

SỰ THAY ĐỔI HÌNH THÁI TẾ BÀO THEO CHU KÌ TĂNG TRƯỞNG CỦA VI TẢO SILIC *THALASSIOSIRA* SP. NUÔI TRONG MÔI TRƯỜNG NƯỚC BIỂN NHÂN TẠO

HUỲNH THỊ NGỌC NHƯ^{*}, LÊ THỊ TRUNG^{**}

TÓM TẮT

Thalassiosira sp. là một trong số các loài vi tảo có sự phát triển phong phú được tìm thấy ở vùng biển Cần Giờ.

Khi nuôi cấy *Thalassiosira* sp. trong môi trường nước biển nhân tạo Harrison (Harrison P. J., et al., 1980), kết quả cho thấy *Thalassiosira* sp. đạt được đường cong tăng trưởng điển hình với mật độ xuất phát 5 000 tb/ml và những biểu hiện rõ nét về mặt hình thái như kích thước, hình dạng, số lượng tế bào, tình trạng kết chuỗi tế bào và sắc tố.

ABSTRACT

Changes of cell morphology on growing of the marine diatom thalassiosira sp. cultured in an artificial seawater medium

Thalassiosira sp. is one of microalgae developing abundantly in Can Gio.

When they were cultured in an artificial seawater Harrison medium (Harrison P. J., et al., 1980), with some modifications, the results showed that *Thalassiosira* sp. gained the typical growth curve with the initial cell density at 5 000 cell/ml and their morphological characteristics such as cell size, form, cell quantity, chain status and pigment body etc. were also clearly observable according to their growth cycle.

1. Mở đầu

Tảo Silic phù du là các loài tảo đơn bào có kích thước hiển vi. Ở nhiều loài các tế bào nối với nhau thành chuỗi dài, một số loài khác có từng tế bào sống riêng lẻ, còn một số ít loài tiết ra chất keo bám vào các vật thể khác sống cố định, do tác động cơ học bị đứt gãy theo dòng nước trôi đi sống phù du (Trương Ngọc An, 1993). Đây là ngành

chiếm ưu thế trong nhóm thực vật phù du sinh.

Vi tảo với số lượng khổng lồ và sự hiện diện ở khắp mọi nơi đã góp phần quan trọng trong nền kinh tế của con người. Vai trò của chúng được thể hiện rõ nhất trong chuỗi thức ăn của các thủy động vật (Brow M.R., 2002).

Mặc dù vi tảo có vai trò rất quan trọng nhưng ở nước ta có rất ít nghiên cứu về sinh lý cũng như những nghiên cứu trong phòng thí nghiệm để có thể thay đổi chất lượng vi tảo cho ngày một tốt hơn. Hơn nữa việc nghiên cứu vi tảo

* Học viên Cao học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, ĐHQG TP HCM

** TS, Khoa Sinh học, Trường Đại học Sư phạm TP HCM

trong môi trường nước biển nhân tạo (NBNT) chưa được áp dụng rộng rãi, còn phụ thuộc nhiều vào nước biển tự nhiên. Mục đích của nghiên cứu này là tìm hiểu sự tăng trưởng của vi tảo trong môi trường NBNT thông qua việc quan sát hình thái tế bào và đếm số lượng tế bào.

2. Vật liệu - phương pháp

2.1. Vật liệu

Vi tảo *Thalassiosira* sp. được thu từ nước biển Cần Giờ (vùng biển ven bờ Đồng Hòa, xã Long Hòa, huyện Cần Giờ, TP Hồ Chí Minh, trong vùng tọa độ 10,4° vĩ bắc và 106,9° kinh đông) và được lưu giữ tại phòng thí nghiệm Sinh lý thực vật trường Đại học Sư phạm TP Hồ Chí Minh. Quá trình nghiên cứu cũng được thực hiện tại đây. Thí nghiệm được thực hiện từ tháng 05/2009 đến tháng 06/2009.

2.2. Phương pháp

2.2.1. Chuẩn bị môi trường

Môi trường NBNT sử dụng là môi trường Harrison (*Harrison P. J., et al., 1980*). Các dung dịch gốc vitamin và khoáng vi lượng được giữ ở nhiệt độ lạnh. Môi trường có pH = $8 \pm 0,3$ và được sử dụng trong vòng 24 giờ sau khi pha.

2.2.2. Điều kiện nuôi cấy

Các tế bào *Thalassiosira* sp. được nuôi trong phòng thí nghiệm theo phương pháp bán liên tục trong bình tam giác 250 ml chứa môi trường NBNT. Cường độ sáng 3 000 lux \pm 500 lux, chu kỳ sáng: tối 12:12, nhiệt độ 25 °C \pm 2 °C (Nguyễn Tấn Đại, 2007).

Các tế bào vi tảo được nuôi cấy qua ít nhất 3 thế hệ trong các điều kiện như trên sẽ đạt được tốc độ và chu kỳ tăng trưởng ổn định. Loài vi tảo này được xem như thích nghi với điều kiện môi trường NBNT và được dùng để bố trí thí nghiệm.

2.2.3. Quan sát hình thái tế bào

Quan sát và chụp hình tế bào vi tảo *Thalassiosira* sp. mỗi ngày dưới kính hiển vi quang học.

2.2.4. Xác định mật độ nuôi cấy thích hợp

Mật độ tế bào được xác định thông qua việc đếm số lượng tế bào mỗi ngày. Cố định bằng Lugol một lượng mẫu 2 ml, sau đó bổ sung một lượng môi trường tương đương với lượng mẫu đã lấy. Số lượng tế bào được đếm bằng buồng đếm hồng cầu có độ sâu 0,1 mm và diện tích ô vuông nhỏ nhất 1/400 mm². Mẫu được đếm dưới kính hiển vi quang học Zeiss (Guillard G.R.L., et al., 2005) ở độ phóng đại X10 và được tính toán theo công thức Andersen P, Thronsen J. (2004). Đường cong tăng trưởng của vi tảo được xác định thông qua việc đếm số lượng tế bào mỗi ngày.

Các mật độ xuất phát được khảo sát trong thí nghiệm là 2 500 tb/ml; 5 000 tb/ml; 7 500 tb/ml; 10 000 tb/ml.

3. Kết quả

3.1. Quan sát hình thái tế bào

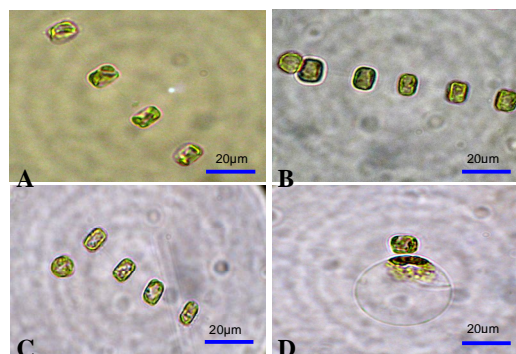
Hình thái tế bào vi tảo dưới kính hiển vi quang học từ ngày thứ 4 đến ngày thứ 7 cho thấy:

– Ở mật độ xuất phát 2500tb/ml: các tế bào kết chuỗi dài vào ngày thứ 4, thứ 5, thể sắc tố chiếm trọn thể tích tế bào, màu sắc đẹp (hình 3.1 A, B). Qua ngày thứ 6, số lượng trong chuỗi giảm đồng thời màu sắc tế bào cũng nhạt dần (hình 3.1 C) và đến ngày thứ 7 các tế bào không còn kết chuỗi mà tách riêng biệt thành những tế bào đơn kèm theo là hiện tượng giảm sắc tố tế bào. Tế bào chất dồn về sát vách tế bào hoặc thoát ra khỏi tế bào. Tế bào đi vào pha suy vong (hình 3.1 D).

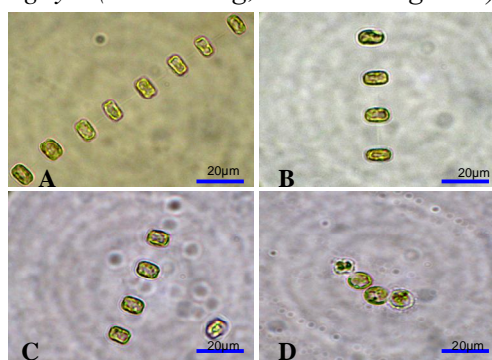
– Mật độ xuất phát 5 000 tb/ml: chuỗi tế bào dài nhất vào ngày thứ 4, thể sắc tố to, kích thước tế bào nhỏ (hình 3.2 A). Sang ngày thứ 5 và 6, tế bào to, thể sắc tố vẫn còn chiếm trọn thể tích tế bào, số lượng tế bào trong chuỗi giảm (hình 3.2 B, C). Đến ngày thứ 7, một số tế bào bắt đầu thoát sắc tố ra ngoài, một số tế bào vẫn giữ được màu sắc đẹp tuy nhiên không còn kết chuỗi nữa và bước vào pha suy vong (hình 3.2 D).

– Mật độ xuất phát 7500tb/ml: chuỗi tế bào được hình thành vào ngày thứ 4 và thể sắc tố to rõ (hình 3.3 A) nhưng sang ngày thứ 5 màu sắc tế bào bắt đầu giảm kèm theo sự giảm số lượng tế bào trong chuỗi (hình 3.3 B). Đến ngày thứ 6, các tế bào hoàn toàn rời rạc và thoát sắc tố vào ngày thứ 7 (hình 3.3 C, D).

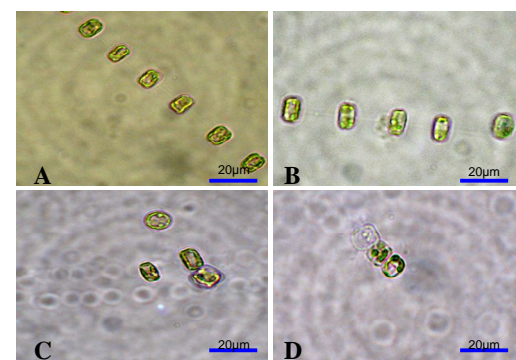
– Ở mật độ xuất phát 10 000 tb/ml: chuỗi tế bào ngắn, màu sắc tế bào đẹp, tế bào to rõ (hình 3.4 A), nhưng sang ngày thứ 5 các tế bào hoàn toàn rời nhau (hình 3.4 B) và bắt đầu suy vào ngày thứ 6, thứ 7 (hình 3.4 C, D).



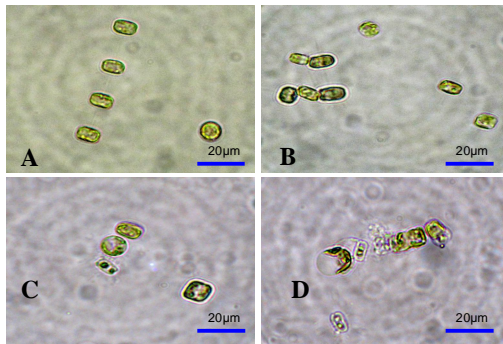
Hình 3.1. Hình dạng tế bào *Thalassiosira* sp. ở mật độ xuất phát 2 500 tb/ml dưới kính hiển vi quang học từ ngày thứ 4 đến ngày 7 (từ trái sang, từ trên xuống dưới).



Hình 3.2. Hình dạng tế bào *Thalassiosira* sp. ở mật độ xuất phát 5 000 tb/ml dưới kính hiển vi quang học từ ngày thứ 4 đến ngày 7 (từ trái sang phải, từ trên xuống).



Hình 3.3. Hình dạng tế bào *Thalassiosira* sp. ở mật độ xuất phát 7500 tb/ml dưới kính hiển vi quang học từ ngày thứ 4 đến ngày thứ 7 (từ trái sang phải, từ trên xuống dưới).



Hình 3.4. Hình dạng tế bào *Thalassiosira sp.* ở mật độ xuất phát 10 000 tb/ml dưới kính hiển vi quang học từ ngày thứ 4 đến ngày thứ 7 (từ trái sang phải, từ trên xuống dưới).

3.2. Đường cong tăng trưởng

Cả bốn mật độ xuất phát đều có pha cảm ứng là 3 ngày sau cấy chuyên.

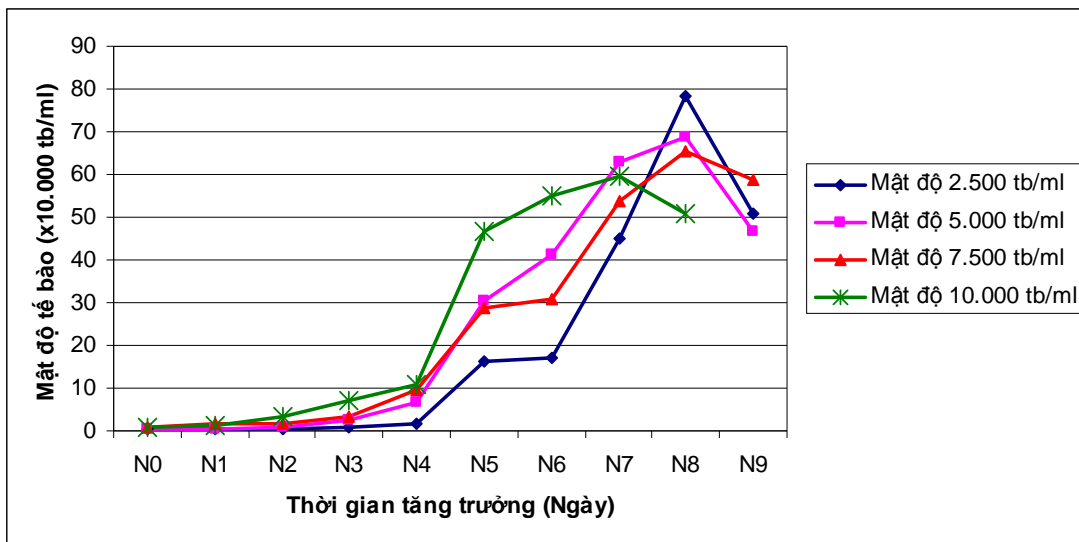
Ở mật độ xuất phát 2 500 tb/ml, tế bào bước vào pha tăng trưởng mạnh rất nhanh, mật độ tế bào thấp hơn so với 3 mật độ còn lại nhưng sang ngày thứ 6

mật độ tế bào tăng vọt nhanh và đạt cực đại vào ngày thứ 8 sau đó bước vào pha suy vong.

Ở mật độ xuất phát 10 000 tb/ml, số lượng tế bào ban đầu luôn cao hơn các mật độ còn lại. Nhưng giá trị cực đại vào ngày thứ 7 lại thấp hơn, sau đó tế bào cũng bước vào pha suy vong.

Các mật độ xuất phát 5 000 tb/ml và 7 500 tb/ml đều cho đường cong tăng trưởng ổn định. Tuy nhiên, pha tăng trưởng mạnh ở mật độ 5 000 tb/ml nhanh và cho số lượng tế bào cao hơn mật độ 7 500 tb/ml. Cả hai mật độ này đều đạt cực đại vào ngày thứ 8 và sau đó bước vào pha suy vong (hình 3.5).

Như vậy, mật độ thích hợp cho sự tăng trưởng của *Thalassiosira sp.* là 5 000 tb/ml.



Hình 3.5. Đường cong tăng trưởng của *Thalassiosira sp.* trong môi trường NBNT với các mật độ xuất phát khác nhau.

4. Thảo luận

Trong môi trường NBNT, vi tảo *Thalassiosira* sp. phát triển khá tốt dưới các điều kiện nghiên cứu của phòng thí nghiệm. Đường cong tăng trưởng có hình chữ S điển hình với pha tăng trưởng mạnh bắt đầu từ ngày thứ 4 và kéo dài trong khoảng 4-5 ngày sau đó đi vào pha suy vong. Thể sắc tố đầy đặn chiếm trọn thể tích tế bào ở những ngày đầu của pha tăng trưởng mạnh sau đó nhạt dần và mất màu. Đây là dấu hiệu của những tế bào bị suy yếu.

Mật độ nuôi cấy vi tảo trong điều kiện phòng thí nghiệm ảnh hưởng rõ nét đến sự tăng trưởng của nó, biểu hiện qua đường cong tăng trưởng. Mật độ xuất phát càng cao thì chu kỳ tăng trưởng của vi tảo càng ngắn với tốc độ tăng trưởng diễn ra nhanh hơn và chúng nhanh chóng đi vào pha suy vong. Bên cạnh đó hình thái tế bào ít có sự kết chuỗi, hoặc chuỗi ngắn. Có thể là do mật độ cao, số lượng tế bào nhiều và lượng chất dinh dưỡng không đủ cho sự tăng trưởng của vi tảo cũng như không đủ để kết chuỗi dẫn đến phần lớn các tế bào ở trạng thái rời rạc. Hoặc có thể đây là trạng thái sinh lý của vi tảo, giúp cho chúng thích nghi với điều kiện thiếu

dinh dưỡng và sự cạnh tranh giữa các tế bào.

Mật độ xuất phát 5 000 tb/ml cho đường cong tăng trưởng hình chữ S và cho hình thái tế bào qua các ngày tốt hơn so với các mật độ còn lại. Điều này chứng tỏ mật độ tế bào cũng ảnh hưởng khá lớn đến sự tăng trưởng của vi tảo cũng như tình trạng sinh lý của các tế bào trong môi trường NBNT. Khi trong môi trường thiếu chất dinh dưỡng, các tế bào có xu hướng tạo thành bào tử để duy trì sự sống.

5. Kết luận

Sự tăng trưởng của vi tảo biển *Thalassiosira* sp. trong môi trường NBNT cho kết quả khá tốt với đường cong tăng trưởng hình chữ S điển hình.

Mật độ thích hợp cho sự tăng trưởng của vi tảo *Thalassiosira* sp. trong điều kiện phòng thí nghiệm là 5 000 tb/ml.

Ở các giai đoạn tăng trưởng với tốc độ cao, các tế bào vi tảo thường kết thành chuỗi dài, thể sắc tố phát triển đầy đủ. Khi suy giảm tăng trưởng hoặc suy vong, tế bào thường tách khỏi chuỗi, thể sắc tố tiêu biến dần cho đến khi tế bào chết hẳn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Trương Ngọc An (1993), *Phân loại tảo Silic phù du biển Việt Nam*, Hà Nội: Khoa học và Kỹ thuật.
2. Nguyễn Tấn Đại (2007), *Khảo sát ảnh hưởng của một số điều kiện nuôi trồng trên sự tăng trưởng của một số loài tảo silic ở thủy vực ven bờ biển Cần Giờ, TP. Hồ Chí Minh*, Luận văn Cao học.

3. Andersen P, Throndsen J. (2004), *Estimating cell numbers*, In: Hallegraeef GM, Anderson.
4. Brow M.R. (2002), *Nutritional value and use of microalgae in aquaculture*.
5. Guillard G.R.L., Sieracki M.S (2005), *Counting cells in cultures with the light microscope*, In: Andersen R.A. (ed.) *Algal culturing techniques*, Amsterdam: Elsevier Academic Press, pp. 239-252.
6. Harrison P. J., Waters R. E., Taylor F. J. R., (1980), A broad spectrum artificial seawater medium for coastal and open ocean phytoplankton, *J. Phycol.* 16: 28-35.