



ẢNH HƯỞNG CỦA MÔI TRƯỜNG DINH DƯỠNG VÀ MẬT ĐỘ BAN ĐẦU ĐẾN SINH TRƯỞNG CỦA VI TẢO *Nanochloropsis oculata* VÀ THỬ NGHIỆM NUÔI SINH KHỐI TRONG ĐIỀU KIỆN ÁNH SÁNG TỰ NHIÊN Ở THỪA THIÊN HUẾ

Trần Vinh Phương^{1*}, Lê Thị Tuyết Nhân¹, Nguyễn Văn Khanh¹,
Phạm Thị Hải Yến², Nguyễn Văn Huy²

¹ Viện công nghệ sinh học, Đại học Huế, Tỉnh 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 *Nanochloropsis oculata* và thử nghiệm nuôi sinh khối trong điều kiện nuôi kín (túi nylon) và nuôi hở (thùng xốp) với các điều kiện nuôi cơ bản. Kết quả cho thấy vi tảo *Nanochloropsis oculata* sinh trưởng tốt nhất trong môi trường Walne. Thể tích tiếp giống ban đầu 20% ($V_{giống}/V_{mt}$) cho kết quả phát triển tốt nhất với mật độ cực đại $(54,95 \pm 3,03) \times 10^5$ tế bào/mL sau 9 ngày nuôi cấy, có pha cân bằng ổn định. Nuôi sinh khối vi tảo *Nanochloropsis oculata* trong điều kiện ánh sáng tự nhiên trong điều kiện nuôi kín (túi nylon 50 L) sau 8 ngày nuôi mật độ tảo đạt cực đại $(60,69 \pm 4,43) \times 10^5$ tế bào/mL và nuôi hở (thùng xốp 50 L) có kích thước (540 × 385 × 300 mm) chỉ đạt $(39,56 \pm 2,68) \times 10^5$ tế bào/mL.

Từ khóa: *Nanochloropsis oculata*, mật độ ban đầu, môi trường dinh dưỡng, nuôi sinh khối

1 Đặt vấn đề

Vi tảo *Nanochloropsis oculata* là loài tảo biển, có kích thước nhỏ, dao động từ 2 µm đến 4 µm, dễ tiêu hóa, không độc, giàu dinh dưỡng và là nguồn cung cấp các axit béo không no bão hòa đa nối đôi (PUFA) như docosahexaenoic acid (DHA) và eicosapentaenoic acid (EPA) [7]. Hàm lượng EPA ở loài *Nanochloropsis oculata* có thể dao động 24,5-40,0%; và hàm lượng PUFA có thể thay đổi tùy theo điều kiện nuôi cấy [7]. Hu và cs.: nghiên cứu ảnh hưởng của điều kiện môi trường lên sự phát triển và thành phần acid béo của *Nanochloropsis* sp. và cho thấy hàm lượng lipid dao động 9-62%, đạm biến động 23-59% và carbohydrate 5-17% [10]. Ngoài ra, tảo *Nanochloropsis* sp. là một nguồn protein chất lượng và có đầy đủ hàm lượng các loại EPA và axit béo omega-3 [12, 15]. Các acid béo không bão hòa đa nối đôi (PUFA) có trong tảo như EPA, arachidonic acid (AA), DHA rất cần thiết đối với động vật nuôi thủy sản [6]. Ngoài việc tảo *N. Oculata* được sử dụng là nguồn thức ăn thiết yếu cho cá bột của nhiều loài cá biển, ấu trùng

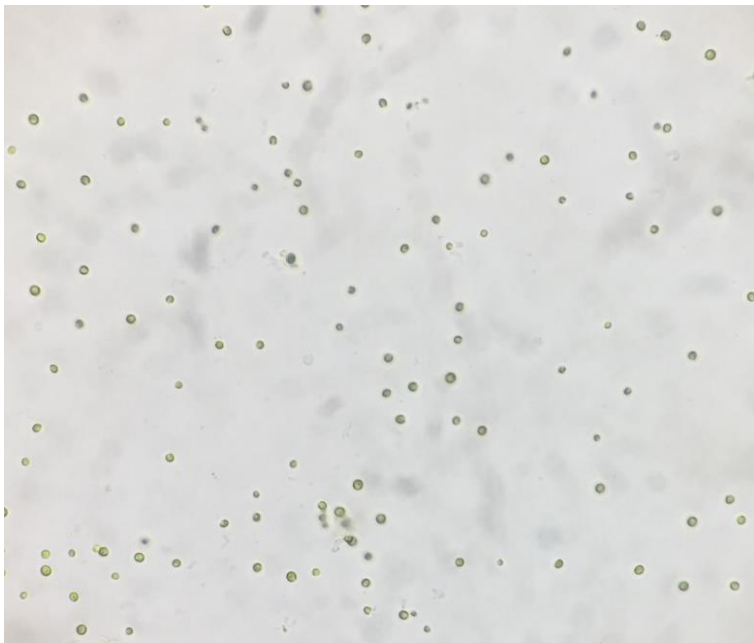
* Liên hệ: tranvinhphuong@hueuni.edu.vn

nhiều loài động vật 2 mảnh vỏ và giáp xác thì chúng còn đóng vai trò quan trọng trong việc cung cấp nguồn dinh dưỡng trong việc giàu hóa các nguồn thức ăn tươi sống như luân trùng (*rorifer*), *copepoda*,... nhằm nâng cao tỷ lệ sống của ấu trùng động vật thủy sản nước qua các giai đoạn phát triển. Vì vậy, để đáp ứng nhu cầu cấp thiết của việc nuôi sinh khối vi tảo *N. oculata* làm thức ăn cho động vật thủy sản thì việc nghiên cứu những điều kiện nuôi cơ bản về môi trường dinh dưỡng, mật độ tiếp giống ban đầu để thử nghiệm nuôi sinh khối vi tảo *N. oculata* phù hợp với điều kiện Thừa Thiên Huế là điều hết sức cần thiết. Bởi vì giá trị dinh dưỡng của vi tảo có thể thay đổi rất lớn ở các pha phát triển và dưới các điều kiện nuôi khác nhau, tảo phát triển đến cuối pha logarit thường chứa 30–40% protein, 10–20% lipid và 5–15% carbohydrate [13].

2 Vật liệu và phương pháp

2.1 Vật liệu

Vi tảo *Nanochloropsis oculata* (Hình 1) được nhập ở dạng sinh khối từ Phân Viện nghiên cứu nuôi trồng thủy sản Bắc Trung Bộ (Nghệ An), sau đó được thuần chủng và lưu giữ tại bộ môn Công nghệ tế bào, 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 đã được xử lý chlorine nồng độ 30 mg/L và được nuôi trong môi trường Walne [16], với điều kiện sục khí 24/24 h, nhiệt độ phòng, độ mặn, pH tự nhiên của nước biển cho đến khi chúng 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.



Hình 1. Chủng tảo *Nanochloropsis oculata*

2.2 Phương pháp

Phân lập chủng *Nanochloropsis oculata*: Nguồn tảo được nhập ở dạng sinh khối, vì vậy khi đưa về phòng thí nghiệm cần được phân lập để chọn tảo thuần chủng. Mẫu tảo được phân lập bằng phương pháp tách tế bào đơn sử dụng kính hiển vi, lam kính, Pasteur pipette và nuôi trong môi trường F/2 ở điều kiện nhiệt độ 22–24 °C, cường độ ánh sáng 1500–2000 lux.

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 sinh trưởng của tảo chúng tôi tiến hành thu mẫu 1 lần/ngày vào lúc 8–9 giờ sáng mỗi ngày và mỗi lần lấy 5 mL. Mật độ tế bào được xác định bằng buồng đếm Sedgewick Rafter 1 mm², có 1.000 ô của hãng Wildlife Supply Company, Mỹ.

Bố trí thí nghiệm:

Thí nghiệm 1: Khảo sát ảnh hưởng của môi trường dinh dưỡng đến sinh trưởng của tảo *N. oculata*.

Thí nghiệm gồm 3 nghiệm thức tương ứng với 3 môi trường dinh dưỡng khác nhau. Nghiệm thức 1 (NT1): Môi trường F/2 [9]; Nghiệm thức 2 (NT2): Môi trường Walne [16] và Nghiệm thức 3 (NT3): Môi trường TMRL [11]. Các nghiệm thức thí nghiệm được bố trí ngẫu nhiên hoàn toàn vào các can nhựa trong suốt có thể tích 5 L; mỗi nghiệm thức được lặp lại 3 lần. Nuôi cấy trong cùng điều kiện: Sục khí 24/24h, nhiệt độ phòng (25,0–28,5 °C), độ mặn 28,0–30,0 ‰, pH 8,0–8,5, cường độ chiếu sáng 1.500–3.500 lux. Mật độ tế bào nuôi ban đầu thử nghiệm là 5% ($V_{giống}/V_{mt}$).

Thí nghiệm 2: Ảnh hưởng của mật độ ban đầu đến sự sinh trưởng của tảo *N. oculata*

Để xác định mật độ ban đầu phù hợp trong nghiên cứu sinh trưởng của các chủng tảo *N. oculata*, chúng tôi tiến hành 4 nghiệm thức với mật độ tiếp giống ban đầu lần lượt là 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. Tảo được nuôi cấy trong môi trường tối ưu từ thí nghiệm 1. Mỗi nghiệm thức được lặp lại 3 lần; thí nghiệm được tiến hành trong can trong suốt 5 L. Nuôi trong cùng điều kiện: Sục khí 24/24h, nhiệt độ phòng (25,0–28,5 °C), độ mặn 28,0–30,0 ‰, pH 8,0–8,5, cường độ chiếu sáng 1.500–3.500 lux.

Thí nghiệm 3: Nuôi sinh khối tảo *N. oculata* trong điều kiện ánh sáng tự nhiên

Kế thừa những kết quả thu được ở thí nghiệm 1 và 2 để thử nghiệm nuôi sinh khối vi tảo *N. oculata* trong hệ thống nuôi kín (túi nylon 50 L) (Hình 2) và nuôi hở (thùng xếp 50 L) có kích thước 540 × 385 × 300 mm (Hình 3). Nuôi sinh khối trong cùng điều kiện: Sục khí 24/24h, nhiệt độ ngoài trời (25,0–28,5 °C), độ mặn 28,0–3,00 ‰, pH 8,0–8,5, cường độ chiếu sáng tự nhiên.



Hình 2. Nuôi sinh khối tảo *Nanochloropsis oculata* trong điều kiện nuôi kín (túi nylon)



Hình 3. Nuôi sinh khối tảo *Nanochloropsis oculata* trong điều kiện nuôi hở (thùng xốp)

2.3 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 để tính toán và được xử lý bằng phần mềm SPSS 16.0, phân tích phương sai ANOVA một yếu tố để so sánh sự khác nhau về mật độ cực đại của các nghiệm thức với phép thử LSD.

3 Kết quả và thảo luận

3.1 Ảnh hưởng của môi trường nuôi đến sự sinh trưởng của tảo *Nanochloropsis oculata*

Các yếu tố môi trường nước trong quá trình nghiên cứu chủng tảo *N. oculata* ở các môi trường dinh dưỡng khác nhau (F/2, Walne và TMRL) cho thấy pH dao động trong khoảng 8,0–9,6 và giá trị pH tăng dần theo mật độ tảo; nhiệt độ không khí dao động trong khoảng 24,5–31,5 °C; cường độ ánh sáng dao động trong khoảng 1.600–3.400 lux. Với mật độ tiếp giống ban đầu 5% ($V_{\text{giống}}/V_{\text{mt}}$), sinh trưởng của vi tảo *N. oculata* trong các môi trường dinh dưỡng khác nhau có sự chênh lệch đáng kể (Bảng 1).

Bảng 1. Mật độ tế bào vi tảo *N. oculata* nghiên cứu theo thời gian nuôi trong các môi trường dinh dưỡng khác nhau

| Ngày | Mật độ tế bào ($\times 10^5$ tế bào/mL) | | |
|------|--|------------------|-----------------|
| | Môi trường F/2 | Môi trường Walne | Môi trường TMRL |
| 0 | 0,80 ± 0,02 | 0,81 ± 0,03 | 0,83 ± 0,05 |
| 1 | 1,52 ± 0,26 | 1,79 ± 0,26 | 1,21 ± 0,19 |
| 2 | 4,84 ± 0,19 | 4,25 ± 0,92 | 2,86 ± 0,88 |

| Ngày | Mật độ tế bào ($\times 10^5$ tế bào/mL) | | |
|------|--|--|--|
| | Môi trường F/2 | Môi trường Walne | Môi trường TMRL |
| 3 | 6,88 \pm 0,29 | 8,45 \pm 0,87 | 4,05 \pm 0,29 |
| 4 | 8,83 \pm 1,06 | 11,31 \pm 1,05 | 6,68 \pm 0,66 |
| 5 | 13,15 \pm 0,24 | 13,73 \pm 1,12 | 9,46 \pm 0,53 |
| 6 | 14,89 \pm 1,50 | 19,53 \pm 0,42 | 14,39 \pm 1,15 |
| 7 | 19,73 \pm 0,70 | 24,44 \pm 0,93 | 17,38 \pm 1,45 |
| 8 | 23,88 \pm 1,52 | 30,60 \pm 1,36 | 20,56 \pm 1,42 |
| 9 | 27,67 \pm 1,38 | 35,97 \pm 0,71 | 24,72 \pm 1,10 |
| 10 | 30,57 \pm 0,87 | 39,85 \pm 0,73 | 29,20^a \pm 1,89 |
| 11 | 34,71 \pm 1,23 | 42,25 \pm 0,45 | 27,01 \pm 1,70 |
| 12 | 38,09^b \pm 1,24 | 43,84^c \pm 0,43 | 20,14 \pm 1,70 |
| 13 | 35,59 \pm 1,73 | 41,85 \pm 3,20 | 18,26 \pm 1,16 |
| 14 | 27,89 \pm 2,96 | 35,87 \pm 1,62 | 14,22 \pm 2,38 |

Các ký tự a, b, c khác nhau cho biết số liệu có sự sai khác thống kê ($p < 0,05$).

Sinh khối của tảo *N. oculata* ở các môi trường dinh dưỡng khác nhau đạt cực đại từ ngày thứ 10–12, trong đó ở môi trường Walne có mật độ cực đại cao nhất đạt $(43,84 \pm 0,43) \times 10^5$ tế bào/mL, cao gấp 54 lần mật độ tế bào giống ban đầu; cao gấp 1,15 lần so với môi trường F/2 $(38,09 \pm 1,24) \times 10^5$ tế bào/mL; và cao gấp 1,5 so với môi trường TMRL $(29,20 \pm 1,89) \times 10^5$ tế bào/mL, sự sai khác này có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Trong đó, mật độ cực đại ở môi trường TMRL là thấp nhất chỉ đạt $(29,20 \pm 1,89) \times 10^5$ tế bào/mL so với các nghiệm thức còn lại ($p < 0,05$). Sự khác nhau này có thể do thành phần dinh dưỡng các môi trường không giống nhau. Ở môi trường TMRL, nguồn đạm là muối KNO_3 ; còn môi trường F/2 và Walne nguồn đạm là muối NaNO_3 . Ngoài ra, trong môi trường Walne có các nguyên tố vi lượng và vitamin cần thiết cho sự sinh trưởng và phát triển của vi tảo, vì vậy ở thí nghiệm này cho kết quả vi tảo *N. oculata* sinh trưởng tốt trong môi trường Walne. Một nghiên cứu khác cho thấy môi trường Walne không những thích hợp cho sự phát triển của vi tảo *N. oculata* mà còn thích hợp cho sự phát triển của loài tảo *Tetraselmis suecica* đạt sinh khối cực đại $(10,88 \pm 0,08) \times 10^5$ tế bào/mL ở ngày thứ 13, trong khi đó đối với vi tảo *Chaetoceros muelleri* sinh trưởng tốt trong môi trường F/2 [3]. Vi tảo *N. oculata* cho thấy hiệu suất tăng trưởng tốt nhất trong môi trường F/2 cải tiến của Guillard có mật độ đạt cực đại là $(221,0 \pm 4,42) \times 10^4$ tế bào/mL ở ngày thứ 16 [14]. Một nghiên cứu khác cũng cho thấy, tảo *N. oculata* phát triển tốt trong môi trường F/2 cải tiến của Guillard có mật độ cực đại đạt $(1,76 \pm 0,50) \times 10^6$ tế bào/mL, và trong môi trường phân bón nông nghiệp

(T-Agri), gồm các thành phần Monoammonium Phosphate, $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ đạt cực đại ($2,25 \pm 0,47$) $\times 10^6$ tế bào/mL, là không có ý nghĩa thống kê, $p > 0,05$ [8].

3.2 Ảnh hưởng của mật độ tế bào ban đầu đến sự sinh trưởng của chủng tảo *N. oculata*

Kết quả biến động các yếu tố môi trường đo được ở các nghiệm thức sau 14 ngày theo dõi cho thấy nhiệt độ dao động trong khoảng 24,5–32,0 °C, cường độ ánh sáng dao động trong khoảng 1.500–3.500 lux, pH dao động trong khoảng 8,0–9,2. Mật độ đạt cực đại của 4 nghiệm thức bắt đầu từ ngày thứ 9 đến ngày thứ 12, trong đó mật độ tiếp giống ban đầu càng cao thì thời gian đạt cực đại càng ngắn. Sinh trưởng của vi tảo *N. oculata* ở các mật độ ban đầu khác nhau có sự khác biệt đáng kể (Bảng 2).

Bảng 2. Sinh trưởng của vi tảo *N. oculata* ở các mật độ ban đầu khác nhau

| Ngày | Mật độ tế bào ($\times 10^5$ tế bào/mL) | | | |
|------|--|-------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|
| | Thể tích giống/thể tích môi trường | | | |
| | 5% | 10% | 15% | 20% |
| 0 | 0,80 \pm 0,07 | 1,57 \pm 0,15 | 2,66 \pm 0,14 | 3,41 \pm 0,17 |
| 1 | 1,64 \pm 0,09 | 2,82 \pm 0,27 | 3,90 \pm 0,26 | 4,72 \pm 0,42 |
| 2 | 3,13 \pm 0,78 | 5,13 \pm 0,93 | 6,69 \pm 0,51 | 9,12 \pm 0,58 |
| 3 | 5,08 \pm 0,77 | 8,14 \pm 0,49 | 10,44 \pm 0,84 | 14,68 \pm 0,87 |
| 4 | 6,61 \pm 0,29 | 10,23 \pm 0,25 | 18,71 \pm 1,64 | 25,17 \pm 1,01 |
| 5 | 8,61 \pm 0,99 | 12,35 \pm 0,98 | 23,67 \pm 2,09 | 31,38 \pm 2,50 |
| 6 | 13,53 \pm 0,42 | 17,64 \pm 0,70 | 35,22 \pm 1,68 | 41,38 \pm 0,67 |
| 7 | 19,57 \pm 0,58 | 25,94 \pm 1,14 | 39,78 \pm 2,37 | 48,98 \pm 0,49 |
| 8 | 22,69 \pm 0,47 | 31,21 \pm 1,48 | 46,24 \pm 2,99 | 52,83 \pm 1,99 |
| 9 | 28,49 \pm 0,05 | 39,84 \pm 2,27 | 49,35 \pm 2,39 | 54,95^{c*}3,03 |
| 10 | 35,26 \pm 0,76 | 44,61 \pm 1,86 | 51,07^{bc*}3,69 | 52,92 \pm 3,39 |
| 11 | 39,74 \pm 0,94 | 47,49^{b*}0,82 | 48,92 \pm 3,39 | 46,87 \pm 0,64 |
| 12 | 41,93^{a*}0,67 | 45,12 \pm 0,59 | 45,05 \pm 3,79 | 39,83 \pm 0,63 |
| 13 | 38,82 \pm 1,11 | 40,26 \pm 3,19 | 36,29 \pm 3,07 | 30,38 \pm 1,37 |
| 14 | 35,02 \pm 0,49 | 33,95 \pm 2,34 | 28,19 \pm 0,92 | – |

Các ký tự a, b, c khác nhau cho biết số liệu có sự sai khác thống kê ($p < 0,05$).

Kết quả nghiên cứu cho thấy vi tảo *N. oculata* sự sinh trưởng ổn định với các mật độ ban đầu khác nhau, trong đó ở mật độ ban đầu $(3,41 \pm 0,17) \times 10^5$ tế bào/mL (20%, $V_{giống}/V_{mt}$) đạt cực đại $(54,95 \pm 3,03) \times 10^5$ tế bào/mL ở ngày thứ 9; sự sai khác này có ý nghĩa thống kê đối với các mật độ ban đầu 5% và 10% ($p < 0,05$), nhưng mật độ cực đại đối với mật độ tiếp giống ban đầu giữa 15% $((51,07 \pm 3,69) \times 10^5$ tế bào/mL) và 20% $((54,95 \pm 3,03) \times 10^5$ tế bào/mL) là không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Mật độ cực đại đạt được trong các nghiệm thức với mật độ ban đầu là $(0,80 \pm 0,07) \times 10^5$ tế bào/mL (5%, $V_{giống}/V_{mt}$); $(1,57 \pm 0,15) \times 10^5$ tế bào/mL (10%, $V_{giống}/V_{mt}$) và $(2,66 \pm 0,14) \times 10^5$ tế bào/mL (15%, $V_{giống}/V_{mt}$) lần lượt là $(41,93 \pm 0,67) \times 10^5$ tế bào/mL; $(47,49 \pm 0,82) \times 10^5$ tế bào/mL và $(51,07 \pm 3,69) \times 10^5$ tế bào/mL sau 12, 11 và 10 ngày nuôi cấy. Trong đó, mật độ ban đầu là $(0,80 \pm 0,07) \times 10^5$ tế bào/mL (5%, $V_{giống}/V_{mt}$) là thấp nhất so với các nghiệm thức còn lại ($p < 0,05$). Kết quả cho thấy loài tảo *N. oculata* phát triển theo quy luật sinh trưởng: Khi mật độ tiếp giống ban đầu càng cao thì tốc độ sinh trưởng của tảo càng nhanh, đạt sinh khối cao và thời gian đạt cực đại càng ngắn. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Đặng Tố Vân Cẩm và cs. đối với loài tảo *N. oculata* – loài đòi hỏi mật độ ban đầu cao (20×10^6 tế bào/mL) [1]. Kết quả này thấp hơn nghiên cứu của Bùi Bá Trung và cs.: mật độ ban đầu tối ưu cho nuôi thu sinh khối tảo *N. oculata* bằng ống dẫn trong suốt, nước chảy liên tục được xác định là $8,0 \times 10^6$ tế bào/mL với mật độ cực đại lên đến $61,07 \times 10^6$ tế bào/mL [4]. Kết quả này cũng như nhận định của Đặng Tố Vân Cẩm và cs.: mật độ ban đầu có ảnh hưởng đến sinh trưởng của quần thể *N. oculata* ở tốc độ tăng trưởng và thời gian đạt cực đại. Khả năng đạt cực đại của quần thể có mật độ ban đầu $(20$ và $30) \times 10^6$ tế bào/mL không khác biệt nhau, đạt 310×10^6 tế bào/mL sau 15 ngày [1]. Trong khi đó đối với loài tảo *Chaetoceros muelleri*, mật độ tiếp giống ban đầu tốt nhất cho sự sinh trưởng là 10%; còn đối với loài tảo *Tetraselmis suecica* là 10–15% [3].

3.3 Thử nghiệm nuôi sinh khối vi tảo *N. oculata* 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 nylon 50 L) và nuôi hở (thùng xốp 50 L) trong cùng điều kiện ánh sáng, nhiệt độ, sục khí 24/24h. Theo dõi thí nghiệm trong 10 ngày và kết quả cho thấy: nhiệt độ nước dao động trong khoảng 24,0–34,0 °C; 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 3.290–3.500 lux. Cường độ ánh sáng thích hợp cho sự phát triển của tảo *Nanochloropsis salina* trong khoảng 5–850 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ (tương ứng 270–45.900 lux) và trong khoảng biến động này, cường độ ánh sáng càng cao thì khả năng sản xuất sinh khối càng cao [17]. Giá trị pH dao động trong khoảng 8,0–9,0. Theo Coutteau trích dẫn bởi Trần Sương Ngọc và cs.: pH thích hợp cho sự phát triển của tảo *N. oculata* nằm khoảng 7,0–9,0 và nằm trong khoảng tối ưu là 8,2–8,7 [2]. Như vậy, kết quả cho thấy các yếu tố môi trường (pH, nhiệt độ, cường độ ánh sáng) đều nằm trong ngưỡng đảm bảo cho tảo *N. oculata* sinh trưởng và phát triển. Kết quả tăng trưởng sinh khối của vi tảo *N. oculata* trong điều kiện ánh sáng tự nhiên có sự khác biệt giữa 2 hình thức (Bảng 3).

Bảng 3. Sinh khối tảo *N. oculata* nuôi trong điều kiện ánh sáng tự nhiên

| Ngày | Mật độ tế bào ($\times 10^5$ tế bào/mL) | |
|------|--|--|
| | Nuôi kín (nilon 50 L) | Nuôi hở (thùng xốp 50 L) |
| 0 | 3,64 \pm 0,40 | 3,48 \pm 0,70 |
| 1 | 7,84 \pm 0,90 | 4,44 \pm 0,53 |
| 2 | 11,38 \pm 1,04 | 6,24 \pm 0,76 |
| 3 | 16,44 \pm 1,10 | 9,73 \pm 1,31 |
| 4 | 28,32 \pm 2,17 | 12,68 \pm 1,53 |
| 5 | 33,45 \pm 1,64 | 23,37 \pm 2,12 |
| 6 | 45,29 \pm 3,06 | 29,04 \pm 2,42 |
| 7 | 56,60 \pm 5,18 | 36,28 \pm 4,20 |
| 8 | 60,69^a \pm 4,43 | 39,56^b \pm 2,68 |
| 9 | 56,02 \pm 4,25 | 28,75 \pm 3,05 |
| 10 | 47,36 \pm 2,86 | 20,66 \pm 2,07 |

Các ký tự a, b khác nhau cho biết số liệu có sự sai khác thống kê ($p < 0,05$).

Tảo *N. oculata* được nuôi kín phát triển nhanh hơn và cho mật độ tế bào cực đại cao hơn so với khi nuôi sinh khối hở. Cụ thể, kết quả cho thấy tảo *N. oculata* có mật độ cực đại khi nuôi kín là $(60,69 \pm 4,43) \times 10^5$ tế bào/mL sau 8 ngày nuôi cấy là cao hơn sinh khối cực đại khi nuôi hở chỉ đạt $(39,56 \pm 2,68) \times 10^5$ tế bào/mL cũng sau 8 ngày nuôi cấy ($p < 0,05$). Kết quả này thấp hơn so với nghiên cứu của Bùi Bá Trung và cs.: khi nuôi sinh khối tảo *N. oculata* trong hệ thống ống dẫn nước chảy bán liên tục có mật độ cực đại đạt $(61,07 \pm 1,27) \times 10^6$ tế bào/mL sau 8 ngày nuôi cấy [4] và cũng thấp hơn so với nghiên cứu Đặng Thị Nguyễn Nhân và cs.: khi nuôi sinh khối tảo *N. oculata* trong hệ thống ống với vận tốc dòng chảy 0,6–0,7 m/s, đạt mật độ $520,31 \times 10^6$ tế bào/mL. Nuôi cấy tảo *N. oculata* trong điều kiện nuôi kín đặt ngoài trời có thể kéo dài thời gian nuôi lên 17 ngày và đạt mật độ tối đa là $(38,85 \pm 1,28) \times 10^6$ tế bào/mL, trong khi tảo nuôi cấy trong bể composite nhanh chóng suy tàn hơn và chỉ đạt mật độ $(20,70 \pm 1,01) \times 10^6$ tế bào/mL vào ngày thứ 9 của chu kỳ nuôi [2]. Đối với loài tảo biển *Tetraselmis suecica* khi nuôi trong túi nilon (50 L) có mật độ cực đại đạt $(14,44 \pm 0,14) \times 10^4$ tế bào/mL sau 7 ngày nuôi cấy, cao hơn 36% khi nuôi cấy trong bể composite (1.000 L), chỉ đạt $(9,23 \pm 0,32) \times 10^4$ tế bào/mL [3]. Kết quả cho thấy nuôi sinh khối tảo *N. oculata* trong hệ thống nuôi kín (nilon) tốt hơn so với nuôi hệ thống hở (thùng xốp) bởi vì ở điều kiện nuôi hở tảo rất bị nhiễm tạp, làm cho tốc độ tăng trưởng chậm. Mặt khác, tảo được nuôi trong túi kín (nilon) có khả năng hấp thụ ánh sáng nhiều và quá trình quang hợp được xảy ra thường xuyên hơn do bề mặt tiếp xúc với ánh sáng được nhiều hơn, do đó sinh khối được gia tăng nhanh hơn, trong khi đó tảo được nuôi sinh khối trong điều kiện nuôi hở (thùng xốp) bị hạn chế về bề mặt tiếp xúc với ánh sáng, do đó khả năng tạo ra sinh khối sẽ giảm.

4 Kết luận

Vi tảo *N. oculata* sinh trưởng và phát triển trong môi trường Walne tốt hơn so với môi trường TMRL và F/2 ở điều kiện được thử nghiệm. Đối với tảo *N. oculata*, thể tích tiếp giống ban đầu 20% ($V_{giống}/V_{mt}$) giúp cho tảo này đạt mật độ cực đại $(54,95 \pm 3,03) \times 10^5$ tế bào/mL sau 9 ngày nuôi, cao hơn so với thể tích tiếp giống ban đầu 5, 10 và 15% ($V_{giống}/V_{mt}$). Trong cùng điều kiện nuôi sinh khối (môi trường Walne, thể tích tiếp giống ban đầu 20% ($V_{giống}/V_{mt}$)), cùng điều kiện chiếu sáng tự nhiên và cùng thể tích (50 L), tảo *N. Oculata* được nuôi sinh khối ở túi kín (nilon) có mật độ cực đại đạt $(60,69 \pm 4,43) \times 10^5$ tế bào/mL, cao hơn so với khi nuôi hở (thùng xốp) chỉ đạt $(39,56 \pm 2,68) \times 10^5$ tế bào/mL sau 8 ngày nuôi.

Tài liệu tham khảo

1. Đặng Tố Vân Cẩm, 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 *Nanochloropsis* và *Isochrysis galbana* nuôi trong hệ thống tấm, *Tạp chí nghề cá sông Cửu Long*, (2).
2. Trần Sương Ngọc và Phạm Thị Tuyết Ngân (2014), Khả năng nuôi sinh khối tảo *nanochloropsis oculata* trong các hệ thống khác nhau, *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ, Số chuyên đề: Thủy sản* (2), 63–69.
3. Trần Vinh Phương, Nguyễn Văn Khanh, Phạm Thị Hải Yến, Kiều Thị Huyền, Võ Đức Nghĩa (2017), 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, *Tạp chí Khoa học Đại học Huế*, 126(3D), 119–129.
4. Bùi Bá Trung, Hoàng Thị Bích Mai, Nguyễn Hữu Dũng, Cái Ngọc Bảo Anh (2009), Ảnh hưởng của mật độ ban đầu và tỷ lệ thu hoạch lên sinh trưởng vi tảo *Nanochloropsis oculata* nuôi trong hệ thống ống dẫn nước chảy liên tục, *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Thủy sản*, (1), 37–44.
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., Jeffrey S. W., Volkman J. K., Dunstan G. A. (1997), "Nutritional properties of microalgae for mariculture", *Aquaculture*, 151, 315–331.
7. Brown M. R. (2002), Nutritional Value and Use of Microalgae in Aquaculture, CSIRO Marine Research, Australia, *Aquaculture*, 60–68.
8. Campaña-Torres A., Martínez-Córdova L. R., Martínez-Porchas M., López-Elías J.A., Porchas-Cornejo M.A. (2012), Productive response of *Nanochloropsis oculata*, cultured in different media and their efficiency as food for the rotifer *Brachionus rotundiformis*, *International journal of experimental botany*, Gaspar Campos 861, 1638 Vicente López (BA), Argentina. FYTON ISSN 0031 9457, (81), 45–50.
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), pp. 229–239.
10. Hu H., Gao K. (2006), Response of growth and fatty acid compositions of *Nanochloropsis* sp. to environmental factors under elevated CO₂ concentration. *Biotechnology Letter*, 28(13), 987 – 992.
11. 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.

12. Lee J. H., O'Keefe J. H., Lavie C. J., Harris W. S. (2009), Omega-3 fatty acid: Cardiovascular benefits, sources and sustainability, *Nat. Rev. Cardiol*, (6), 753–758,
13. Renaud S. M., Thinh L. V., Parry D. L. (1999), The gross chemical composition and fatty acid composition of 18 species of tropical Australian microalgae for possible use in mariculture, *Aquaculture*, 170, 147–159.
14. Shah. M. M. R., Alam M. J., Islam M. L., Khan M. S. A. (2003), Growth performances of three microalgal species in filtered brackishwater with different inorganic media. Bangladesh Fisheries Research Institute, Brackishwater Station, Paikgacha, Khulna 9280, Bangladesh. *Bangladesh Journal of Fish*, 7(1), 69–76.
15. Volkman J. K., Brown M. R., Dunstan G. A., Jeffrey S. W. (1993), The biochemical composition of marine microalgae from the class Eustigmatophyceae, *Journal of Phycology*, 29(1), 69–78,
16. 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.
17. Wagenen J. V., Miller T. W., Hobbs S., Hook P., Crowe B., Huesemann M. (2012), Effects of light and temperature on fatty acid production in *Nanochloropsis salina*, *Energies*, 5, 731–740.

EFFECT OF NUTRIENT MEDIUM AND INITIAL DENSITY ON GROWTH OF MICROALGAE *Nanochloropsis oculata* AND BIOMASS CULTIVATION UNDER OUTDOOR CONDITIONS IN THUA THIEN HUE PROVINCE

Tran Vinh Phuong^{1*}, Le Thi Tuyet Nhan¹, Nguyen Van Khanh¹,
Pham Thi Hai Yen², Nguyen Van Huy²

¹ Institute of Biotechnology, Hue University, Road 10., Phu Vang, Thua Thien Hue, Vietnam

² University of Agriculture and Forestry, Hue University, 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 *Nanochloropsis oculata* and performing experiments of biomass cultivation under outdoor conditions. The findings showed that the Walne medium was the best for *N. oculata* to develop. After 9 days, *N. oculata* at the initial density of 20% reached the maximal density at $(54,95 \pm 3,03) \times 10^5$ cells/mL with a fairly stable, balanced phase. After 8 days, *N. oculata* biomass reached the maximal density at $(60,69 \pm 4,43) \times 10^5$ cells/mL when cultured in nylon bags, and $(39,56 \pm 2,68) \times 10^5$ cells/mL in 50 L styrofoam boxes.

Keywords: *Nanochloropsis oculata*, initial density, microalgae, nutrient medium, biomass cultivation