

# PHÂN LẬP VÀ TÌM HIỂU SỰ TĂNG TRƯỞNG CỦA *SCENEDESMUS* (CHLOROPHYTA) TRONG MỘT SỐ MÔI TRƯỜNG

*ISOLATING SCENEDESMUS (CHLOROPHYTA)  
AND STUDYING THEIR GROWTH IN SOME CULTURE MEDIA*

Đặng Thị Thanh Hòa, Trần Thị Mỹ Xuyên

Bộ môn Sinh Học Thủy Sản, Khoa Thủy Sản, Trường Đại học Nông Lâm Tp. HCM

Email: [dangthhoa@hcmuaf.edu.vn](mailto:dangthhoa@hcmuaf.edu.vn)

## ABSTRACT

*Scenedesmus* was one of the microalgae belonging to Chlorophyta. It can be used as living food for aquaculture. This study was carried out to isolate it from aqua pond water and find out the suitable media for their growth. Dilution method was easier but needed longer time for isolating. When cultured in three media - Walsby, BBM and Jaworski - with initial concentration of 300.000, 500.000 and 700.000 cells ml<sup>-1</sup> in 500 ml flask, *Scenedesmus* grew better in BBM and Jaworski, the highest density gained 8.660.000 ± 702.000 and 10.547.000 ± 574.000 cells.ml<sup>-1</sup>, respectively, comparing 2.353.000 ± 330.000 cells ml<sup>-1</sup> in Walsby. The number of cell in Jarworski was higher but the colour was worse. The growth cycle lasted around 9 days and the peak came on the fourth or fifth day. And the proper initial density was about 300.000 – 500.000 cells ml<sup>-1</sup>.

## GIỚI THIỆU

Tảo là sinh vật sản xuất đóng vai trò rất quan trọng trong hệ sinh thái thủy vực. Chúng là nguồn thức ăn có chất lượng dinh dưỡng cao và số lượng dồi dào. Đặc biệt những loài có kích thước nhỏ bé mà người ta thường gọi là vi tảo vì chúng là thức ăn không thể thay thế của các loài ấu trùng vốn có kích thước miệng rất nhỏ. Thành phần các chất dinh dưỡng có trong tảo rất cao, bao gồm protein (chiếm 50-70% trọng lượng khô với các acid amin thiết yếu, glucid (20-30%), lipid (10-20%), và các vitamin như B<sub>1</sub>, B<sub>6</sub>, B<sub>12</sub>,... (Sze, 1998). Việc nuôi vi tảo làm thức ăn trong các trại sản xuất giống được biết đến từ những năm 1940 và càng ngày càng phát triển. Tuy nhiên, không phải loài tảo nào cũng được lựa chọn, chúng phải thỏa mãn các yêu cầu như: kích thước phải nhỏ, có tốc độ tăng trưởng tốt, vách tế bào dễ tiêu, chất lượng dinh dưỡng phù hợp, không độc với động vật cũng như không gây tích lũy độc tố cho các sinh vật tiêu thụ. Có rất nhiều giống tảo đã được phân lập, thuần dưỡng đáp ứng các yêu cầu trên như *Chaetoceros*, *Skeletonema*, *Nannochloris*, *Isochrysis*, *Platymonas*, *Chlorella*,... Để góp thêm sự hiểu biết đa dạng về các loại thức ăn sống này, chúng tôi thực hiện nghiên cứu “Phân lập và Tìm hiểu sự tăng trưởng của *Scenedesmus* trong một số môi trường” với mục tiêu: phân lập *Scenedesmus*;

khảo sát sự tăng trưởng ở ba môi trường (Walsby, BBM, Jaworski) với ba mức mật độ ban đầu 300.000 - 500.000 - và 700.000 tế bào/ml (tb/ml)

## VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Nguồn tảo: thu mẫu nước tại ao nuôi thủy sản có sự hiện diện *Scenedesmus* với tỉ lệ thấp.

Môi trường sử dụng: Hanney cải tiến, Walsby, BBM và Jaworski.

Các chỉ tiêu nhiệt độ, pH, cường độ ánh sáng được đo hàng ngày bằng nhiệt kế, test pH của Sera và máy đo Lux/Fc light meter (DL-204)

Bố trí 2 thí nghiệm: thí nghiệm phân lập và thí nghiệm khảo sát tăng trưởng

Thí nghiệm phân lập: phân lập theo cách pha loãng và lọc cho đến khi thu được *Scenedesmus* chiếm hơn 90% trong môi trường Hanney cải tiến

Thí nghiệm khảo sát tăng trưởng: bố trí thí nghiệm một yếu tố, mỗi mức mật độ ban đầu (300.000, 500.000 và 700.000 tb/ml) được nuôi trong 3 môi trường (Walsby, BBM và Jaworski) với thể tích nuôi 500ml, mỗi môi trường lập lại 3 lần, vị trí các bình nuôi của các môi trường là ngẫu nhiên. Hàng ngày đếm mật độ tảo trong cùng thời điểm xác định bằng buồng đếm hồng cầu Hirschmann với công thức theo Martinez và ctv (1975) (Trích bởi Aujero, E. 1981)

$$d = \frac{N}{10 \times 4 \times 10^{-6}}$$

Với d: Mật độ tảo (tb/ml)

N: Tổng số tế bào đếm được trong 10 ô nhỏ ở 2 phần buồng đếm

10: Số ô nhỏ của 2 phần buồng đếm

4 x 10<sup>-6</sup>: Thể tích mẫu của mỗi ô nhỏ (tương đương 0,2mm x 0,2mm x 1mm = 0,004 mm<sup>3</sup> được chuyển sang cm<sup>3</sup> tức ml)

Xử lý số liệu và vẽ đồ thị trong Excel.

**KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN**

**Điều kiện môi trường**

Nhiệt độ: Quiang Hu và Milton (2004), trích bởi Đào (2007), cho rằng *Scenedesmus* có thể chịu được khoảng nhiệt độ rộng cho sự tăng trưởng là từ 15 - 42°C với nhiệt độ tối ưu là 30 - 35°C trong khi nhiệt độ của thí nghiệm dao động từ 28 - 31°C cho thấy phù hợp với điều kiện sinh trưởng của *Scenedesmus*. Nhiệt độ thấp hơn 15°C có thể làm chậm tốc độ sinh trưởng và nhiệt độ cao hơn 42°C sẽ gây chết.

pH: pH tăng dần theo thời gian nuôi, đạt giá trị lớn nhất khi tảo đạt đỉnh sinh khối và giảm xuống theo sự suy tàn của tảo, ở các thí nghiệm, pH dao động từ 7,0 - 8,5 khá thích hợp với sự phát triển của tảo vì biên độ pH tối ưu đối với hầu hết các loài tảo nuôi thường từ 8,2 - 8,5 (Lavens & Sorgeloos, 1996). pH không thích hợp có thể làm phá vỡ các quá trình sinh hóa trong tế bào.

Cường độ ánh sáng: trong các thí nghiệm duy trì khoảng 1000 - 2000 lux tương đối thích hợp vì theo Lavens & Sorgeloos (1996) cường độ ánh sáng khi nuôi trong các bình tam giác nhỏ khoảng 1000 lux là thích hợp còn các dung tích lớn thì cần 5000 - 10000 lux. Cường độ ánh sáng quá lớn có thể làm ức chế quang hợp ảnh hưởng đến sự tăng trưởng của tảo.

Sục khí và chiếu sáng liên tục 24/24

**Phân lập**

Theo Đặng Đình Kim và Đặng Hoàng Phước Hiền (1999), có một số kỹ thuật phân lập tảo như: dùng micropipette thu một tế bào hay một sợi tảo khi soi qua kính hiển vi; phun tảo lên bề mặt thạch nghiêng đã khử trùng; hoà dịch tảo với thạch mỏng rồi rót lên bề mặt lớp thạch cứng; dùng ánh sáng, dòng điện hay chất kích thích đối với tảo có phản ứng với các tác nhân này; ...Tuy nhiên, các phương pháp này đòi hỏi thiết bị khá chuyên dụng và kỹ thuật tay nghề cao. Trong điều kiện phòng thí nghiệm với điều kiện đơn giản, chúng tôi chọn một phương pháp truyền thống là pha loãng.

Theo lý thuyết phân lập kiểu pha loãng, mẫu nước được nuôi trong các ống nghiệm với khoảng 10 ml nhưng khi chúng tôi tiến hành thì tảo không phát triển được mà có khuynh hướng suy tàn dần. Chúng tôi thử tăng lượng dịch mẫu lên 30 ml trong các bình tam giác ở lần thí nghiệm sau thì thấy dịch tảo có màu xanh hơn, sau 3 ngày lại tăng lên 100 ml. Sau khi pha loãng dung dịch mẫu nhiều lần ở thể tích 30 ml và 100 ml, chúng tôi đã thu

được *Scenedesmus* chiếm hơn 70% nhưng lại có *Lyngbya* cùng phát triển. Vì đang có thể tích ít (30-100ml) nên chúng tôi lọc qua lưới 50µm 3-5 lần để lược bỏ *Lyngbya* và qua nhiều lần nuôi chuyển bình thu được mẫu có *Scenedesmus* chiếm hơn 90%. *Scenedesmus* thu được có với kích thước tế bào 15 x 5 µm và kích thước tập đoàn (từ 2-8 tế bào) trung bình 15 x 20 µm.

Sau khi thu được giống thuần, *Scenedesmus* được nuôi thuần dưỡng trong ba môi trường Walsby, BBM và Jaworski để chuẩn bị dùng trong thí nghiệm khảo sát tăng trưởng tiếp theo.

Vũ Thị Tám (1981) đã phân lập *Scenedesmus* bằng phương pháp dùng pipette và cấy trên đĩa thạch, tuy nhiên 2 phương pháp trên đòi hỏi kỹ thuật khó hơn so với pha loãng và khi chuyển sang môi trường lỏng, các tế bào *Scenedesmus* đòi hỏi nhiều thời gian hơn để thích nghi (15 ngày/chu kỳ).

**Khảo sát tăng trưởng**

Chu kỳ phát triển: qua theo dõi, chúng tôi nhận thấy một chu kỳ của *Scenedesmus* kéo dài khoảng 9 ngày, ngày đạt mật độ cao nhất là ngày thứ 4-5 của chu kỳ trong khi ở thí nghiệm của Đào (2007) thì mật độ đạt cao nhất vào ngày 9-11 của chu kỳ khoảng 13 ngày, chu kỳ và thời điểm đạt cực đại của hai thí nghiệm khác nhau có thể là do loài phân lập được khác nhau và môi trường nuôi khác nhau. Theo Kiệt (2007), chu kỳ của *Chlorella* khoảng 10 ngày khi nuôi trong bình tam giác 500 ml.

Mật độ ban đầu: trong nuôi tảo, mật độ ban đầu cũng có ảnh hưởng không nhỏ, nếu mật độ ban đầu quá thấp thì thời gian nuôi dài mới đủ sinh khối cần thiết còn nếu mật độ ban đầu quá cao sẽ gây lãng phí nguồn tảo giống, tìm được mật độ ban đầu phù hợp sẽ giúp việc nuôi thuận lợi và có hiệu quả hơn. Chúng tôi đưa ra 3 mức mật độ ban đầu 300.000, 500.000 và 700.000 tb/ml, kết quả cho thấy *Scenedesmus* đạt mật độ cực đại lần lượt 10.087.000 ± 879.000, 10.547.000 ± 574.000 và 8.660.000 ± 702.000 tb/ml. So sánh thống kê cho thấy giữa mức 3 và 5 không có sự khác biệt (P>0.05) còn giữa mức 3 và 7; 5 và 7 đều có sự khác biệt (P<0.05).

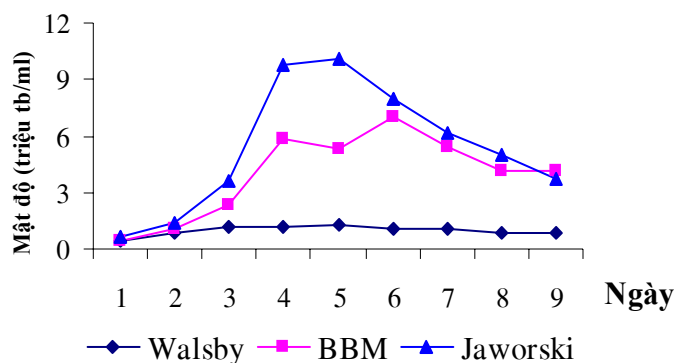
Môi trường nuôi: môi trường là một trong những yếu tố quyết định đến sinh khối tảo nuôi, việc lựa chọn môi trường tùy thuộc vào nhu cầu dinh dưỡng của từng loài, tảo được nuôi trong môi trường thích hợp sẽ làm tế bào phát triển tốt cả về chất lượng lẫn số lượng, việc xác định chính xác nồng độ của từng yếu tố dinh dưỡng cho một loài nào đó rất khó khăn vì nồng độ dinh dưỡng tối ưu phụ thuộc

vào rất nhiều yếu tố như mật độ quần thể, ánh sáng, nhiệt độ và pH (Kim và Hiền, 1999). Kết quả nuôi trong 3 môi trường (Walsby, BBM và Jaworski) ở 3 mật độ ban đầu khác nhau thể hiện qua đồ thị 1, 2 và 3.

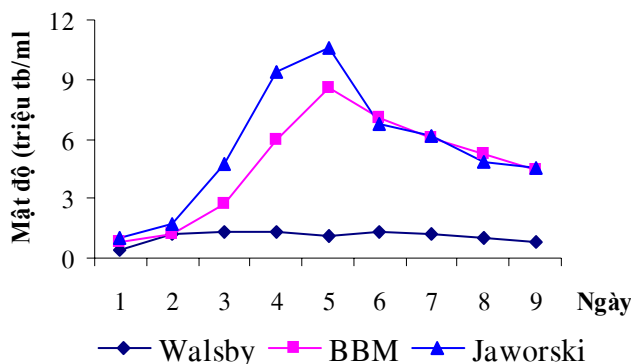
Qua các đồ thị, ta thấy mật độ *Scenedesmus* trong môi trường Walsby cho mật độ thấp và tăng lên không đáng kể nên không xác định được các pha tăng trưởng theo lý thuyết chứng tỏ môi trường này chưa phù hợp với *Scenedesmus*, mật độ cao nhất đạt  $2.353.000 \pm 330.000$  tb/ml. Ở môi trường BBM và Jaworski, sự gia tăng mật độ tương đối

phù hợp theo quy luật chung, 2 ngày đầu tảo ở giai đoạn thích ứng, 3 ngày tiếp theo mật độ tăng lên nhanh ứng với pha tăng trưởng hàm số mũ, sau đó mật độ giảm ứng với pha tàn lụi. Mật độ cao nhất đạt được ở các môi trường BBM và Jaworski lần lượt là  $8.660.000 \pm 702.000$  và  $10.547.000 \pm 574.000$  tb/ml. So sánh thống kê cho thấy có sự khác biệt giữa các môi trường nuôi ( $P < 0.05$ ).

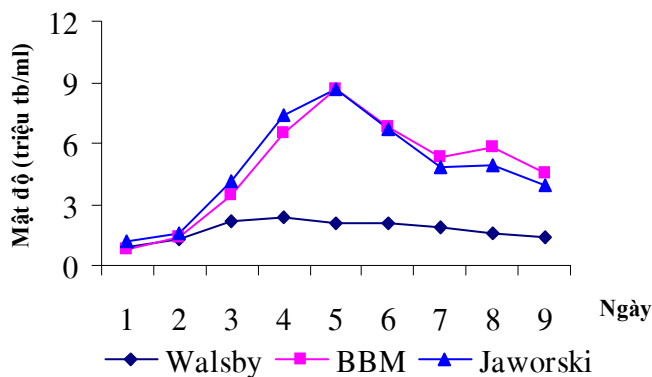
Số liệu cụ thể về mật độ đạt được trong một số môi trường nuôi thể hiện trong bảng 1.



**Đồ thị 1.** Sự tăng trưởng của *Scenedesmus* ở mật độ ban đầu 300.000 tb/ml



**Đồ thị 2.** Sự tăng trưởng của *Scenedesmus* ở mật độ ban đầu 500.000 tb/ml



**Đồ thị 3.** Sự tăng trưởng của *Scenedesmus* ở mật độ ban đầu 700.000 tb/ml

**Bảng 1.** Mật độ *Scenedesmus* đạt được trong một số môi trường

| Môi trường      | Mật độ (triệu tb/ml) | Tác giả    |
|-----------------|----------------------|------------|
| Phân gà         | 3 - 4                | Đào (2007) |
| Bristol         | 7 - 8                | Đào (2007) |
| Hanney cải tiến | 8 - 9                | Đào (2007) |
| Walsby          | 2 - 3                | Chúng tôi  |
| BBM             | 8 - 9                | Chúng tôi  |
| Jaworski        | 10 - 11              | Chúng tôi  |

Bên cạnh đó, mặc dù môi trường Jaworski cho mật độ cao nhất nhưng theo quan sát thì màu sắc tế bào hơi nhạt, không xanh như môi trường BBM. Nên khảo sát thêm chỉ tiêu nồng độ chlorophyll để có sự kết hợp chính xác hơn.

Môi trường BBM cho kết quả không cao nhưng ổn định hơn, theo lý thuyết, ở mức ban đầu 300.000, mật độ cực đại trong môi trường này sẽ đạt được ở ngày thứ 5 nhưng thực tế lại giảm, điều này có thể do sai số trong quá trình lấy mẫu đếm.

Vũ Thị Tám (1981) nuôi *Scenedesmus* trong 3 môi trường là Detmer, phân heo và urine sau 10-15 ngày thì môi trường urine với nồng độ 1.5, 2.0 và 2.5% cho kết quả tốt nhất nhưng lại không đề cập số liệu cụ thể.

Kiệt (2007) nuôi *Chlorella* trong môi trường Hanney cải tiến với thể tích 500 ml đạt mật độ 39,92 triệu tb/ml nhưng *Chlorella* có kích thước nhỏ hơn *Scenedesmus* và mật độ ban đầu cũng cao hơn rất nhiều (2,38 triệu tb/ml)

Và theo các đồ thị, chúng ta có thể thu hoạch tảo vào ngày thứ 4 lúc độ dốc đạt cao nhất tức tốc độ tăng cao nhất.

**KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ**

**Kết quả thí nghiệm cho thấy:**

Có thể phân lập *Scenedesmus* bằng cách pha loãng, kỹ thuật đơn giản nhưng đòi hỏi nhiều thời gian hơn. Đồng thời theo dõi liên tục để có hướng xử lý tảo tạp kịp thời, thí dụ như lọc để loại *Lyngbya*.

Chu kỳ phát triển của *Scenedesmus* kéo dài khoảng 9 ngày và mật độ đạt cực đại vào ngày thứ 4 - 5.

Mức mật độ bố trí ban đầu có thể từ 300.000 - 500.000 tb/ml.

Môi trường Jaworski cho mật độ cao nhất nhưng màu sắc tế bào không xanh bằng môi trường BBM.

**Đề nghị**

Đo thêm chỉ tiêu chlorophyll để có sự kết hợp tốt hơn.

Tiếp tục nuôi *Scenedesmus* ở các quy mô lớn hơn để có thể đưa vào sản xuất.

**TÀI LIỆU THAM KHẢO**

Trần Thị Hoàng Đào, 2007. *Bước đầu phân lập, khảo sát ảnh hưởng môi trường và mật độ nuôi cấy lên sự tăng trưởng Scenedesmus*. Luận văn tốt nghiệp. Khoa Thủy sản. Trường Đại học Nông Lâm Tp. HCM.

Cao Tuấn Kiệt, 2007. *Thử nghiệm nuôi sinh khối Chlorella sp. trong môi trường nước ngọt*. Luận văn tốt nghiệp. Khoa Thủy sản. Trường Đại học Nông Lâm Tp. HCM.

Đặng Đình Kim và Đặng Hoàng Phước Hiền, 1999. *Công nghệ sinh học vi tảo*. Trung tâm Khoa học Tự nhiên và Công nghệ Quốc gia.

Vu Thi Tam, 1981. Some Results of *Scenedesmus* Culture in the Laboratory at the Nhatrang Fisheries University in R. D. Guerrero (ed.) *Report of The Training Course On Growing Food Organisms For Fish Hatcheries*.

Aujero E., 1981. Use of The Hemacytometer For Counting Phytoplankton in R. D. Guerrero (ed.) *Report of The Training Course on Growing Food Organisms for Fish Hatcheries*.

Lanvens P. and Sorgeloos P., 1996. *Manual of The Production and Use of Live Food for Aquaculture*. FAO.