

ẢNH HƯỞNG CỦA VI SINH VÀ BENZALKONIUM CHLORINE LÊN SINH TRƯỞNG CỦA VI TẢO LỤC VÀ VI KHUẨN LAM NƯỚC NGỌT

Lê Việt Dũng*, Đoàn Văn Vững, Lê Thị Cẩm Vân, Phạm Thị Lam Hồng

Khoa Thủy sản, Học Viện Nông nghiệp Việt Nam

*Tác giả liên hệ: levietdung@vnua.edu.vn

Ngày nhận bài: 23.04.2025

Ngày chấp nhận đăng: 15.09.2025

TÓM TẮT

Nghiên cứu nhằm đánh giá ảnh hưởng của hai chế phẩm vi sinh (*Bacillus* spp.; Biofloc02 và ProbioAqua) và hóa chất benzalkonium chloride đến sự sinh trưởng của vi tảo lục và vi khuẩn lam trong điều kiện phòng thí nghiệm và thực địa. Kết quả cho thấy cả ba nghiệm thức xử lý đều làm giảm mật độ tảo lục *Chlorella vulgaris*, trong đó benzalkonium chloride gây suy giảm nhanh từ ngày thứ tư, còn hai chế phẩm vi sinh ảnh hưởng nhẹ hơn do cạnh tranh dinh dưỡng. Với *Arthrospira platensis*, cả ba nghiệm thức đều gây ức chế, trong đó benzalkonium chloride làm tảo chết hoàn toàn sau 4 ngày. Các kết quả về mật độ ngành tảo lục và vi khuẩn lam ngoài ao cá giống nước ngọt cũng cho xu hướng tương tự. Mật độ tảo trong ao không tăng sau 7 ngày thử nghiệm. Kết quả nghiên cứu góp phần cung cấp thông tin thực nghiệm về hiệu quả và mức độ ảnh hưởng của các sản phẩm xử lý tảo được sử dụng phổ biến trong nuôi trồng thủy sản nước ngọt, làm cơ sở lựa chọn phương pháp phù hợp theo mục tiêu quản lý ao nuôi.

Từ khóa: Vi tảo lục, vi khuẩn lam, BKC, vi sinh, *Bacillus*.

Effects of Probiotic Products and Benzalkonium Chloride on the Growth of Freshwater Green Microalgae and Cyanobacteria

ABSTRACT

This study aimed to evaluate the effects of two probiotic products (*Bacillus* spp.: Biofloc02 and ProbioAqua) and the chemical compound benzalkonium chloride (BAC) on the growth of green microalgae and cyanobacteria under both laboratory and field conditions. The results showed that all three treatments reduced the cell density of the green alga *Chlorella vulgaris*, with BKC causing a rapid decline from day four, while the two probiotic products exhibited a milder effect, likely due to nutrient competition. For *Arthrospira platensis*, all treatments inhibited growth, with BKC causing complete mortality within four days. Similar trends were observed in freshwater nursery ponds, where the overall densities of green algae and cyanobacteria also declined. Algal density in treated ponds did not increase during 7-day trial. The findings provide practical insights into the effectiveness and impacts of commonly used algal control products in freshwater aquaculture, contributing to informed decision-making when selecting appropriate management strategies for pond ecosystems.

Keywords: Green microalgae, cyanobacteria, BAC, probiotic, *Bacillus*.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Việc kiểm soát sinh khối tảo trong các hệ thống nuôi trồng thủy sản là thách thức quan trọng đối với nghề nuôi động vật thủy sản. Trong hệ thống nước ngọt, *Bacillus* spp. đã được ghi nhận có tiềm năng trong kiểm soát hiện

tượng nở hoa của vi khuẩn lam. Bi & cs. (2019) cho thấy *Bacillus subtilis* làm suy giảm sự phát triển của tập đoàn vi khuẩn lam, thúc đẩy sự phân rã cấu trúc tập đoàn và làm giảm kích thước cụm tế bào. Bên cạnh đó, *B. subtilis* làm thay đổi thành phần vi sinh vật bám, thúc đẩy sự gia tăng tương đối của các chi vi khuẩn như

Pseudomonas, *Shewanella*, *Bacillus*, *Shinella*, *Rhizobium* và *Ensifer* - đây đều là các nhóm vi sinh có hoạt tính kháng tảo, phân hủy độc tố microcystin, hoặc hỗ trợ tạo floc sinh học.

Tuy nhiên, không phải tất cả các nghiên cứu đều ghi nhận tác động tích cực từ việc bổ sung vi khuẩn vào hệ thống nuôi. Boyd & cs. (1984) không tìm thấy sự khác biệt về hiệu quả xử lý nước ao nuôi cá lăng giữa nhóm ao có bổ sung hỗn hợp vi khuẩn (bao gồm *Bacillus*, *Nitrobacter*, *Pseudomonas*, *Enterobacter*, *Cellulomonas* và *Rhodopseudomonas* spp.) với ao đối chứng. Thành phần và sự đa dạng của cộng đồng vi khuẩn có thể thay đổi theo các giai đoạn phát triển của đợt nở hoa (Shi & cs., 2011) cũng như theo loài (Bagatini & cs., 2014). Một số vi khuẩn có xu hướng xuất hiện nhiều hơn vào giai đoạn suy thoái của tảo, trong khi các nhóm khác chiếm ưu thế ở thời kỳ bắt đầu hoặc đỉnh cao của sự nở hoa (Shi & cs., 2009). Thực tế này đặt ra câu hỏi: liệu việc bổ sung vi khuẩn vào môi trường nuôi có thực sự tạo ra tác động kháng tảo, hay có thể vô tình làm thay đổi cân hệ vi sinh vật theo hướng bất lợi?

Bên cạnh phương pháp sinh học, các chất hóa học như benzalkonium chloride (BKC) cũng được sử dụng để xử lý nhanh sự bùng phát tảo. BKC là hợp chất ammonium bậc bốn có hoạt tính kháng khuẩn phổ rộng, đã được sử dụng từ năm 1935 trong nhiều lĩnh vực, bao gồm sản phẩm tiêu dùng, y tế, nông nghiệp, công nghiệp và thủy sản (Pereira & Tagkopoulos, 2019). Các nghiên cứu độc tính cho thấy BKC có thể gây ức chế tăng trưởng rõ rệt đối với nhiều loài vi tảo. Tuy nhiên, phần lớn các nghiên cứu về độc tính của BKC vẫn tập trung vào tảo biển hoặc tảo đơn bào (Beveridge & cs., 1998; Kreuzinger & cs., 2007; Pérez & cs., 2009), trong khi ảnh hưởng đến các loài vi khuẩn lam như *Arthrospira platensis* và các vi tảo nước ngọt như *Chlorella vulgaris* vẫn chưa được nghiên cứu đầy đủ, đặc biệt là trong điều kiện thực tế ao nuôi.

Vi tảo lục *C. vulgaris* và vi khuẩn lam *A. platensis*, đại diện cho hai ngành Chlorophyta và Cyanobacteria có khả năng chiếm đa số trong cộng đồng thực vật phù du

khí môi trường nuôi dư dinh dưỡng hữu cơ và nhiệt độ tăng (Wang & cs., 2009). Do đó, việc so sánh tác động của các chế phẩm vi sinh (*Bacillus* spp.) và BKC lên sinh trưởng của tảo lục và vi khuẩn lam trong điều kiện phòng thí nghiệm và ngoài thực địa là cần thiết. Mục tiêu của nghiên cứu này là đánh giá và so sánh hiệu quả của hai phương pháp xử lý phổ biến - sinh học và hóa học - nhằm đưa ra các khuyến nghị sử dụng phù hợp trong quản lý hệ sinh thái vi tảo trong nuôi trồng thủy sản nước ngọt.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguồn gốc và điều kiện nuôi tảo

Giống vi tảo lục *Chlorella vulgaris* nước ngọt được phân lập tại Phòng thí nghiệm Livefeed (Khoa Thủy sản, Học viện Nông nghiệp Việt Nam). Sau khi phân lập và lưu giữ trên môi trường thạch BBM, tảo được nhân giống trong bình tam giác thể tích 200ml chứa môi trường lỏng BBM, nuôi tĩnh (không sục khí), chiếu sáng liên tục (24/24 giờ) với cường độ 1.000lux và nhiệt độ ổn định 25°C. Bình được đậy kín bằng bông gòn và giấy bạc để hạn chế nhiễm tạp.

Giống vi khuẩn lam *Arthrospira platensis* nước ngọt được phân lập bởi Trung tâm Nghiên cứu và Phát triển Công nghệ sinh học Vi tảo (Khoa Công nghệ sinh học, Học viện Nông nghiệp Việt Nam). Sau khi lưu giữ trên môi trường thạch Zarrouk, tảo được nhân giống trong bình Duran 500ml chứa môi trường Zarrouk (Zarrouk, 1966) dưới điều kiện nuôi tĩnh, chiếu sáng 24/24 giờ với cường độ ánh sáng 2.000lux và nhiệt độ dao động 30-35°C. Bình được đậy kín bằng nắp xoáy nhằm đảm bảo vô trùng trong giai đoạn nuôi giống.

2.2. Thí nghiệm trong điều kiện phòng thí nghiệm

Thí nghiệm đánh giá ảnh hưởng của các chế phẩm vi sinh và hóa chất lên sự sinh trưởng của hai loài tảo được thực hiện trong phòng thí nghiệm. Bốn nghiệm thức gồm: Chế phẩm vi sinh ProbioAqua, Biofloc02 và hóa chất BKC (AQUA BKC 80%, VMC) và đối chứng (không sử

dụng vi sinh hay hóa chất). Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên, mỗi nghiệm thức lặp lại 3 lần (3 bình nhựa thể tích 3l). Mỗi bình chứa 100ml vi tảo giống *Chlorella* (10^8 tb/ml) hoặc vi khuẩn lam giống *Arthrospira* (10^5 tb/ml), 900ml nước ngọt đã được lọc và khử khuẩn (bằng UV) và 1ml môi trường dinh dưỡng tương ứng BBM hoặc Zarrouk. Vi sinh và hóa chất được bổ sung vào các bình 1 lần vào ngày đầu tiên sau khi thu mẫu với các liều như khuyến cáo của nhà sản xuất: ProbioAqua: 0,1 mg/l, Biofloc02: 0,1 mg/l, và BKC: 0,17 μ l/l. Điều kiện ánh sáng và nhiệt độ được duy trì tương tự như giai đoạn nhân giống, nhưng các bình được để hở nhằm mô phỏng điều kiện ao hở. Hàng ngày bình được lắc đều 4 lần và mẫu tảo và vi khuẩn lam được thu vào 9h sáng sau khi lắc. Thí nghiệm kéo dài 7 ngày. Theo thông tin trên nhãn: 1 kg sản phẩm Biofloc02 gồm: 2×10^{10} CFU *Bacillus* spp. (*Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*), 1×10^{10} CFU *Saccharomyces cerevisiae*, 1×10^{10} CFU *Lactobacillus acidophilus*, 40000UI Enzyme Protease (Công ty TNHH Biofloc); 1kg sản phẩm ProbioAqua gồm: 1×10^{12} CFU *Bacillus* spp. (*Bacillus licheniformis*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus pumilus*...), 1×10^9 CFU *Bacillus subtilis* (Công ty VMC Việt Nam).

2.3. Thí nghiệm thực địa ngoài ao

Một thí nghiệm thực địa được thực hiện nhằm đánh giá ảnh hưởng của các chế phẩm và hóa chất trong điều kiện ao nuôi cá nước ngọt ở Hải Dương. Ba nghiệm thức (ProbioAqua, Biofloc02 và BKC) được bố trí theo thiết kế ngẫu nhiên. Tuy nhiên, do điều kiện thực tế, chỉ có 8 ao được chọn, dẫn đến nghiệm thức BKC chỉ có 2 ao lặp lại, trong khi hai nghiệm thức còn lại có 3 ao. Vị trí các ao thử nghiệm ở tọa độ 20°47'44.5"N 106°18'53.8"E. Các chế phẩm và hóa chất được sử dụng theo liều khuyến cáo của nhà sản xuất và chỉ dùng một lần vào ngày đầu tiên sau khi thu mẫu: ProbioAqua: 500g cho 5.000m³ nước, Biofloc02: 500g cho 5.000m³ nước, BKC: 500ml cho 3.000m³ nước. Thời gian thí nghiệm kéo dài 7 ngày. Mỗi ngày, 30l nước ao được thu cách mặt nước < 50cm ở đầu ao, giữa

ao và cuối ao. Sau khi trộn đều, 500ml mẫu nước được thu để xác định mật độ vi tảo lục và vi khuẩn lam như mô tả trong Lê Việt Dũng & cs. (2025).

2.4. Phương pháp định lượng mật độ tảo lục và vi khuẩn lam

Mật độ tế bào tảo lục và vi khuẩn lam được xác định bằng buồng đếm hồng cầu Fuchs-Rosenthal (thể tích buồng: 0,2mm³) dưới kính hiển vi quang học ở độ phóng đại 400 lần như hướng dẫn nhà sản xuất. Mỗi mẫu được đếm lặp lại 3 lần và lấy trung bình để giảm sai số.

Vi tảo lục và vi khuẩn lam trong các ao thực địa được xác định dựa theo phương pháp hình thái học. Đặc điểm hình thái và định danh sơ bộ của chúng được tham khảo theo Nguyễn Văn Tuyên (2003), sau đó được đối chiếu với hình ảnh trên trang web AlgaeBase (Guiry & Guiry 2025).

2.5. Phân tích và xử lý số liệu

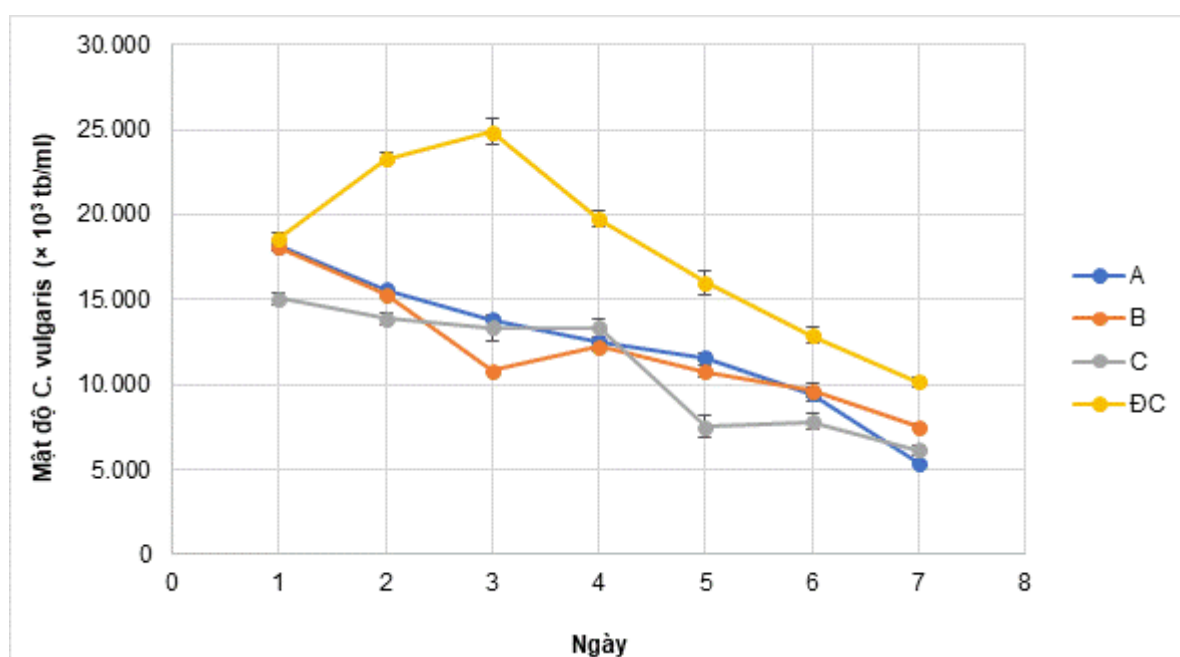
Đối với thí nghiệm trong phòng, sự thay đổi mật độ tảo theo ngày được phân tích bằng phương pháp hồi quy tuyến tính. Để so sánh các đường sinh trưởng, phân tích ANOVA hai nhân tố Ngày và Nghiệm thức cùng phép thử Tukey (ở mức tin cậy P < 0,05) được sử dụng để so sánh các hệ số hồi quy.

Đối với thí nghiệm ao thực địa, số liệu mật độ tảo giữa các nghiệm thức trong cùng 1 ngày, và giữa các ngày trong cùng 1 nghiệm thức được so sánh thống kê one-way ANOVA cùng phép thử Tukey (ở mức tin cậy P < 0,05).

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Thí nghiệm 1: Ảnh hưởng của chế phẩm vi sinh và BKC lên sinh trưởng của vi tảo *Chlorella vulgaris*

Mật độ tảo *C. vulgaris* giảm dần theo thời gian, từ khoảng $15-18 \times 10^6$ tb/ml xuống $5-8 \times 10^6$ tb/ml sau 7 ngày thí nghiệm trong cả 3 nghiệm thức (Hình 1). Mật độ tảo giảm ngay sau khi chế phẩm vi sinh và BKC được bổ sung vào bình, trong khi đó, ở nghiệm thức đối chứng, tảo tiếp tục pha sinh trưởng.



Hình 1. Mật độ *C. vulgaris* theo ngày của các nghiệm thức A (Biofloc02), B (ProbioAqua), C (BKC) và ĐC (đối chứng)

Bảng 1. Kết quả phân tích ANOVA các mô hình hồi quy tuyến tính của hai nhân tố Ngày và Nghiệm thức với mật độ *C. vulgaris* (đã chuyển dạng logarit)

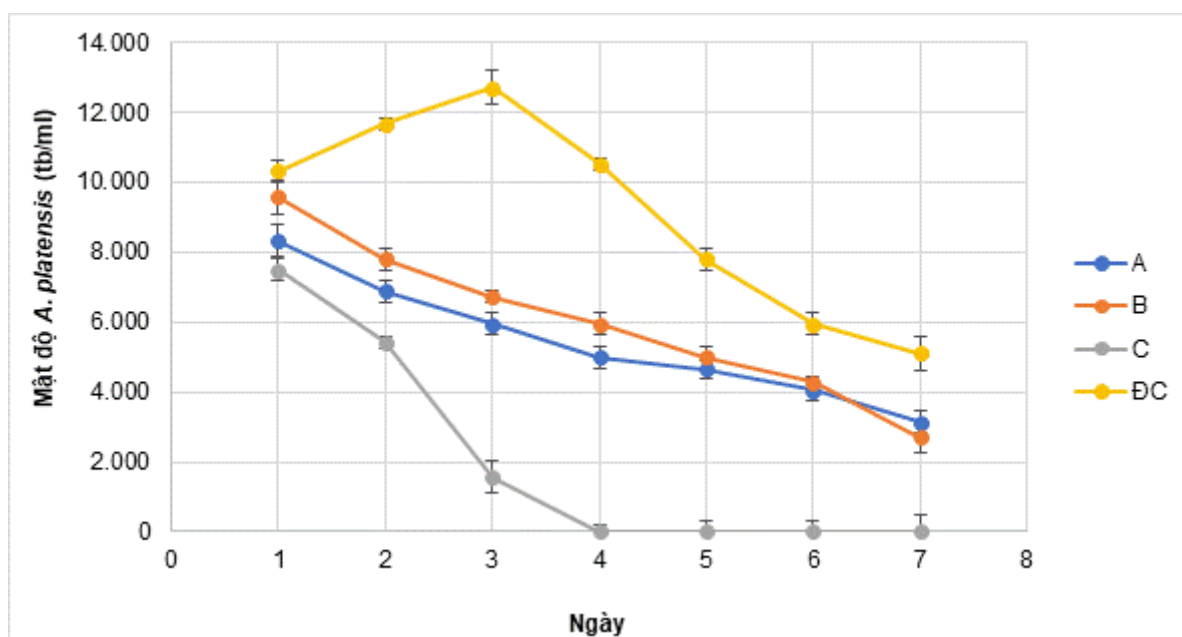
Biến	DF	Adj SS	Adj MS	F	P
Hồi quy tuyến tính	5	6,08	1,22	77,26	<0,001
Ngày	1	5,83	5,83	370,25	<0,001
Nghiệm thức	2	0,17	0,08	5,25	0,008
Ngày × Nghiệm thức	2	0,09	0,04	2,77	0,071
Error	57	0,90	0,02		
Lack-of-Fit	15	0,87	0,06	108,68	<0,001
Pure Error	42	0,02	0,00		
Total	62	6,97			

Kết quả phân tích hồi quy tuyến tính giữa mật độ tảo *C. vulgaris* (đã được chuyển dạng logarit và chuẩn hóa) với Ngày và Nghiệm thức cho thấy các hệ số của các mô hình khác 0 ($P < 0,001$, Bảng 1). Các hệ số của nhân tố chính Ngày ($P < 0,001$) và Nghiệm thức ($P = 0,008$) có ý nghĩa thống kê, tuy nhiên, hệ số của tương tác Ngày × Nghiệm thức không có ý nghĩa ($P = 0,071$). Điều này chứng tỏ, mật độ tảo bị ảnh hưởng bởi hai nhân tố thời gian và vi sinh/hóa chất, tuy nhiên, không có tác động tương hỗ giữa hai nhân tố

Khi so sánh mối quan hệ giữa mật độ tảo theo thời gian giữa các nghiệm thức, các hệ số hồi quy của phương trình hồi quy tuyến tính không có sự khác biệt thống kê ($P > 0,05$). Nghĩa là có sự khác biệt về tốc độ giảm mật độ tảo *Chlorella* giữa đối chứng và các nghiệm thức nhưng không có sự khác biệt giữa các nghiệm thức vi sinh và hóa chất. Vì vậy, một hệ số hồi quy chung (common slope) được áp dụng cho cả 3 nghiệm thức nhằm mô tả xu hướng biến đổi mật độ vi tảo *Chlorella* theo thời gian. Phương trình hồi quy tuyến tính tổng quát thu được là:

Bảng 2. Kết quả phân tích ANOVA mô hình hồi quy tuyến tính chung giữa thời gian và mật độ *Chlorella* cho cả 3 nghiệm thức

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F	P
Regression	1	5,82	5,82	309,28	<0,001
Ngày	1	5,82	5,82	309,28	<0,001
Error	61	1,15	0,02		
Lack-of-Fit	5	0,35	0,07	4,93	<0,001
Pure Error	56	0,80	0,01		
Total	62	6,97			



Hình 2. Mật độ *A. platensis* theo ngày của các nghiệm thức A (Biofloc02), B (ProbioAqua), C (BKC) và ĐC (đối chứng)

$$\ln(\text{Mật độ } Chlorella) = 16,84 - 0,15 \times \text{'Ngày'}$$

Các hệ số trong mô hình có ý nghĩa thống kê ($P < 0,001$, Bảng 2). Mô hình này có khả năng giải thích được 82,42% sự biến thiên của mật độ vi tảo trong quá trình thí nghiệm. Như vậy, mật độ vi tảo *Chlorella* giảm tuyến tính theo thời gian khi sử dụng vi sinh Biofloc02, ProbioAqua và hóa chất BKC.

3.2. Thí nghiệm 2: Ảnh hưởng của chế phẩm vi sinh Biofloc02, ProbioAqua và BKC lên sinh trưởng của vi khuẩn lam *Arthrospira platensis*

Mật độ vi khuẩn lam giảm ngày ở các nghiệm thức thử nghiệm vi sinh và BKC, trong

khi đó, ở nghiệm thức đối chứng vi khuẩn lam cũng vẫn tăng sinh. Mật độ vi khuẩn lam *A. platensis* giảm từ khoảng $8-10 \times 10^3$ xuống 3×10^3 tế bào/ml đối với 2 nghiệm thức chế phẩm vi sinh vào ngày thứ 7. Vào ngày thứ 4 toàn bộ vi khuẩn lam chết đối ở nghiệm thức BKC (Hình 2).

Kết quả phân tích hồi quy tuyến tính giữa mật độ vi khuẩn lam *A. platensis* (sau khi chuyển logarit và chuẩn hóa) với các biến độc lập Ngày, Nghiệm thức và tương tác Ngày $\times$ Nghiệm thức cho thấy các hệ số đều khác 0 một cách có ý nghĩa thống kê ($P < 0,001$, Bảng 3). Điều này cho thấy cả thời gian nuôi (Ngày) và loại hóa chất/vi sinh sử dụng đều có ảnh hưởng đến sự biến động

mật độ vi khuẩn lam trong suốt quá trình thí nghiệm. Cụ thể, hệ số âm của biến “Ngày” cho thấy mật độ vi khuẩn lam có xu hướng giảm theo thời gian trong toàn bộ các thí nghiệm. Tuy nhiên, sự tương tác có ý nghĩa giữa “Ngày × Thí nghiệm” cho thấy tốc độ giảm này khác nhau giữa các thí nghiệm. Nghĩa là, hiệu quả kiểm soát mật độ vi khuẩn lam theo thời gian phụ thuộc vào từng thí nghiệm cụ thể.

Khi so sánh các đường hồi quy tuyến tính giữa các thí nghiệm, các hệ số hồi quy khác nhau có ý nghĩa thống kê ($P < 0,001$). Kết quả các mô hình hồi quy tuyến tính của 3 thí nghiệm được tổng hợp trong bảng 4. Mô hình có khả năng giải thích 72,40% sự biến thiên trong số liệu mật độ tảo thu được. Tốc độ giảm mật độ tảo *A. platensis* ở các thí nghiệm theo thứ tự $BKC > Biofloc02 > ProbioAqua$. Kết quả này phản ánh vai trò khác nhau của các yếu tố xử lý trong việc kiểm soát mật độ vi khuẩn lam.

3.3. Thí nghiệm 3: Ảnh hưởng của chế phẩm vi sinh và BKC đến mật độ vi tảo lục và vi khuẩn lam trong ao cá nước ngọt

Tổng mật độ vi tảo lục và vi khuẩn lam giữa

7 ngày thu mẫu không thay đổi trong từng thí nghiệm: ProbioAqua, Biofloc02, BKC (Hình 3, $P > 0,05$). Không có sự khác biệt về tổng mật độ vi tảo lục và vi khuẩn lam giữa các thí nghiệm trong từng ngày thu mẫu ($P > 0,05$). Mặc dù không có sự khác biệt về thống kê nhưng có thể thấy xu hướng mật độ tảo giảm dần hoặc không tăng khi sử dụng 2 sản phẩm vi sinh (ProbioAqua, Biofloc02) và hóa chất BKC.

Hai ngành tảo lục và vi khuẩn lam chiếm ưu thế trong các ao nên mức chênh lệch mật độ của hai ngành này giữa ngày đầu và ngày cuối trong từng thí nghiệm được so sánh với giá trị 0. Vì vậy khi phân tích thống kê, không chuyển dạng số liệu sang logarit mà sử dụng số liệu ở dạng đơn vị tế bào/ml. Chênh lệch mật độ tảo lục giữa ngày 1 và ngày 8 của thí nghiệm ProbioAqua và của BKC không khác 0 (Bảng 5, $P > 0,05$), trong khi đó, giá trị này của thí nghiệm Biofloc02 > 0 (Bảng 5, $P < 0,05$).

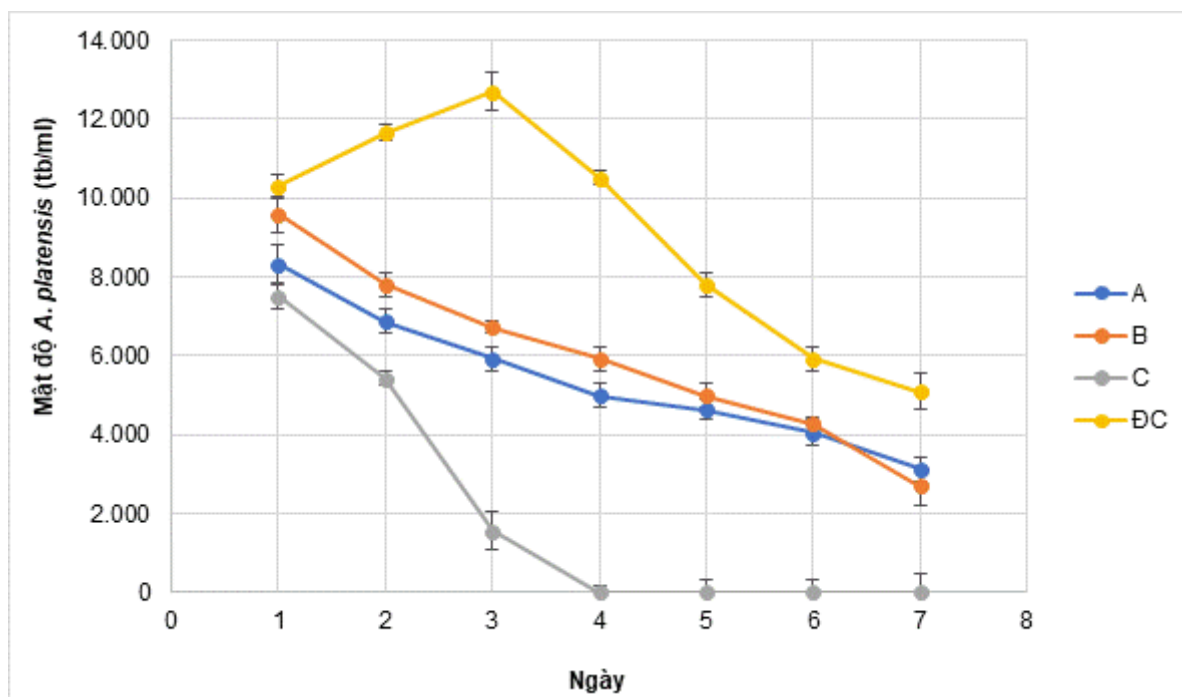
Khác với tảo lục, chênh lệch mật độ vi khuẩn lam giữa ngày 1 và ngày 8 trong thí nghiệm ProbioAqua và Biofloc02 không khác 0 (Bảng 6, $P > 0,05$). Ngược lại, mật độ chênh lệch vi khuẩn lam trong thí nghiệm BKC > 0 (Bảng 6, $P < 0,05$).

Bảng 3. Kết quả phân tích ANOVA các mô hình hồi quy tuyến tính của hai nhân tố Ngày và Thí nghiệm với mật độ *A. platensis* (đã chuyển dạng logarit)

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F	P
Regression	5	175,487	35,097	40,77	<0,001
Ngày	1	109,258	109,258	126,91	<0,001
Thí nghiệm	2	163,825	81,912	95,14	<0,001
Ngày × Thí nghiệm	2	95,386	47,693	55,4	<0,001
Error	48	41,325	0,861		
Lack-of-Fit	12	41,068	3,422	479,45	<0,001
Pure Error	36	0,257	0,007		
Total	53	216,812			

Bảng 4. Mô hình hồi quy tuyến tính của 3 thí nghiệm ProbioAqua, Biofloc02, và BKC

Thí nghiệm	Phương trình hồi quy
ProbioAqua	$\ln(\text{Mật độ } \textit{Arthrospira}) = 9,16 - 0,15 \times \text{'Ngày'}$
Biofloc02	$\ln(\text{Mật độ } \textit{Arthrospira}) = 9,39 - 0,19 \times \text{'Ngày'}$
BKC	$\ln(\text{Mật độ } \textit{Arthrospira}) = 13,22 - 2,80 \times \text{'Ngày'}$



Hình 3. Tổng mật độ vi tảo lục và vi khuẩn lam của các nghiệm thức ProbioAqua, Biofloc02, và BKC trong quá trình thí nghiệm (TB $\pm$ SD)

Bảng 5. Kết quả phân tích kiểm định one-sample T-test đối với chênh lệch mật độ tảo lục giữa ngày 1 và ngày 8 trong từng nghiệm thức (mật độ tảo lục ngày 1 - mật độ tảo lục ngày 8)

Nghiệm thức	N	Trung bình	Độ lệch chuẩn trung bình	T	P
ProbioAqua	3	129012	185445	1,2	0,351
Biofloc02	3	200444	46028	7,54	0,017
BKC	2	-14800	36840	-0,57	0,671

Bảng 6. Kết quả phân tích kiểm định one-sample T-test đối với chênh lệch mật độ vi khuẩn lam giữa ngày 1 và ngày 8 trong từng nghiệm thức (mật độ vi khuẩn lam ngày 1 – mật độ vi khuẩn lam ngày 8)

Nghiệm thức	N	Trung bình	Độ lệch chuẩn trung bình	T	P
ProbioAqua	3	38972	17163	3,93	0,059
Biofloc02	3	61926	49134	2,18	0,161
BKC	2	27500	1768	22	0,029

Như vậy, trên ao thực địa, BKC có khả năng làm giảm mật độ vi khuẩn lam và không có tác dụng lên vi tảo lục. Ngược lại, Biofloc02 có khả năng giảm mật độ vi tảo lục nhưng không có tác dụng trên vi khuẩn lam. ProbioAqua không làm giảm mật độ vi tảo lục và vi khuẩn lam.

4. THẢO LUẬN

Kết quả thí nghiệm cho thấy mật độ tế bào *Chlorella vulgaris* có xu hướng giảm dần theo thời gian trong cả ba nghiệm thức xử lý bằng chế phẩm vi sinh và hóa chất BKC. Tại điều

kiện thực địa, cả ba sản phẩm đều có khả năng ngăn cản sự phát triển của tảo lục, trong đó Biofloc02 thể hiện xu hướng làm giảm rõ rệt. Hiện tượng mật độ *C. vulgaris* giảm ngay sau khi bổ sung chế phẩm vi sinh (Biofloc02 và ProbioAqua) trong điều kiện nuôi tĩnh không sự khuấy phản ánh khả năng cạnh tranh nguồn dinh dưỡng giữa vi khuẩn *Bacillus* spp. và tảo. Nhiều nghiên cứu đã chỉ ra *Bacillus* có thể sử dụng các hợp chất hữu cơ hoặc vô cơ để phân giải để sinh trưởng, đồng thời sản sinh enzyme phân hủy chất hữu cơ, từ đó làm giảm tốc độ tích lũy sinh khối của tảo (Ramanan & cs., 2016). Tuy nhiên, mức ức chế này không quá mạnh, vì mật độ tảo vẫn duy trì ở mức trung bình $9-12 \times 10^3$ tb/ml sau 7 ngày, cho thấy không có hiện tượng sụp giảm tảo hoàn toàn.

Trong khi đó, nghiệm thức sử dụng hóa chất BKC ghi nhận mức độ suy giảm mật độ *C. vulgaris* nhanh chỉ từ ngày thứ tư. BKC ảnh hưởng trực tiếp đến hệ thống quang hợp PSII thay vì sinh khối trong thời gian đầu nếu ở nồng độ thấp (Pérez & cs., 2009). Nghiên cứu của Wang & cs. (2020) đã chỉ ra rằng BKC ở nồng độ thấp (3 mg/l) có thể ức chế sự phát triển của *C. vulgaris*, và khi tăng nồng độ lên 30 mg/l, hiệu quả ức chế đạt đến 95%. Điều này khẳng định rõ ảnh hưởng ức chế của cả chế phẩm vi sinh và BKC lên sinh trưởng của *C. vulgaris* trong điều kiện phòng thí nghiệm, dù cơ chế và cường độ ảnh hưởng khác nhau.

Tương tự, mật độ tế bào *A. platensis* có xu hướng giảm dần trong suốt thời gian thí nghiệm ở cả ba nghiệm thức xử lý vi sinh và BKC, trong khi nghiệm thức đối chứng cho thấy sự tăng trưởng rõ rệt trong 3 ngày đầu (đạt đỉnh gần 13×10^3 tb/ml vào ngày thứ 3), sau đó mới bắt đầu giảm nhẹ. Điều này phản ánh rằng cả chế phẩm vi sinh và BKC đều có tác động ức chế đến sự sinh trưởng của *A. platensis*, nhưng mức độ và cơ chế tác động khác nhau. Điều này cho thấy *A. platensis* có khả năng tăng trưởng tốt trong điều kiện chuẩn, nhưng lại rất nhạy cảm với các tác nhân sinh học và hóa học được bổ sung. Quan sát tại thực địa cũng cho thấy sự ức chế sinh trưởng vi khuẩn lam rõ rệt tại các ao xử lý bằng Biofloc02 và ProbioAqua.

Cơ chế ức chế của *Bacillus* spp. đối với vi khuẩn lam có thể liên quan đến khả năng phân rã cấu trúc tập đoàn, phá vỡ lớp chất nhầy polysaccharide bảo vệ bên ngoài và làm giảm khả năng chống chịu của tế bào (Bi & cs., 2019). Nghiên cứu của Yu & cs. (2015) cũng cho thấy *Bacillus amyloliquefaciens* T1 có thể tiết hợp chất ngoại bào có hoạt tính kháng tảo mạnh, đặc biệt hiệu quả đối với *Microcystis aeruginosa*. Những hoạt chất này có thể gây ly giải màng, ức chế quang hợp và ảnh hưởng đến cân bằng nội bào, khiến vi khuẩn lam mất khả năng duy trì tập đoàn và sinh khối.

Nghiệm thức sử dụng BKC cho thấy ảnh hưởng mạnh nhất, với *A. platensis* bị tiêu diệt hoàn toàn chỉ sau 4 ngày. Tại thực địa, mật độ vi khuẩn lam cũng giảm rõ ở các ao có sử dụng BKC sau 8 ngày xử lý. Điều này phù hợp với cơ chế hoạt động của benzalkonium chloride - một hợp chất ammonium bậc bốn có khả năng tương tác điện tích với màng phospholipid, làm phá vỡ cấu trúc màng và gây rối loạn chức năng nội bào (Gilbert & Moore, 2005). Ngoài ra, BKC cũng được ghi nhận là có thể ức chế mạnh hệ thống quang hợp PSII, tạo stress oxy hóa và làm tăng sản xuất độc tố ở một số loài vi khuẩn lam như *Microcystis aeruginosa* (Jia & cs., 2024; Qian & cs., 2022).

5. KẾT LUẬN

Nghiên cứu cho thấy cả hai chế phẩm vi sinh (*Bacillus* spp.) và hóa chất BKC đều có ảnh hưởng ức chế đến sự sinh trưởng của vi tảo lục *Chlorella vulgaris* và vi khuẩn lam *Arthrospira platensis* trong điều kiện phòng thí nghiệm. Các sản phẩm này cũng có ảnh hưởng ức chế với ngành tảo lục và ngành vi khuẩn lam ở ao thực địa. BKC có tác dụng mạnh nhất trong việc kiểm soát vi khuẩn lam và Biofloc02 có tác động rõ rệt hơn với vi tảo lục. Kết quả nghiên cứu cung cấp cơ sở khoa học cho việc lựa chọn và ứng dụng các chế phẩm trong quản lý sinh khối vi tảo ở hệ thống nuôi thủy sản nước ngọt.

LỜI CẢM ƠN

Nhóm tác giả gửi lời cảm ơn tới các cô bác chủ ao và sinh viên của Livefeed Lab đã tạo điều kiện và giúp đỡ triển khai thí nghiệm. Cảm

ơn các công ty VMC Việt Nam và công ty TNHH Biofloc đã tài trợ sản phẩm thử nghiệm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Bagatini I.L., Eiler A., Bertilsson S., Klaveness D., Tessarolli L.P. & Vieira A.A.H. (2014). Host-specificity and dynamics in bacterial communities associated with bloom-forming freshwater phytoplankton. *PloS One*. 9(1): e85950.
- Beveridge C., Parr A., Smith M., Kerr A., Cowling M. & Hodgkiess T. (1998). The effect of benzalkonium chloride concentration on nine species of marine diatom. *Environmental Pollution*. 103(1): 31-36.
- Bi X., Dai W., Wang X., Dong S., Zhang S., Zhang D. & Shi H. (2019). Effects of *Bacillus subtilis* on the growth, colony maintenance, and attached bacterial community composition of colonial cyanobacteria. *Environmental Science and Pollution Research*. 26(15): 14977-14987.
- Boyd C.E., Hollerman W.D., Plumb J.A. & Saeed M. (1984). Effect of treatment with a commercial bacterial suspension on water quality in channel catfish ponds. *The Progressive Fish-Culturist*. 46(1): 36-40.
- Cai H., Jiang H., Krumholz L.R. & Yang Z. (2014). Bacterial community composition of size-fractioned aggregates within the phycosphere of cyanobacterial blooms in a eutrophic freshwater lake. *PloS One*. 9(8): e102879.
- Eiler A. & Bertilsson S. (2004). Composition of freshwater bacterial communities associated with cyanobacterial blooms in four Swedish lakes. *Environmental Microbiology*. 6(12): 1228-1243.
- Elersek T., Ženko M. & Filipič M. (2018). Ecotoxicity of disinfectant benzalkonium chloride and its mixture with antineoplastic drug 5-fluorouracil towards alga *Pseudokirchneriella subcapitata*. *Peer J*. 6: e4986.
- Fukami K., Nishijima T., & Ishida Y. (1997). Stimulative and inhibitory effects of bacteria on the growth of microalgae. *Hydrobiologia*. 358: 185-191.
- Gilbert P. & Moore L. (2005). Cationic antiseptics: diversity of action under a common epithet. *Journal of Applied Microbiology*. 99(4): 703-715.
- Jia Y., Huang Y., Ma J., Zhang S., Liu J., Li T. & Song L. (2024). Toxicity of the disinfectant benzalkonium chloride (C14) towards cyanobacterium *Microcystis* results from its impact on the photosynthetic apparatus and cell metabolism. *Journal of Environmental Sciences*. 135: 198-209.
- Kreuzinger N., Fuerhacker M., Scharf S., Uhl M., Gans O., & Grillitsch B. (2007). Methodological approach towards the environmental significance of uncharacterized substances - quaternary ammonium compounds as an example. *Desalination*. 215(1-3): 209-222.
- Lê Việt Dũng, Phạm Thị Lam Hồng, Lê Thị Cẩm Van, Đoàn Văn Vững. (2025). Thành phần và mức độ đa dạng sinh học vi tảo trong một số ao ương nuôi cá nước ngọt tại xã Hồng Đức, huyện Ninh Giang, tỉnh Hải Dương. *Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam*. 23(6): 744-761.
- Munro P., McLean, H., Barbour, A., & Birkbeck, T. (1995). Stimulation or inhibition of growth of the unicellular alga *Pavlova lutheri* by bacteria isolated from larval turbot culture systems. *Journal of Applied Bacteriology*. 79(5): 519-524.
- Pereira B. & Tagkopoulos I. (2019). Benzalkonium chlorides: uses, regulatory status, and microbial resistance. *Applied and Environmental Microbiology*. 85(13): e00377-00319.
- Pérez P., Fernández E. & Beiras R. (2009). Toxicity of benzalkonium chloride on monoalgal cultures and natural assemblages of marine phytoplankton. *Water, Air, and Soil Pollution*. 201: 319-330.
- Qian, Y., He, Y., Li, H., Yi, M., Zhang, L., Zhang, L., Liu L. & Lu Z. (2022). Benzalkonium chlorides (C12) inhibits growth but motivates microcystins release of *Microcystis aeruginosa* revealed by morphological, physiological, and iTRAQ investigation. *Environmental Pollution*. 292: 118305.
- Ramanan R., Kim B.-H., Cho D.-H., Oh H.-M. & Kim H.-S. (2016). Algae-bacteria interactions: evolution, ecology and emerging applications. *Biotechnology Advances*. 34(1): 14-29.
- Shi L., Cai Y., Kong F. & Yu Y. (2011). Changes in abundance and community structure of bacteria associated with buoyant *Microcystis* colonies during the decline of cyanobacterial bloom (autumn-winter transition). *International Journal of Limnology*. 47: 355-362.
- Shi L., Cai Y., Li P., Yang H., Liu Z., Kong L., Yu Y. & Kong F. (2009). Molecular identification of the colony-associated cultivable bacteria of the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* and their effects on algal growth. *Journal of Freshwater Ecology*. 24(2): 211-218.
- Wang C., Huang Y., He S., Lin Y., Wang X. & Kong H. (2009). Variation of phytoplankton community before an induced cyanobacterial (*Arthrospira platensis*) bloom. *Journal of Environmental Sciences*. 21(12): 1632-1638.
- Wang J., Zhang T., Zhang X., Asif M., Jiang L., Dong S., Gu T.Y. & Liu H. (2020). Inhibition effects of benzalkonium chloride on *Chlorella vulgaris* induced corrosion of carbon steel. *Journal of Materials Science & Technology*. 43: 14-20.
- Yu J., Kong Y., Gao S., Miao L., Zou P., Xu B., Zeng C. & Zhang X. (2015). *Bacillus amyloliquefaciens* T1 as a potential control agent for cyanobacteria. *Journal of Applied Phycology*. 27: 1213-1221.