



ẢNH HƯỞNG CỦA MÔI TRƯỜNG DINH DƯỠNG, MẬT ĐỘ BAN ĐẦU ĐẾN SINH TRƯỞNG CỦA HAI LOÀI TẢO BIỂN *Chaetoceros muelleri*, *Tetraselmis suecica* VÀ THỬ NGHIỆM NUÔI SINH KHỐI TRONG ĐIỀU KIỆN ÁNH SÁNG TỰ NHIÊN Ở THỪA THIÊN HUẾ

Trần Vinh Phương^{1,*}, Nguyễn Văn Khanh¹, Lê Thị Tuyết Nhân¹, Phạm Thị Hải Yến²,
Kiều Thị Huyền², Võ Đức Nghĩa²

¹ Viện công nghệ sinh học, Đại học Huế, Tinh Lộ 10, Phú Vang, Thừa Thiên Huế, Việt Nam

² Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Huế, 102 Phùng Hưng, Huế, Việt Nam

Tóm tắt: Nghiên cứu nhằm xác định ảnh hưởng của môi trường dinh dưỡng, mật độ ban đầu đến sinh trưởng của vi tảo *Chaetoceros muelleri*, *Tetraselmis suecica* và thử nghiệm nuôi sinh khối trong điều kiện ánh sáng tự nhiên với các điều kiện nuôi cơ bản nhất. Kết quả nghiên cứu cho thấy chủng *Chaetoceros muelleri* phát triển tốt nhất trong môi trường F/2, chủng *Tetraselmis suecica* phát triển tốt nhất trong môi trường Walne. Với thể tích tiếp giống ban đầu chiếm 10 % tổng thể tích môi trường nuôi, chủng *Chaetoceros muelleri* phát triển tốt với mật độ cực đại $(5,55 \pm 0,05) \times 10^5$ tế bào/mL sau 11 ngày nuôi cấy, có pha cân bằng ổn định; chủng *Tetraselmis suecica* phát triển tốt ở thể tích tiếp giống ban đầu 15 % tổng thể tích môi trường nuôi với $(13,48 \pm 0,09) \times 10^4$ tế bào/mL ở ngày nuôi thứ 9 và có pha cân bằng ổn định. Sinh khối *Chaetoceros muelleri* nuôi ngoài tự nhiên sau 8 ngày ở thể tích 50 L đạt mật độ cực đại $(4,31 \pm 0,08) \times 10^5$ tế bào/mL và ở thể tích 1000 L đạt mật độ cực đại $(3,17 \pm 0,10) \times 10^5$ tế bào/mL. Sau 7 ngày nuôi cấy chủng, *Tetraselmis suecica* đạt mật độ cực đại $(14,44 \pm 0,14) \times 10^4$ tế bào/mL ở thể tích 50 L và đạt mật độ cực đại $(9,23 \pm 0,32) \times 10^4$ tế bào/mL khi nuôi sinh khối trong bể composite 1000 L sau 6 ngày nuôi cấy.

Từ khóa: *Chaetoceros muelleri*, *Tetraselmis suecica*, mật độ ban đầu, môi trường nuôi thử nghiệm, vi tảo, thử nghiệm nuôi sinh khối

1 Đặt vấn đề

Vi tảo là mắt xích đầu tiên trong chuỗi thức ăn ở dưới nước, chúng là nguồn thức ăn sống không thể thiếu trong công nghệ sản xuất giống cũng như nuôi thương phẩm của các đối tượng nuôi trồng thủy sản. Đặc biệt, vi tảo là thức ăn cho tất cả các giai đoạn sinh trưởng của động vật thân mềm hai mảnh vỏ, các giai đoạn ấu trùng của một số loài giáp xác và cá [15]. Theo Persoone và Claus, có 7 loài tảo tối ưu làm thức ăn cho động vật thân mềm hai mảnh vỏ, gồm *Isochrysis galbana*, *Isochrysis* sp., *Paolova lutheri*, *Tetraselmis suecica*, *Pseudoisochrysis paradoxa*, *Chaetoceros* sp. và *Skeletonema costatum* [12]. Trong số đó, *Tetraselmis suecica* và *Chaetoceros* sp. là

* Liên hệ: tvphuong@hueuni.edu.vn

các loài có giá trị dinh dưỡng cao. *Tetraselmis suecica* có hàm lượng cacbohydrat từ 15,6 đến 17,7 %; protein từ 34,4 đến 40,9 % và lipid tổng số từ 11,1 đến 16,1 % [13]. *Chaetoceros* sp. chứa: 12–34 % protein; 1,04–3,01 % chl *a*; 4,7–6,0 % cacbohydrat và 7,2–16 % lipid [6]. Đặc biệt, chúng chứa nguồn PUFAs (polyunsaturated fatty acids) cần thiết cho sinh trưởng, phát triển và hoàn thiện chức năng của ấu trùng [7]. Tuy nhiên, trong việc lựa chọn loài vi tảo làm nguồn thức ăn cho sản xuất giống, ngoài yếu tố về dinh dưỡng, chúng phải có kích thước phù hợp, dễ tiêu hóa, tốc độ tăng trưởng nhanh, phù hợp với môi trường nuôi cơ bản và ổn định với sự dao động của các yếu tố nhiệt độ, ánh sáng, pH của môi trường [6]. Do đó, việc tìm kiếm loài vi tảo đáp ứng các yêu cầu để làm thức ăn trong quá trình sản xuất giống thủy hải sản là rất cần thiết.

Trong bài báo này, chúng tôi nghiên cứu ảnh hưởng của các môi trường dinh dưỡng, mật độ tiếp giống ban đầu đến sinh trưởng của hai loài tảo biển *Chaetoceros muelleri* và *Tetraselmis suecica*. Từ kết quả nghiên cứu trên chúng tôi xác định môi trường dinh dưỡng, mật độ tiếp giống ban đầu phù hợp cho từng loài tảo từ đó làm cơ sở khoa học để thử nghiệm nuôi sinh khối tảo trong điều kiện ánh sáng tự nhiên ở Thừa Thiên Huế và hoàn thiện quy trình kỹ thuật nhân và nuôi sinh khối tảo trong các điều kiện nuôi cấy cơ bản nhất với mục đích làm thức ăn giai đoạn ấu trùng của động vật thủy sản trong đó có ấu trùng ngao đầu (*Meretrix meretrix*).

2 Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1 Vật liệu nghiên cứu

Chủng *Tetraselmis suecica* thuần chủng được Công ty trách nhiệm hữu hạn Toàn Hưng, thành phố Nha Trang nhập khẩu từ Thái Lan và chủng *Chaetoceros muelleri* được phân lập từ bờ biển Thuận An Thừa Thiên Huế. Các chủng được lưu giữ bộ môn Công nghệ tế bào thực vật – Viện Công nghệ Sinh học – Đại học Huế.

Tảo giống sau khi đưa ra khỏi điều kiện phòng thí nghiệm được nhân vào các chai 500 mL với nước biển được xử lý chlorine nồng độ 30 ppm và môi trường F/2 [9], với điều kiện sục khí 24/24h, nhiệt độ phòng, độ mặn và pH tự nhiên của nước biển và môi trường cho đến khi các chủng thích nghi và ổn định với sự dao động của các điều kiện tự nhiên sẽ được nhân nuôi để tạo ra các bình giống sơ cấp.

2.2 Phương pháp nghiên cứu

Phương pháp phân lập chủng *Chaetoceros muelleri*: Mẫu tảo được phân lập bằng phương pháp tách tế bào đơn sử dụng kính hiển vi, lam kính, pipette Pasteur và nuôi trong môi trường F/2 ở điều kiện nhiệt độ 22–24 °C và cường độ ánh sáng 1500–2000 lux.

Thí nghiệm 1: Ảnh hưởng của môi trường nuôi đến sự sinh trưởng của tảo *Chaetoceros muelleri* và *Tetraselmis suecica*

Hai mươi mili lít (mL) dịch tảo giống ở giai đoạn phát triển lũy thừa được cấy vào trong 280 mL trong các môi trường khác nhau. Để có cơ sở khoa học cho việc lựa chọn môi trường dinh dưỡng thích hợp nhất cho sinh trưởng của từng chủng loại tảo, chúng tôi tiến hành lựa chọn 3 môi trường dinh dưỡng thường dùng trong nghiên cứu nuôi sinh trưởng tảo gồm CT1: Môi trường F/2 [9], CT2: Môi trường Walne [14], và CT3: Môi trường TMRL [10]. Các công thức thí nghiệm được bố trí ngẫu nhiên hoàn toàn vào các can nhựa trong suốt thể tích 5 L. Mỗi công thức thí nghiệm được lặp lại 3 lần; tổng số can thí nghiệm là 9 can. Nuôi cấy trong cùng điều kiện: Sục khí 24/24h, nhiệt độ phòng (25–27 °C), độ mặn (28–30 ‰), pH tự nhiên của nước biển (8–8,5), cường độ chiếu sáng 1.500–3.500 lux. Mật độ tế bào nuôi ban đầu thử nghiệm là 5 % thể tích giống/thể tích môi trường nuôi ($V_{giống}/V_{mt}$).

Thí nghiệm 2: Thí nghiệm ảnh hưởng của mật độ ban đầu đến sự phát triển của tảo *Tetraselmis suecica* và *Chaetoceros muelleri*

Để xác định mật độ ban đầu phù hợp trong nghiên cứu sinh trưởng của các chủng tảo khác nhau chúng tôi tiến hành 4 công thức thí nghiệm với mật độ tiếp giống ban đầu lần lượt 5 %, 10 %, 15 % và 20 % ($V_{giống}/V_{mt}$), tương ứng với 20, 40, 60 và 80 mL dịch tảo giống ở giai đoạn phát triển lũy thừa vào 3,8 L; 3,6 L; 3,4 L; 3,2 L môi trường tối ưu cho sự phát triển của từng chủng tảo được chọn ra từ thí nghiệm 1. Mỗi công thức thí nghiệm được lặp lại 3 lần; tổng số can thí nghiệm là 12 can, mỗi can 5 L. Điều kiện nuôi cấy như ở thí nghiệm 1.

Thí nghiệm 3: Thử nghiệm nhân nuôi các chủng tảo *Chaetoceros muelleri* và *Tetraselmis suecica* trong điều kiện ánh sáng tự nhiên

Ứng dụng các kết quả thu được ở thí nghiệm 1 và 2 để thử nghiệm nhân nuôi sinh khối vi tảo *Chaetoceros muelleri* và *Tetraselmis suecica* trong hệ thống nuôi kín và bể composite. Các lô thí nghiệm được tiến hành trong các túi nylon có thể tích 50 L và bể composite 1 m³. Nuôi cấy trong cùng điều kiện: Sục khí 24/24h, nhiệt độ phòng (25–27 °C), độ mặn (28–30‰), pH tự nhiên của nước biển (8–8,5), ánh sáng tự nhiên.

Phương pháp xác định các chỉ tiêu nghiên cứu

Nhiệt độ và pH được đo bằng bút đo pH (Hanna HI98127) và đo hàng ngày vào lúc 8 giờ sáng. Cường độ ánh sáng được xác định bằng máy đo cường độ ánh sáng Milwaukee SM700 (50.000 Lux). Tần suất đo 3 lần/ngày (10 giờ, 12 giờ và 15 giờ). Để xác định tốc độ tăng trưởng của tảo theo từng ngày chúng tôi tiến hành thu mẫu 1 lần/ngày vào lúc 8–9 giờ sáng mỗi ngày và mỗi lần lấy 5 mL. Mẫu tảo được đựng trong hộp đựng mẫu và được cố định bằng dung dịch Neutral Lugol's.

Mật độ tế bào được xác định bằng buồng đếm Gridded Sedgewick Rafter 1 mm² với 1.000 ô của hãng Wildlife Supply Company, Mỹ. Cụ thể, lắc đều mẫu tảo, dùng pipet paster hút 1 mL

mẫu tảo dàn đều bề mặt buồng đếm đã được đập sẵn lamên, để lắng một lúc rồi đưa vào thị trường kính để đếm, đếm ở vật kính $\times 10$, mỗi mẫu tảo được đếm 5 lần.

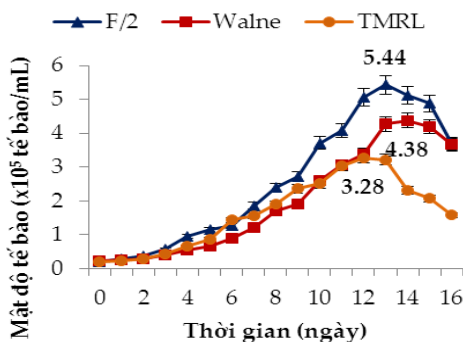
2.3 Phương pháp xử lý số liệu

Các thí nghiệm được bố trí ngẫu nhiên và được lặp lại 3 lần. Số liệu thí nghiệm thu được xử lý thống kê bằng phần mềm Excel 2007.

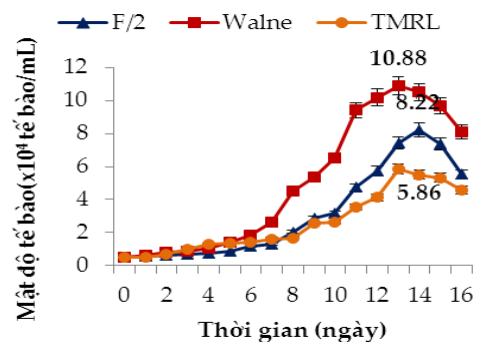
3 Kết quả và thảo luận

3.1 Ảnh hưởng của môi trường nuôi đến sự sinh trưởng của tảo *Chaetoceros muelleri* và *Tetraselmis suecica*

Trong các môi trường dinh dưỡng F/2, Walne và TMRL được thử nghiệm, chúng tôi nhận thấy trong cùng một chủng tảo yếu tố pH không có sự biến động lớn giữa các môi trường nuôi, *Chaetoceros muelleri* có pH dao động trong khoảng 8,1–9,6, *Tetraselmis suecica* có pH dao động trong khoảng 8,0–9,8 và giá trị pH tăng dần theo mật độ tảo; nhiệt độ không khí dao động trong khoảng 24–31 °C; cường độ ánh sáng dao động trong khoảng 1.600–3.300 lux. Với mật độ tiếp giống ban đầu 5 % ($V_{giống}/V_{mt}$), đường cong sinh trưởng của các chủng trong các môi trường khác nhau có sự chênh lệch đáng kể (Hình 1, Hình 2).



Hình 1. Đường cong sinh trưởng của chủng tảo *Chaetoceros muelleri* trong các môi trường nuôi khác nhau



Hình 2. Đường cong sinh trưởng của chủng tảo *Tetraselmis suecica* trong các môi trường nuôi khác nhau

Chủng *Chaetoceros muelleri* có pha thích nghi ngắn, bắt đầu sinh trưởng sau 2 ngày nuôi cấy và đạt cực đại vào ngày thứ 12 trong môi trường TMRL, ngày thứ 13 đối với môi trường F/2 và ngày thứ 14 đối với môi trường Walne. Môi trường Walne và môi trường F/2 cho mật độ tế bào cao hơn so với môi trường TMRL. Tuy chủng *Chaetoceros muelleri* có pha cân bằng dài hơn trong môi trường Walne, nhưng mật độ tế bào vào ngày sinh trưởng cực đại chỉ đạt (4,38 ±

$0,06 \times 10^5$ tế bào/mL, trong khi ở môi trường F/2 mật độ tế bào là $(5,44 \pm 0,04) \times 10^5$ tế bào/mL và cao gấp 27 lần mật độ tế bào giống ban đầu.

Chủng *Tetraselmis suecica* có pha thích nghi kéo dài trong khoảng 4 ngày, dài hơn so với chủng *Chaetoceros muelleri* và đạt cực đại sau khoảng 13–14 ngày nuôi cấy. Trong môi trường Walne và F/2, *Tetraselmis suecica* cũng sinh trưởng tốt hơn so với môi trường TMRL. Tuy nhiên, trái với *Chaetoceros muelleri*, trong nghiên cứu này ở môi trường F/2, *Tetraselmis suecica* có mật độ cực đại thấp hơn ở môi trường Walne, với $(8,22 \pm 0,10) \times 10^4$ tế bào/mL và có pha tử vong diễn ra nhanh và mạnh hơn. Ở môi trường Walne chủng này đạt mật độ cực đại cao với $(10,88 \pm 0,15) \times 10^4$ tế bào/mL, cao gấp 21 lần mật độ tế bào giống ban đầu, và cao gấp 1,85 lần mật độ tế bào cực đại chủng này đạt được trong môi trường TMRL.

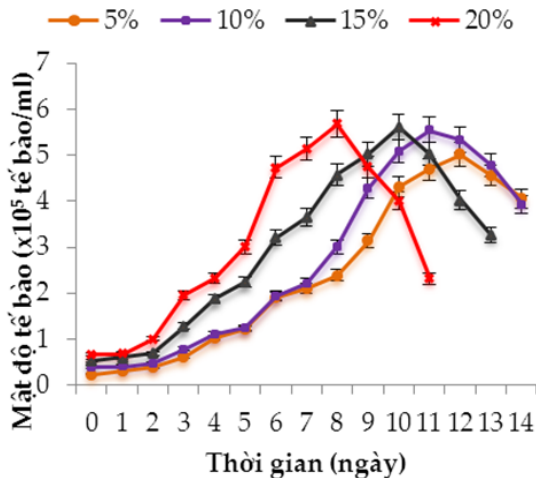
Sự khác nhau này có thể do thành phần dinh dưỡng các môi trường không giống nhau mặc dù cả ba môi trường đều chứa các thành phần chính như đạm, lân. Tuy nhiên, trong môi trường TMRL, nguồn đạm là muối KNO_3 ; trong hai môi trường F/2 và Walne, nguồn đạm đều là muối NaNO_3 ; trong cả ba môi trường nguồn lân đều là $\text{Na}(\text{H}_2\text{PO}_4)$. Tuy nhiên, khi so sánh ba môi trường dinh dưỡng thì môi trường F/2 có hàm lượng đạm và lân thấp hơn môi trường Walne và TMRL. Tuy có hàm lượng đạm và lân cao hơn môi trường F/2, nhưng môi trường TMRL ngoài Fe^{3+} và SiO_3^{2-} ra không có các nguyên tố vi lượng khác và các vitamin cần thiết cho sự sinh trưởng và phát triển của vi tảo. Đây có thể là lý do khiến *Tetraselmis suecica* trong môi trường Walne có mật độ hoi cao hơn so với trong môi trường F/2 và TMRL.

Ngoài ra, môi trường Walne trong thí nghiệm này không có nguồn silic từ muối Na_2SiO_3 , trong khi đó môi trường F/2 với hàm lượng Na_2SiO_3 là 0,03 mg/L. Tảo silic đòi hỏi phải có silic cho các giai đoạn trong quá trình phân bào như tổng hợp DNA, tổng hợp enzyme thymidylate kinase, DNA polymerase, chlorophyll và protein cũng như tham gia trong các chức năng quan trọng của quá trình trao đổi chất [3]. Vì vậy, đây có thể là nguyên nhân dẫn đến môi trường Walne không bổ sung muối silic không phải là môi trường tối ưu cho *Chaetoceros muelleri*.

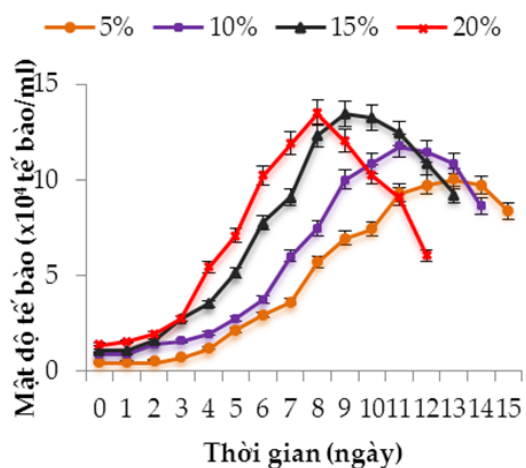
Kết quả phân tích trên cho thấy môi trường F/2 thích hợp cho sự phát triển của *Chaetoceros muelleri* và môi trường Walne thích hợp cho sự phát triển của *Tetraselmis suecica*. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Nguyễn Thị Thúy và Nguyễn Tấn Sỹ trên chủng *Tetraselmis suecica* khi nghiên cứu trên ba môi trường Walne, F/2 và TH04 [4], và cũng phù hợp với kết quả nghiên cứu của Nguyễn Thanh Mai và cs. trên chủng *Chaetoceros calcitrans* trong các môi trường TT3, TMRL, F/2 [3]. Từ kết quả trên, chúng tôi chọn môi trường F/2 làm môi trường nuôi cấy chủng *Chaetoceros muelleri* và môi trường Walne làm môi trường nuôi cấy chủng *Tetraselmis suecica* để tiến hành các thí nghiệm tiếp theo.

3.2 Ảnh hưởng của mật độ tế bào ban đầu đến sự sinh trưởng của chủng *Chaetoceros muelleri* và *Tetraselmis suecica*

Mật độ ban đầu là một trong những yếu tố có liên quan mật thiết đến sinh khối và thời gian đạt mật độ cực đại của vi tảo và là vấn đề quan trọng được những người sản xuất giống quan tâm. Không phải ở mật độ ban đầu nào tảo cũng có thể phát triển tốt được. Mật độ ban đầu cũng khác nhau đối với từng loài tảo. Có loài đòi hỏi mật độ ban đầu cao như *Nannochloropsis oculata* (20 triệu tế bào/mL), nhưng cũng có loài cần mật độ ban đầu thấp như *Isochrysis galbana* (2 triệu tế bào/mL) [1]. Xác định mật độ ban đầu thích hợp rất có ý nghĩa trong sản xuất, nếu mật độ ban đầu cao sẽ lãng phí nguồn tảo giống; còn nếu mật độ thấp sẽ kéo dài thời gian nuôi. Kết quả ảnh hưởng của mật độ tế bào ban đầu đến sự sinh trưởng của chủng *Chaetoceros muelleri* và chủng *Tetraselmis suecica* được trình bày ở Hình 3 và Hình 4. Biến động các yếu tố môi trường đo được ở các lô thí nghiệm sau 15 ngày theo dõi cho thấy nhiệt độ dao động trong khoảng 24,0–31,0 °C, cường độ ánh sáng dao động trong khoảng 1.500–3.450 lux, pH của chủng *Chaetoceros muelleri* dao động trong khoảng 8,0–9,4 và *Tetraselmis suecica* có pH dao động trong khoảng 8,0–10,2.



Hình 3. Đồ thị đường cong sinh trưởng của tảo *Chaetoceros muelleri* trong môi trường F/2 với các mật độ ban đầu khác nhau



Hình 4. Đồ thị đường cong sinh trưởng của tảo *Tetraselmis suecica* trong môi trường Walne với các mật độ ban đầu khác nhau

Chúng tôi nhận thấy khi mật độ ban đầu khác nhau, tốc độ tăng trưởng tế bào cũng khác nhau. Chủng *Chaetoceros muelleri* với mật độ ban đầu là $(0,67 \pm 0,02) \times 10^5$ tb/mL, (20 %, $V_{giống}/V_{mt}$) sau 8 ngày đạt mật độ cực đại $(5,69 \pm 0,05) \times 10^5$ tb/mL, với mật độ ban đầu $(0,54 \pm 0,02) \times 10^5$ (15 %, $V_{giống}/V_{mt}$); $(0,39 \pm 0,03) \times 10^5$ (10 %, $V_{giống}/V_{mt}$); $(0,23 \pm 0,02) \times 10^5$ tb/mL (5 %, $V_{giống}/V_{mt}$), mật độ tế bào cực đại lần lượt $(5,62 \pm 0,07) \times 10^5$; $(5,55 \pm 0,05) \times 10^5$; $(5,02 \pm 0,09) \times 10^5$ tb/mL sau 10; 11 và 12 ngày nuôi cấy. Chủng *Tetraselmis suecica* với mật độ ban đầu $(1,41 \pm 0,01) \times 10^4$ tb/mL (20 %,

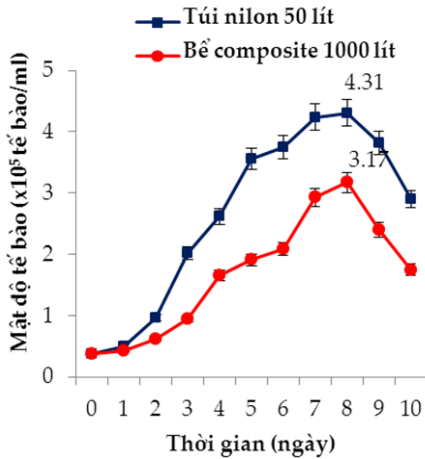
$V_{giống}/V_{mt}$); $(1,09 \pm 0,05) \times 10^4$ tb/mL (15 %, $V_{giống}/V_{mt}$); $(0,89 \pm 0,03) \times 10^4$ tb/mL (10 %, $V_{giống}/V_{mt}$); $(0,46 \pm 0,03) \times 10^4$ tb/mL (5 %, $V_{giống}/V_{mt}$), mật độ tế bào cực đại lần lượt là $(13,52 \pm 0,14) \times 10^4$; $(13,48 \pm 0,09) \times 10^4$; $(11,78 \pm 0,15) \times 10^4$ và $(10,06 \pm 0,17) \times 10^4$ tb/mL sau 8, 9, 11 và 13 ngày nuôi cấy. Cả hai loài tảo *Chaetoceros muelleri* và *Tetraselmis suecica* với mật độ tiếp giống ban đầu 20 % thể tích ($V_{giống}/V_{mt}$) đều đạt mật độ cực đại cao nhất $(5,69 \pm 0,05) \times 10^5$ tb/mL đối với *Chaetoceros muelleri* và $(13,52 \pm 0,14) \times 10^4$ tb/mL đối với *Tetraselmis suecica*, nhưng quá trình tàn lụi xảy ra nhanh và đột ngột hơn.

Kết quả trên cho thấy các loài tảo nói chung và tảo *Chaetoceros muelleri* và *Tetraselmis suecica* nói riêng đều phát triển theo quy luật: Khi mật độ nuôi cấy ban đầu cao, tốc độ sinh trưởng của tảo nhanh, sinh khối cao và thời gian đạt cực đại càng ngắn. Tuy nhiên, cùng với sự tăng nhanh về số lượng tế bào tảo, các yếu tố môi trường khác cũng nhanh chóng thay đổi theo: Lượng muối dinh dưỡng giảm nhanh, pH tăng, khả năng nhận ánh sáng của từng tế bào giảm (sự tự che khuất) [4]. Do vậy, mật độ càng cao, các yếu tố này nhanh chóng bị hạn chế và dẫn đến tình trạng tàn lụi nhanh, đột ngột, khó kiểm soát. Do đó, việc xác định mật độ ban đầu thích hợp cho từng loại tảo nhằm rút ngắn thời gian tảo đạt sinh khối cực đại là cần thiết, nhưng bên cạnh đó phải duy trì lượng tảo nuôi và kiểm soát được thời gian thu sinh khối, nhận xét này cũng trùng hợp với nhận xét của Lê Viễn Chí (1996) khi nghiên cứu về tảo *Skeletonema costatum* [2]. Trong 4 thí nghiệm về mật độ ban đầu nói trên cho hai loài tảo *Chaetoceros muelleri* và *Tetraselmis suecica* chúng tôi nhận thấy, mật độ ban đầu tốt nhất cho sự phát triển của tảo *Chaetoceros muelleri* là 10 % thể tích tiếp giống ban đầu và *Tetraselmis suecica* là 10–15 % thể tích tiếp giống ban đầu. Vì với mật độ ban đầu này, tảo phát triển đều và đạt mật độ cực đại tương đối cao, quá trình tàn lụi xảy ra chậm.

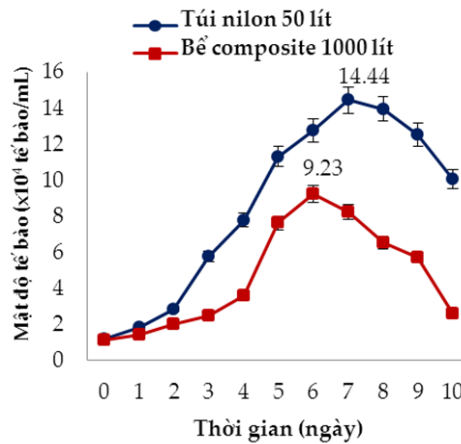
Từ kết quả trên, chúng tôi chọn mật độ ban đầu 10 % ($V_{giống}/V_{mt}$) đối với chủng *Chaetoceros muelleri* và 15 % ($V_{giống}/V_{mt}$) đối với chủng *Tetraselmis suecica* để tiến hành các thí nghiệm tiếp theo về nhân nuôi sinh khối.

3.3 Thử nghiệm nhân nuôi các chủng tảo *Chaetoceros muelleri* và *Tetraselmis suecica* trong điều kiện ánh sáng tự nhiên

Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên ngoài trời với hai nghiệm thức là hệ thống nuôi kín (túi nilon 50 L) và bể composite (1.000 L) trong cùng điều kiện ánh sáng, nhiệt độ, sục khí 24/24 h. Kết quả thử nghiệm nhân nuôi vi tảo *Chaetoceros muelleri* được trình bày ở Hình 5 và *Tetraselmis suecica* được trình bày ở Hình 6. Theo dõi thí nghiệm trong 10 ngày nuôi cấy, kết quả cho thấy nhiệt độ dao động trong khoảng 25–35 °C; cường độ ánh sáng cao hơn rất nhiều so với nuôi trong điều kiện nhiệt độ phòng, cường độ ánh sáng ở vị trí nuôi lúc 10 giờ dao động trong khoảng 5.700–6.800 lux, lúc 12 giờ dao động trong khoảng 14.000–16.000 lux, lúc 15 giờ dao động trong khoảng 3.290–3.310 lux; pH của chủng *Chaetoceros muelleri* dao động trong khoảng 7,8–9,0 và *Tetraselmis suecica* có pH dao động trong khoảng 8,2–10,8.



Hình 5. Đồ thị đường cong sinh trưởng của tảo *Chaetoceros muelleri* trong điều kiện ánh sáng tự nhiên



Hình 6. Đồ thị đường cong sinh trưởng của tảo *Tetraselmis suecica* trong điều kiện ánh sáng tự nhiên

Từ kết quả nghiên cứu, chúng tôi nhận thấy khi nuôi tảo trong túi nylon kín thể tích 50 L chủng *Chaetoceros muelleri* và *Tetraselmis suecica* đều phát triển nhanh hơn và cho mật độ tế bào cực đại cao hơn. Mật độ cực đại của *Chaetoceros muelleri* khi nuôi trong túi nylon 50 L là $(4,31 \pm 0,08) \times 10^5$ tb/mL sau 8 ngày nuôi cấy; ở bể composite 1.000 L là $(3,17 \pm 0,10) \times 10^5$ tb/mL sau 8 ngày nuôi cấy, mật độ cực đại của *Tetraselmis suecica* khi nuôi trong túi nylon 50L là $(14,44 \pm 0,14) \times 10^4$ tb/mL sau 7 ngày nuôi cấy; ở bể composite 1.000 L đạt $(9,23 \pm 0,32) \times 10^4$ tb/mL sau 6 ngày nuôi cấy.

Đối với hệ thống nuôi tảo ngoài trời thì khí hậu là yếu tố quan trọng nhất do khó có thể kiểm soát nhiệt độ, ánh sáng, sự che phủ của mây, mưa... Ở cùng điều kiện độ mặn, nguồn dinh dưỡng cung cấp cho tảo đã được khống chế nhưng thể tích nuôi khác nhau với mức nước khác nhau có thể ảnh hưởng đến sự hấp thu nhiệt vào nước và khả năng sử dụng năng lượng mặt trời cho quá trình quang hợp của tảo. Ở thí nghiệm của chúng tôi, các hệ thống nuôi được bố trí sục khí, vì vậy mặc dù thể tích nước ở các nghiệm thức dao động lớn (50 L và 1000 L) nhưng vẫn có sự đồng đều về dinh dưỡng, nhiệt độ, các tế bào tảo không lắng chìm xuống đáy [11]. Tuy nhiên, khi nuôi tảo trong túi nylon kín nước nuôi sạch không bị nhiễm tạp, còn tảo trong bể composite hở nên dễ bị nhiễm tạp trong quá trình nuôi. Ngoài ra, cường độ ánh sáng cũng ảnh hưởng mạnh đến các quá trình sinh hóa ở tảo, đặc biệt là quá trình quang hợp. Vì vậy, cường độ quang hợp của tảo cao hơn ở khu vực có nhiều ánh sáng mặt trời so với các khu vực có ít ánh sáng. Do đó, khi nuôi trong túi nylon trong suốt, khả năng vi tảo nhận được ánh sáng nhiều và đồng đều hơn nên thúc đẩy quá trình quang hợp của tảo làm mật độ tảo tăng lên một cách nhanh chóng hơn so với nuôi trong bể composite và thời gian đạt cực đại cũng ngắn hơn so với các thí nghiệm in vitro.

4 Kết luận

Trong các môi trường F/2, Walne và TMRL được thử nghiệm, chủng *Chaetoceros muelleri* phát triển tốt nhất trong môi trường F/2, *Tetraselmis suecica* phát triển tốt nhất trong môi trường Walne.

Mật độ ban đầu thích hợp cho tảo *Chaetoceros muelleri* phát triển là $(0,39 \pm 0,03) \times 10^5$ tế bào/mL, tương ứng với 10 % thể tích tiếp giống ban đầu, chủng đạt mật độ cực đại $(5,55 \pm 0,05) \times 10^5$ tế bào/mL sau 11 ngày nuôi cấy. Mật độ ban đầu thích hợp cho tảo *Tetraselmis suecica* phát triển là $(1,09 \pm 0,05) \times 10^4$ tế bào/mL tương đương với 15 % thể tích tiếp giống ban đầu, chủng đạt mật độ cực đại $(13,48 \pm 0,09) \times 10^4$ tế bào/mL ở ngày nuôi thứ 9.

Hai chủng tảo *Chaetoceros muelleri* và *Tetraselmis suecica* nuôi trong hệ thống kín (túi nylon thể tích 50 L) phát triển nhanh hơn và cho mật độ tế bào cực đại cao hơn khi nuôi trong bể hở (bể composite 1000 L). Với thể tích tiếp giống ban đầu 10 % ($V_{giống}/V_{mt}$), sau 8 ngày nuôi cấy chủng *Chaetoceros muelleri* đạt mật độ cực đại $(4,31 \pm 0,08) \times 10^5$ tb/mL, cao hơn 26 % mật độ cực đại của chủng này khi được nuôi trong bể composite 1.000 L ($(3,17 \pm 0,10) \times 10^5$ tế bào/mL). Chủng *Tetraselmis suecica* với mật độ tiếp giống ban đầu 15 % ($V_{giống}/V_{mt}$), sau 7 ngày nuôi cấy đạt mật độ cực đại $(14,44 \pm 0,14) \times 10^4$ tế bào/mL, cao hơn 36 % mật độ cực đại chủng này đạt được khi nuôi trong bể composite 1000 L ($(9,23 \pm 0,32) \times 10^4$ tế bào/mL).

Tài liệu tham khảo

1. Đặng Tố Vân Cầm, Trình Trung Phi, Diêu Phạm Hoàng Vy, Lê Thanh Huân, Đặng Thị Nguyên Nhân (2013), Ảnh hưởng của mật độ ban đầu lên sinh trưởng vi tảo *Nannochloropsis* và *Isochrysis galbana* nuôi trong hệ thống tấm, *Tạp chí nghề cá sông Cửu Long*, (2).
2. Lê Viễn Chí (1996), *Nghiên cứu một số đặc điểm sinh học công nghệ nuôi tảo Silic Skeletonema costatum (Grevillei) Cleve làm thức ăn cho ấu trùng tôm biển*, Luận án PTS, Viện Nghiên cứu Hải sản Hải Phòng, 140 tr.
3. Nguyễn Thanh Mai, Trịnh Hoàng Khải, Đào Văn Trí, Nguyễn Văn Hùng (2009), Nghiên cứu phân lập, nuôi cấy in vitro tảo silic nước mặn *Chaetoceros calcitrans* Paulsen, 1905 và ứng dụng nuôi sinh khối tảo làm thức ăn cho tôm he chân trắng (*Litopenaeus vannamei*), *Tạp chí phát triển khoa học và công nghệ*, 12 (13), 28–36.
4. Nguyễn Thị Thúy, Nguyễn Tấn Sĩ (2015), Lựa chọn môi trường nuôi thích hợp cho sự phát triển của tảo *Tetraselmis suecica* (kylin) butcher, 1959, *Tạp chí Khoa học – Công nghệ Thủy Sản*, (1), 63–67.
5. Brown M.R. (1991), The amino acid and sugar composition of 16 species of microalgae used in mariculture, *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, Elsevier, 145 (1), 79–99.
6. Brown M.R. (2002), *Nutritional Value and Use of Microalgae in Aquaculture*, *Aquaculture*, 60–78.

7. Chiou S., Su Y.W.W., Su Y.C. (2001), Optimizing production of polyunsaturated fatty acids in *Machantia polymorpha* cell suspension culture, *Journal of Biotechnology*, 85(3), 247–257.
8. Robert F. A. Jr., Christopher D. R, Andrew F. R, and Benjamin E. V (1984), Role of silicon in diatom metabolism, *Journal of Plant Physiol*, 76(3), 674-679.
9. Guillard R.R.L., Ryther J.H. (1962), Studies of marine planktonic diatoms I. *Cyclotella* Nana Hustedt and *Detonula confervacea* (Cleve) Gran, *Canadian Journal of Microbiology*, 8 (2), 229–239.
10. Kungvankij P., Tiro L.B., Pudadera B.J., Potestas I.O., Corre K.G., Borlongan E., Talean G.A., Bustilo L.F., Tech E.T., Unggui A., Chua T.E., (1985), *Shrimp hatchery design, operation and management*, Training manual. 95 pp. Project: FAO-FI--RAS/76/003. Project: FAO-FI--NACA/TR/85/12. Establishment of Network of Aquaculture Centres in Asia. Microfiche no: 86X00888.
11. Oswald W.J. (1988), *Large-scale algal culture systems (engineering aspects)*, In Borowitzka MA, Borowitzka LJ (eds), *Microalgal Biotechnology*, Cambridge University press, Cambridge, pp. 357–394.
12. Persoone G., Claus C. (1980), Mass culture of algae : a bottleneck in the nursery culturing of molluses, In: *Algae Biomass*, Shoeder G. S. C. J(ed.), *Elsevier*, Amsterdam, 265–285.
13. Susana A., Rivero A., Rodriguez R., Beaumont C.L., Marya V. (2007), The effect of microalgal diets on growth, biochemical composition, and fatty acid profile of *Crassostrea corteziensis* (Hertlein) juveniles, *Aquaculture*, 263 (1), 199–210.
14. Walne P.R. (1970), *Studies on the food value of nineteen genera of algae to juvenile bivalves of the genera Ostrea, Crassostrea, Mercenaria, and Mytilis*, Fishery Investigations, London Series 2 (26), 1–62.
15. Wikfors G.H., Ohno M. (2001), Impact of algal research in aquaculture, *Journal of Phycology*, 37, 968 – 974.

EFFECT OF NUTRIENT MEDIUM, INITIAL DENSITY ON THE GROWTH OF MICROALGAE *Chaetoceros muelleri*, *Tetraselmis suecica* AND TRIAL BIOMASS DEVELOPMENT UNDER OUTDOOR CONDITIONS IN THUA THIEN HUE PROVINCE

Tran Vinh Phuong^{1*}, Nguyen Van Khanh¹, Le Thi Tuyet Nhan¹, Pham Thi Hai Yen²,
Kieu Thi Huyen², Vo Duc Nghia²

¹HU – Institute of Biotechnology, Tinh Lo 10, Phu Vang, Thua Thien Hue, Viet Nam

²HU – University of Agriculture and Forestry, 102 Phung Hung St., Hue, Vietnam

Abstract: This paper aims at identifying the effect of the nutrient medium and initial density on the growth of microalgae *Chaetoceros muelleri*, *Tetraselmis suecica* and performing experiments on outdoor biomass breeding under the most basic conditions. The findings showed that the F/2 medium and the Walne's medium were the most suitable for *Chaetoceros muelleri* and *Tetraselmis suecica*, respectively. After 11 days, *Chaetoceros muelleri* that represented 10 % in the total culture medium reached the maximum density at $(5.55 \pm 0.05) \times 10^5$ cells/mL with a stable balanced phase. *Tetraselmis suecica* that represented 15 % in total culture medium reached the maximum density at $(13.48 \pm 0.09) \times 10^4$ cells/mL with stable balanced phase on the ninth culture day. The results of mass culture showed that after 8 culture days, Biomass *Chaetoceros muelleri* cultured naturally in a 50 L container reached a maximum density at $(4.31 \pm 0.08) \times 10^5$ cells/mL, while in a 1000 L container the biomass reached a maximum density at $(3.17 \pm 0.10) \times 10^5$ cells/mL. *Tetraselmis suecica* biomass reached the highest density at $(14.44 \pm 0.14) \times 10^4$ cells/mL in the volume of 50 liters after 7 culture days. Whereas, the biomass reached $(9.23 \pm 0.32) \times 10^4$ cells/mL in the volume of 1000 liters after 6 culture days.

Keywords: *Chaetoceros muelleri*, *Tetraselmis suecica*, initial density, microalgae, nutrient medium, trial biomass