

THỬ NGHIỆM NUÔI *CHAETOCEROS* SP. VỚI MỘT SỐ MÔI TRƯỜNG ĐƠN GIẢN TRONG PHÒNG THÍ NGHIỆM

CULTURING OF *CHAETOCEROS* SP. IN SOME SIMPLE MEDIUMS IN LAB

Đặng Thị Thanh Hoà và Nguyễn Thúy Hiền

Bộ môn Sinh Học và Quản lý Nguồn lợi Thủy sản, Khoa Thủy Sản

Đại Học Nông Lâm Tp HCM

Email: dangtthoa@yahoo.com

ABSTRACT

The necessity of a great supply of microalgae for various aquatic larvae stages generated an intensification of studies concerning the development of alternative mediums to reduce the cost of natural and artificial mediums previously in use, which were expensive due to the use of chemical substances of high commercial value. So, this study were carried out to test the growth of *Chaetoceros* sp. in some simple mediums. The results showed that *Chaetoceros* sp. could not grow in fish extract medium (both whole fish and by-product). They obtained the highest density around $1.986.000 \pm 105.000$ cells.ml⁻¹, $1.511.000 \pm 100.000$ cells.ml⁻¹, $1.003.000 \pm 130.000$ cells.ml⁻¹, 983.000 ± 380.000 cells.ml⁻¹, 292.000 ± 54.000 cells.ml⁻¹ in mediums of NPK fertilizer, Walne, E, chicken manure and fish extract respectively with the initial density of 100.000 cells.ml⁻¹; salinity of 25ppt. When changing the initial density about 200.000 cells.ml⁻¹ and sanility of 15ppt, the highest one got $3.169.000 \pm 299.000$ cells.ml⁻¹. Generally, *Chaetoceros* sp. could developed in NPK fertilizer medium with concentration of 0,08-0,12 g.l⁻¹ and salinity of 15-25 ppt but adding silic.

ĐẶT VẤN ĐỀ

Nuôi trồng vi tảo được bắt đầu nghiên cứu từ cuối thế kỉ 19 và trở thành một trong những thành tựu quan trọng đối với ngành nuôi trồng thủy sản vì giải quyết được phần nào khó khăn trong việc cung cấp thức ăn đủ chất lượng và số lượng cho ấu trùng các loài thủy sản. Trong các loài vi tảo thường được sử dụng làm thức ăn, *Chaetoceros* là một trong những giống được ưa dùng nhất với một số loài có kích thước nhỏ và chất lượng dinh dưỡng cao. Từ năm 1940, Fujinaga đã nuôi thành công *Skeletonema* và *Chaetoceros* sp. làm thức ăn cho ấu trùng tôm *Penaeus japonicus*. Tuy nhiên, để tảo phát triển tốt, chúng ta phải cung cấp những dưỡng chất cần thiết cũng như điều kiện thích hợp tùy từng nhóm loài. Thường những môi trường nuôi cấy theo đúng yêu cầu này đòi hỏi pha chế phức tạp, cần nhiều hoá chất với những lượng nhỏ (tính bằng mg) nên ở những trại sản xuất giống nhỏ sẽ không đủ thiết bị pha chế cũng như bảo quản. Để giải quyết những khó khăn trên, một số thí nghiệm đã được thực hiện sử dụng môi trường đơn giản như phân bón nông nghiệp và cả nước thải để hạ giá thành sản xuất như Suantica và ctv, Dustan và Menzel (1971), Dustan và Tenore (1972), Goldman và Stanley (1974), Rauquirio và ctv (1998). Dựa vào những nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành thử nghiệm nuôi *Chaetoceros* sp. trong các môi trường đơn giản với các mức mật độ nuôi ban đầu, các mức độ mặn và thể tích nuôi khác nhau nhằm khảo sát sự tăng trưởng của đối tượng trong điều kiện phòng thí nghiệm.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Tảo giống *Chaetocearos* sp. được cung cấp bởi Viện NCNTTS III.

Các môi trường nuôi gồm có: dịch chiết phế phẩm cá nước ngọt, cá nước mặn, tôm tép, bã đậu nành; dịch chiết cá biển và cá nước ngọt (nguyên con); phân gà, phân NPK; môi trường E (Emerson và Luis); và môi trường Walne. Phế phẩm và cá nguyên con được nấu

chín với nước muối (500g/l nước), để nguội, xay nhuyễn, lọc qua lưới rồi pha với nước cất (10ml dịch chiết/l). Phân gà sử dụng loại phân bón sinh học (đã được nhà sản xuất phối trộn) với lượng 150g/l nước cất, khuấy đều, lọc, hấp khử trùng rồi pha loãng 1ml/l môi trường. Phân NPK tỉ lệ 16-16-8 theo các liều lượng khác nhau (từ 0,04 đến 0,20 g/l) ngâm trong nước cất, khuấy tan.

Các chỉ tiêu nhiệt độ, pH được đo hàng ngày bằng nhiệt kế và test SERA.

Bố trí thí nghiệm: bố trí 5 thí nghiệm một yếu tố theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên với 3 lần lặp lại. TN1 nuôi *Chaetoceros* sp. trong các môi trường dịch chiết từ phế phẩm cá biển, cá nước ngọt, tôm tép và bã đậu nành với mật độ ban đầu $100.000 \text{ tb.ml}^{-1}$, độ mặn 25 ppt. TN2 nuôi đối tượng trong các môi trường dịch chiết từ cá nguyên con, phân gà, phân NPK, môi trường E và Walne với mật độ ban đầu và độ mặn giống như ở TN1. TN3 nuôi đối tượng trong môi trường phân NPK ở các mức 0,04 - 0,08 - 0,12 - 0,16 - 0,20g.l⁻¹ với mật độ và độ mặn giống TN1. TN4 nuôi *Chaetoceros* sp. ở các độ mặn tương ứng là 30, 25, 20, 15, 10 ppt trong môi trường NPK với mật độ ban đầu $200.000 \text{ tb.ml}^{-1}$. Các thí nghiệm từ 1 đến 4 được nuôi trong bình nước biển với thể tích nuôi luôn đảm bảo 400ml. Và TN 5 nuôi *Chaetoceros* sp. ở các thể tích 1,3,7l trong môi trường NPK, độ mặn 15ppt, mật độ $2 \times 10^5 \text{ tb.ml}^{-1}$.

Hàng ngày đếm mật độ tảo trong cùng khoảng thời gian bằng buồng đếm hồng cầu và tính toán theo công thức của Martinez và ctv (1975) (trích bởi Aujero, 1981).

Sục khí và chiếu sáng liên tục duy trì trong khoảng 1000-2000 lux.

Xử lý số liệu và vẽ đồ thị trong Excel.

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Các chỉ tiêu môi trường: do bố trí trong phòng thí nghiệm nên chúng tôi chỉ đo thông số về nhiệt độ, pH và cường độ ánh sáng.

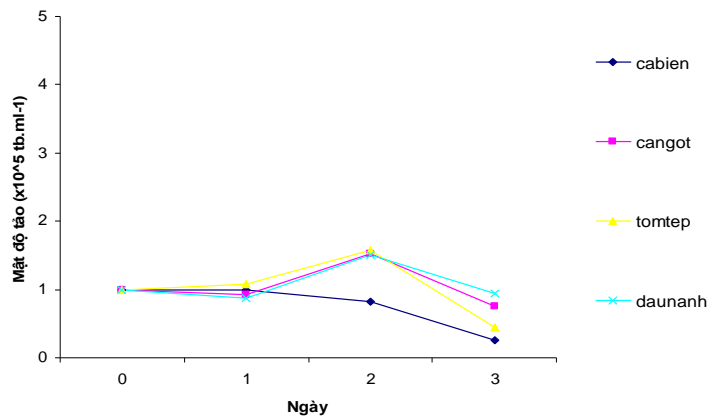
Nhiệt độ: nhiệt độ không khí khi tiến hành các thí nghiệm khá cao do thời tiết nắng nóng kéo dài dao động từ 30-35°C và nhiệt độ nước chênh lệch với nhiệt độ phòng không cao, khoảng 1-2°C. Tuy nhiệt độ trong quá trình thí nghiệm chưa thật sự tối ưu cho sinh trưởng và phát triển của *Chaetoceros* nhưng vẫn nằm trong khoảng cho phép vì theo Hoà và ctv (2005), nhiệt độ nuôi lúc 14h lên tới 36°C nhưng mật độ vẫn cao ($51,05 \times 10^5 \text{ tb/ml}$), chất lượng tảo đáp ứng nhu cầu dinh dưỡng cho *Artemia*.

pH: giá trị pH môi trường dịch nuôi có xu hướng thay đổi theo các giai đoạn phát triển, pH lớn nhất khi mật độ tảo đang tăng đến cực đại và sau đó giảm xuống cùng với sự suy tàn của tảo nhưng sự thay đổi này không lớn. Lúc bắt đầu bố trí, pH ở khoảng 7-7,5 rồi tăng lên 7,5-8,5 và giảm xuống 6,5-7 lúc tảo tàn.

Ánh sáng: cường độ ánh sáng luôn duy trì khoảng 1000-2000 lux tương đối thích hợp cho sự phát triển của tảo.

Thí nghiệm 1

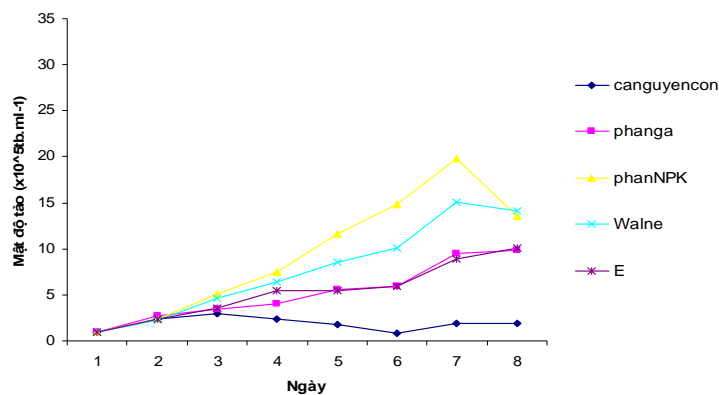
Chúng tôi thử nghiệm nuôi *Chaetoceros* sp. trong môi trường dịch chiết từ phế phẩm cá biển, cá nước ngọt, tôm tép và bã đậu nành để tận dụng nguyên liệu giá rẻ nhưng không thành công, tảo không phát triển được có thể do các môi trường trên không hoặc ít tồn tại các dạng chất dinh dưỡng cần thiết, thêm vào đó là sự lây nhiễm protozoa rất mạnh, đến ngày thứ 3 hầu như không còn tảo (đồ thị 1).



Đồ thị 1: Tăng trưởng của *Chaetoceros* sp. trong TN1

Thí nghiệm 2

Qua TN1, chúng tôi không dùng phế phẩm mà dùng cá nguyên con nấu chín rồi lấy dịch chiết (NO) và nuôi cùng với một số môi trường khác như Walne (W), E, phân NPK, phân gà để so sánh. Kết quả thể hiện ở đồ thị 2 cho thấy có sự khác biệt rõ rệt ở các môi trường. Sự gia tăng mật độ ở môi trường dịch chiết từ cá (NO) trong suốt quá trình hầu như không đáng kể, đường cong tăng trưởng không rõ ràng; sự tăng trưởng ở môi trường NPK và W có phần giống nhau, đường cong tăng trưởng thể hiện rõ và đạt mật độ cực đại vào ngày thứ 6, lần lượt là $1.986.000 \pm 105.000$ tb.ml⁻¹, $1.511.000 \pm 100.000$ tb.ml⁻¹; sự phát triển ở môi trường E và phân gà gần như nhau, tốc độ tăng trưởng không cao, chỉ đạt $1.003.000 \pm 130.000$ tb.ml⁻¹, 983.000 ± 380.000 tb.ml⁻¹. Sang ngày thứ 7, mật độ tảo ở các nghiệm thức đều có khuynh hướng giảm, đặc biệt ở môi trường NPK, tốc độ giảm nhanh, điều này nên lưu ý khi đưa vào sản xuất để tránh hiện tượng tảo không đủ lượng cung cấp. Tuy nhiên, khi so sánh thống kê thì sự khác biệt không rõ ràng, chỉ môi trường NO khác biệt có ý nghĩa với môi trường NPK. Ranquirio và ctv (1998) nuôi *Chaetoceros gracilis* trong môi trường pha 10, 20, 30, 40% nước thải đã xử lý sơ bộ đạt mật độ cao nhất ở nghiệm thức pha 40% là $4.125.000$ tb.ml⁻¹ ở ngày thứ 9 cao gấp đôi với môi trường NPK trong thí nghiệm nhưng nếu so với kết quả của Mai và ctv (2009) thì gần như tương đương, $2.100.000$ tb.ml⁻¹ trong môi trường TT3 và $2.120.00$ tb.ml⁻¹ trong môi trường f2.

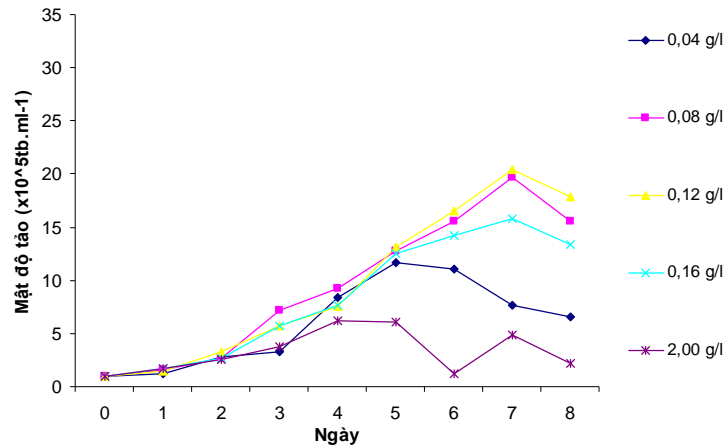


Đồ thị 2: Tăng trưởng của *Chaetoceros* sp. trong TN2

Thí nghiệm 3

Theo TN2, *Chaetoceros* sp. phát triển tốt trong môi trường NPK nên chúng tôi tiến hành thí nghiệm tiếp theo nhằm xác định nồng độ phân NPK thích hợp. Kết quả đồ thị 3 cho

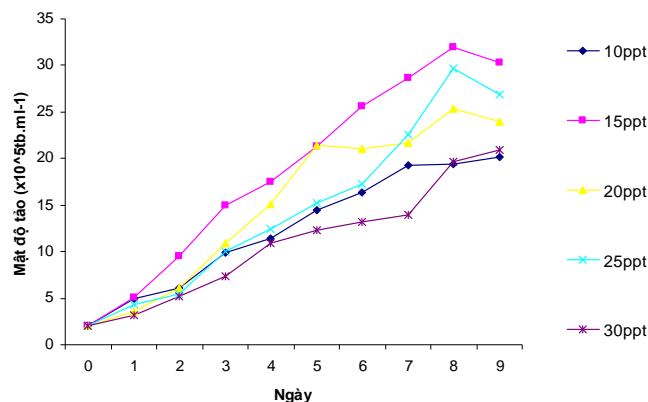
thấy sự tăng trưởng ở 5 mức nồng độ có sự chênh lệch, thời gian đạt cực đại cũng khác và pha ổn định hầu như rất ngắn. Nghiệm thức $0,04g.l^{-1}$ và $0,2g.l^{-1}$ đạt mật độ cực đại sớm hơn vào ngày thứ 5-6 và mật độ cũng thấp hơn ($1.164.000 \pm 99.000 \text{ tb.ml}^{-1}$ và $717.000 \pm 101.000 \text{ tb.ml}^{-1}$); các nghiệm thức còn lại đạt cực đại vào ngày thứ 7 với mức cao hơn như nghiệm thức $0,12g.l^{-1}$ đạt $2.036.000 \pm 131.000 \text{ tb.ml}^{-1}$; tuy nhiên khi phân tích thống kê thì chỉ có sự khác biệt ở mức 0,04 và 0,2 $g.l^{-1}$ với các mức khác. Theo Suantika và ctv, *Chaetoceros gracilis* khi được nuôi trong môi trường phân SITH (N:P:Si là 12:1:10,5) đạt mật độ $4.660.000 \pm 1.720.000 \text{ tb.ml}^{-1}$; môi trường CP II (12:1:7) đạt $4.490.000 \pm 1.150.000 \text{ tb.ml}^{-1}$; môi trường CPI (12:1:1,3) đạt $4.100.000 \pm 50.000 \text{ tb.ml}^{-1}$ cao hơn thí nghiệm với phân NPK, điều này có thể do Suantika và ctv có bổ sung silic vào môi trường.



Đồ thị 3: Tăng trưởng của *Chaetoceros* sp. trong TN3

Thí nghiệm 4

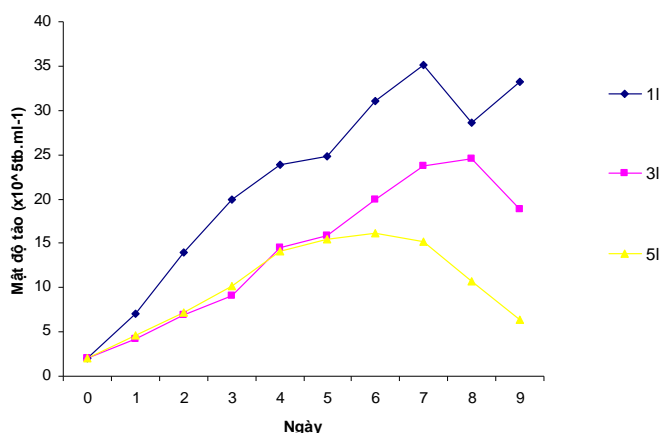
Qua TN3, chúng tôi chọn nồng độ NPK ở mức $0,12g.l^{-1}$ để bố trí thí nghiệm về độ mặn với 5 mức là 10, 15, 20, 25 và 30 ppt nhưng nâng mật độ ban đầu lên $200.000 \text{ tb.ml}^{-1}$. Các đường cong tăng trưởng ở đồ thị 4 cho thấy ở các mức 15, 20 và 25 ppt tảo tăng trưởng khá tốt, đạt cực đại vào ngày thứ 8 với mật độ lần lượt là $3.169.000 \pm 299.000 \text{ tb.ml}^{-1}$, $2.531.000 \pm 194.000 \text{ tb.ml}^{-1}$, $2.967.000 \text{ tb.ml}^{-1}$ và khi phân tích thống kê thì thấy mức 15 ppt có sự sai khác với các mức khác. Kết quả này hơi thấp so với nghiên cứu của Lê Văn Hoà và ctv (2005) nuôi ở độ mặn trên 35ppt trong môi trường Walne có bổ sung silic đạt mật độ lên đến $5.000.000 \text{ tb.ml}^{-1}$. Nhưng việc *Chaetoceros* sp. phát triển tốt ở mức 15ppt trong môi trường NPK có ý nghĩa trong thực tiễn sản xuất vì sẽ giúp các trại sản xuất giống tiết kiệm nguồn nước biển nhưng phải được nghiên cứu kỹ hơn để có công thức môi trường tốt nhất.



Đồ thị 4: Tăng trưởng của *Chaetoceros* sp. trong TN4

Thí nghiệm 5

Sau khi nuôi ở thể tích 400ml, chúng tôi nâng thể tích lên 1,3, 7l và thu được kết quả như ở đồ thị 5. Qua đồ thị, chúng tôi nhận thấy mật độ tảo có sự gia tăng ở cả 3 mức nhưng sự tăng trưởng rõ nhất thể hiện ở mức 1l khi đạt mật độ cực đại ở ngày thứ 7 với $3.511.000 \pm 227.000$ tb.ml⁻¹, mức 3l đạt $2.461.000 \pm 158.000$ tb.ml⁻¹ ở ngày thứ 8, mức 7l đạt $1.619.000 \pm 58.000$ tb.ml⁻¹ và sự khác biệt này có ý nghĩa về mặt thống kê. Tuy nhiên, kết quả này khá thấp so với nghiên cứu của Hoà và ctv (2005) khi nuôi trong bể 100l với môi trường Walne có bổ sung silic đạt $5.108.333 \pm 849.111$ tb.ml⁻¹, bể 500l đạt $3.081.083 \pm 483.822$ tb.ml⁻¹. Nâng thể tích nuôi nhằm đảm bảo đủ lượng thức ăn cho ấu trùng nhưng cũng cần hết sức thận trọng vì rất dễ nhiễm protozoa và tảo tạp sẽ làm ảnh hưởng chất lượng; ngoài ra việc quản lý quy mô nuôi lớn cũng đòi hỏi phức tạp hơn, làm sao để phân bố đủ ánh sáng, cung cấp đủ chất dinh dưỡng, sục khí đều khắp nơi khá khó khăn.



Đồ thị 5: Tăng trưởng của *Chaetoceros* sp. trong TN5

KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

Môi trường dịch chiết trực tiếp từ phế phẩm cá tôm, bã đậu nành cũng như từ cá nguyên con chưa thích hợp cho sự phát triển của *Chaetoceros* sp.

Chaetoceros sp. có thể phát triển trong môi trường phân NPK từ 0.08-0.12 g.l⁻¹ với độ mặn từ 15-25‰. Tuy nhiên, muốn duy trì giống trong môi trường này phải bổ sung silic.

Phân tích cụ thể hàm lượng các chất dinh dưỡng như nitrogen, phospho trong môi trường và tìm hiểu thêm các enzym bổ sung để có thể sử dụng các phế phẩm trong môi trường nuôi.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Nguyễn Văn Hoà, Huỳnh Thanh Tới, Nguyễn Thị Hồng Vân, Trần Hữu Lễ. 2006. Nuôi tảo *Chaetoceros* sp. làm nguồn thức ăn cho hệ thống ao nuôi Artemia. Tạp Chí Nghiên Cứu Khoa Học Trường ĐH Cần Thơ 2006, pp. 52-61.

Nguyễn Thanh Mai, Trịnh Hoàng Khải, Đào Văn Trí, Nguyễn Văn Hùng. 2009. Nghiên cứu phân lập, nuôi cấy invitro tảo silic nước mặn *Chaetoceros calcitrans* Paulsen, 1905 và ứng dụng sinh khối tảo làm thức ăn cho tôm he chân trắng (*Penaeus vannamei*). Science and Technology Development, Vol. 12, No. 13.

Aujero, E. 1981. Use of the hematocyte for counting phytoplankton. In R.D. Guerrero (ed.) Report of the Training course on Growing food organisms for fish hatcheries.

Dustan, W.M., Menzel, D.W. 1971. Continuous cultures of natural populations of phytoplankton in dilute sewage effluent. *Limnology and Oceanography*, Vol. 16, No. 4, pp. 623-632.

Dustan, W.M., Tenore, K.R. 1972. Intensive outdoor culture of marine phytoplankton enriched with treated sewage effluent. *Aquaculture*. Col.1, No. 2, pp. 181-192.

Goldman, J.C., Stanley, H.I. 1974. Relative growth of different species of marine algae in wastewater-seawater mixture. *Marine Biology*. Vol. 28, No. 1, pp. 17-25.

Tài liệu trên mạng

www.sith.itb.ac.id (Indonesia) G.Suantika, M.Wuri, S. Pagi Septiana. The improvement of *Chaetoceros gracilis* culture productivity through development of commercial fertilizer.

www.scielo.br (Brazil) Rauquiro Andre A. M. da Costa, Maria Luise Koenig and Silvio Jose de Macedo. 1998. Use of secondary sewage water as a culture medium for *Chaetoceros gracilis* and *Thalassiosira* sp. (Chrysophyceae) in laboratory conditions.