

## MỘT SỐ DỮ LIỆU VỀ ĐẶC TÍNH SINH THÁI CỦA TẢO ĐỘC TRỒNG TRONG ĐIỀU KIỆN PHÒNG THÍ NGHIỆM

CHU VĂN THUỘC, NGUYỄN THỊ MINH HUYỀN

*Phân viện Hải dương học tại Hải Phòng*

Sự phát triển của vi tảo độc phụ thuộc chặt chẽ vào điều kiện môi trường, trong đó các yếu tố nhiệt độ, nồng độ muối, cường độ ánh sáng, chất dinh dưỡng đóng vai trò quan trọng. Sự thay đổi của yếu tố môi trường có thể dẫn đến thay đổi khả năng sản sinh độc tố của chúng. Hàm lượng độc tố của loài *Gonyaulax excavata* tăng đồng thời với sự tăng nồng độ muối đến 37‰ [1]. Cường độ ánh sáng và nhiệt độ giảm sẽ làm tăng hàm lượng độc tố của loài *Protogonyaulax tamarensis* [5]. Hàm lượng nitơ và photpho trong môi trường cũng có ảnh hưởng tới mức độ sản sinh độc tố của loài *P. tamarensis* [2]. Việc nghiên cứu động thái quần thể của tảo độc với các yếu tố môi trường rất có ý nghĩa trong thực tiễn. Qua đó, người ta có thể phán đoán được khả năng xuất hiện cũng như sự bùng nổ về số lượng của tảo độc và đề ra các biện pháp phòng ngừa, giảm thiểu những ảnh hưởng có hại của chúng tới tài nguyên sinh vật cũng như sức khỏe của con người. Để góp phần tìm hiểu một số đặc tính sinh thái của tảo độc, trong các năm 1999, 2000, chúng tôi đã tiến hành thực nghiệm trồng tảo độc trong phòng thí nghiệm. Bài báo này trình bày một số kết quả bước đầu.

### I. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

#### 1. Đối tượng

Đối tượng thí nghiệm là các loài tảo độc: *Alexandrium tamarense* (tảo phù du), *Prorocentrum mexicanum*, *P. lima*, *P. emarginatum*, *Coolia monotis*, *Amphidinium carterae* (tảo đáy) thuộc ngành tảo giáp (Dinophyta) thu được ở vùng ven biển miền Bắc Việt Nam.

#### 2. Phương pháp

##### a) Các điều kiện thí nghiệm trồng

*Buồng trồng* (tự tạo) có nhiều tầng, được chiếu sáng bởi hai dàn đèn (7 bóng đèn nê-ông 20W/dàn). Cường độ ánh sáng (CDAS) ở các tầng trong buồng khác nhau và có thể điều chỉnh nhờ việc bật, tắt các bóng đèn. Độ dài của pha sáng và pha tối là 12h/12h, được giữ ổn định bằng một đồng hồ tự ngắt. Đặt buồng trồng trong phòng điều hòa nhiệt độ.

*Tủ trồng* (incubator) nhãn hiệu SANYO, thể tích 350 l, với hệ thống chiếu sáng gồm 15 bóng đèn huỳnh quang công suất 40W/bóng, CDAS tối đa khoảng 20000 lux, nhiệt độ buồng trồng có thể thay đổi trong khoảng 5°-80°C.

*Dụng cụ trồng tảo*: gồm các "vỉ trồng" bằng nhựa, mỗi vỉ có 24 "giếng" đường kính 16 mm, thể tích khoảng 5 ml (đã khử trùng sẵn); các lọ nhựa trong suốt, thể tích 50 ml (đã khử trùng sẵn); các ống nghiệm và bình tam giác bằng thủy tinh được rửa sạch và khử trùng ở nhiệt độ 150°C trong 1 giờ.

*Môi trường trồng tảo*: sử dụng môi trường dinh dưỡng (MT) T [4]. Cách pha chế môi trường T như sau:

- Pha dung dịch gốc của các chất dinh dưỡng: 10,0 g NaNO<sub>3</sub>, 2,0 g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>.12H<sub>2</sub>O, 0,3 g NaFeEDTA đều được pha trong 100 ml nước cất.

- Pha dung dịch gốc vitamin: 200 mg thiamin-HCl (vitamin B<sub>1</sub>), 1 mg biotin (vitamin H), 1 mg cyanocobalamin (vitamin B<sub>12</sub>). Hòa tan các vitamin trên trong nước và bổ sung nước cất tới thể tích là 1000 ml. Dụng dịch gốc vitamin trong lọ nhựa và bảo quản trong điều kiện đông lạnh.

- Pha dịch chiết đất: lấy đầy ống đong hình trụ có chia độ tới 1 lít đất (không sử dụng đất vườn đã bón phân). Trộn, khuấy đều đất trong bình nước đầy đến thể tích 2 l. Để lắng qua đêm,

gạn lấy phân trong. Sau đó ly tâm phân trong để loại bỏ các chất vẩn. Tiếp theo lọc dịch chiết này qua giấy lọc. Thanh trùng dịch chiết bằng nồi hấp. Bảo quản dịch chiết trong điều kiện mát.

- Pha nồng độ cuối cùng của môi trường T: 1 ml dung dịch gốc  $\text{NaNO}_3$ , 1 ml dung dịch gốc  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ , 3 ml dịch chiết đất, 0,25 ml dung dịch gốc NaFeEDTA, 2 ml dung dịch gốc vitamin, 1000 ml nước biển lọc.

#### b) Các bước tiến hành trồng thí nghiệm tảo

**Phân lập tảo phù du:** Mẫu tảo sống thu ở hiện trường mang về phòng thí nghiệm được phân lập như sau: dùng pipét Pasteur hút một hoặc vài tế bào của mỗi loài dưới kính hiển vi đảo ngược LEICA, cho tế bào đã hút được vào từng “vỉ trồng” hoặc ống nghiệm đã có sẵn môi trường trồng. Sau khoảng 1-2 tuần trồng, khi tảo phát triển thì tiến hành phân lập lại (nếu chưa thuần chủng) hoặc san chuyển tảo từ vỉ trồng sang các lọ nhựa hình hộp chữ nhật, thể tích 50 ml (nếu đã thuần chủng) để tiếp tục trồng thí nghiệm.

**Phân lập tảo đáy:** Đối với một số loài bơi khá linh động như *Coolia monotis*, *Prorocentrum mexicanum*, *Amphidinium carterae* có thể tiến hành phân lập như đối với tảo phù du.

- Đối với các loài tảo thường bám chặt vào vật thể đáy như *Prorocentrum lima*, *P. emarginatum*, cách phân lập như sau: dựa vào tập tính của tảo đáy là thường nổi lên bề mặt vào ban đêm, nếu gập các vật chắn sẽ bám vào, tiến hành đặt các tấm la-men (có thể bẻ vụn thành các mảnh nhỏ) lên trên bề mặt đĩa petri đựng mẫu tảo sống và để qua một đêm. Sau đó cho mỗi mảnh la-men này vào một giếng (của vỉ trồng), hoặc từng ống nghiệm... đã có môi trường trồng. Sau khoảng một vài tuần trồng, tiến hành kiểm tra dưới kính hiển vi và chọn ra những giếng trồng thuần chủng để làm thí nghiệm. Nếu chưa có giếng thuần chủng, phải tiến hành lặp lại công việc trên.

**Bố trí thí nghiệm:** các lọ trồng tảo thí nghiệm của cùng một loài đều giống nhau về kích thước, môi trường, mật độ tảo giống, chu kỳ sáng/tối.

Để tìm hiểu ảnh hưởng của CĐAS tới sự phát triển của tảo, tiến hành đặt đồng thời các lọ tảo trồng trong MT T trên các tầng có CĐAS

khác nhau. Thí nghiệm được đặt trong điều kiện: các yếu tố nhiệt độ, nồng độ muối không đổi.

Để nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ muối, tảo được trồng trong các lọ đựng MT T với các nồng độ muối khác nhau. Thí nghiệm được đặt trong điều kiện: các yếu tố nhiệt độ, CĐAS không đổi.

Để nghiên cứu ảnh hưởng của yếu tố nhiệt độ, các lọ chứa tảo được đặt trong điều kiện nhiệt độ phòng trồng và trong tủ trồng có nhiệt độ thấp với các điều kiện nồng độ muối, môi trường trồng không thay đổi, còn CĐAS chênh lệch không đáng kể.

Tiến hành các thí nghiệm cụ thể sau đây:

- Trồng loài tảo *Alexandrium tamarense* trong MT T ở 3 nồng độ muối:  $10^0/_{00}$ ,  $16^0/_{00}$ ,  $21^0/_{00}$ , trong 4 CĐAS 500, 1000, 2000 và 3000 lux, nhiệt độ phòng trồng trung bình là  $27^\circ\text{C}$ , mật độ tảo cấy ban đầu là 4 TB/50 ml, chu kỳ sáng/tối là 12h/12h.

- Trồng loài tảo đáy *Prorocentrum mexicanum* trong MT T, ở 4 nồng độ muối:  $10^0/_{00}$ ,  $16^0/_{00}$ ,  $21^0/_{00}$  và  $30^0/_{00}$ , CĐAS 3000 lux, mật độ tảo cấy 20 TB/ml, chu kỳ sáng/tối là 12h/12h.

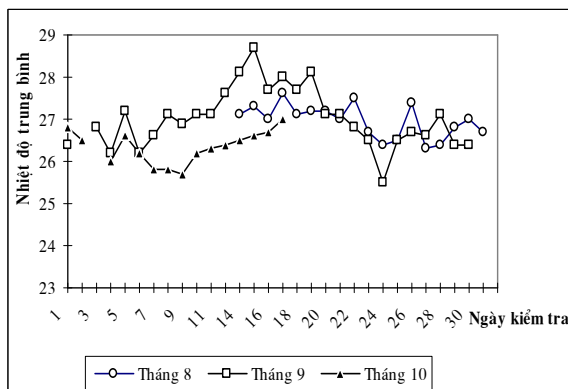
- Trồng các loài tảo đáy *Prorocentrum lima*, *P. emarginatum*, *P. mexicanum*, *Amphidinium carterae*, *Coolia monotis* trong phòng thí nghiệm có nhiệt độ trung bình khoảng  $27^\circ\text{C}$ , CĐAS 3000 lux, chu kỳ sáng/tối là 12h/12h. Sau vài tuần, khi tảo đã phát triển tốt, chuyển chúng vào tủ trồng với nhiệt độ đặt ổn định  $15^\circ\text{C}$ , CĐAS 3400 lux, chu kỳ sáng/tối là 12h/12h.

Tất cả các lọ tảo thí nghiệm hàng ngày được kiểm tra, tính mật độ tảo trồng dưới kính hiển vi đảo ngược LEICA. Thí nghiệm lặp lại 3 lần.

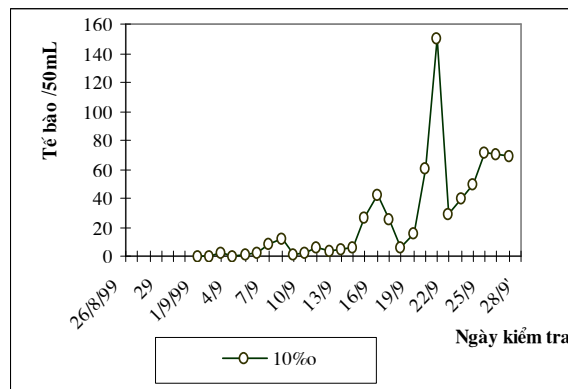
## II. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 1. Ảnh hưởng của nồng độ muối và cường độ ánh sáng tới loài tảo *Alexandrium tamarense*

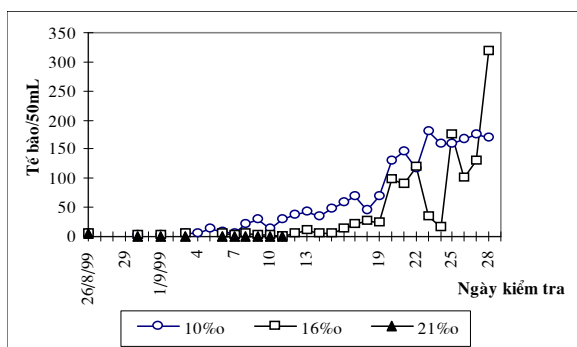
Kết quả thí nghiệm trồng loài tảo *Alexandrium tamarense* trong MT T ở các nồng độ muối và CĐAS khác nhau được thể hiện trong các hình 2, 3, 4.



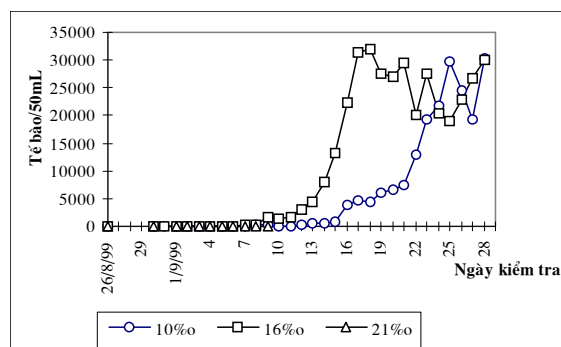
Hình 1. Biến thiên nhiệt độ trong thời gian trồng tảo



Hình 2. Ảnh hưởng của nồng độ muối tới sự phát triển của loài tảo *A. tamarensis* ở CĐAS 1000 lux



Hình 3. Ảnh hưởng của nồng độ muối tới sự phát triển của loài tảo *A. tamarensis* ở CĐAS 2000 lux



Hình 4. Ảnh hưởng của nồng độ muối tới sự phát triển của loài tảo *A. tamarensis* ở CĐAS 3000 lux

Từ các hình 2, 3, 4, thấy rằng loài tảo *A. tamarensis* phát triển trong các môi trường trồng có nồng độ muối 10‰ và 16‰ và hầu như không phát triển ở nồng độ muối 21‰ trong cả 3 CĐAS 1000, 2000 và 3000 lux.

Loài tảo *A. tamarensis* không phát triển trong điều kiện trồng có CĐAS yếu (500 lux). Khi CĐAS tăng lên thì tảo phát triển càng nhanh. Cụ thể, trong các CĐAS 500, 1000, 2000 và 3000 lux thì tảo phát triển tốt nhất ở CĐAS 3000 lux. Tại CĐAS này, chúng đạt mật độ cao nhất và thời gian sinh trưởng ngắn nhất so với các CĐAS còn lại.

Ở CĐAS yếu hơn (500, 1000 và 2000 lux), sau vài ngày trồng, tảo có hình dạng khác thường, tế bào có các gai, mấu hoặc dóm đó. Nguyên nhân có thể là do điều kiện môi trường

không thuận lợi nên chúng chuyển sang dạng sống tiềm sinh (bào xác). Tuy nhiên, cần có các nghiên cứu tiếp theo để tìm hiểu thêm về vấn đề này.

Ở CĐAS cao hơn (3000 lux), tế bào của loài tảo *A. tamarensis* có hình dạng bình thường và tạo thành các chuỗi 2-4 tế bào, rất phổ biến trong quá trình trồng.

Trong môi trường trồng nghèo dinh dưỡng, loài tảo *A. tamarensis* không phát triển, (ở lô đối chứng không bổ sung MT T, tảo không tăng số lượng).

Từ kết quả trên, bước đầu có thể rút ra nhận xét: trong điều kiện giống nhau về môi trường dinh dưỡng, nồng độ muối, nhiệt độ, mật độ tảo giống, khi CĐAS tăng lên thì tảo *A. tamarensis* sẽ phát triển tốt hơn. Tuy nhiên, cần có các thí

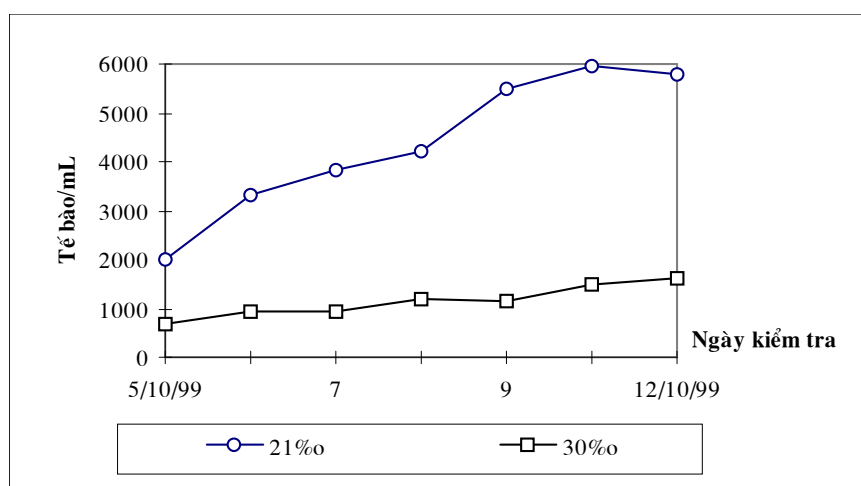
nghiệm tiếp theo để tìm được CDAS tối ưu cho loài này. Thiếu chất dinh dưỡng, loài tảo *A. tamarense* không phát triển.

## 2. Ảnh hưởng của nồng độ muối tới sự phát triển của tảo độc sống đáy

Kết quả trồng loài tảo đáy *Prorocentrum mexicanum* trong 4 nồng độ muối: 10‰, 16‰, 21‰ và 30‰ cho thấy, tại các nồng độ muối

thấp (10‰, 16‰), loài tảo này hầu như không phát triển. Ở nồng độ muối cao (30‰), nó lại phát triển chậm và chỉ phát triển tốt nhất ở 21‰ (hình 5).

Trong khi đó, đối với hai loài tảo đáy khác là *Coolia monotis* và *Amphidinium carterae*, sự thay đổi nồng độ muối của môi trường trồng không ảnh hưởng đáng kể tới quá trình phát triển của chúng.



Hình 5. Ảnh hưởng của nồng độ muối tới loài *Prorocentrum mexicanum*

## 3. Ảnh hưởng của nhiệt độ tới sự phát triển của tảo độc sống đáy

Kết quả trồng loài tảo *Coolia monotis* trong điều kiện nhiệt độ phòng thí nghiệm (khoảng 27°C) và nhiệt độ thấp (15°C) thấy rằng, dường như loài này chỉ thích hợp với nhiệt độ phòng thí nghiệm và bị tác động mạnh bởi sự thay đổi điều kiện nhiệt độ, thể hiện ở chỗ chỉ sau 1 ngày trồng ở nhiệt độ thấp (15°C), phần lớn các tế bào của tảo chìm xuống đáy và có hiện tượng co nguyên sinh chất. Sau 7 ngày trồng, hầu hết tảo đã chết, vỏ tế bào bị vỡ. Sau 5 tuần trồng, loài *C. monotis* tàn lụi hoàn toàn.

Kết quả trên phân nào cũng phù hợp với các nghiên cứu trước đây. Faust (1991) khi nghiên cứu về loài *Coolia monotis* ở Twin Cays (Belize) đã phát hiện ra rằng, trong tự nhiên, loài này phân bố trong khoảng nhiệt độ nước từ 24° đến 32,5°C. Trong điều kiện trồng ở nhiệt độ 23°C, chu kỳ sáng/tối là 12h/12h, CDAS 30-90  $\mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ , loài này đạt tới pha logarit sau 3-4 ngày và đạt mật độ  $2,5\cdot 10^3$  TB/l sau 15 ngày

trồng [3]. Tiếp đó, Rhodes *et al.* (1997) khi nghiên cứu về loài *Coolia monotis* ở Niu Dilân đã đưa ra kết luận: loài này sinh trưởng thích hợp ở nhiệt độ 25°C hơn là ở 20°C [6].

Với các loài tảo đáy *Prorocentrum lima*, *P. emarginatum*, *P. mexicanum* và *Amphidinium carterae*, nhìn chung sự thay đổi nhiệt độ không ảnh hưởng nhiều, thể hiện ở chỗ chúng vẫn vận động bình thường sau khoảng 3 tuần trồng ở nhiệt độ thấp (15°C). Tuy nhiên, khả năng chịu đựng của từng loài đối với sự thay đổi này cũng khác nhau. Các loài *P. lima*, *P. emarginatum* hầu như không tăng số lượng; ở loài *P. mexicanum* có hiện tượng dính với nhau thành từng đám 2-4 tế bào, nhiều tế bào to khác thường. Sau 5 tuần trồng, loài *P. lima* cũng xảy ra hiện tượng tương tự như *P. mexicanum*. Riêng loài *Amphidinium carterae* vẫn phát triển bình thường trong suốt thời gian thí nghiệm.

## III. MỘT SỐ NHẬN XÉT

Trong điều kiện trồng giống nhau về môi

trường dinh dưỡng, nồng độ muối, nhiệt độ, CĐAS từ 500 đến 3000 lux thì loài tảo *A. tamarense* sẽ phát triển tốt hơn ở CĐAS 3000 lux.

Ở CĐAS 3000 lux, loài tảo *A. tamarense* sinh trưởng trong môi trường trồng có nồng độ muối 16‰ tốt hơn môi trường có nồng độ muối 10‰ và 21‰.

Sự thay đổi của yếu tố nồng độ muối không ảnh hưởng nhiều tới quá trình phát triển của các loài tảo đáy *Coolia monotis*, *Amphidinium carterae*. Trong khi loài *Amphidinium carterae* có khả năng thích nghi với biên độ nhiệt khá rộng, nó sinh trưởng tốt ở cả nhiệt độ thấp (15°C) và nhiệt độ cao (30°C) thì các loài *Prorocentrum lima*, *P. emarginatum*, *P. mexicanum* và *Coolia monotis* ít nhiều bị tác động bởi sự thay đổi của yếu tố này.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Anderson D. M., 1980:** J. Phycol., 16: 166-172.
2. **Boyer G. L. et al., 1987:** Marine Biology, 96: 123-128.
3. **Faust M. A., 1991:** J. Phycol., 28: 94-104.
4. **Larsen N. H., Moestrup Ø., Pedersen P. M., 1994:** Scandinavian culture centre for algae & protozoa, Catalogue 1994. Dept. of Phycology, Botanical Institute, University of Copenhagen.
5. **Ogata T., Ishimaru T., and Kodama M., 1987:** Marine Biology, 95: 217-220.
6. **Rhodes L. L. and Thomas A. E., 1997:** New Zealand J. Mar. Fres. Res., 31: 139-141.
7. **White A. W., 1978:** J. Phycol., 14: 475-479.

## SOME DATA ON ECOLOGICAL CHARACTERISTICS OF HARMFUL MICROALGAE CULTURED IN THE LABORATORY

CHU VAN THUOC, NGUYEN THI MINH HUYEN

### SUMMARY

The cultivation results of some harmful marine microalgal species showed that, in the same cultured conditions of nutrient, salinity, temperature, *Alexandrium tamarense* grew in the high light intensity better than in the lower ones. It grew better in the salinity of 16 ppt than that of 10 and 21ppt. The changes of salinity have not effected strongly to the growth of *Coolia monotis* and *Amphidinium carterae*. In generally, *A. carterae* grew well not only in the lower temperature (15°C) but also in the higher one (30°C) while some species such as: *Prorocentrum lima*, *P. emarginatum*, *P. mexicanum* and *Coolia monotis* are effected by the changes of temperature.

Ngày nhận bài: 24-6-2001