

SỰ PHÁT TRIỂN CỦA TẢO CHAETOCEROS SP. TRÊN NỀN ĐẤT AO NUÔI ARTEMIA VINH CHÂU-SÓC TRĂNG

Tát Anh Thu¹, Nguyễn Văn Hòa², Võ Thị桂¹

ABSTRACT

The aim of this research was to study the effects of soil bottom ponds in releasing nutrients N,P into water column, which in term may relate to the growth of chaetoceros sp. as water bloom. Soil samples were collected from two different Artemia in categorised into algae bloom (T2) versus non algae bloom (T4). The soil samples were then used to incubate into algae culture bottles in laboratory. Results indicated that chaetoceros sp. grew better (12 million cell/ml) in the pond T2 which was rich in soil organic matters, high concentration of labile organic nitrogen, high amount of N and P mineralized compared to T4 pond (10 million cell/ml), the poor soil in all above parameters compared to walne medium, nutrients provided from soils was not optimum for chaetoceros sp. growth. However, soil rich in organic matter supplied nutrients in longer time and resulted in longer period for algae growing. In practical, farmers supply the same amount of inorganic fertilizer in the pond rich in soil organic matter as the poor soil. This nutrient management way leads to enhance the fast algal development resulted in algae bloom in Artemia ponds.

Keywords: *Water bloom, organic matter, N and P dynamics, Artemia, Chaetoceros*

Title: *Growth of Chaetoceros sp. under the effect of Artemia soil ponds in Vinhchau Soc Trang province*

TÓM TẮT

Nghiên cứu ảnh hưởng của đất đáy ao đến sự phóng thích N, P và sự phát triển của tảo Chaetoceros sp. được thực hiện nhằm tìm hiểu vai trò của đất đáy ao trong cung cấp dinh dưỡng N, P liên quan đến sự phát triển của tảo gây trở ngại trong nuôi Artemia. Tảo Chaetoceros sp. được nuôi trong môi trường dinh dưỡng được cung cấp từ hai nền đất đáy ao giàu và nghèo chất hữu cơ. Kết quả thí nghiệm cho thấy đất đáy ao có ảnh hưởng đến sự phát triển của tảo. Tảo Chaetoceros sp. phát triển tốt, đạt 12 triệu tế bào trong ml, trong đất giàu chất hữu cơ, giàu N hữu cơ dễ phân hủy và N khoáng hóa và P hữu dụng cao (ao T2) so với ao nghèo các thành phần trên, chỉ đạt 10 triệu tế bào (ao T4) trong ml. Đất đáy ao giàu chất hữu cơ cung cấp dưỡng chất lâu dài hơn, thời gian tảo phát triển dài hơn so với đất nghèo chất hữu cơ. Trong thực tế sản xuất, khi nông dân bón phân giống nhau, thì ao T2 có môi trường giàu dinh dưỡng làm tảo phát triển mạnh, sinh ra hiện tượng “hoa tảo”. Vì thế cần xác định hàm lượng chất hữu cơ và dưỡng chất N, P trong đất đáy ao để quản lý dinh dưỡng ao nuôi Artemia hợp lý hơn.

Từ khóa: *Chất hữu cơ, Artemia, N và P*

¹ Khoa Nông nghiệp và Sinh học ứng dụng, Trường Đại học Cần Thơ

² Khoa Thủy sản, Trường Đại học Cần Thơ

1 GIỚI THIỆU

Một trong những yếu tố quan trọng góp phần thành công trong nuôi *Artemia* là thành phần và mật độ tảo trong ao nuôi. Theo nghiên cứu của Bossuyt và Sorgeloos (1980) thì thức ăn của *Artemia* các loài tảo đơn bào, chủ yếu là tảo khuê. Tảo *Chaetoceros sp.* là một trong những thức tốt nhất cho *Artemia* do có chứa hàm lượng dinh dưỡng khá cao 34% protein, 16% lipid và 6,0% carbohydrate (Brown, 1991). Theo Baert *et al.*, (1996) mỗi loài tảo thích ứng với hàm lượng dinh dưỡng nhất định trong môi trường nuôi, ví dụ tảo lục (*Tetrasemis*, *Dunaliella*) và tảo silic (*Chaetoceros*, *Navicula*, *Nitzschia*) phát triển tốt ở tỷ lệ N:P = 10:1, khi tỷ lệ N:P = 20-50 :1 loài tảo *Chlorococcales* phát triển mạnh, nếu tỷ lệ N:P = 5-10:1 thì loài *Cyanophyta* chiếm ưu thế (Bulgakov and Levich, 1999). Khảo sát thực tế tại các ao nuôi *Artemia* tại Vĩnh Châu - Sóc Trăng, chúng tôi nhận thấy tảo trong ao nuôi rất đa dạng và biến động về số lượng cũng như thành phần loài. Giả thuyết đặt ra là đất đáy ao có thể góp phần quan trọng tác động lên sự sinh trưởng và phát triển của tảo. Hiểu được mối liên hệ giữa đất đáy ao qua cung cấp dinh dưỡng N và P vào môi trường nước có thể điều chỉnh lượng phân bón vô cơ và hữu cơ cần thiết giữa các ao khác nhau. Tảo phát triển với mật độ phù hợp nhu cầu cần thiết của *Artemia* giúp nuôi *Artemia* được thành công hơn.

2 PHƯƠNG PHÁP THÍ NGHIỆM

Đất thí nghiệm được thu vào mùa khô, trước khi bắt đầu vụ canh tác *Artemia*, tại trại thực nghiệm của trường Đại Học Cần Thơ ở Vĩnh Châu, Sóc Trăng. Đất được thu từ hai ao nuôi *Artemia* có hàm lượng chất hữu cơ giàu (T2) và nghèo (T4). Trong thực tế, hằng năm ao T2 là ao thường xuyên có hiện tượng “hoa tảo”, trong khi hiện tượng này chưa xảy ra ở ao T4. Đất bùn đáy ao được thu ở độ sâu 3cm trên 10 điểm theo hình Ziczac, sau đó trộn đều để được một mẫu đại diện. Lớp đất mặt 3cm được xem là quan trọng nhất trong tương tác dinh dưỡng giữa đất và nước. Đất được phơi khô trong không khí, nghiền qua rây 0,5mm và 2mm cho phân tích các chỉ tiêu hóa học đất thí nghiệm nuôi tảo trong phòng.

Đất được cho vào bình thủy tinh ngâm trong nước biển nhân tạo (Instant Ocean) nồng độ mặn 70‰. Tỷ lệ đất và nước được tính tương tự với tỷ lệ thực tế trong ao nuôi *Artemia* với mực nước sâu 20cm và lớp đất 3cm. Tảo *Chaetoceros sp.* là mẫu tảo thuần, không bị nhiễm. Được nuôi và giữ giống tại phòng thí nghiệm Khoa Thủy Sản Trường Đại Học Cần Thơ. Mật độ tảo sử dụng cho thí nghiệm là 100.000 tế bào/ml.

Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên, năm nghiệm thức và sáu lần lặp lại với 1/ Đất ao T2 trong môi trường nước biển nhân tạo; 2/ Đất ao T4 trong môi trường nước biển nhân tạo; 3/ Đất ao T2 và có nuôi tảo; 4/ Đất ao T4 và có nuôi tảo; 5/Môi trường hòa tan Dung dịch Walne.

Dung dịch Walne có thành phần dinh dưỡng gồm 32,94ppm N và 7,89ppm P (tỷ lệ N:P = 4:1) và các khoáng khác như FeCl₃, MnCl₂.4H₂O, EDTA, H₃BO₃, ZnCl₂, CoCl₂.6H₂O, CuSO₄. 5H₂O, (NH₄)₆Mo₇O₂₄.4H₂O vitamin B1 và Na₂SiO₃.5H₂O.

Các chỉ tiêu theo dõi trong thí nghiệm

Hàm lượng N và P hòa tan trong nước được phân tích vào các thời điểm 3, 5, 7 và 10 ngày sau khi nuôi. Mẫu nước sau khi thu được lọc qua giấy lọc Whatman 42 để loại bỏ tảo và các thành phần lơ lửng khác trong nước và cho qua màng lọc 0,2µm để loại bỏ các oxide sắt và các thành phần lơ lửng khác. Mẫu tảo được thu hằng ngày, mỗi lần thu 1ml và được cố định bằng formalin 4% để đếm mật số tảo bằng buồng đếm Bürker.

Bảng 1: Các phương pháp phân tích đất và nước

Chi tiêu phân tích	Ký hiệu	Đơn vị	Phương pháp áp dụng
pH nước	pH H ₂ O		Trích bằng nước cất, tỉ lệ ly trích 1:2,5(đất : nước), đo bằng pH kế
Độ mặn	EC	mS/cm	Trích bằng nước cất, tỉ lệ ly trích 1:2,5(đất : nước), đo bằng EC kế
Chất hữu cơ trong đất	CHC	%	Phương pháp Walkley – Black: oxy hoá bằng H ₂ SO ₄ đậm đặc K ₂ Cr ₂ O ₇ , chuẩn độ bằng FeSO ₄
Lân dễ tiêu	P dễ tiêu	mg /kg đất	Phương pháp Olsen: trích đất với 0,5M NaHCO ₃ , pH 8,5, tỷ lệ đất /nước: 1:20
Đạm ammonium	NH ₄ ⁺ -N	mg/kg	Phương pháp so màu indophenol blue: đất được trích bằng KCl 2M theo tỷ lệ 1:10 và so màu ở bước sóng 640nm
Đạm nitrate	NO ₃ ⁻ N	mg/kg	Phương pháp so màu hydrazine sulphate sau khi trích đất với KCl 2M với tỷ lệ 1:10 và so màu ở bước sóng 543nm
Hàm lượng đạm hữu cơ dễ phân hủy	N hữu cơ dễ phân hủy	mg N/kg	Phương pháp Gianello và Bremner (1986): Đạm hữu cơ được thủy phân trong dung dịch KCl 2 M đun nóng ở nhiệt độ 100°C
Lân tổng số	P ts	%	Công phá mẫu bằng H ₂ SO ₄ đđ-HClO ₄ , hiện màu theo phương pháp acid ascorbic và so màu trên máy so màu ở bước sóng 880 nm
Đạm tổng số	N ts	%	Mẫu đất được công phá với hỗn hợp H ₂ SO ₄ đậm đặc. Đạm được xác định theo phương pháp Kjeldahl.
Đạm amonium trong nước	NH ₄ ⁺	mg/lít	Phương pháp Indophenol Blue và so màu ở bước sóng 640nm Parson <i>et al.</i> , (1984)
Đạm nitrate	NO ₃ ⁻	mg/lít	Được xác định dựa trên sự thành lập chuỗi phản ứng với phenol và so màu (Gou, 2000)
Lân hoà tan trong nước	P	mg/lít	Hàm lượng Orthophosphate hoà tan được xác định bằng phương pháp molydate blue (Edwards <i>et al.</i> , 1965).

Khí được cung cấp liên tục để cho dinh dưỡng được trộn đều, tảo không bị lắng và tiếp xúc đều với ánh sáng. Ánh sáng trong thí nghiệm là đèn neon dài, thời gian chiếu sáng là 24h/24h, cường độ sáng khoảng 2.000 lux - 5.000 lux. Số liệu được xử lý với chương trình Excel và phần mềm thống kê Mstat C được sử dụng để so sánh sự khác biệt về mật số tảo, hàm lượng N, P giữa các nghiệm thức theo thời gian.

3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Đặc tính hoá học đất đáy ao nuôi Artemia

Kết quả phân tích đất được trình bày ở Bảng 2 cho thấy cả hai ao đều có pH trung tính, EC của đất tương đối cao do đất bị nhiễm mặn thường xuyên. Ao T2 có độ sâu tầng mặt hữu cơ dày hơn ao T4 và có hàm lượng chất hữu cơ, đạm tổng số, lân dễ tiêu, và thành phần đạm hữu cơ dễ phân hủy cao hơn đất ao T4. Cả hai ao thí nghiệm đều có tỷ số C/N <20 sự khoáng hoá đạm trong đất đã ổn định (Tisdale và Nelson, 1975).

Bảng 2: Một số chỉ tiêu hóa học đất đáy ao T2 và T4

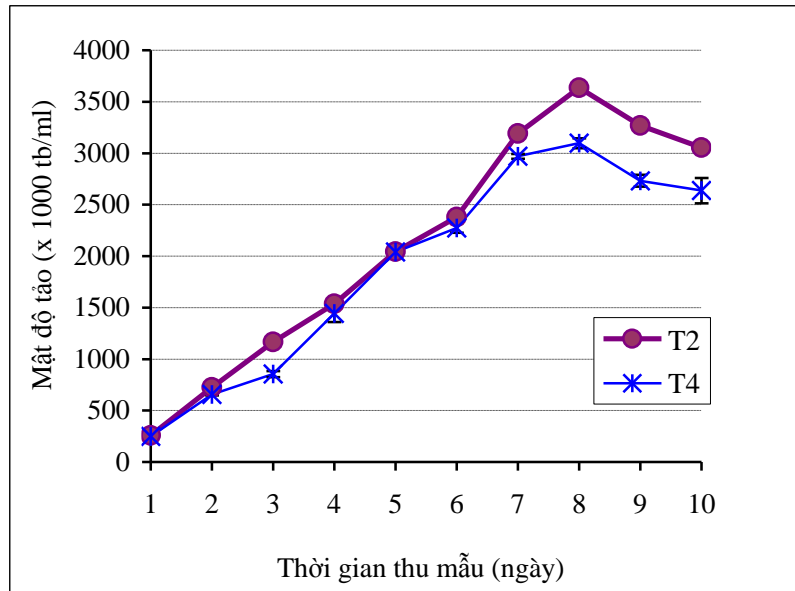
Thành phần hoá học đất	Ao T2	Ao T4
Độ sâu tầng mặt hữu cơ (cm)	40	10
pH _{H₂O} (1:5)	7,28	7,01
EC _(1:5) mS/cm	17,44	15,15
% N _{ts}	0,25	0,14
% P _{ts}	0,061	0,065
% CHC	8,34	4,34
Tỷ số C:N	16,42	15,50
P Olsen (mg P/kg đất)	0,28	0,25
N Hữu cơ dễ phân hủy (mgN/kg)	13,80	7,80

Ghi chú: N_{ts}: đạm tổng số; CHC: chất hữu cơ; EC: độ dẫn điện, pH: hoạt độ ion [H⁺], độ chua, P: hàm lượng lân.

3.2 Sự phát triển của tảo theo thời gian

Trong quá trình thí nghiệm nuôi tảo, kết quả ghi nhận cho thấy không có sự chênh lệch nhiệt độ lớn giữa ngày và đêm. Nhiệt độ chỉ dao động từ 28 - 32°C, khoảng nhiệt độ này thích hợp cho tảo phát triển nhanh, đạt sinh khối cao. pH nước biến động từ 7- 8, ở khoảng pH này thì hầu hết các loài tảo đều phát triển tốt tuy không phải là ngưỡng pH tối hảo cho sự phát triển của tảo (khoảng pH tối hảo là 8,2 - 8,7 theo Coutteau, 1996).

Mật độ tảo ở cả hai nghiệm thức 3 và 4 đều đạt tối đa vào 8 ngày sau khi nuôi. Đây chính là pha tăng trưởng trong quá trình phát triển của tảo. Từ ngày thứ 9 đến ngày thứ 10, mật độ tảo giảm dần ở cả 2 nghiệm thức 3 và 4. Giai đoạn này có thể được xem là pha suy tàn của tảo. Tế bào tảo chết với tác động của vi khuẩn bắt đầu phân hủy làm cho môi trường nuôi càng trở nên xấu hơn, hoặc do tảo phát triển đạt mật số quá dày nên một số tế bào tảo sẽ không tiếp xúc được với ánh sáng và thiếu dinh dưỡng tảo không phân chia được và cuối cùng suy tàn (Coutteau, 1996). Nhìn chung sau 24 giờ nuôi cấy tảo nhân mật số rất nhanh thường theo cấp số nhân, đến ngày thứ 8, sau đó giảm dần ở những ngày tiếp theo.



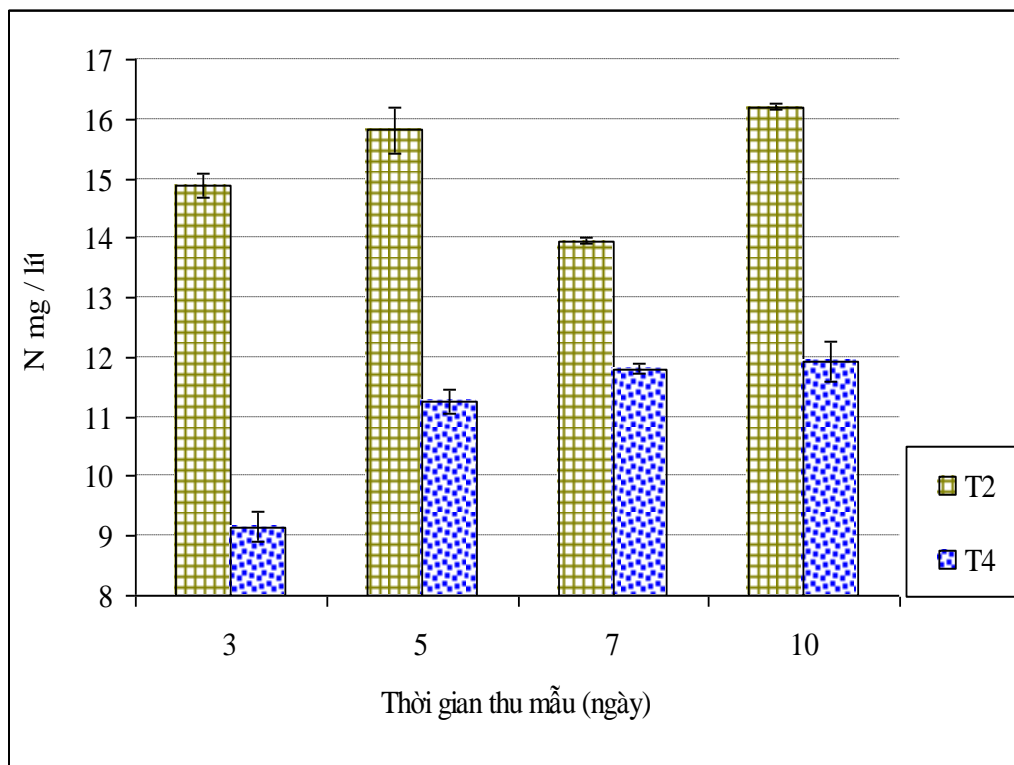
Hình 1: Sự phát triển của tảo *Chaetoceros calctrans* theo thời gian ở nồng độ muối 70% ở đất đáy ao T2 và T4

Kết quả phân tích thống kê cho thấy sự phát triển của tảo trong môi trường có đất sau 24 giờ nuôi, mật số tảo ở đất ao T2 cao hơn có ý nghĩa so với ao T4 trong khoảng 7 đến 10 ngày sau khi nuôi. Nguồn dinh dưỡng cung cấp từ đất giúp tảo phát triển cao nhất trong thời gian 8 ngày trên cả hai đất ao T2 và T4 (Hình 1). Tảo phát triển cao nhất trong môi trường nuôi Walne, mật số đạt cao nhất cũng vào ngày thứ 8. Môi trường Walne là môi trường nhân tạo đã được nghiên cứu và khuyến cáo là môi trường dinh dưỡng tối hảo cho sự sinh trưởng và phát triển của tảo. So sánh với môi trường có đất T4, thì dinh dưỡng cung cấp từ đất chỉ giúp tảo phát triển đạt gần 20% số lượng tảo so với môi trường Walne. Đối với môi trường đất đáy ao T2, giàu chất hữu cơ tỉ lệ này đạt 22%. Tuy đất cung cấp dưỡng chất chưa đủ cho sự phát triển tối hảo của tảo, đất đáy ao giàu chất hữu cơ giúp dưỡng chất duy trì trong môi trường lâu dài hơn so với đất nghèo chất hữu cơ. Sự khác nhau về gia tăng mật số của tảo trong môi trường có đất đáy ao giàu và nghèo dưỡng chất được nghiên cứu chi tiết về động thái dinh dưỡng N và P trong môi trường nuôi có và không có tảo.

3.3 Động thái N và P theo thời gian

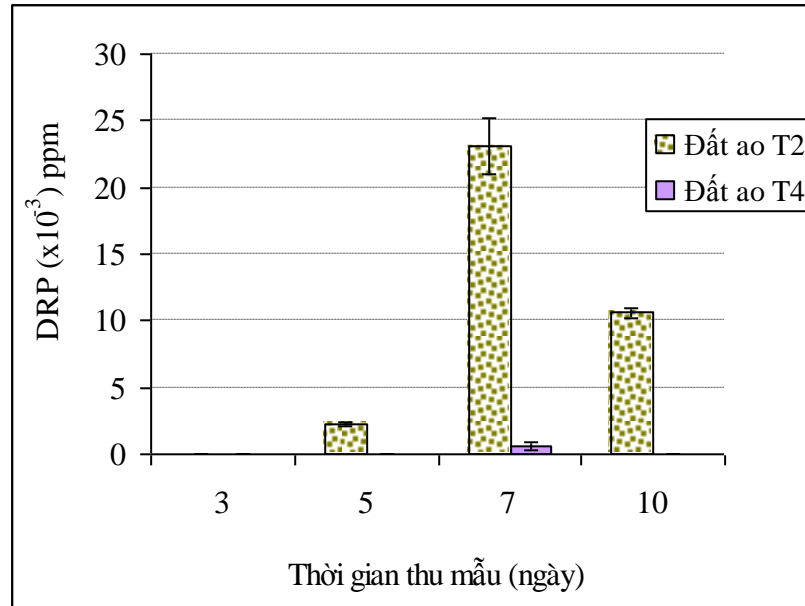
Kết quả phân tích hàm lượng đạm phóng thích từ đất đáy ao cho thấy đạm được khoáng hoá từ đất ao T2 cao hơn ao T4 (Hình 2). Đất đáy ao T2 có hàm lượng chất hữu cơ, hàm lượng đạm tổng số và hàm lượng đạm hữu cơ dễ phân huỷ cao hơn đất đáy ao T4. Yếu tố này giúp giải thích khả năng cung cấp N của đất ao T2 tốt hơn. Kết quả phân tích này phù hợp với kết luận của Stevenson (1982), Sim *et al.*, (1967) và Casman *et al.*, (1996) chất hữu cơ trong đất có tương quan chặt với đạm tổng số và hàm lượng N hữu cơ dễ phân huỷ có tương quan ý nghĩa với hàm lượng N khoáng (Denis Curtin và Guang Wen, 1999). Theo Groot và Houba (1995) thì có thể dựa vào thành phần N hữu cơ dễ phân huỷ để dự đoán khả năng cung cấp N của đất. Nhìn chung hàm lượng đạm khoáng hoá tăng dần theo thời gian trên cả hai ao T2 và T4. Hàm lượng N ở đất ao T2 cao khác biệt có ý nghĩa so với N trong đất

ao T4. Vào giai đoạn 7 ngày N có chiều hướng giảm sau đó tiếp tục tăng vào giai đoạn 10 ngày. Điều này có thể do ở giai đoạn này đã xảy ra sự bất động đạm.

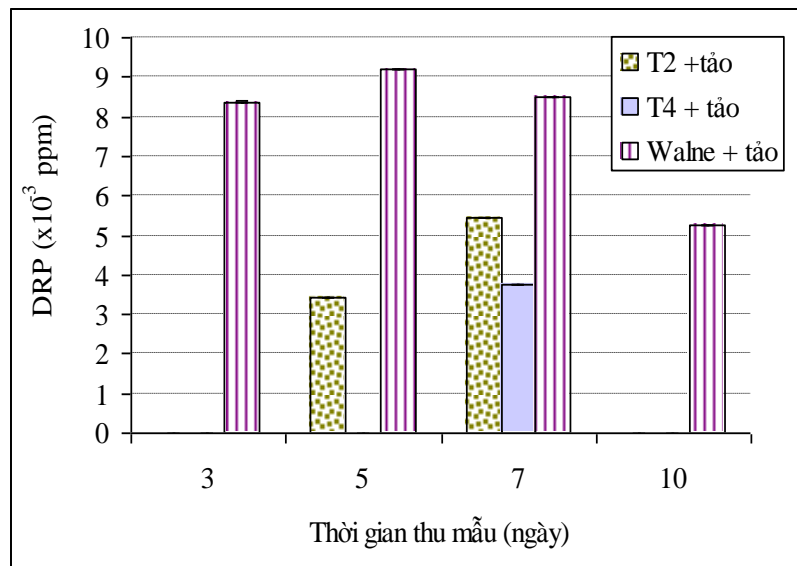


Hình 2: Sự biến động của N hữu dụng ($NH_4^{++}NO_3^-$) trong qua 1trình ủ đất đáy ao T2 và T4 ở điều kiện không có tảo

Hàm lượng lân hoà tan trong nước cao nhất vào giai đoạn 7 ngày sau khi cho đất ngập với nước biển, sau đó giảm dần đến ngày thứ 10. Hàm lượng lân hoà tan trong nước ở đất ao T2 cao hơn đất ao T4, có thể do đất ao T2 độ dày tầng hữu cơ cao hơn đất ao T4 do đó P được hấp phụ ở đất đáy ao T2 thấp hơn vì đất có lượng hữu cơ cao thì sự hấp phụ lân sẽ giảm do trong đất có nhiều acid humic hoặc acid fulvic làm giảm vị trí hấp phụ lân (Mora và Anales, 1995). Nhìn chung hàm lượng lân hòa tan trong nước là rất thấp và không ổn định do bị chi phối bởi các tiến trình kết tủa/hòa tan, hấp phụ/phóng thích và cố định/khoáng hóa (Coelho *et al.*, 2004; Karthikeyan *et al.*, 2004).(Hình 3). Hàm lượng lân hòa tan trong nước ở đất ao T4 hầu như là không phát hiện được trong suốt 10 ngày ngập nước. Điều này cho thấy đất đáy ao nuôi *Artemia* rất thiếu lân hữu dụng. Có thể do P bị hấp thụ bởi keo sét hoặc kết hợp với calci tạo thành hợp chất khó hoà tan, thời gian lân hữu dụng đưa vào đất càng lâu, lượng lân bị cố định càng lớn (Alexander, 1961). Điều này cũng được ghi nhận bởi Lebo (1991); Zwolsman (1994) pH cao có thể ngăn chặn phosphate hấp phụ với iron-oxyhydroxides do sự thay đổi bề mặt các điện tích iron-oxyhydroxides. Theo Bostan *et al.* (2000); Mainstone và Parr (2002); Coelho *et al.*(2004) pH cao kết hợp với mặn cao P sẽ bị kết tủa với calcium carbonate. Ngược lại, Lau và Chu (1999); Châu Minh Khôi (2006) khi độ mặn tăng sẽ làm gia tăng hàm lượng lân hòa tan từ bùn đáy ao vào môi trường nước.



Hình 3: Biến đổi hàm lượng lân hoà tan đất ao T2 và T4 theo thời gian ngập nước trong điều kiện không có nuôi tảo



Hình 4: Biến đổi hàm lượng lân theo thời gian ngập nước ở đất đáy ao T2, T4 và môi trường Walne trong điều kiện có nuôi tảo

Kết quả phân tích lân hoà tan trong nước (Hình 3) cho thấy hàm lượng lân rất thấp, nhưng tảo vẫn phát triển được, có thể do tảo có khả năng sử dụng được lân dưới dạng $AlPO_4 \cdot 2H_2O$, $FePO_4 \cdot 2H_2O$ hoặc $CaPO_4 \cdot 2H_2O$. Lavens *et al.* (1986) cho rằng những lân dưới dạng liên kết này có thể được thủy phân và trở thành lân dưới dạng orthophosphate, lượng lân dưới dạng hợp chất này nhiều hơn lượng lân hòa tan trong nước tới 300 lần. Theo Châu Minh Khôi (2006) môi trường đất đáy ao nuôi *Artemia* với điều kiện mặn cao và hàm lượng các phân tử bùn trong đất đáy ao nhiều là môi trường thích hợp cho việc cung cấp, duy trì và phóng thích hàm lượng lân hòa tan vào môi trường nước. Theo Fitzgerald và Nelson (1966); Hernaández *et*

al.(1993); Weich và Graneli (1989) tảo có thể sử dụng lân dưới dạng oxyanion phosphate ($H_2PO_4^-$, HPO_4^{2-} , PO_4^{3-}), tuy nhiên hầu hết lân hoà tan trong nước biển thường bị ester hoá để trở thành dạng khó hoà tan như phosphomonoester, tảo không thể sử dụng trực tiếp được, nhưng phần lớn các tảo biển đều có thể tổng hợp các enzyme phosphate kiềm bên ngoài tế bào để giải phóng lượng lân hoà tan từ phosphomonoester, đặc biệt là dưới điều kiện thiếu lân. Dù tảo có thể sử dụng các dạng lân khác ngoài lân hoà tan trong dung dịch, ở đất đáy ao T4 (Hình 3 và 4) hàm lượng lân hoà tan trong nước hầu như không phát hiện được trong suốt thời gian thí nghiệm. Đây có thể là yếu tố làm tảo phát triển kém nhất ở đất. Qua kết quả này, lân có thể là yếu tố giới hạn sự phát triển của tảo nếu ao nuôi *Artemia* không được bổ sung dinh dưỡng lân.

Qua số liệu phân tích động thái N và P trong môi trường nước nuôi *Artemia*, chúng tôi có thể suy luận đến thực tế đồng ruộng là khoảng 7 - 10 ngày sau khi thả *Artemia*, sự cung cấp N và P cao trong đất ao giàu chất hữu cơ như ao T2 kết hợp với việc nông dân bón thêm N vô cơ vào là nguyên nhân đưa đến tình trạng tảo phát triển mạnh vào đầu vụ nuôi *Artemia*. Trong giai đoạn này *Artemia* còn rất nhỏ và nhu cầu sử dụng thức ăn không nhiều, nếu hoa tảo phát triển sẽ gây trở ngại lớn cho khả năng lọc và hoạt động bơi lội của chúng. Mặt khác khi tảo chết đi đưa đến giảm chất lượng môi trường nước. Do đó trên ao giàu chất hữu cơ như đất ao T2, đầu vụ nuôi *Artemia* nên giảm cung cấp nước màu và không bón thêm phân vô cơ để giảm thiểu sự phát triển hoa tảo trong ao nuôi.

4 KẾT LUẬN

Đất đáy ao có vai trò quan trọng trong việc cung cấp dinh dưỡng vào môi trường nước ao nuôi *Artemia*. Sự sinh trưởng của tảo có liên quan đến hàm lượng N, P hoà tan có trong môi trường nước, mức độ hoà tan các dinh dưỡng này có liên quan đến độ mặn, pH, hàm lượng chất hữu cơ, hàm lượng đạm hữu dụng trong đất được đưa ra môi trường nước.

Ao giàu chất hữu cơ, có độ dày tầng mặt cao, có khả năng khoáng hoá cung cấp dưỡng chất cao thì không nên cung cấp phân bón vô cơ trong thời gian 10 ngày đầu sau khi thả *Artemia*. Đối với ao nghèo chất hữu cơ như ao T4, sự khoáng hoá ở cung cấp ít dưỡng chất nhất là đất rất nghèo P hữu dụng nên tảo phát triển kém hơn. P có thể là yếu tố hạn chế sự phát triển của tảo và *Artemia*.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- ALEXANDER MARTIN. 1961. Introduction to soil microbiology. John Wiley and Sons, Inc. Second edition.
- BAERT PETER, T. BOSTEELS, and P. SORGELOOS. 1996. Pond production. part 4.5. page 196 - 212. Manual on the production and use of live food for aquaculture
- BOSSUYT, E., and P. SORGELOOS. 1980. Technological aspect of the batch culturing of *Artemia* in high densities. In: the *brine shrimp Artemia* vol 3. Ecology culturing, marine aquaculture., edited by G. Persoone; P. Sorgeloose; O. Roel and E. Jaspers (Universa press, Wetteren, Belgium) 133-152

- BOSTAN, V., J. DOMINIK, M. BOSTINA, M. PARDOS. 2000. Forms of particulate phosphorus in suspension and in bottom sediment in the Danube Delta. *Lakes and Reservoirs: Research and Management* 5, 105–110.
- BRADY, N.C. 1984. *The nature and properties of soils*. Cornell University. Newyork. USA.
- BROWN, M.R. 1991. The amino acid and sugar composition of 16 species of microalgae used in mariculture. *Aquaculture*, 145: 79 - 99.
- BULGAKOV, N.G., and A.P. LEVICH. 1999. The nitrogen: phosphorus ratio as factor regulating phytoplankton structure. Abstract.
- CASSMAN, K.R., A. DORBERMANN, P.C. STACRUZ, G.C. GINES, M.I. SAMSON, J.P. DESCANDOTA, J.M. ALCATARA, M.A. DIZON, and D.C. OID. 1996. Soil organic matter and the indigenous nitrogen supply of intensive irrigated rice systems in the tropics. *Plant and Soil (Journal)*.
- CHAU MINH KHOI. 2006. Management of *Chaetoceros calcitrans* growth in hypersaline *Artemia franciscana* ponds by optimizing nitrogen and phosphorus availability. Phd. Thesis Katholieke Universiteit Leuven, Leuven, Belgium
- COELHO, J.P., M.R. FLINDT, H.S. JENSEN, A.I. LILLEBO, M.A. PARDAL. 2004. Phosphorus speciation and availability in intertidal sediments of a temperate estuary: relation to eutrophication and annual P-fluxes. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 61, 583–590.
- COUTTEAU PETTER. 1996. Micro algae. 9-53. In: *Manual on the production and use of live food for aquaculture*, edited by Lavens Patric and Sorgeloos Patric. Universa press, Wetteren, Belgium
- CURTIN, D., and G. WEN. 1999. Organic matter fractions contributing to soil nitrogen mineralization potential. *Soil Sci. Soc. Am.J.* 63: 410-415.
- EDWARDS, G.P., A.H. MOLOF, and R.W. SCHNEEMAN. 1965. Determination of orthophosphate in fresh and saline water. *J. Amer. Water Work Assoc.* 57: 917.
- FITZGERALD, G.P., and T.C. NELSON. 1966. Extractive and enzymatic analyses for limiting or sulphur phosphorus in algae. *J. phycol.* 2: 32-37.
- GIANELLO, C., and J. M. BREMMER. 1986. Comparison of chemical methods of assessing potentially available organic nitrogen in soil. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 17, pp. 215-236.
- GOU, Y. 2000. *Bunsekt Kagaku*, 49, 261-264.
- GROOT, J.R., and V.J.G. HOUBA. 1995. A comparison of different indices of nitrogen mineralization. *Biol. Fertil. Soils* 19, pp. 1-9.
- HERNAÏNDEZ, I., J.A. FERNAÏNDEZ, and F. X. NIELL. 1993. Influence of phosphorus status on the seasonal variation of alkaline phosphatase activity in *Porphyra umbilicalis* (L.) Kutzing. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 173: 181-196.
- KARTHIKEYAN, K.G., M.A. TSHABALANA, D. WANG, M.KALBASI. 2004. Solution chemistry effects on orthophosphate adsorption by cationized solid wood residues. *Environmental Science & Technology* 38, 901–911.
- LAU, S.S.S., L.M. CHU. 1999. Contaminant release from sediments in a coastal wetland. *Water Research* 33 (4), 909–918.
- LAVENS, P., W. TACKAERT, and P. SORGeloos. 1986. The cryptobiotic state of *Artemia* cyst, its diapause deactivation and hatching: 27-63. In: *Artemia research and its application*. Vol.3. Sorgeloos, P., Bengson, D.A., Declair, W. and Jaspers, E. (eds) Universa press, Wetteren, Belgium.
- LEBO, M.E., 1991. Particle-bound phosphorus along an urbanized coastal plain estuary. *Marine Chemistry* 34, 225–246.
- MAINSTONE, C.P., W. PARR. 2002. Phosphorus in rivers — ecology and management. *The Science of the Total Environment* 282–283, 25–47.

- MORA, M.L., and J. CANALES. 1995. Humic-clay interaction on surface reactivity in Chilean andisols. *Communication in soil science and plant analysis (USA)*. Vol. 26. P237-335.
- PARSON, T.R., Y. MAITA, and C.M. LALLI. 1984. A manual of chemical and biology methods for seawater analysis. Pergamon press. Elmsford, N.Y.
- PERSOONE, G., and C. CLAUS. 1980. Mass culture of algae: a bottleneck in the nursery culturing of molluses. In: G. Shelef and C.J. Soeder (Eds.). *Algae biomass*. Elsevier/North-Holland Biomedical press, New York. pp. 265-285
- SIMS, J.L., J.P. WELLS, and D.L. TACKETT. 1967. Predicting nitrogen availability to rice: Comparison methods of determining available nitrogen to rice from field and reservoir soils. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.* 31, pp. 672-680.
- STEVENSON, F.J. 1982. *Humus chemistry- Genesis is composition reaction*. John Wiley and Sons, New York.
- TISDALE, S.L., W.L. NELSON, and J.D. BEATON. 1985. *Soil fertility and fertilizer*. Macmillan publishing company, New York. 4 th edition.
- WEICH, R.G., and E. GRANALI. 1989. Extracellular alkaline phosphatase activity in *Ulva lactuca* L. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 129: 33-44.
- ZWOLSMAN, J.J.G., 1994. Seasonal variability and biogeochemistry of phosphorus in the Scheldt Estuary, South-west Netherlands. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 39, 227–248.