

# Sự sinh trưởng và hàm lượng carrageenan của cây rong Bắp sú *Kappaphycus striatus* nuôi trồng ở điều kiện bán tự nhiên và tự nhiên

Vũ Thị Mơ<sup>1</sup>, Hoàng Thanh Tùng<sup>2</sup>, Nguyễn Thị Như Mai<sup>3</sup>, Hoàng Đắc Khải<sup>3</sup>, Trần Mai Đức<sup>1</sup>, Đặng Xuân Cường<sup>4</sup>, Lê Trọng Nghĩa<sup>1</sup>, Trần Văn Huynh<sup>1</sup>, Võ Thành Trung<sup>1</sup>, Hồ Sơn Lâm<sup>1</sup>, Đoàn Văn Thân<sup>1</sup>, Đỗ Mạnh Cường<sup>3</sup>, Vũ Quốc Luận<sup>3</sup>, Nguyễn Ngọc Lâm<sup>1</sup>, Dương Tấn Nhựt<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup>Viện Hải dương học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, 1 Cầu Đá, phường Vĩnh Nguyên, TP Nha Trang, tỉnh Khánh Hòa, Việt Nam

<sup>2</sup>Trường Đại học Đà Lạt, 1 Phù Đổng Thiên Vương, phường 8, TP Đà Lạt, tỉnh Lâm Đồng, Việt Nam

<sup>3</sup>Viện Khoa học sự sống, 9/621 Võ Nguyên Giáp, phường Linh Trung, TP Thủ Đức, TP Hồ Chí Minh, Việt Nam

<sup>4</sup>Trường Đại học Công Thương TP Hồ Chí Minh, 140 Lê Trọng Tấn, phường Tây Thạnh, quận Tân Phú, TP Hồ Chí Minh, Việt Nam

Ngày nhận bài 2/3/2022; ngày chuyển phân biện 4/3/2022; ngày nhận phân biện 24/3/2022; ngày chấp nhận đăng 1/4/2022

## Tóm tắt:

Trong nghiên cứu này, cây rong Bắp sú (*Kappaphycus striatus*) 8 tuần tuổi có nguồn gốc nuôi cấy *in vitro* được nuôi trồng ở điều kiện bán tự nhiên và tự nhiên nhằm đánh giá khả năng sinh trưởng, phát triển và hàm lượng carrageenan của cây rong. Ở điều kiện bán tự nhiên, cây rong có nguồn gốc nuôi cấy *in vitro* (8 nhánh/cây, chiều cao đạt 3,01 cm và khối lượng tươi đạt 1,23 g) nuôi trồng dưới điều kiện ánh sáng tự nhiên giảm 1/2 cường độ ánh sáng bằng lưới xanh đen ( $250 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ ) cho tỷ lệ sống sót, khối lượng tươi, tốc độ tăng trưởng (TĐTT) cao hơn khi nuôi trồng trong các nguồn chiếu sáng khác (đèn huỳnh quang và ánh sáng tự nhiên) sau 8 tuần nuôi trồng. Tiếp theo, rong được nuôi trồng trong điều kiện tự nhiên tại vịnh Vân Phong (Khánh Hòa) theo phương pháp giàn phao nổi. Kết quả cho thấy, sau 10 tuần nuôi trồng, cây rong có nguồn gốc từ nuôi cấy *in vitro* có khối lượng tươi và khô cao gấp 5,25 lần, TĐTT tích lũy gấp 4,42 lần, hàm lượng carrageenan đạt 28,83%, vượt trội hơn so với cây rong tự nhiên. Nghiên cứu này đã chứng minh được rằng, khả năng sinh trưởng và hàm lượng carrageenan của rong Bắp sú có thể cải thiện thông qua nuôi cấy *in vitro*.

**Từ khóa:** bán tự nhiên, carrageenan, *Kappaphycus striatus*, tự nhiên.

**Chỉ số phân loại:** 1.6, 4.6

## Growth and carrageenan content of *Kappaphycus striatus* micropropagules in semi-natural and natural conditions

Thi Mo Vu<sup>1</sup>, Thanh Tung Hoang<sup>2</sup>, Thi Nhu Mai Nguyen<sup>3</sup>, Dac Khai Hoang<sup>3</sup>, Mai Duc Tran<sup>1</sup>, Xuan Cuong Dang<sup>4</sup>, Trong Nghia Le<sup>1</sup>, Van Huynh Tran<sup>1</sup>, Thanh Trung Vo<sup>1</sup>, Son Lam Ho<sup>1</sup>, Van Than Doan<sup>1</sup>, Manh Cuong Do<sup>3</sup>, Quoc Luan Vu<sup>3</sup>, Ngoc Lam Nguyen<sup>1</sup>, Tan Nhut Duong<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup>Institute of Oceanography, Vietnam Academy of Science and Technology, 1 Cau Da Street, Vinh Nguyen Ward, Nha Trang City, Khanh Hoa Province, Vietnam

<sup>2</sup>Da Lat University, 1 Phu Dong Thien Vuong Street, Ward 8, Da Lat City, Lam Dong Province, Vietnam

<sup>3</sup>Institute of Life Science, Vietnam Academy of Science and Technology, 9/621 Vo Nguyen Giap Street, Linh Trung Ward, Thu Duc City, Ho Chi Minh City, Vietnam

<sup>4</sup>Ho Chi Minh City University of Industry and Trade, 140 Le Trong Tan Street, Tay Thanh Ward, Tan Phu District, Ho Chi Minh City, Vietnam

Received 2 March 2022; revised 24 March 2022; accepted 1 April 2022

## Abstract:

In this study, *in vitro* 8-week-old micropropagules of *K. striatus* were grown in semi-natural and natural conditions to evaluate the growth, development, and carrageenan content of the Seaweed. At the semi-natural conditions, *in vitro* 8-week-old micropropagules of *K. striatus* (8 branches plant, 3.01 cm in height, and 1.23 g in fresh weight) under natural light reduced to 1/2 light intensity by using a blue-black net ( $250 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ), showed higher survival rate, fresh weight, and growth rate than under other lighting conditions (fluorescent lamp and natural light) after 8 weeks of culture. Then, seaweed was grown in the field in Van Phong bay (Khanh Hoa province) by the floating method. The results showed that the growth (5.25-fold of fresh and dry weight; 4.42-fold of growth rate) and carrageenan content (28.83%) of *in vitro* seaweed were higher than those of the natural seaweed after 10 weeks of culture. This study demonstrated that the growth and carrageenan content of *K. striatus* was improved by the *in vitro* culture method.

**Keywords:** carrageenan, *Kappaphycus striatus*, natural, semi-natural.

**Classification numbers:** 1.6, 4.6

\*Tác giả liên hệ: Email: duongtannhut@gmail.com

## 1. Đặt vấn đề

Rong Bắp sú thuộc ngành rong đỏ (Rhodophyta), phân bố chủ yếu ở vùng biển nhiệt đới, trong các thủy vực biển hờ ven bờ nơi có sự trao đổi nước, độ mặn cao ổn định, nước trong và cường độ ánh sáng cao... [1]. Rong Bắp sú nổi bật với hàm lượng cao chất xơ, sắt, axit béo omega-3 [2] và các hợp chất chống oxy hóa [3]. Đặc biệt, nó còn là nguồn cung cấp nhiều hợp chất có hoạt tính sinh học quý giá, có tiềm năng ứng dụng trong các ngành dược phẩm và sinh học [4]. Ngoài ra, rong Bắp sú có chứa lượng lớn carrageenan - là một loại colloid nhóm phycocolloid được chiết xuất từ rong đỏ thuộc chi Kappaphycus. Carrageenan có cấu trúc phân tử dạng polysaccharide và đặc tính nổi bật là khả năng liên kết mạnh với các phân tử protein từ nguồn gốc động vật và thực vật [5]. Với những đặc tính nổi bật, carrageenan đã trở thành nguyên liệu quan trọng được khai thác trong nhiều ngành khác nhau, bao gồm thực phẩm, dược phẩm và công nghệ phủ bề mặt [6].

Vào năm 2005, Việt Nam đã thực hiện thành công việc du nhập và nuôi trồng rong Bắp sú có xuất xứ từ Philippines. Trong giai đoạn đầu sau khi được đưa vào môi trường mới, loài rong này cho thấy TĐTT cao và có thể canh tác quanh năm tại các khu vực ven biển nơi độ mặn duy trì ở mức cao và ổn định. Rong Bắp sú là loài có khả năng chịu mặn hẹp, với khoảng độ mặn thích hợp cho sự sinh trưởng và phát triển dao động trong khoảng 27-33‰. Nếu độ mặn giảm xuống dưới 20‰ trong thời gian kéo dài, sự tăng trưởng của rong sẽ bị đình trệ và rong có thể chết sau khoảng một tuần; ngược lại, khi độ mặn vượt quá ngưỡng 35 đến 40‰, sự phát triển của rong cũng bị suy giảm rõ rệt [7]. Khoảng nhiệt độ nước tối ưu nhất cho sự sinh trưởng và phát triển của rong bắp sú nằm trong khoảng từ 25 đến 30°C; khi nhiệt độ nước vượt quá 31°C, TĐTT giảm đáng kể, trong khi ở nhiệt độ dưới 15°C, rong có thể bị chết [8]. Nhu cầu về muối khoáng, đặc biệt là nitơ và phospho, của rong bắp sú tăng cao dưới điều kiện nhiệt độ cao và cường độ ánh sáng mạnh. Tuy nhiên, trong môi trường nước biển tự nhiên với khả năng trao đổi nước thường xuyên, lượng khoáng sẵn có thường đã đáp ứng đủ cho quá trình sinh trưởng và phát triển của rong [7]. Về nhu cầu ánh sáng, cường độ ánh sáng thích hợp cho rong Bắp sú dao động từ 585 đến 975  $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ , cường độ quá cao hoặc quá thấp đều ảnh hưởng đến sức sống của rong [9]. Ngoài ra, rong Bắp sú phát triển thuận lợi nhất tại các khu vực có điều kiện trao đổi nước liên tục.

Mặc dù đã được du nhập và nuôi trồng thành công, cho đến nay, kỹ thuật nhân giống duy nhất được áp dụng đối với rong Bắp sú vẫn là phương pháp sinh sản sinh dưỡng. Việc duy trì hình thức nhân giống vô tính trong thời gian dài, thiếu quá trình chọn lọc, đã dẫn đến tình trạng suy thoái giống và giảm sức sống của rong. Ngoài ra, do chịu tác động của các yếu tố môi trường, loài rong này đã ghi nhận sự biến

đổi không chỉ về TĐTT mà còn về hàm lượng cũng như chất lượng carrageenan. Đặc biệt, trong bối cảnh biến đổi khí hậu diễn biến phức tạp những năm gần đây, nguy cơ bùng phát dịch bệnh ngày càng gia tăng, ảnh hưởng tiêu cực đến năng suất và chất lượng rong nuôi trồng [5, 10].

Trong số các kỹ thuật được áp dụng trong nghiên cứu nhân giống rong biển, kỹ thuật nuôi cấy *in vitro* được đánh giá là phương pháp ít chịu ảnh hưởng của điều kiện thời tiết, tạo ra số lượng lớn cây giống, đồng thời tạo ra nguồn giống khỏe, ít nhiễm bệnh, có khả năng kháng bệnh cao, năng suất vượt trội, thích nghi tốt với điều kiện nghèo dinh dưỡng [11, 12]. Hiện nay, có nhiều phương pháp nhân giống *in vitro* đối với rong biển, bao gồm: tái sinh chồi trực tiếp, nuôi cấy tế bào đơn, phát sinh phôi vô tính trực tiếp và phát sinh phôi vô tính gián tiếp thông qua mô sẹo [11, 13, 14]. Giai đoạn cuối cùng của quy trình nhân giống *in vitro* là chuyển cây con ra môi trường tự nhiên (*ex vitro*). Tỷ lệ sống sót của cây con sau khi chuyển ra điều kiện *ex vitro* phụ thuộc vào nhiều yếu tố, trong đó có tình trạng sinh lý, kích thước cây con và các yếu tố môi trường, đặc biệt là nguồn ánh sáng [15]. Trong số các yếu tố ảnh hưởng đến giai đoạn thích nghi của cây rong, kích thước cây con và nguồn ánh sáng là hai yếu tố then chốt ảnh hưởng đến khả năng sống sót khi chuyển sang điều kiện môi trường tự nhiên. Việc xác định kích thước cây con lý tưởng trước khi đưa ra môi trường nuôi trồng là yếu tố quan trọng giúp nâng cao tỷ lệ sống và nâng cao hiệu quả sản xuất. Thêm vào đó, thiết lập hệ thống chiếu sáng thích hợp cho từng giai đoạn phát triển của cây con nuôi cấy *in vitro* sẽ tạo điều kiện để cây dần làm quen với ánh sáng tự nhiên, hỗ trợ quá trình thích nghi trước khi chuyển ra môi trường bên ngoài, từ đó hỗ trợ khả năng quang hợp và phát triển. Do được nuôi trong điều kiện vô trùng với ánh sáng và nhiệt độ thấp, cây rong *in vitro* cần phải trải qua một quá trình điều chỉnh để thích ứng dần với những điều kiện môi trường khắc nghiệt hơn. Quá trình này thường diễn ra trong các bể kính, nơi các yếu tố như nhiệt độ và cường độ ánh sáng được điều chỉnh dần dần để gần với điều kiện tự nhiên. Nghiên cứu này được thực hiện với mục tiêu đánh giá sự phát triển và chất lượng của cây con nuôi cấy mô trong môi trường bán tự nhiên và tự nhiên, đồng thời so sánh với cây phát triển tự nhiên ngoài môi trường.

## 2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

### 2.1. Vật liệu

Cây con 8 tuần tuổi có nguồn gốc nuôi cấy *in vitro* (kích thước khoảng 2,5 cm, khối lượng khoảng 1 g và có 8 nhánh) của dòng rong nâu *Sacol* thuộc loài rong Bắp sú, đang được nuôi trồng tại Phòng Thí nghiệm vật liệu hữu cơ từ tài nguyên biển (Viện Nghiên cứu và Ứng dụng Công nghệ Nha Trang). Nguồn gốc rong *in vitro* là rong Bắp sú bố mẹ đã sinh trưởng tại vịnh Vân Phong, Khánh Hòa từ năm 2005.

## 2.2. Phương pháp nghiên cứu

Tác động của loại cây con nuôi cấy *in vitro* đối với sự phát triển của rong Bắp sú trong giai đoạn nuôi trồng bán tự nhiên: Cây rong Bắp sú 8 tuần tuổi có nguồn gốc từ nuôi cấy *in vitro* của 6 loại khác nhau (kích thước, số nhánh và khối lượng tươi) được chuyển ra nuôi trồng *ex vitro* nhằm đánh giá sự phát triển của rong ở giai đoạn nuôi trồng bán tự nhiên (bảng 1). Rong được cố định vào mảnh vụn san hô hoặc đá (kích thước 5×10 cm), đặt trong bể kính có thể tích 100 l (kích thước 25×35×50 cm), sục khí liên tục bằng máy để hàm lượng oxy hòa tan đạt 7,8-11,5 mg.l<sup>-1</sup>, nhiệt độ 25-27°C và được đặt dưới nguồn ánh sáng tự nhiên giảm 1/2 cường độ ánh sáng bằng lưới xanh đen. Theo dõi sự phát triển của rong, màu nước hàng ngày. Môi trường nuôi trồng rong là PES [9] được chuẩn bị bằng nước biển có độ mặn 30-35‰ đã được lọc qua lưới có kích thước lỗ 22 μm.

**Bảng 1. Phân loại cây rong *in vitro* dựa trên các chỉ tiêu sinh trưởng để sử dụng làm nguồn mẫu cho thí nghiệm.**

Loại cây	Số nhánh (nhánh/cây)	Chiều cao (cm)	Khối lượng tươi (g)
1	3,00±0,00	0,52±0,06	0,36±0,08
2	4,00±0,00	1,00±0,09	0,53±0,06
3	5,00±0,00	1,49±0,10	0,63±0,12
4	6,00±0,00	2,06±0,16	0,86±0,05
5	7,00±0,00	2,52±0,10	0,96±0,05
6	8,00±0,00	3,01±0,12	1,23±0,06

Tác động của nguồn ánh sáng đối với sự sinh trưởng của rong Bắp sú có nguồn gốc từ nuôi cấy *in vitro* ở giai đoạn nuôi trồng bán tự nhiên: Cây con 8 tuần tuổi có nguồn gốc từ nuôi cấy *in vitro* được cố định vào mảnh vụn san hô hoặc đá (kích thước 5×10 cm), đặt trong bể kính có thể tích 100 l (kích thước 25×35×50 cm), sục khí liên tục bằng máy để hàm lượng oxy hòa tan luôn duy trì 7,8-11,5 mg.l<sup>-1</sup>, nhiệt độ 25-27°C. Ánh sáng cung cấp cho rong từ các nguồn ánh sáng khác nhau (bảng 2) nhằm khảo sát tác động của nguồn ánh sáng đối với sự sinh trưởng cây con có nguồn gốc từ nuôi cấy *in vitro* ở giai đoạn nuôi trồng bán tự nhiên. Chu kỳ chiếu sáng 12 giờ/ngày đối với các nghiệm thức sử dụng hệ thống chiếu sáng. Theo dõi sự phát triển của rong và màu nước hàng ngày. Môi trường nuôi trồng là dung dịch PES được pha bằng nước biển có độ mặn 30-35‰ đã được lọc qua lưới có kích thước lỗ 22 μm.

Trong thí nghiệm ảnh hưởng của loại cây con và nguồn ánh sáng, thay toàn bộ nước và bổ sung môi trường dinh dưỡng 1 lần/tuần. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần với mỗi nghiệm thức 3 bể kính, mỗi bể kính chứa 10 cây.

**Bảng 2. Các đặc tính của nguồn ánh sáng.**

Nguồn ánh sáng	Đặc điểm	Cường độ ánh sáng (μmol.m <sup>-2</sup> .s <sup>-1</sup> )
1	Ánh sáng trắng đèn huỳnh quang	55
2	Ánh sáng trắng đèn huỳnh quang	75
3	Ánh sáng tự nhiên có giảm 1/2 cường độ ánh sáng bằng mái che (mái tôn trong và lưới màu xanh đen)	250
4	Ánh sáng tự nhiên	500

Giai đoạn nuôi trồng ngoài tự nhiên tại vịnh Vân Phong: Sau giai đoạn nuôi trồng bán thích nghi, các cây rong con đạt chất lượng tốt nhất từ các nghiệm thức tối ưu được chuyển ra môi trường tại vịnh Vân Phong, tỉnh Khánh Hòa để đánh giá tình trạng sinh trưởng và sự phát triển của cây giống. Các bụi rong có nguồn gốc từ nuôi cấy *in vitro* và các bụi đối chứng (có nguồn gốc từ tự nhiên) được tách thành các cụm có khối lượng khoảng 50 g/bụi, sau đó buộc cố định vào dây thừng xanh với khoảng cách giữa các bụi là 40 cm và dây rong được đặt trên giàn ở độ sâu cách mặt nước 50 cm [5]. Vị trí vịnh Vân Phong nằm ở tọa độ 109°10' Đông và 12°29' Bắc, có đặc điểm nền đáy chủ yếu là rạn san hô chết và đá sỏi lớn; các yếu tố môi trường như: nhiệt độ nước dao động 26-28°C, pH 8,04-8,20 và cường độ ánh sáng 257-325 μmol.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup>. Trong quá trình nuôi trồng, cứ sau mỗi 2 tuần nuôi, rong được đánh giá các chỉ tiêu sinh trưởng, bao gồm khối lượng tươi (g), khối lượng khô (g) và TĐTT.

Đánh giá hàm lượng và chất lượng carrageenan: Thu thập rong có nguồn gốc từ nuôi cấy *in vitro* và ngoài tự nhiên được nuôi ngoài tự nhiên ở vịnh Vân Phong tại thời điểm có tỷ lệ tích lũy chất khô cao nhất. Rong thu về được rửa sạch dưới vòi nước nhiều lần nhằm loại bỏ cát, đá, tảo tạp và sinh vật bám. Sau đó, rong được làm khô bằng cách phơi ở điều kiện phòng đến khi khối lượng không đổi. Các mẫu rong khô này được sử dụng để phân tích hàm lượng và đánh giá chất lượng carrageenan.

Quy trình xác định hàm lượng carrageenan được thực hiện như sau: Cân 20 g mẫu rong khô, sau đó cho vào 400 ml dung dịch KOH 6% và đun ở 80°C trong vòng 2 giờ. Tiếp đến, mẫu rong được nấu tiếp với 400 ml nước cất ở nhiệt độ 90°C trong thời gian 2 giờ. Dịch chiết thu được sau đó được lọc qua vải để loại bỏ bã, phần dịch lọc được gel hóa bằng cách bổ sung dung dịch KCl 0,2%, sau đó trải qua quá trình đông lạnh và rã đông tối thiểu hai lần nhằm tăng hiệu quả gel hóa. Cuối cùng, carrageenan được sấy ở nhiệt độ 60°C cho đến khi khối lượng ổn định [16].

Hàm lượng carrageenan được xác định bằng công thức sau:

$$HL_c = M_c/M_r \times 100$$

trong đó: HL<sub>c</sub> (%): Hàm lượng carrageenan; M<sub>c</sub> (g): Khối lượng carrageenan thu được; M<sub>r</sub> (g): Khối lượng khô của rong.

Đo sức đông: Cân 1,5 g carrageenan, thêm vào 100 ml nước cất và gia nhiệt ở 70°C trong 30 phút. Sau khi thu được

dung dịch đồng nhất, đổ dung dịch vào đĩa petri đến đầy. Đĩa petri chứa mẫu carrageenan sau đó được đặt lên thiết bị đo sức đông Rheo Meter (Model CR-500DX, Sun Scientific Co., Ltd., Nhật Bản) và tiến hành đo tại 3 vị trí khác nhau trên bề mặt đĩa [17].

**Đo độ nhớt:** Tương tự, cân 1,5 g carrageenan, bổ sung 100 ml nước cất và gia nhiệt ở 70°C trong 30 phút để thu được dung dịch đồng nhất. Dung dịch sau đó được chuyển vào cốc có dung tích 100 ml và đặt dưới máy đo độ nhớt DV-E Viscometer (Mỹ) để tiến hành đo; kết quả được ghi nhận theo thông số hiển thị trên thiết bị [17].

**Các chỉ tiêu theo dõi:** Xác định khối lượng tươi của rong: Khối lượng tươi của rong Bắp sú được xác định bằng cân đồng hồ có giới hạn tối đa 500 g và độ chia nhỏ nhất 5 g. Trước khi tiến hành cân, rong được thấm khô bằng giấy để loại bỏ lượng nước tự do trên bề mặt; xác định khối lượng khô: Sau khi xác định khối lượng tươi, mẫu rong được sấy khô trong tủ sấy ở nhiệt độ từ 60 đến 70°C cho đến khi đạt khối lượng không đổi. Sau đó, mẫu được cân để xác định khối lượng khô.

TĐTT của rong Bắp sú được tính theo công thức của C.E.P. Penniman và cs (1986) [18] như sau:

$$GR = [(W_t/W_0)^{1/t} - 1] \times 100$$

trong đó: GR: TĐTT của rong Bắp sú (%/ngày); t: Thời gian giữa hai lần cân (ngày);  $W_0$ : Khối lượng tươi ban đầu của rong Bắp sú (g);  $W_t$ : Khối lượng tươi rong Bắp sú sau thời gian t ngày (g).

Ngoài ra, tỷ lệ tích lũy chất khô (%) được xác định là tỷ số giữa khối lượng khô và khối lượng tươi của rong.

### 2.3. Xử lý số liệu

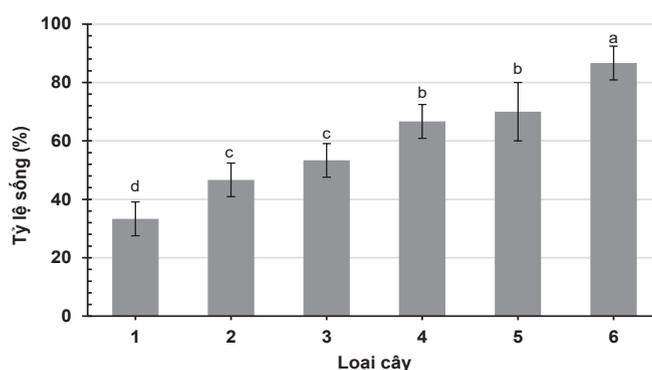
Thí nghiệm được thiết kế theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên, gồm ba lần lặp, mỗi nghiệm thức gồm 30 mẫu. Dữ liệu thu thập được xử lý bằng Microsoft Excel 2010, sau đó tiến hành phân tích phương sai một yếu tố (ANOVA) và kiểm định sự khác biệt giữa các trung bình bằng phép thử Duncan ở mức ý nghĩa  $p < 0,05$  [19] sử dụng phần mềm SPSS 16.0.

## 3. Kết quả và bàn luận

### 3.1. Sự sinh trưởng của rong Bắp sú *in vitro* ở giai đoạn nuôi trồng bán tự nhiên

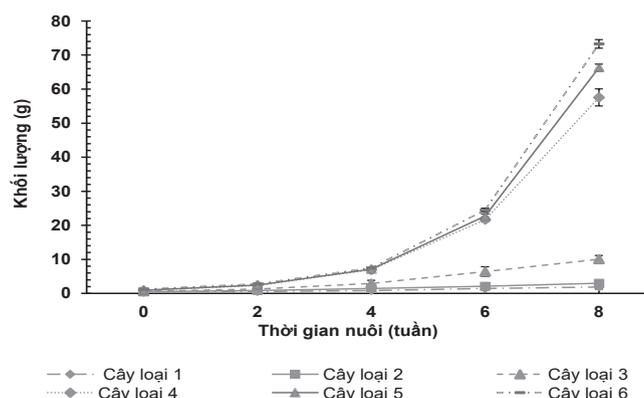
Kết quả sau 8 tuần nuôi trồng ở điều kiện bán tự nhiên, sự sinh trưởng và phát triển của loại cây rong số 6 (8 nhánh; kích thước và khối lượng lần lượt là 3,01 cm và 1,23 g) tốt nhất so với các loại cây được thí nghiệm còn lại. Số nhánh/cây, kích thước và khối lượng của các cây rong thuộc sáu loại có nguồn gốc nuôi cấy *in vitro* đã ảnh hưởng đến tỷ lệ sống của cây con sau 8 tuần nuôi trồng ở điều kiện bán tự nhiên. Từ các chỉ tiêu theo dõi và được trình bày ở các hình 1-3, có thể thấy loại cây khi đưa ra ngoài nuôi thích nghi có

vai trò quyết định đối với quá trình sinh trưởng. Nhìn chung, khả năng sinh trưởng tăng dần khi kích thước, số nhánh và khối lượng của cây giống tăng. Cây con có kích thước lớn thường có tỷ lệ sống sót cao hơn và TĐTT tốt hơn so với cây con có kích thước nhỏ. Cây con rong nâu *Saccol* loại 6 đạt tỷ lệ sống cao nhất: 86,67±5,77%. Tiếp theo là cây con loại 4 và 5 có tỷ lệ sống đạt 66,67±5,77 đến 70,00±10%. Tỷ lệ sống thấp nhất là cây loại 1 đạt 33,33±5,77% (hình 1).



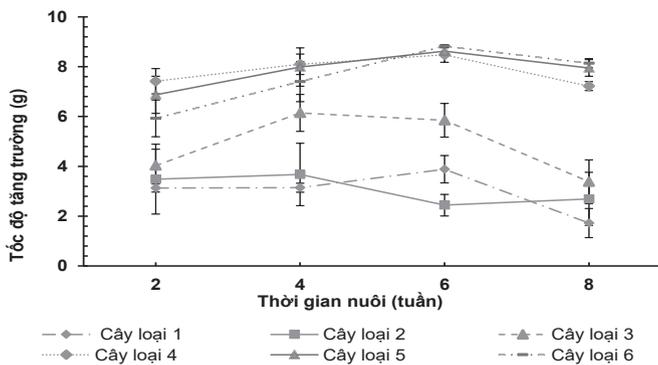
**Hình 1. Tác động của loại cây con rong nâu *Saccol in vitro* đến tỷ lệ sống ở giai đoạn nuôi trồng bán tự nhiên sau 8 tuần nuôi trồng.** Các chữ cái khác nhau (a, b, c, d) trên các cột thể hiện sự khác biệt thống kê với phép thử Duncan (với  $p < 0,05$ ). Cây loại 1: số nhánh 3,00±0,00 nhánh/cây; chiều cao 0,52±0,06 cm; khối lượng tươi 0,36±0,08 g; cây loại 2: số nhánh 4,00±0,00 nhánh/cây; chiều cao 1,00±0,09 cm; khối lượng tươi 0,53±0,06 g; cây loại 3: số nhánh 5,00±0,00 nhánh/cây; chiều cao 1,49±0,10 cm; khối lượng tươi 0,63±0,12; cây loại 4: số nhánh 6,00±0,00 nhánh/cây; chiều cao 2,06±0,16 cm; khối lượng tươi 0,86±0,05; cây loại 5: số nhánh 7,00±0,00 nhánh/cây; chiều cao 2,52±0,10 cm; khối lượng tươi 0,96±0,05; cây loại 6: số nhánh 8,00±0,00 nhánh/cây; chiều cao 3,01±0,12 cm; khối lượng tươi 1,23±0,06.

Khối lượng tươi của các loại cây *in vitro* khác nhau nuôi ở điều kiện bán tự nhiên khác nhau sau 8 tuần nuôi. Các loại cây con đều có khối lượng tươi thấp ở những tuần đầu nuôi trồng. Đến tuần nuôi thứ 6, khối lượng cây con tăng lên rõ rệt. Kết thúc 8 tuần thí nghiệm, cây con loại 6 có khối lượng tươi cao nhất (73,27±1,27 g), tiếp theo là cây con loại 5 (66,33±1,02 g). Khối lượng tươi thấp nhất là cây con loại 1 và 2, tương ứng đạt 1,87±0,60 g và 3,00±1,00 g (hình 2).



**Hình 2. Tác động của loại cây con rong nâu *Saccol in vitro* đối với khối lượng tươi ở giai đoạn nuôi trồng bán tự nhiên sau 8 tuần nuôi trồng.**

Tương tự như tỷ lệ sống và khối lượng tươi của rong, loại cây giống ban đầu ảnh hưởng đến TĐTT sau 8 tuần nuôi cấy. TĐTT của các loại cây con biến động ở các tuần nuôi, xu hướng chung là giai đoạn đầu TĐTT thấp, sau đó tăng lên vào tuần nuôi thứ 4 và 6 và giảm dần ở tuần nuôi thứ 8. Xét cả quá trình nuôi, TĐTT tích lũy thấp nhất là cây con loại 1 và 2 ( $2,97 \pm 0,23\%/ngày$  và  $3,07 \pm 0,66\%/ngày$ , tương ứng), rong phân nhánh ít, cây còi cọc và chậm phát triển (hình 3, hình 4A và 4B). Tiếp theo, cây con loại 3 có TĐTT tích lũy đạt  $5,08\%/ngày$  với đặc điểm cây phân nhánh ít (hình 3 và hình 4C). Cây loại 4, 5, 6 có TĐTT cao nhất đạt ( $7,57 \pm 0,45$  đến  $7,86 \pm 0,51\%/ngày$ ), cao hơn đáng kể so với TĐTT của các loại cây còn lại, cây rong sinh trưởng tốt, ra nhiều nhánh thứ cấp, đầu nhánh vót nhọn, thân rong mập và rong cuộn lại thành một cụm lớn (hình 3 và hình 4D-4F).



Hình 3. Tác động của chất lượng cây con rong nâu *Sacol* *in vitro* đến tốc độ tăng trưởng ở giai đoạn nuôi trồng bán tự nhiên sau 8 tuần nuôi trồng.



Hình 4. Hình thái của cây con dòng rong nâu *Sacol*, có nguồn gốc từ nuôi cấy *in vitro*, được quan sát từ các cây khác nhau sau 8 tuần nuôi trồng ở giai đoạn thích nghi. Các cây được đánh số từ 1 đến 6, tương ứng với các hình A, B, C, D, E, F.

Kết quả cho thấy rằng, các cây con ban đầu có kích thước từ 2 cm trở lên cho khả năng sống sót rất cao, trong khi cây con dưới 2 cm sinh trưởng kém và có tỷ lệ chết cao. Điều này có thể là do các cây có kích thước lớn có đặc điểm cây khô, các nhánh rong già. Khi chuyển ra nuôi trồng ở điều kiện bán tự nhiên chúng dễ dàng thích nghi hơn. Mặc dù, điều kiện bán tự nhiên khác biệt rất nhiều so với điều kiện *in vitro*, nhưng do có kích thước lớn, khỏe nên cây vẫn chống

chịu được với những thay đổi đột ngột về các điều kiện môi trường xung quanh như môi trường nghèo dinh dưỡng, nhiều nguồn bệnh và cường độ ánh sáng cao. Điều này làm cho cây yếu dần nếu không cung cấp đủ dinh dưỡng cho cây. Tuy nhiên, điều quan trọng là cây có khả năng chống chịu tốt mới đáp ứng được điều kiện khắc nghiệt bán tự nhiên, các cây có kích thước lớn thì khả năng chống chịu tốt nên cây nhanh chóng phục hồi và nhanh phát triển. Hơn nữa, điều kiện bên ngoài thoáng, cây lại có số nhánh nhiều và diện tích tiếp xúc lớn, khả năng quang hợp tốt nên cây sinh trưởng nhanh và gia tăng kích thước nhiều.

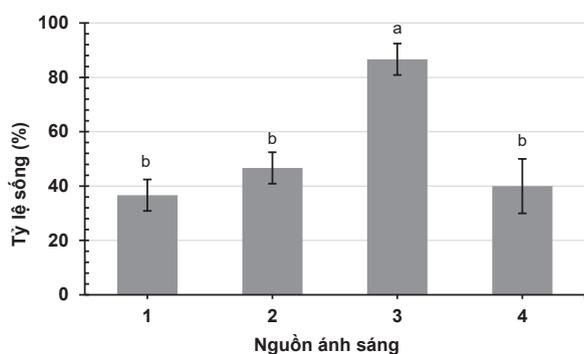
Giai đoạn đầu khi được chuyển ra điều kiện *ex vitro*, cây con cần thích nghi với môi trường nên chúng sinh trưởng chậm mà chủ yếu là để phục hồi những mất mát do việc chuyển từ môi trường lý tưởng ra môi trường tự nhiên kém lý tưởng hơn.

Giai đoạn sau, khi đã thích nghi với môi trường mới, chế độ chăm sóc hợp lý, cây con sinh trưởng rất mạnh, cây càng lớn thì khả năng sinh trưởng càng tăng, tốc độ quang hợp của cây ngày càng cao (tốc độ quang hợp tỷ lệ thuận với diện tích tán rong và số lượng nhánh của cây). Còn các cây có kích thước quá bé thường có khả năng chống chịu kém, rất nhạy cảm với các thay đổi môi trường xung quanh nên dễ bị sốc dẫn đến cây kém phát triển và tỷ lệ cây chết cao. Kết quả nghiên cứu này phù hợp với kết quả của C.R.K. Reddy và cs (2003) [11] trên đối tượng cây rong Sụn - loài rong có kích thước 3-5 cm và có khả năng thích nghi tốt với điều kiện tự nhiên.

Qua việc theo dõi sự sinh trưởng và phát triển của cây con ở điều kiện bán tự nhiên cho thấy, để tăng tỷ lệ sống sót của cây con khi chuyển ra nuôi trồng ở điều kiện bán tự nhiên cần chú ý đến kích thước cây, các cây có kích thước càng lớn thì tỷ lệ sống sót càng cao, khả năng sinh trưởng càng tốt. Việc chuyển các cây con có kích thước khoảng 2 cm trở lên ra điều kiện *ex vitro* cho kết quả tốt. Như vậy, các cây giống tốt đạt chất lượng cao thì tiêu chí đầu tiên phải quan tâm đó là có kích thước từ 2 cm trở lên, có 7-8 nhánh, nhánh có màu sắc tự nhiên, không có những biểu hiện bất thường về hình thái và sinh lý.

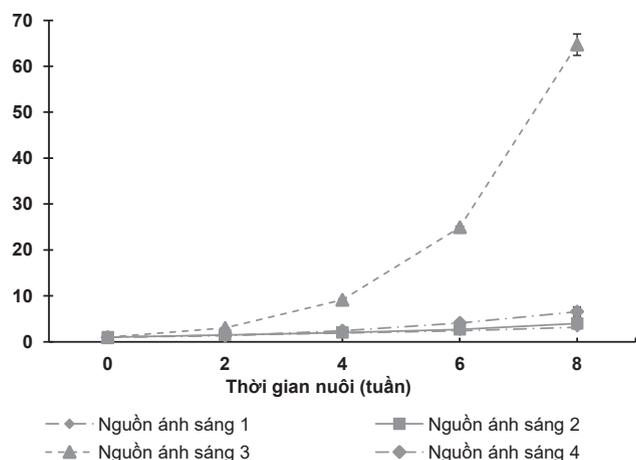
Sau khi tìm được loại cây con có chất lượng tốt, tiến hành nuôi dưới các nguồn sáng khác nhau. Kết quả sau 8 tuần nuôi thích nghi trong điều kiện bán tự nhiên cho thấy rằng, cây rong được nuôi dưới nguồn ánh sáng tự nhiên giảm 1/2 cường độ ánh sáng bằng tôn trong và lưới xanh đen (nguồn ánh sáng 3) là tốt nhất so với các nghiệm thức còn lại.

Nguồn ánh sáng ảnh hưởng đến tỷ lệ sống của cây con có nguồn gốc từ nuôi cấy *in vitro*. Tỷ lệ sống cao nhất của cây con dòng rong nâu *Sacol* có nguồn gốc từ nuôi cấy *in vitro* là  $86,67 \pm 5,77\%$  khi nuôi dưới nguồn ánh sáng tự nhiên có giảm 1/2 cường độ ánh sáng bằng tôn trong và lưới xanh đen (nguồn ánh sáng 3). Ở nguồn ánh sáng trắng từ đèn huỳnh quang (nguồn ánh sáng 1 và 2) và nguồn sáng tự nhiên (nguồn ánh sáng 4) thì tỷ lệ sống đạt  $36,67 \pm 5,77$  đến  $46,67 \pm 5,77\%$  (hình 5).



**Hình 5.** Tác động của nguồn ánh sáng đến tỷ lệ sống của cây con dòng rong nâu *Sacol* có nguồn gốc từ nuôi cấy *in vitro* ở giai đoạn nuôi trồng bán tự nhiên sau 8 tuần nuôi trồng. Các chữ cái khác nhau (a, b) trên các cột thể hiện sự khác biệt thống kê với phép thử Duncan (với  $p < 0,05$ ).

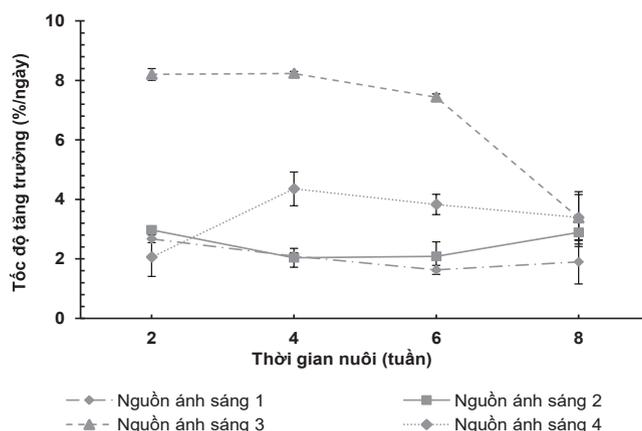
Tương tự tỷ lệ sống, khối lượng tươi của cây con sau 8 tuần nuôi ở các nguồn ánh sáng khác nhau thì khác nhau. Khối lượng tươi của cây con cao nhất (64,70 g) ở nghiệm thức nguồn ánh sáng tự nhiên có giảm 1/2 cường độ ánh sáng bằng tôn trong và lưới xanh đen (nguồn ánh sáng 3). Khối lượng tươi của rong thấp nhất ở nghiệm thức nuôi dưới nguồn ánh sáng trắng đèn huỳnh quang (nguồn ánh sáng 1 và 2) và nguồn sáng tự nhiên (nguồn ánh sáng 4) (hình 6).



**Hình 6.** Ảnh hưởng của nguồn ánh sáng đến khối lượng tươi của cây con dòng rong nâu *Sacol* có nguồn gốc từ nuôi cấy *in vitro* ở giai đoạn nuôi trồng bán tự nhiên sau 8 tuần nuôi trồng.

Kết quả sau 8 tuần nuôi ở điều kiện bán tự nhiên, TĐTT của cây con có nguồn gốc từ nuôi cấy *in vitro* biến đổi phụ thuộc vào nguồn ánh sáng (hình 7). Rong được nuôi dưới nguồn ánh sáng 3 có TĐTT cao nhất ở tất cả các thời điểm. Xét cả quá trình thí nghiệm, ở nguồn ánh sáng trắng đèn huỳnh quang (nguồn ánh sáng 1 và 2), TĐTT tích lũy của rong thấp nhất ( $2,07 \pm 0,31$  đến  $2,50 \pm 0,25\%$ /ngày); rong phát triển chậm và phân nhánh ít. Sau 8 tuần thí nghiệm, rong bị mất màu rải rác tại các vị trí phân nhánh và đầu nhánh. Sau đó, rong bị nhũn và đứt gãy - dấu hiệu của thiếu ánh sáng để quang hợp trong thời gian dài. Cây có TĐTT

tích lũy cao nhất ( $6,81 \pm 0,22\%$ /ngày) ở nguồn ánh sáng 3, rong phân chia rất nhiều nhánh thứ cấp, đầu nhánh vót nhọn và có màu nâu nhạt, thân rong có nhiều đốm màu sẫm; đây là đặc điểm điển hình của giai đoạn sinh trưởng mạnh. Khi nuôi ở nguồn sáng tự nhiên (nguồn sáng 4) TĐTT tích lũy của rong là  $3,41 \pm 0,27\%$ /ngày, rong phân nhánh ít và cây chậm phát triển.

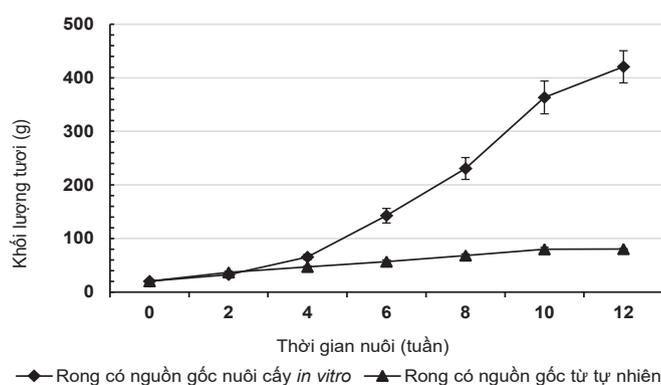


**Hình 7.** Ảnh hưởng của nguồn ánh sáng đến tốc độ tăng trưởng của cây con dòng rong nâu *Sacol* có nguồn gốc từ nuôi cấy *in vitro* ở giai đoạn nuôi trồng bán tự nhiên sau 8 tuần nuôi trồng.

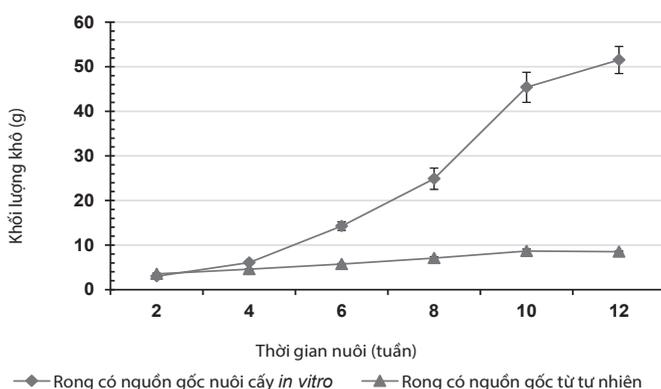
Ánh sáng đóng vai trò quan trọng trong quá trình sinh trưởng và phát triển của thực vật nói chung cũng như rong biển nói riêng, thông qua các cơ chế như quang chu kỳ, quang hợp và quang hình thái. Thông thường, cây nuôi cấy trong môi trường *in vitro* có nhu cầu ánh sáng thấp hơn so với cây được trồng ngoài điều kiện tự nhiên (*ex vitro*). Bên cạnh vai trò là nguồn năng lượng cho quá trình quang hợp, ánh sáng còn tham gia điều tiết nhiều hoạt động sinh lý và phát triển của thực vật. Trong điều kiện phòng thí nghiệm, rong Bắp sú phát triển tốt nhất ở cường độ ánh sáng  $125-145 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  dưới ánh sáng trắng đèn huỳnh quang [20]. Trong điều kiện tự nhiên, cường độ ánh sáng thích hợp nhất  $585-975 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ , ánh sáng quá cao hay quá thấp đều ảnh hưởng đến sinh trưởng và phát triển của rong [21]. Như vậy, trong giai đoạn nuôi trồng bán tự nhiên, cần cung cấp cường độ ánh sáng  $250 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  bằng cách sử dụng tôn trong và lưới xanh đen giảm 1/2 cường độ ánh sáng tự nhiên (nguồn ánh sáng 4) để rong phát triển tốt và sử dụng nguồn ánh sáng này để nghiên cứu thí nghiệm tiếp theo.

### 3.2. Sự sinh trưởng của rong Bắp sú *in vitro* ở giai đoạn nuôi trồng ngoài tự nhiên

Trong giai đoạn nuôi trồng ngoài tự nhiên, sau 12 tuần cây rong có nguồn gốc từ nuôi cấy *in vitro* và đối chứng (rong có nguồn gốc ngoài tự nhiên) được nuôi trồng ở vịnh Vân Phong, tỉnh Khánh Hòa. Kết quả ghi nhận, các chỉ tiêu sinh trưởng của cây rong có nguồn gốc từ nuôi cấy *in vitro* luôn luôn cao hơn so với đối chứng là rong có nguồn gốc từ tự nhiên.



Hình 8. Khối lượng tươi rong có nguồn gốc nuôi cấy *in vitro* và rong tự nhiên nuôi trồng ngoài tự nhiên sau 12 tuần.

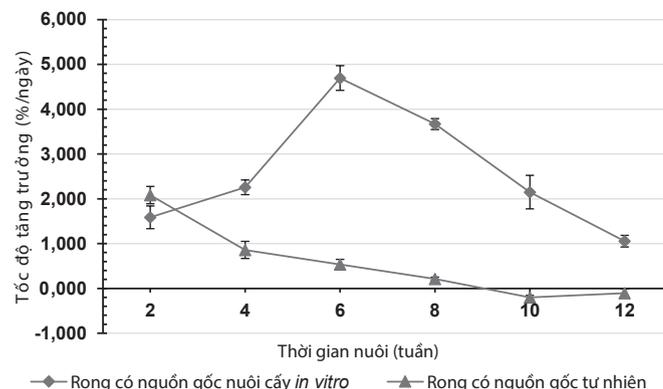


Hình 9. Khối lượng khô rong có nguồn gốc nuôi cấy *in vitro* và rong tự nhiên nuôi trồng ngoài tự nhiên sau 12 tuần.

Khối lượng tươi và khô của cây rong sau 12 tuần nuôi trồng ngoài tự nhiên khác nhau và ảnh hưởng bởi nguồn gốc giống. Cây rong có nguồn gốc từ nuôi cấy *in vitro* có khối lượng tươi và khô ( $32,63 \pm 2,14$  và  $3,00 \pm 0,17$  g, tương ứng) thấp hơn so với rong có nguồn gốc từ tự nhiên ( $36,97 \pm 1,86$  và  $3,53 \pm 0,21$  g, tương ứng,  $p < 0,05$ ) vào tuần nuôi thứ 2. Những tuần tiếp theo, khối lượng tươi và khô của rong có nguồn gốc nuôi cấy *in vitro* tăng nhanh và luôn luôn cao hơn so với rong có nguồn gốc từ tự nhiên. Kết thúc thí nghiệm, khối lượng tươi và khô của rong có nguồn gốc nuôi cấy *in vitro* lần lượt là  $420,57 \pm 30,01$  và  $51,53 \pm 3,05$  g, cao hơn 5,25 lần so với khối lượng tươi và khô của rong có nguồn gốc từ tự nhiên ( $80,17 \pm 0,81$  và  $8,50 \pm 0,17$  g, tương ứng) (hình 8 và 9).

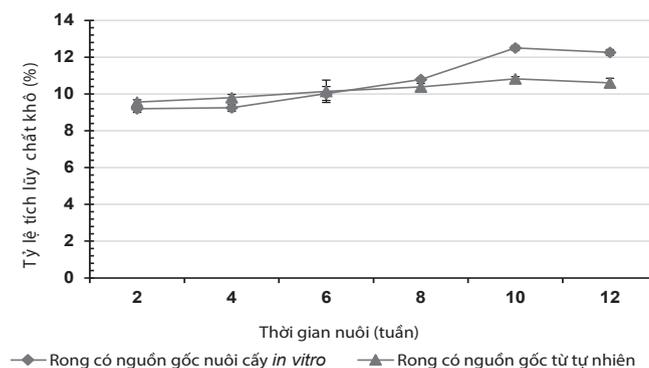
Tương tự như khối lượng tươi và khô, TĐTT của rong Bắp sú cũng khác nhau trong mỗi lần thu số liệu và phụ thuộc vào nguồn gốc rong giống. Sau 2 tuần nuôi, TĐTT của rong có nguồn gốc từ nuôi cấy *in vitro* ( $1,59 \pm 0,25\%$ ) thấp hơn TĐTT của rong có nguồn gốc từ tự nhiên ( $2,08 \pm 0,20\%$ /ngày). Tuy nhiên, trong những tuần tiếp theo, TĐTT của rong có nguồn gốc từ nuôi cấy *in vitro* luôn cao hơn so với rong có nguồn gốc từ tự nhiên. Vào tuần nuôi thứ 6, TĐTT của rong có nguồn gốc từ nuôi cấy *in vitro* đạt mức cao nhất

( $4,70 \pm 0,28\%$ /ngày), trong khi TĐTT của rong có nguồn gốc tự nhiên có xu hướng giảm so với thời gian đầu thả giống ( $0,53 \pm 0,12\%$ /ngày). Kết thúc thí nghiệm, TĐTT của cả hai nghiệm thức đều giảm; rong có nguồn gốc từ nuôi cấy *in vitro* đạt  $1,05 \pm 1,13\%$ /ngày, trong khi rong có nguồn gốc tự nhiên ghi nhận mức tăng trưởng âm ( $-0,11 \pm 0,09\%$ /ngày). Nếu xét tổng thể trong suốt quá trình nuôi, TĐTT tích lũy của rong có nguồn gốc từ nuôi cấy *in vitro* cao hơn 4,42 lần (đạt  $2,57 \pm 1,63\%$ /ngày) so với TĐTT của rong có nguồn gốc tự nhiên ( $0,57 \pm 0,84\%$ /ngày) (hình 10).



Hình 10. Tốc độ tăng trưởng của rong có nguồn gốc nuôi cấy *in vitro* và rong tự nhiên nuôi trồng ngoài tự nhiên sau 12 tuần.

Tỷ lệ tích lũy chất khô của rong Bắp sú thay đổi theo nguồn gốc giống và thời gian nuôi trồng. Tỷ lệ này có xu hướng tăng dần theo thời gian nuôi trồng. Sau hai tuần nuôi, tỷ lệ tích lũy chất khô của cây rong có nguồn gốc từ nuôi cấy *in vitro* ( $9,21 \pm 0,23\%$ ) thấp hơn so với rong có nguồn gốc tự nhiên ( $9,56 \pm 0,12\%$ ). Sau 10 tuần nuôi trồng, tỷ lệ tích lũy chất khô đạt giá trị cao nhất ở cả hai nhóm giống. Tuy nhiên, tỷ lệ tích lũy chất khô của rong có nguồn gốc từ nuôi cấy *in vitro* ( $12,50 \pm 0,14\%$ ) vượt trội hơn so với rong tự nhiên ( $10,81 \pm 0,25\%$ ). Kết thúc thí nghiệm, tỷ lệ tích lũy chất khô giảm nhẹ ở cả hai nhóm giống, nhưng sự thay đổi này không đáng kể (hình 11). Do đó, rong được thu hoạch vào tuần thứ 10 để xác định hàm lượng cũng như chất lượng carrageenan.



Hình 11. Tỷ lệ tích lũy chất khô của cây rong có nguồn gốc nuôi cấy *in vitro* và rong tự nhiên sau 10 tuần nuôi trồng ngoài tự nhiên.

Cây rong có nguồn gốc từ nuôi cấy *in vitro* đã được quen với môi trường phát triển vô trùng, nhiệt độ và cường độ ánh sáng thấp. Do đó, khi chuyển sang môi trường bên ngoài có điều kiện khắc nghiệt hơn, cần có một giai đoạn chuyển tiếp để cây rong dần thích nghi với điều kiện tự nhiên. Quá trình này được thực hiện bằng cách nuôi cây trong các bể kính với nhiệt độ và cường độ ánh sáng tăng dần cho đến khi đạt được điều kiện môi trường tự nhiên. Trong giai đoạn đầu thả giống, rong có nguồn gốc từ nuôi cấy *in vitro* cần thời gian để thích ứng với môi trường tự nhiên, do đó TĐTT ban đầu (1,59%/ngày) thấp hơn so với rong có nguồn gốc tự nhiên (2,08%/ngày). Trong suốt 12 tuần nuôi trồng, cây rong có nguồn gốc từ nuôi cấy *in vitro* đạt TĐTT tích lũy cao gấp 4,42 lần so với rong có nguồn gốc tự nhiên. Kết quả của nghiên cứu này tương đồng với nghiên cứu của C.R.K. Reddy và cs (2003) [11] trên rong Sụn, trong đó, rong có nguồn gốc nuôi cấy *in vitro* có TĐTT cao gấp 1,5 đến 1,8 lần so với rong có nguồn gốc tự nhiên. Cũng trong nghiên cứu này, rong Sụn có nguồn gốc nuôi cấy *in vitro* có TĐTT đạt 8,11%/ngày trong suốt mùa vụ nuôi 90 ngày; ngoài ra, rong có nguồn gốc nuôi cấy *in vitro* có TĐTT thấp hơn nhiều (2,57%/ngày) trong 12 tuần nuôi, vào tuần thứ 4-6 thí nghiệm TĐTT là 4,70%/ngày. Mặc dù có sự cải thiện đáng kể về chất lượng cây giống so với giống tự nhiên, TĐTT của cây rong có nguồn gốc từ nuôi cấy *in vitro* vẫn thấp hơn so với các nghiên cứu trước đây trong và ngoài nước. Điều này có thể giải thích rằng, mặc dù phương pháp nuôi cấy *in vitro* đã giúp cải thiện chất lượng cây giống ban đầu, nhưng không có nghĩa là chất lượng cây giống hiện tại có thể đạt được mức độ như cây giống cách đây gần 20 năm. Vì vậy, việc di nhập nguồn cây giống ban đầu từ các quốc gia có quần thể rong ngoài tự nhiên và sử dụng các mẫu này để nhân giống hàng loạt là cần thiết. Sau 10 tuần nuôi trồng, tỷ lệ tích lũy chất khô đạt giá trị tối đa ở cả hai nhóm giống. Tỷ lệ tích lũy chất khô của cây rong có nguồn gốc từ nuôi cấy *in vitro* (12,50%) cao hơn so với rong có nguồn gốc tự nhiên (10,81%). Đây là kết quả đáng chú ý, vì trong cùng điều kiện nuôi trồng, rong có nguồn gốc từ nuôi cấy *in vitro* cho sinh khối và tỷ lệ tích lũy chất khô cao hơn so với rong có nguồn gốc tự nhiên.

### 3.3. Đánh giá hàm lượng và chất lượng carrageenan của cây rong dòng nâu Sacol có nguồn gốc từ nuôi cấy *in vitro*

Sau 10 tuần nuôi trồng trong điều kiện tự nhiên, rong có nguồn gốc từ nuôi cấy *in vitro* và rong có nguồn gốc tự nhiên được thu hoạch, rửa sạch và phơi khô. Kết quả phân tích cho thấy, hàm lượng và chất lượng carrageenan của cây rong có nguồn gốc từ nuôi cấy *in vitro* cao hơn so với rong có nguồn gốc tự nhiên (bảng 3).

**Bảng 3. Hàm lượng và chất lượng carrageenan rong có nguồn gốc *in vitro* và rong tự nhiên nuôi trồng ngoài tự nhiên sau 10 tuần.**

Nguồn gốc giống rong	Hàm lượng carrageenan (%)	Chất lượng carrageenan	
		Sức đông ( $g.cm^{-2}$ )	Độ nhớt (cps)
<i>In vitro</i>	28,83±0,76	928,67±1,53	34,17±0,76
Tự nhiên	24,33±0,58	909,00±8,89	28,5±0,50

Hàm lượng carrageenan trong rong có nguồn gốc từ nuôi cấy *in vitro* đạt 28,83±0,76%, cao hơn so với hàm lượng carrageenan trong rong có nguồn gốc tự nhiên (24,33±0,58%) sau 10 tuần nuôi ( $p<0,05$ ) (bảng 3). Chất lượng carrageenan được đánh giá qua chỉ số sức đông và độ nhớt của carrageenan. Sức đông và độ nhớt của carrageenan chiết xuất từ rong có nguồn gốc nuôi cấy *in vitro* (928,67±1,53  $g.cm^{-2}$  và 34,17±0,76 cps, tương ứng) cao hơn so với carrageenan chiết xuất từ rong có nguồn gốc tự nhiên (909,00±8,89  $g.cm^{-2}$  và 28,50±0,50 cps, tương ứng) ( $p<0,05$ ) (bảng 3).

Hàm lượng carrageenan trong rong biển bị ảnh hưởng bởi nhiều yếu tố, trong đó các yếu tố sinh thái như ánh sáng mặt trời, dinh dưỡng và nhiệt độ đóng vai trò quan trọng [23]. Bên cạnh đó, yếu tố sinh lý của rong, bao gồm độ tuổi, đường kính thân rong, sinh khối, pha sinh trưởng, cũng như các yếu tố trong quá trình thu hoạch như hàm lượng nước trong rong khi phơi khô, phương pháp khai thác và chiết xuất cũng có tác động đáng kể đến hàm lượng carrageenan [22, 23]. Trong nghiên cứu này, hàm lượng carrageenan cao nhất được chiết xuất từ rong có nguồn gốc nuôi cấy *in vitro* đạt 28,83%.

Rong có nguồn gốc từ nuôi cấy *in vitro* và rong tự nhiên đều được nuôi trồng trong điều kiện sinh thái tương tự và vào cùng một thời điểm, với phương pháp tách chiết carrageenan giống nhau. Tuy nhiên, sự khác biệt về hàm lượng carrageenan có thể được giải thích bởi sự khác biệt về nguồn gốc rong, tốc độ sinh trưởng và sinh khối thu được tại thời điểm thu hoạch. Cây rong có nguồn gốc từ nuôi cấy *in vitro* có đường kính thân lớn hơn (dữ liệu không hiển thị), điều này dẫn đến khả năng tích lũy carrageenan cao hơn. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của M.K. Budiyanto và cs (2019) [24] trên rong Sụn, trong đó tác giả nhận định rằng, rong biển được nuôi trồng trong điều kiện sinh thái đồng đều về chất dinh dưỡng, ánh sáng và nhiệt độ sẽ có sự khác biệt về đường kính và sinh khối, từ đó ảnh hưởng đến khả năng tích lũy carrageenan.

Theo nghiên cứu của K. Ma'rif và cs (2018) [25], đường kính của cây rong biển có ảnh hưởng rõ rệt đến hàm lượng carrageenan. Cây rong có đường kính lớn hơn, sinh khối cao hơn thường có hàm lượng carrageenan cao hơn. Sự phát triển của rong biển tỷ lệ nghịch với hàm lượng carrageenan của nó và hàm lượng carrageenan cao ở cây rong có nguồn gốc nuôi cấy *in vitro* có thể được giải thích bằng kích thước và đường kính của cây, cũng như sự phân bố và hấp thụ chất dinh dưỡng của rong ảnh hưởng đến khả năng tổng hợp carrageenan.

Một yếu tố khác làm ảnh hưởng đến sự khác biệt trong hàm lượng carrageenan là sắc tố trong rong biển. Sắc tố đóng vai trò quan trọng trong quá trình quang hợp, giúp hấp thụ năng lượng mặt trời để tối ưu sự phát triển và tích lũy carrageenan. Rong nâu *Saccol* có hai giai đoạn vòng đời: giai đoạn sinh dưỡng và giai đoạn phát sinh. Trong giai đoạn sinh dưỡng, năng lượng được phân bổ chủ yếu cho việc tăng trưởng và tích lũy carrageenan. Ngược lại, ở giai đoạn phát sinh, năng lượng được tập trung cho quá trình sinh sản, dẫn đến hàm lượng carrageenan giảm, mặc dù sự phát triển của cây vẫn tiếp tục cho đến khi đạt được kích thước tối đa.

#### 4. Kết luận

Kết quả nghiên cứu cho thấy, cây rong có nguồn gốc từ nuôi cấy *in vitro* có khả năng thích nghi tốt trong điều kiện bán tự nhiên và tự nhiên. Trong giai đoạn bán tự nhiên, rong đạt 8 nhánh/cây, cao 3,01 cm và khối lượng tươi 1,23 g, được nuôi trồng dưới nguồn ánh sáng tự nhiên giảm 1/2 cường độ ánh sáng bằng lưới xanh đen cho thấy, khả năng sinh trưởng vượt trội so với các cây rong được nuôi trồng dưới các nguồn ánh sáng khác. Sau 10 tuần nuôi trồng ngoài tự nhiên tại vịnh Vân Phong, các chỉ tiêu sinh trưởng và hàm lượng carrageenan của cây rong có nguồn gốc từ nuôi cấy *in vitro* luôn đạt kết quả cao hơn so với cây đối chứng. Kết quả này cho thấy tiềm năng của việc nhân giống rong bằng kỹ thuật nuôi cấy *in vitro*, góp phần cung cấp giống rong có chất lượng cao cho ngành nuôi trồng rong biển thương mại.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1] C.J. Dawes, G.C. Trono, A.O. Lluisma (1993), "Clonal propagation of *Euclima denticulatum* and *Kappaphycus alvarezii* for Philippine seaweed farms", *Hydrobiologia*, **260**(1), pp.379-383.

[2] R. Adharini, E. Suyono, S. Suadi, et al. (2018), "A comparison of nutritional values of *Kappaphycus alvarezii*, *Kappaphycus striatum*, and *Kappaphycus spinosum* from the farming sites in Gorontalo Province, Sulawesi, Indonesia", *Journal Applied Phycology*, **31**(1), pp.725-730.

[3] L. Hayashi, R.P. Reis (2012), "Cultivation of the red algae *Kappaphycus alvarezii* in Brazil and its pharmacological potential", *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, **22**(4), pp.748-752, DOI: 10.1590/S0102-695X2012005000055.

[4] L.D. Hung, D.T. Trung (2018), "Cloning cDNA sequence coding the KSA-1 lectin from red alga *Kappaphycus striatum* cultivated in Vietnam", *Vietnam Journal Biotechnology*, **14**(4), pp.689-697, DOI: 10.15625/1811-4989/14/4/12302.

[5] C.S. Vairappan, C.S. Chung, A.Q. Hurtado, et al. (2008), "Distribution and symptoms of epiphyte infection in major carrageenophyte producing farms", *Journal Applied Phycology*, **20**(5), pp.477-483, DOI: 10.1007/s10811-007-9299-8.

[6] M. Ohno, D.B. Largo, T. Ikumoto (1994), "Growth rate, carrageenan yield and gel properties of cultured kappa-carrageenan producing red alga *Kappaphycus alvarezii* (Doty) Doty in the subtropical waters of Shikoku, Japan", *Journal Applied Phycology*, **6**(1), pp.1-5, DOI: 10.1007/BF02185896.

[7] A.M. Hatta (2016), *Kappaphycus striatus* (PROSEA), [https://uses.plannet-project.org/en/Kappaphycus\\_striatus\\_\(PROSEA\)](https://uses.plannet-project.org/en/Kappaphycus_striatus_(PROSEA)), accessed 20 July 2023.

[8] G.C.J. Trono (1992), "Euclima and Kappaphycus: Taxonomy and cultivation", *Bulletin of Marine Sciences and Fisheries*, Kochi University, **12**, pp.51-65.

[9] D.A.T. Yunque, K.R. Tibubos, A.Q. Hurtado, et al. (2011), "Optimization of culture conditions for tissue culture production of young plantlets of carrageenophyte *Kappaphycus*", *Journal Applied Phycology*, **23**(3), pp.433-438, DOI: 10.1007/s10811-010-9594-7.

[10] C.S. Vairappan, R. Razalie, U.M. Elias, et al. (2014), "Effects of improved post-harvest handling on the chemical constituents and quality of carrageenan in red alga, *Kappaphycus alvarezii* Doty", *J. Appl. Phycol.*, **26**(2), pp.909-916.

[11] C.R.K. Reddy, G.R.K. Kumar, A.K. Siddhanta, et al. (2003), "In vitro somatic embryogenesis and regeneration of somatic embryos from pigmented callus of *Kappaphycus alvarezii* (Doty) Doty (Rhodophyta, Gigartinales)", *Journal Applied Phycology*, **39**(1), pp.610-616, DOI: 10.1046/j.1529-8817.2003.02092.x.

[12] A. Azizi, N.M. Hanafi, M.N. Basiran, et al. (2018), "Evaluation of disease resistance and tolerance to elevated temperature stress of the selected tissue cultured *Kappaphycus alvarezii* Doty 1985 under optimized laboratory conditions", *3 Biotech*, **8**(8), pp.321-330, DOI: 10.1007/s13205-018-1354-4.

[13] V.T. Mo, L.K. Cuong, H.T. Tung, et al. (2020), "Somatic embryogenesis and plantlets regeneration from seaweed *Kappaphycus striatus*", *Acta Physiologia Plantarum*, **42**, pp.104-115, DOI: 10.1007/s11738-020-03102-3.

[14] V.T. Mo, T.V. Huynh, L.T. Nghia, et al. (2018), "Induction of callus formation from *Kappaphycus striatus* under different culture conditions", *Vietnam Journal of Biotechnology*, **16**(2), pp.301-309.

[15] D.T. Nhut (2011), *Plant Biotechnology*, Agricultural Publishing House, 531pp (in Vietnamese).

[16] S. Istini, M. Ohno, H. Kusunose (1994), "Methods of analysis for agar, carrageenan and alginate in seaweed", *Bulletin of Marine Sciences and Fisheries, Kochi University*, **14**, pp. 49-55.

[17] N. Stanley (1987), "Production, properties and uses of carrageenan", *Production and Utilization of Products from Commercial Seaweeds*, FAO Fisheries Technical, Canada, pp.116-146.

[18] C.E.P. Penniman, A.C. Mathieson (1986), "Reproductive phenology and growth of *Gracilaria tikvahiae* McLachlan (Gigartinales, Rhodophyta) in the Great Bay Estuary, New Hampshire", *Botanica Marina*, **29**(2), pp.147-154.

[19] D.B. Duncan (1955), "Multiple range and multiple F tests", *Biometrics*, **11**(1), pp.1-42.

[20] G.S. Gerang, M. Ohno (1997), "Growth rates of *Euclima denticulatum* (Burman) Collins et Harvey and *Kappaphycus striatum* (Schmitz) Doty under different conditions in warm waters of Southern Japan", *Journal Applied Phycology*, **9**(5), pp.413-415, DOI: 10.1023/A:1007906326617.

[21] A.Q. Hurtado, D.A. Yunque, K. Tibubos, et al. (2009), "Use of Acadian marine plant extract powder from *Cophyllum nodosum* in tissue culture of *Kappaphycus* varieties", *Journal Applied Phycology*, **21**(6), pp.633-639, DOI: 10.1007/s10811-008-9395-4.

[22] L. Hayhi, E.C. Oliveira, G.B. Lhonneur, et al. (2007), "The effects of selected cultivation conditions on the carrageenan characteristics of *Kappaphycus alvarezii* (Rhodophyta, Solieriaceae) in Ubatuba Bay, São Paulo, Brazil", *Journal Applied Phycology*, **19**(5), pp.505-511, DOI: 10.1007/s10811-007-9163-x.

[23] I.A.G. Borlongan, K.R. Tibubos, D.A.T. Yunque, et al. (2011), "Impact of AMPEP on the growth and occurrence of epiphytic *Neosiphonia infestation* on two varieties of commercially cultivated *Kappaphycus alvarezii* grown at different depths in the Philippines", *Journal Applied Phycology*, **23**(3), pp.615-621, DOI: 10.1007/s10811-010-9649-9.

[24] M.K. Budiyo, S.Y. Abadi (2019), "Growth and carrageenan content of local and tissue culture seed of *Kappaphycus alvarezii* cultivated in floating cage", *AACL Bioflux*, **12**(1), pp.167-178.

[25] K. Ma'ruf, I.J. Effendy, E. Ishak (2018), "Influence of initial weight of seeds in variation of growth and carrageenan content of *Euclima spinosum*", *AACL Bioflux*, **11**(4), pp.1155-1163.