productivity) of two algal species which are dominant in coastal areas. Using the indices of toxicity testing to assess the toxic of diesel oil on two algal species which can be tolerated "tress" different levels of oil contamination. The toxicity indices which is poisoned on inhibition of algal growth rates when were exposed with oil pollution such as: IC 25 is $224.8\mu\text{gWSF/L}\pm 42.4$ for C. muelleri species and $454\mu\text{WSF/L}\pm 18$ for S. costatum species, respectively. Meanwhile, the effects of toxicity diesel oil on 50% inhibition of algal growth rates (IC 50) obtained higher than $500\mu\text{gWSF/L}$ for both algal species.*

Affects of diesel oil were also showed through some parameters such as chlorophyll a and primary productivity concentrations which were rapidly reduced while oil contamination is increased, respectively. The 50% reduced rates of parameters occurred at concentrations $> 125\mu\text{gWSF/L}$ for C. muelleri and $> 250\mu\text{gWSF/L}$ for S. costatum algal species that it's was compared with controlled experiments. At the same time, based on the advantage of chlorophyll a parameter, it was examined to use in toxicity test for chemical poisons on algal testing and we recognized that it can be applied for assessing the waters with sign of oil pollutant. Moreover, it's very useful in early warning ecological risk in the coastal waters where frequently occur oil pollution.

Key word: Toxicity test, Inhibition, Chlorophyll a, diesel oil

Ngày nhận bài: 26 - 10 - 2008

Địa chỉ: Viện Hải Dương học

Người nhận xét: PGS.TSKH. Nguyễn Tác An