

**BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
TRƯỜNG ĐẠI HỌC NHA TRANG**



Cái Ngọc Bảo Anh

**ẢNH HƯỞNG CỦA DINH DƯỠNG ĐẾN SINH TRƯỞNG QUẦN THỂ, CHẤT
LƯỢNG CỦA BA LOÀI VI TẢO (*Nannochloropsis oculata*, *Isochrysis galbana* và
Tetraselmis chui) VÀ LUÂN TRÙNG (*Brachionus plicatilis*)**

Chuyên ngành: Nuôi thủy sản nước mặn, lợ

Mã số: 62 62 70 05

TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ NÔNG NGHIỆP

Nha Trang - 2010

Công trình được hoàn thành tại Trường Đại học Nha Trang.

Người hướng dẫn khoa học:

GS Helge Reinertsen

TS Nguyễn Hữu Dũng

Phản biện 1: **PGS – TS Nguyễn Thanh Phương**

Phản biện 2: **PGS – TS Lê Thanh Hùng**

Phản biện 3: **PGS – TS Nguyễn Chính**

Luận án được bảo vệ trước Hội đồng chấm luận án cấp nhà nước họp tại Trường Đại học Nha Trang, vào hồi 14 giờ 00 ngày 25 tháng 6 năm 2010.

Có thể tìm hiểu luận án tại: - Thư viện Quốc Gia Việt Nam.

- Thư viện Trường Đại học Nha Trang.

**DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH TÁC GIẢ ĐÃ CÔNG BỐ
CÓ LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN**

1. Cái Ngọc Bảo Anh, Kjell Inge Reitan, Nguyễn Hữu Dũng (1999), “Nuôi thu sinh khối luân trùng *Brachionus plicatilis* Muller, 1786 dùng nhỏ bằng men bánh mì có bổ sung dầu mực tại Nha Trang”, *Tuyển tập công trình nghiên cứu khoa học và công nghệ, tập IV*, Trường Đại học Thủy sản, Nha Trang, tr. 58-65.
2. Cái Ngọc Bảo Anh, Kjell Inge Reitan, Nguyễn Hữu Dũng (1999), “Sử dụng tảo *Nannochloropsis oculata* làm thức ăn nuôi thu sinh khối luân trùng *Brachionus plicatilis* tại Nha Trang”, *Tuyển tập công trình nghiên cứu khoa học và công nghệ, tập IV*, Trường Đại học Thủy sản, Nha Trang, tr. 66-71.
3. Cai N. B A., Reinertsen, H., Nguyen H. D. (2007), “Growth and fatty acid profile of three microalgae species cultured with a cost-effective fertilizer”, *Asian – Pacific Aquaculture 2007*, World Aquaculture Society, Hanoi, Vietnam, pp. 29.
4. Cái Ngọc Bảo Anh, Nguyễn Hữu Dũng, Helge Reinertsen (2009), “Xác định mức bổ sung men bánh mì khi nuôi sinh khối luân trùng *Brachionus plicatilis* bằng vi tảo *Nannochloropsis oculata*”, *Khoa học và Công nghệ Thủy sản*, 1/2009, tr. 50-57.
5. 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 *Nannochloropsis oculata* nuôi trong hệ thống ống dẫn trong suốt nước chảy liên tục”, *Khoa học và Công nghệ Thủy sản*, 1/2009, tr. 37-43.
6. Cái Ngọc Bảo Anh, Helge Reinertsen, Nguyễn Hữu Dũng (2009), “Sinh trưởng quần thể tảo *Nannochloropsis oculata* khi nuôi bằng môi trường f/2 có điều chỉnh nồng độ và dạng muối ni to”, *Khoa học và Công nghệ Thủy sản*, số đặc biệt/2009, tr. 49-54.

1. Tính cấp thiết của luận án

Vấn đề con giống là một trong những trở ngại chính đối với nghề nuôi hải sản nói chung và nuôi cá biển nói riêng. Ấu trùng cá biển cần được thỏa mãn nhu cầu thức ăn sống cả về số lượng và chất lượng. Do đó việc giải quyết hai “mắt xích” đầu tiên trong chuỗi thức ăn vi tảo – luân trùng - ấu trùng cá biển đóng vai trò quan trọng trong sản xuất giống nhân tạo cá biển. Ba loài tảo *Nannochloropsis oculata* (*N. oculata*), *Isochrysis galbana* (*I. galbana*) và *Tetraselmis chui* (*T. chui*) được sử dụng phổ biến ở các cơ sở sản xuất giống cá biển trên thế giới. Tuy nhiên, sinh trưởng quần thể và chất lượng dinh dưỡng của chúng lại phụ thuộc nhiều vào điều kiện nuôi, nhất là yếu tố dinh dưỡng. Hơn nữa, các loài vi tảo trên tiếp tục đóng vai trò là yếu tố dinh dưỡng ảnh hưởng quyết định đến sinh trưởng quần thể và chất lượng dinh dưỡng của luân trùng khi dùng làm thức ăn cho ấu trùng cá biển. Vì vậy, nghiên cứu ảnh hưởng của yếu tố dinh dưỡng đến sinh trưởng quần thể, chất lượng dinh dưỡng của ba loài vi tảo trên và luân trùng *Brachionus plicatilis* khi nuôi trong điều kiện Việt Nam nhằm phục vụ phát triển sản xuất giống cá biển cùng các loài hải đặc sản là một yêu cầu cấp thiết.

Các nghiên cứu về vi tảo phục vụ nuôi hải sản ở Việt Nam chỉ mới tập trung vào các loài tảo silic dùng làm thức ăn cho ấu trùng tôm he hoặc động vật thân mềm. Các viện, trường nghiên cứu về nuôi trồng thủy sản đều có bộ phận liên quan đến vi tảo nhưng chưa có công bố về sinh trưởng quần thể của ba loài vi tảo *N. oculata*, *I. galbana* và *T. chui* liên quan đến yếu tố dinh dưỡng ở thể tích 50 L hoặc lớn hơn. Các nghiên cứu chuyên sâu hơn về chất lượng dinh dưỡng như hàm lượng lipit và axit béo dưới ảnh hưởng của điều kiện nuôi cũng chưa được đề cập đến. Trong khi đó chất lượng dinh dưỡng của vi tảo, đặc biệt là hàm lượng lipit và axit béo có ảnh hưởng lớn đến tốc độ sinh trưởng, tỷ lệ sống và sức sống của ấu trùng cá biển thông qua mắt xích thức ăn là luân trùng. Xuất phát từ những yêu cầu thực tế trên, đề tài: “**Ảnh hưởng của dinh dưỡng đến sinh trưởng quần thể, chất lượng của ba loài vi tảo (*Nannochloropsis oculata*, *Isochrysis gallbana* và *Tetraselmis chui*) và luân trùng (*Brachionus plicatilis*)**” đã được thực hiện.

2. Mục tiêu của luận án

- Xác định ảnh hưởng của nồng độ, dạng muối ni tơ cũng như việc bổ sung CO₂ đến sinh trưởng quần thể và chất lượng dinh dưỡng của ba loài vi tảo *N. oculata*, *I. galbana* và *T. chui*.

- Xác định ảnh hưởng của ba loài vi tảo *N. oculata*, *I. galbana* và *T. chui* dùng làm thức ăn đến sinh trưởng quần thể và chất lượng dinh dưỡng của luân trùng *B. plicatilis*.

3. Nội dung của luận án

1. Ảnh hưởng của nồng độ và dạng muối ni tơ đến sinh trưởng quần thể của ba loài vi tảo *N. oculata*, *I. galbana* và *T. chui*.
2. Ảnh hưởng của việc bổ sung CO₂ đến sinh trưởng quần thể của ba loài vi tảo *N. oculata*, *I. galbana* và *T. chui*.
3. Ảnh hưởng của chất lượng phân bón đến sinh trưởng quần thể và chất lượng dinh dưỡng của ba loài vi tảo *N. oculata*, *I. galbana* và *T. chui* nuôi ở qui mô 2 m³.
4. Ảnh hưởng của ba loài vi tảo *N. oculata*, *I. galbana* và *T. chui* và men bánh mì *Saccharomyces cerevisiae* đến sinh trưởng quần thể và chất lượng dinh dưỡng luân trùng *Brachionus plicatilis*.

3. Ý nghĩa khoa học và thực tiễn của luận án

- Cung cấp thêm dẫn liệu về đặc điểm sinh trưởng quần thể, thành phần hóa sinh của ba loài vi tảo *N. oculata*, *I. galbana* và *T. chui*.
- Bổ sung dẫn liệu khoa học về sinh trưởng quần thể, thành phần hóa sinh của luân trùng *B. plicatilis*.
- Xây dựng cơ sở khoa học cho việc giải quyết vấn đề cung cấp vi tảo cho các cơ sở sản xuất giống hải sản có nhu cầu đối với ba loài *N. oculata*, *I. galbana* và *T. chui* và vấn đề cung cấp luân trùng *B. plicatilis* cho các cơ sở sản xuất giống cá biển tại Việt Nam.

4. Những đóng góp của luận án

- Luận án là một trong những công trình đầu tiên ở Việt Nam nghiên cứu chất lượng dinh dưỡng của ba loài vi tảo *N. oculata*, *I. galbana* và *T. chui* liên quan đến yếu tố dinh dưỡng nuôi ở qui mô lớn, thể tích 50 L và 2 m³.
- Luận án là một trong những công trình đầu tiên ở Việt Nam cung cấp căn cứ để sử dụng vi tảo làm thức ăn nuôi luân trùng, hướng đến giải quyết vấn đề đảm bảo số lượng, chất lượng thức ăn sống (gồm vi tảo và luân trùng) cho các cơ sở sản xuất giống cá biển ở Việt Nam.

4. Cấu trúc của luận án

Luận án gồm 161 trang, trong đó có 30 bảng, 32 hình và được cấu trúc như sau:

Mở đầu	3 trang
Chương 1: Tổng quan tài liệu	33 trang

Chương 2: Đối tượng và phương pháp nghiên cứu	23 trang
Chương 3: Kết quả nghiên cứu và thảo luận	71 trang
Kết luận và kiến nghị	3 trang
Danh mục các công trình tác giả đã công bố có liên quan đến luận án	1 trang
Tài liệu tham khảo	27 trang

Chương 2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Thời gian, địa điểm và đối tượng nghiên cứu.

2.1.1. Thời gian nghiên cứu.

- Các thí nghiệm được tiến hành từ năm 2002 đến năm 2006.

2.1.2. Địa điểm nghiên cứu.

- Các nghiên cứu thực nghiệm trong phòng và ngoài trời: tiến hành tại Trung tâm Nghiên cứu Giống và Dịch bệnh Thủy sản (CAAHBS), Trường Đại học Nha Trang.

- Phân tích thành phần lipít và axit béo: tiến hành tại Viện Công nghệ Sinh học và Môi trường, Đại học Nha Trang. Một số mẫu đối chứng kết quả phân tích được thực hiện tại Trạm Sinh học Thực nghiệm BrattØra, Đại học Khoa học và Công nghệ Na Uy, Trondheim, Na Uy.

2.1.3. Đối tượng nghiên cứu: gồm ba loài vi tảo *Nannochloropsis oculata* (Droop) D.J. Hibberd 1981, *Isochrysis galbana* Parke 1949 và *Tetraselmis chui* Butcher 1959 và luân trùng *Brachionus plicatilis* O.F. Muller 1786, dòng nhỏ (S-strain).

2.2. Bố trí thí nghiệm.

Thí nghiệm 1. Ảnh hưởng của nồng độ và dạng muối ni tơ đến sinh trưởng quần thể ba loài vi tảo *N. oculata*, *T. chui* và *I. galbana*.

Dạng muối ni tơ thử nghiệm gồm nitrat NaNO_3 và amôn $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. Mỗi dạng muối được thí nghiệm với 4 nồng độ ni tơ, dựa trên môi trường f/2 gồm 0,44 mM (giảm $\frac{1}{2}$ so với môi trường f/2), 0,88 mM (giữ nguyên như môi trường f/2 – đối chứng), 1,32 mM (gấp 1,5 lần môi trường f/2) và 1,76 mM (gấp 2,0 lần môi trường f/2).

Thí nghiệm được tiến hành ở các túi nylon 50 L. Mật độ ban đầu đối với tảo *N. oculata* là 400×10^4 tế bào (tb)/mL; tảo *I. galbana* là 200×10^4 tb/mL và tảo *T. chui* là 15×10^4 tb/mL. Độ mặn: 32 – 33 ‰. Chế độ chiếu sáng: theo điều kiện tự nhiên, cường độ sáng vào ban ngày dao động 60 – 135 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{giây}$. Các chỉ tiêu theo dõi trong quá trình thí nghiệm bao gồm:

nhệt độ và pH, đo 2 lần/ngày, vào lúc 7 giờ và 14 giờ. Mật độ tế bào tảo: đếm 1 lần/ngày, lúc 7 giờ. Đối với mỗi loài tảo, thí nghiệm được lặp lại 3 lần trong cùng lúc.

Thí nghiệm 2. Ảnh hưởng của việc sục khí có bổ sung CO₂ đến sinh trưởng quần thể của ba loài tảo *N. oculata*, *I. galbana* và *T. chui*.

Thí nghiệm được tiến hành với các điều kiện về thể tích, mật độ tảo ban đầu, độ mặn, chế độ chiếu sáng như thí nghiệm 1. Chế độ bón phân được căn cứ trên kết quả thí nghiệm 1, nguồn ni tơ dưới dạng nitrat và nồng độ được giữ nguyên, giảm 0,5 lần và tăng 1,5 lần so với môi trường f/2 khi bón phân lần lượt cho các loài *N. oculata*, *I. galbana* và *T. chui*. Chế độ sục khí: trong điều kiện bình thường, tốc độ sục khí là 300L/phút. Đối với thí nghiệm thức có bổ sung CO₂, lượng CO₂ được đưa vào hệ thống sục khí với tốc độ 4 – 6 L/phút. Thời gian sục khí có bổ sung CO₂ trong ngày là từ 6 giờ đến 18 giờ. Các chỉ tiêu theo dõi trong quá trình thí nghiệm tương tự như thí nghiệm 1. Đối với mỗi loài tảo, thí nghiệm được lặp lại 3 lần trong cùng lúc.

Thí nghiệm 3. Ảnh hưởng của chất lượng phân bón đến sinh trưởng quần thể và chất lượng dinh dưỡng của ba loài tảo *N. oculata*, *I. galbana* và *T. chui* khi nuôi ở bể 2 m³.

Thí nghiệm được tiến hành ở thể tích 2 m³. Mật độ ban đầu đối với tảo *N. oculata* là 200×10^4 tb/mL; tảo *I. galbana* là 500×10^4 tb/mL và tảo *T. chui* là 6×10^4 tb/mL. Điều kiện về độ mặn và ánh sáng tương tự thí nghiệm 1, sục khí 300 L/phút. Chế độ bón phân cho mỗi loài tảo tương tự thí nghiệm 2, trong đó hóa chất dạng tinh khiết theo môi trường f/2 làm đối chứng so với thí nghiệm thức thử nghiệm dùng phân bón dưới dạng hóa chất công nghiệp, độ tạp chất $\leq 4\%$. Theo dõi các chỉ tiêu nhiệt độ và pH, mật độ tế bào như thí nghiệm 1. Mẫu tảo dùng cho phân tích hàm lượng lipit và axit béo được thu hàng ngày, lúc 8 giờ. Mẫu tại thời khoảng cuối pha gia tốc dương/đầu pha cân bằng được dùng để phân tích hàm lượng lipit và axit béo. Trước khi thực hiện quá trình phân tích, mỗi mẫu được chia thành 3 mẫu nhỏ để phân tích riêng biệt. Đối với mỗi loài tảo, thí nghiệm được lặp lại 3 lần trong cùng lúc.

Thí nghiệm 4. Ảnh hưởng của thức ăn đến sinh trưởng quần thể và chất lượng dinh dưỡng của luân trùng *Brachionus plicatilis*.

Thí nghiệm này được chia thành 4 thí nghiệm nhỏ, tương ứng với ảnh hưởng của 4 loại thức ăn riêng biệt là tảo *N. oculata*, *I. galbana*, *T. chui* và men bánh mì *Saccharomyces cerevisiae* (Lesaffre-Cát Tường, TP HCM) đến sinh trưởng quần thể và chất lượng dinh dưỡng của luân trùng. Mật độ tảo *N. oculata* làm thức ăn được bố trí ở các mức 6, 8, 10 và

12 triệu tb/mL. Tảo *I. galbana* được cho ăn ở các mật độ 2, 3, 4 và 5 triệu tb/mL. Tảo *T. chui* được cho ăn ở các mật độ 0,4, 0,6, 0,8 và 1,0 triệu tb/mL. Men bánh mì được bố trí làm thức ăn ở các mức 1, 2, 3, 4, 5, và 6 g men triệu cá thể (ct)/ngày.

Các thí nghiệm đều được tiến hành ở bể sợi thủy tinh, hình trụ đáy nón, thể tích 200 L. Mật độ luân trùng ban đầu là 100 ct/mL, độ mặn 32 – 33 ‰. Nhịp cho ăn đối với thức ăn vi tảo là 1 lần/ngày vào lúc 7 giờ, đối với thức ăn men bánh mì là 3 lần/ngày vào các thời điểm: 7 giờ, 15 giờ và 23 giờ. Các chỉ tiêu theo dõi trong quá trình thí nghiệm bao gồm: nhiệt độ và pH: đo 2 lần/ngày, vào lúc 7 giờ và 14 giờ; ôxy hòa tan: đo 2 giờ/lần, từ 6 giờ đến 18 giờ; mật độ luân trùng và tỷ lệ trứng: đếm 1 lần/ngày, lúc 7 giờ 30; mẫu luân trùng cho phân tích hàm lượng lipít và axit béo được thu hàng ngày, lúc 8 giờ. Mẫu tại thời khoảng cuối pha gia tốc dương/đầu pha cân bằng ở bể nuôi có sinh trưởng quần thể luân trùng tốt nhất được dùng để phân tích hàm lượng lipít và axit béo. Trước khi thực hiện quá trình phân tích, mỗi mẫu được chia thành 3 mẫu nhỏ để phân tích riêng biệt. Mỗi thí nghiệm được lặp lại 3 lần trong cùng lúc.

Thí nghiệm 5. Xác định sinh trưởng quần thể và giá trị dinh dưỡng của luân trùng dưới ảnh hưởng của thức ăn là tảo *Nannochloropsis oculata* bổ sung men bánh mì.

Thí nghiệm được tiến hành với các điều kiện về thể tích nuôi, độ mặn, mật độ luân trùng ban đầu nhịp cho ăn tương tự thí nghiệm các thí nghiệm 4. Trong đó thức ăn vi tảo được chọn từ loại cho kết quả sinh trưởng tốt nhất trong ba loài tảo trên là *N. oculata* và bổ sung thêm men bánh mì với các mức 1, 2, 3, 4, 5 và 6 g men triệu cá thể (ct)/ngày. Các chỉ tiêu theo dõi trong quá trình thí nghiệm tương tự thí nghiệm 4. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần trong cùng lúc.

2.3. Phương pháp xác định các thông số môi trường, sinh trưởng quần thể, hàm lượng lipít và axit béo.

Các yếu tố môi trường như nhiệt độ, độ mặn, pH và ôxy hòa tan được đo bằng các dụng cụ thông dụng với độ chính xác lần lượt là 0,1°C, 1‰, 0,1 và 0,1mgO₂/L. Cường độ ánh sáng đo bằng máy đo LI-1400 (LI-COR, Inc., USA), độ chính xác 1 μE/m²/giây.

Mật độ tế bào tảo và tốc độ sinh trưởng quần thể: Mật độ tế bào tảo được xác định bằng buồng đếm hồng cầu Neubauer theo Guillard (1973). Công thức tính tốc độ sinh trưởng của quần thể vi tảo: $\mu = (\ln N_1 - \ln N_0) / (t_1 - t_0)$, trong đó N_1 là mật độ tế bào tại thời điểm t_1 ; N_0 là mật độ tế bào tại thời điểm t_0 ; μ là tốc độ sinh trưởng quần thể (tảo) trong khoảng thời gian giữa hai lần xác định mật độ theo Guillard (1973). Công thức trên cũng được áp dụng để

tính tốc độ sinh trưởng của quần thể luân trùng (theo Reitan và Olsen, 1994). Trong nghiên cứu này, tốc độ sinh trưởng quần thể tảo hay luân trùng được tính theo ngày và gọi tắt là tốc độ sinh trưởng quần thể.

Xác định mật độ luân trùng và tỷ lệ trứng:

- Phương pháp thu mẫu và xác định mật độ luân trùng: Ống thu mẫu có đường kính trong 8 mm, dài 80 cm. Mẫu được thu ngẫu nhiên tại 5 vị trí theo chiều sâu cột nước và trộn đều. Lắc đều cốc đốt trước khi lấy mẫu. Dùng micropipet lấy 12 mẫu từ cốc đốt. Đếm số luân trùng và số trứng mà các cá thể luân trùng đang mang dưới kính hiển vi soi nổi (độ phóng đại 16 – 56 lần). Loại bỏ giá trị thấp nhất và cao nhất trong 12 lần đếm. Mật độ luân trùng được tính theo công thức: $MĐ = n/(10 \times V) \times 100$. Tỷ lệ trứng của quần thể luân trùng được tính theo công thức: $TLT = x/n$. Trong đó, $MĐ$ là mật độ luân trùng (ct/mL), TLT là tỷ lệ trứng, n là tổng số cá thể luân trùng đếm được trong 10 mẫu, V là thể tích của micropipet khi lấy mẫu (μL) và x là tổng số trứng đếm được trong 10 mẫu.

Thu mẫu vi tảo và luân trùng để phân tích hàm lượng lipít và axit béo: Mẫu vi tảo được ly tâm bằng máy Sigma 6K15 (Sartorius, Germany) ở điều kiện 25°C , 4350 vòng/phút (3500 g) trong 5 phút. Phần tảo cô đặc sau ly tâm được đông khô bằng máy Flexi-DryTM MP, Model MNL-030-A (FTS Systems, USA) trong 48 giờ.

Trước khi thu mẫu, luân trùng được lọc qua mắt lưới $200\mu\text{m}$, sau đó thu lại bằng mắt lưới $60\mu\text{m}$. Rửa luân trùng bằng nước biển sạch và đông khô tương tự như mẫu vi tảo.

Phân tích hàm lượng lipít: theo Bligh và Dyer (1959).

Phân tích hàm lượng các axit béo: qua 2 giai đoạn: 1) Thủy phân và este hóa lipít chiết từ mẫu nghiên cứu và 2) Phân tích định tính và định lượng axit béo bằng sắc ký khí. Quy trình thủy phân và este hóa lipít theo Metcalfe và cộng tác viên (ctv) (1966). Phân tích sắc ký trên hệ thống Hewlett-Packard 6890 (GMI Inc., Minnesota, USA). Các thông số kỹ thuật chính: cột sắc ký: HP-FFAP dài 60m, đường kính trong $0,32\text{ mm}$, độ dày film $0,25\ \mu\text{m}$, khí mang là ni tơ, chế độ nhiệt thay đổi từ 90°C đến 225°C . Nhiệt độ cột tăng dần từ 90°C trong phút đầu tiên đến 150°C với mức tăng $30^{\circ}\text{C}/\text{phút}$. Sau đó nhiệt độ cột được tăng đến 225°C với mức tăng $3^{\circ}\text{C}/\text{phút}$. Đầu dò ion hóa ngọn lửa (FID), nhiệt độ đầu dò là 240°C . Tốc độ dòng khí hydro $40\text{L}/\text{phút}$, tốc độ dòng không khí $400\text{ L}/\text{phút}$. Tiêm mẫu bằng tay, tỷ lệ chia dòng 1:10, thể tích mẫu tiêm $1\ \mu\text{L}$. Các axit béo được định tính bằng cách so sánh thời gian lưu với các axit béo của chất chuẩn 68D (Nu-Check Prep, USA). Định lượng axit béo được thực hiện bằng phương pháp chuẩn nội, chất chuẩn là axit béo C17:0 với hàm lượng đã xác định

trước (80ng/ μ L Isooctan đưa vào hệ thống sắc ký). Kết quả định tính và định lượng axit béo được phân tích bằng phần mềm GC ChemStation A.08.03 (Agilent[®] Technologies Inc., Santa Clara, USA).

2.4. Phân tích và xử lý số liệu: Xử lý số liệu sơ bộ bằng phần mềm MS-Excel 2003 và thực hiện các phép kiểm định thống kê với độ tin cậy 95% bằng phần mềm SPSS Statistics 17.0.

Chương 3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của dinh dưỡng đến sinh trưởng quần thể và chất lượng của tảo *Nannochloropsis oculata*.

3.1.1. Ảnh hưởng của nồng độ và dạng muối ni tơ đến sinh trưởng quần thể tảo *Nannochloropsis oculata*.

Ở nồng độ ni tơ 0,44 mM N-NO₃, quần thể tảo *N. oculata* đạt đến pha cân bằng vào ngày nuôi thứ 6 với mật độ $(1971,0 \pm 65,6) \times 10^4$ tb/mL. Ở các nồng độ ni tơ 0,88 mM N-NO₃ và 1,32 mM N-NO₃, quần thể tảo *N. oculata* đều đạt mật độ cực đại vào ngày nuôi thứ 7 với mật độ lần lượt là $(2454,3 \pm 79,1) \times 10^4$ tb/mL và $(2493,3 \pm 122,2) \times 10^4$ tb/mL. Ở nồng độ ni tơ 1,76 mM N-NO₃, quần thể tảo đạt mật độ tế bào là $(2632,7 \pm 275,9) \times 10^4$ tb/mL vào ngày nuôi thứ 8. Giá trị mật độ tế bào tảo ở ba nồng độ ni tơ sau cùng không khác biệt nhau về mặt thống kê ($P > 0,05$) và cao hơn mật độ tế bào tảo ở nồng độ ni tơ 0,44 mM N-NO₃. Ngoài ra, không có sự khác biệt về mật độ tế bào đầu pha cân bằng khi so sánh giữa hai dạng muối nitrat và amôn ở cùng nồng độ ni tơ. Kết quả thí nghiệm cho thấy tảo *N. oculata* sinh trưởng tốt ở môi trường f/2, nồng độ ni tơ thích hợp là 0,88 mM dưới dạng nitrat hay amôn.

3.1.2. Ảnh hưởng của việc bổ sung CO₂ đến sinh trưởng quần thể tảo *Nannochloropsis oculata*.

Trong thời gian nuôi, nhiệt độ nước thấp nhất là 25,5°C vào buổi sáng, cao nhất là 32,0°C vào buổi chiều, biên độ dao động ngày lớn nhất ghi nhận được là 5,8°C. Tuy điều kiện nhiệt độ chưa thật sự tối ưu do nhưng khoảng nhiệt độ trên vẫn còn phù hợp cho sinh trưởng của loài tảo này. Khi sục khí có bổ sung CO₂, pH khá ổn định với biên độ dao động lớn nhất là 0,3 và luôn ở mức trung tính, từ 6,9 đến 7,6. Ngược lại, trong điều kiện sục khí bình thường, biên độ dao động pH trong ngày cao, từ 1,0 đến 1,6 đồng thời giá trị pH tăng dần, đạt cao nhất là 10,1 vào ngày nuôi thứ 8.

Mật độ tế bào đạt được đầu pha cân bằng của quần thể tảo được sục khí có bổ sung CO₂ là $(4788,8 \pm 369,5) \times 10^4$ tb/mL, cao gấp đôi so với quần thể tảo chỉ được sục khí bình

thường. Thời gian đạt đến đầu pha cân bằng của quần thể tảo được sục khí có bổ sung CO₂ là vào ngày nuôi thứ 6, so với quần thể tảo được sục khí bình thường đạt đến đầu pha cân bằng vào ngày nuôi thứ 7.

3.1.3. Ảnh hưởng của chất lượng phân bón đến sinh trưởng quần thể và giá trị dinh dưỡng của tảo *Nannochloropsis oculata*.

Khi nuôi tảo ở thể tích lớn, việc dùng phân bón dạng hóa chất tinh khiết (NaNO₃ ≥ 99,8%) có chi phí cao nên cần đặt vấn đề thay thế bằng dạng hóa chất công nghiệp có giá thấp hơn nhiều nhưng đồng thời lại có chứa các tạp chất (≤4%, gồm một số muối của các ion kim loại như Fe²⁺, Fe³⁺, Pb²⁺ và Ca²⁺) có thể ảnh hưởng đến sinh trưởng quần thể tảo.

Yếu tố nhiệt độ dao động từ 26,5 đến 31,5°C với biên độ ngày lớn nhất là 3,5°C. Giá trị pH nhìn chung ít biến động hơn so với khi nuôi ở túi nylon 50 L. Giá trị pH thấp nhất ghi là 7,9; cao nhất là 8,7; trong đó biên độ dao động ngày lớn nhất là 0,5.

Kết quả so sánh về mặt thống kê cho thấy sinh trưởng quần thể tảo *N. oculata* khi cung cấp dinh dưỡng bằng nguồn phân bón dạng tinh khiết hay dạng công nghiệp đều như nhau, quần thể bắt đầu pha cân bằng vào ngày nuôi thứ 6 với mật độ khác biệt nhau không đáng kể ($P > 0,05$) là $(1140,3 \pm 72,8) \times 10^4$ tb/mL. Hơn nữa, hàm lượng lipit và axit béo ở tảo *N. oculata* khi nuôi ở bể 2 m³ với hai dạng phân bón tinh khiết và công nghiệp cũng không khác biệt nhau về mặt thống kê. Hàm lượng lipit tổng số là $(262,85 \pm 17,04)$ mg/g khối lượng khô (KLK). Hàm lượng EPA và ARA lần lượt là $(14,78 \pm 0,58)$ mg/g KLK và $(1,78 \pm 0,07)$ mg/g KLK và không phát hiện thấy DHA.

3.2. Ảnh hưởng của dinh dưỡng đến sinh trưởng quần thể và chất lượng của tảo *Isochrysis galbana*.

3.2.1. Ảnh hưởng của nồng độ và dạng muối ni tơ đến sinh trưởng quần thể tảo *Isochrysis galbana*.

Ở cả bốn nồng độ ni tơ thử nghiệm dưới dạng muối nitrat, quần thể tảo *I. galbana* đều bắt đầu pha cân bằng vào ngày nuôi thứ 6. Ở nồng độ ni tơ 0,44 mM N-NO₃, mật độ tế bào tảo đạt được ở đầu pha cân bằng là $(1321,4 \pm 115,5) \times 10^4$ tb/mL, không khác biệt về mặt thống kê với các nồng độ ni tơ còn lại. Kết quả về sinh trưởng quần thể tảo *I. galbana* cũng tương tự đối với dạng muối amôn. Do đó, có thể áp dụng môi trường f/2 để nuôi tảo *I. galbana* với nồng độ ni tơ thích hợp là 0,44 mM, giảm 50% so với một trường f/2 và có thể chọn nguồn ni tơ dưới một trong hai dạng nitrat hay amôn.

3.2.2. Ảnh hưởng của việc bổ sung CO₂ đến sinh trưởng quần thể tảo *Isochrysis galbana*.

Ở thí nghiệm này, nồng độ ni tơ cung cấp cho tảo *I. galbana* được điều chỉnh là 0,44 mM N-NO₃. Nhiệt độ nước giá trị thấp nhất là 25,5°C vào buổi sáng và cao nhất 32,0°C vào buổi chiều, biên độ dao động ngày lớn nhất là 5,8°C và vẫn phù hợp cho sinh trưởng của loài tảo này. Giá trị pH khi nuôi tảo *I. galbana* có bổ sung CO₂ nằm trong khoảng trung tính 6,8 – 7,7 và biên độ dao động ngày không quá 0,3. Trong khi đó, pH ở môi trường sục khí bình thường có biên độ dao động lớn, vượt quá 1,0 kể từ ngày nuôi thứ 3, đồng thời pH chiều lớn hơn 10,0 từ ngày nuôi thứ 5 – tương ứng với thời điểm quần thể tảo giảm tốc độ sinh trưởng và bắt đầu pha cân bằng.

Quần thể tảo *I. galbana* được sục khí có bổ sung CO₂ đạt đầu pha cân bằng vào ngày nuôi thứ 5 với mật độ tế bào là $(2933,9 \pm 294,1) \times 10^4$ tb/mL, sớm hơn 1 ngày và cao gấp 2,2 lần so với quần thể tảo được sục khí bình thường.

3.2.3. Ảnh hưởng của chất lượng phân bón đến sinh trưởng quần thể và giá trị dinh dưỡng của tảo *Isochrysis galbana*.

Nhiệt độ nước trong quá trình thí nghiệm dao động từ thấp nhất ghi nhận được là 26,5°C vào buổi sáng và cao nhất là 31,5°C vào buổi chiều. Biên độ dao động lớn nhất là 3,5°C, vào ngày nuôi thứ 3. Yếu tố pH dao động từ 7,9 đến 8,6. Kết quả cho thấy sinh trưởng quần thể tảo *I. galbana* chịu ảnh hưởng như nhau bởi phân bón dưới hai dạng hóa chất tinh khiết và công nghiệp, đạt mật độ $(380,8 \pm 14,3) \times 10^4$ tb/mL tại đầu pha cân bằng vào ngày nuôi thứ 5. Hàm lượng lipit và axit béo của tảo *I. galbana* khi nuôi ở bể 2 m³ với hai dạng phân bón tinh khiết và công nghiệp cũng không khác biệt nhau đáng kể. Cụ thể, hàm lượng lipit tổng số $(267,02 \pm 27,06)$ mg/g KLK. Ngược với tảo *N. oculata*, tảo *I. galbana* có EPA và ARA rất thấp hoặc không phát hiện được và hàm lượng DHA là $(4,53 \pm 0,10)$ mg/g KLK.

3.3. Ảnh hưởng của dinh dưỡng đến sinh trưởng quần thể và chất lượng của tảo *Tetraselmis chui*.

3.3.1. Ảnh hưởng của nồng độ và dạng muối ni tơ đến sinh trưởng quần thể tảo *Tetraselmis chui*.

Ở cả bốn nồng độ ni tơ, các quần thể tảo *T. chui* đều đạt đến đầu pha cân bằng vào ngày nuôi thứ 7, nhưng mật độ tế bào có sự khác biệt nhau. Các nồng độ ni tơ 0,44 mM N-NO₃ và 0,88 mM N-NO₃ cho mật độ tế bào tảo đầu pha cân bằng lần lượt là

$(92,6 \pm 11,0) \times 10^4$ tb/mL và $(105,2 \pm 7,0) \times 10^4$ tb/mL, không khác biệt về mặt thống kê. Các nồng độ ni tơ 1,32 mM N-NO₃ và 1,76 mM N-NO₃ cho mật độ tế bào tảo đầu pha cân bằng lần lượt là $(129,1 \pm 4,4) \times 10^4$ tb/mL và $(133,4 \pm 8,0) \times 10^4$ tb/mL, không khác biệt nhau nhưng cao hơn so với hai nồng độ ni tơ 0,44 mM và 0,88 mM. Kết quả tương tự khi thí nghiệm với nguồn ni tơ dưới dạng muối amôn. Như vậy, trong điều kiện nuôi ngoài trời bằng túi nylon 50 L, có thể dùng môi trường f/2 với nồng độ ni tơ được điều chỉnh tăng tối thiểu 1,5 lần, tương đương 1,32 mM.

3.3.2. Ảnh hưởng của việc bổ sung CO₂ đến sinh trưởng quần thể tảo *Tetraselmis chui*.

Ở thí nghiệm này, nồng độ ni tơ trong môi trường f/2 nuôi tảo *T. chui* được điều chỉnh là 1,32 mM N-NO₃. Sự biến thiên nhiệt độ nước trong quá trình nuôi tương tự như ở thí nghiệm sục khí có bổ sung CO₂ đối với tảo *N. oculata* và *I. galbana*. Giá trị pH trong môi trường nuôi tảo *T. chui* có bổ sung CO₂ tương đối ổn định, dao động từ 6,8 đến 7,9; biên độ dao động ngày của pH lớn nhất là 0,3. Giá trị pH khi nuôi tảo *T. chui* trong điều kiện sục khí bình thường dao động từ 8,2 đến 10,2, biên độ dao động ngày tăng dần theo thời gian nuôi và lớn hơn 1,0 kể từ ngày nuôi thứ 5 và pH buổi chiều cao hơn 10,0.

Kết quả của việc sục khí có bổ sung CO₂ cho quần thể tảo bắt đầu pha cân bằng vào ngày nuôi thứ 6 với mật độ $(300,6 \pm 15,9) \times 10^4$ tb/mL, sớm hơn 1 ngày và cao gấp 2,5 lần so với mật độ tế bào ở quần thể tảo chỉ được sục khí bình thường.

Như vậy, việc sục khí có bổ sung CO₂ đã giúp nâng cao đáng kể tốc độ sinh trưởng quần thể đối với cả ba loài vi tảo nghiên cứu. Nhờ đó, mật độ tế bào đạt được ở đầu pha cân bằng ở tảo *N. oculata*, *I. galbana* và *T. chui* lần lượt cao gấp 2,0, 2,2 và 2,5 lần so với mật độ tế bào tảo trong điều kiện sục khí bình thường. Tuy nhiên, cần lưu ý đến chi phí lắp đặt hệ thống và nguồn CO₂ tinh khiết tương đối đắt tiền khi áp dụng biện pháp này để nuôi vi tảo.

3.3.3. Ảnh hưởng của chất lượng phân bón đến sinh trưởng quần thể và giá trị dinh dưỡng của tảo *Tetraselmis chui*.

Điều kiện nhiệt độ tương tự thí nghiệm đối với hai loài tảo *N. oculata* và *I. galbana*. Giá trị pH thấp nhất là 7,9 vào buổi sáng, cao nhất là 8,5 vào buổi chiều và biên độ dao động ngày lớn nhất là 0,4 vào ngày nuôi thứ 3 và 5. Mật độ tế bào tảo *T. chui* tại thời điểm đầu pha cân bằng vào ngày nuôi thứ 6 khi bón phân dạng tinh khiết và công nghiệp lần lượt là $(39,9 \pm 2,8) \times 10^4$ tb/mL và $(37,6 \pm 3,9) \times 10^4$ tb/mL, không khác biệt về mặt thống kê. Hàm lượng lipid và axit béo ở tảo *T. chui* cũng không khác nhau khi bón phân với hai dạng hóa

chất trên. Cụ thể, hàm lượng lipit tổng số là $(123,91 \pm 12,50)$ mg/g KLK, hàm lượng ARA và EPA lần lượt là $0,28 \pm 0,05$ và $0,71 \pm 0,12$ mg/g KLK và không phát hiện thấy DHA.

Như vậy, môi trường f/2 hoàn toàn thích hợp cho sinh trưởng quần thể của cả ba loài vi tảo *Nannochloropsis oculata*, *Isochrysis galbana* và *Tetraselmis chui* khi nuôi ở thể tích 50 L cũng như 2 m^3 . Nguồn dinh dưỡng ni tơ có thể được cung cấp dưới dạng nitrat hay amôn nhưng nồng độ ni tơ cần được điều chỉnh theo nhu cầu của từng loài tảo. Cụ thể, nồng độ ni tơ thích hợp đối với ba loài tảo *N. oculata*, *I. galbana* và *T. chui* lần lượt là 0,88 mM, 0,44 mM và 1,32 mM. Ngoài ra, khi nuôi ở thể tích 2 m^3 có thể dùng hóa chất dạng công nghiệp thay cho hóa chất dạng tinh khiết mà không ảnh hưởng đến sinh trưởng quần thể cũng như hàm lượng lipit và axit béo của cả ba loài vi tảo trên, đồng thời giúp giảm chi phí cho môi trường dinh dưỡng 11,5 lần so với việc dùng phân bón dạng tinh khiết.

3.4. Ảnh hưởng của thức ăn đến sinh trưởng quần thể và chất lượng dinh dưỡng của luân trùng *Brachionus plicatilis*.

3.4.1. Ảnh hưởng của mật độ thức ăn đến sinh trưởng quần thể luân trùng.

3.4.1.1. Ảnh hưởng của mật độ tảo *Nannochloropsis oculata* làm thức ăn đến sinh trưởng quần thể luân trùng.

Nhiệt độ trong quá trình thí nghiệm dao động trong khoảng $24,5 - 28,2^\circ\text{C}$; pH dao động trong khoảng 6,8 – 7,9; hàm lượng ôxy hòa tan dao động trong khoảng 5,9 – 7,4 mgO₂/L và đều nằm trong khoảng thích hợp đối với luân trùng dòng nhỏ. Tốc độ sinh trưởng quần thể luân trùng có tương quan thuận với tỷ lệ trứng. Ở pha ban đầu và gia tốc dương (từ khi bắt đầu nuôi đến ngày thứ 5), quần thể luân trùng có tỷ lệ trứng cao, đạt từ 0,30 đến 0,45. Khi bắt đầu pha cân bằng vào ngày nuôi thứ 6 và 7, tỷ lệ trứng giảm xuống còn 0,22 - 0,26 và thấp hơn 0,20 khi quần thể bước vào pha cân bằng. Mặc dù không có kết quả định lượng nhưng việc quan sát tình trạng nhiễm tạp của bể nuôi cho thấy quần thể luân trùng đồng nhất, không phát hiện thấy động vật nguyên sinh. Quần thể luân trùng cho ăn tảo *N. oculata* ở mức 6 triệu tb/mL đạt đầu pha cân bằng vào ngày nuôi thứ 6 với mật độ là 609 ± 19 ct/mL. Cả hai quần thể luân trùng cho ăn tảo *N. oculata* ở mức 8 và 10 triệu tb/mL đều đạt đến đầu pha cân bằng vào ngày nuôi thứ 6 với mật độ lần lượt là 651 ± 17 ct/mL và 696 ± 25 ct/mL. Quần thể luân trùng cho ăn tảo *N. oculata* ở mức 12 triệu tb/mL cho mật độ cao nhất là 786 ± 31 ct/mL ở đầu pha cân bằng vào ngày nuôi thứ 7.

3.4.1.2. Ảnh hưởng của mật độ tảo *Isochrysis galbana* làm thức ăn đến sinh trưởng quần thể luân trùng.

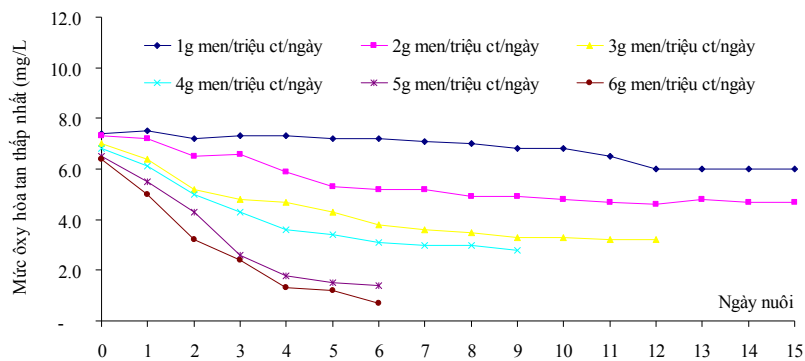
Trong quá trình thí nghiệm nuôi luân trùng bằng tảo *I. galbana*, nhiệt độ dao động trong khoảng 25,2 – 28,7°C., pH dao động từ 6,8 đến 7,9, hàm lượng oxy hòa tan dao động từ 4,9 – 7,2 mgO₂/L và được xác định là nằm trong khoảng thích hợp cho sinh trưởng và phát triển của luân trùng. Mật độ luân trùng đạt được ở đầu pha cân bằng tỷ lệ thuận với mật độ tảo *I. galbana* đưa vào làm thức ăn và cao nhất là 429±25 ct/mL (sau 7 ngày nuôi) ở mật độ cho ăn 5 triệu tb/mL. Quần thể luân trùng nuôi bằng tảo *I. galbana* không bị nhiễm tạp bởi động vật nguyên sinh nhưng tồn tại nhiều chất rắn hữu cơ trong bể nuôi.

3.4.1.3. Ảnh hưởng của mật độ tảo *Tetraselmis chui* làm thức ăn đến sinh trưởng quần thể luân trùng.

Các yếu tố môi trường quan trọng được theo dõi trong quá trình thí nghiệm nuôi luân trùng bằng tảo *T. chui* bao gồm nhiệt độ, giá trị pH và hàm lượng oxy hòa tan với khoảng dao động của từng yếu tố lần lượt là 26,5 – 29,1°C; 7,1 – 7,9 và 5,5 – 7,5 mgO₂/L và thích hợp đối với luân trùng dòng nhỏ. Tương tự như ảnh hưởng của thức ăn là tảo *N. oculata* và *I. galbana*, quần thể luân trùng cho ăn bằng tảo *T. chui* đạt mật độ đầu pha cân bằng tỷ lệ thuận với mật độ tảo làm thức ăn. Ở các mức cho ăn 0,4; 0,6; 0,8 và 1,0 triệu tb/mL mật độ luân trùng đạt được lần lượt là 220±17 ct/mL; 255±5 ct/mL; 301±13 ct/mL và cao nhất là 380±15 ct/mL.

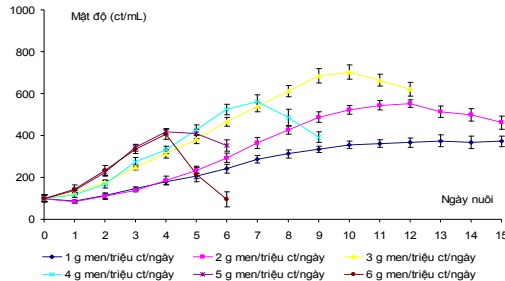
3.4.1.4. Ảnh hưởng của mật độ men bánh mì *Saccharomyces cerevisiae* làm thức ăn đến sinh trưởng quần thể luân trùng.

Các yếu tố nhiệt độ và pH đều ở phạm vi thích hợp cho luân trùng nhưng oxy hòa tan biến động lớn ở các bể nuôi (Hình 3.7).



Hình 3.7. Hàm oxy hòa tan thấp nhất trong ngày ở bể nuôi luân trùng *B. plicatilis* với các mức cho ăn khác nhau.

Bể nuôi ở các mức cho ăn 1, 2, 3 và 4 g men/triệu cá thể (ct)/ngày có hàm lượng ôxy hòa tan thấp nhất trong ngày chưa đến mức gây nguy hiểm cho luân trùng ($\geq 2,8$ mgO₂/L) nhưng bể nuôi ở hai mức cho ăn 5 và 6 g men/triệu ct/ngày có ôxy hòa tan giảm chỉ còn lần lượt là 1,4 và 0,7 mgO₂/L vào ngày nuôi thứ 6 và quần thể luân trùng ở hai mức cho ăn này nhanh chóng bị tàn lụi sau 4 ngày nuôi (Hình 3.8).

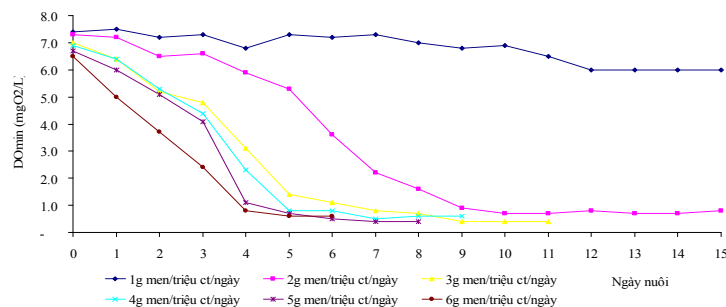


Hình 3.8. Sinh trưởng quần thể luân trùng *B. plicatilis* khi cho ăn bằng men bánh mì với các mức cho ăn khác nhau.

Quần thể luân trùng cho ăn ở mức 4 g men/triệu ct/ngày đạt mật độ 562 ± 31 ct/mL vào ngày nuôi thứ 7 và tàn lụi do bị cạnh tranh bởi động vật nguyên sinh nhiễm tạp theo thời gian nuôi. Các mức cho ăn 1 và 2 g men/triệu ct/ngày cho sinh trưởng quần thể ổn định với mật độ đạt được đầu pha cân bằng lần lượt là 362 ± 18 ct/mL và 544 ± 22 ct/mL. Tuy nhiên, quần thể luân trùng được cho ăn ở mức 3 g men/triệu ct/ngày có mật độ đầu pha cân bằng cao nhất là 702 ± 34 ct/mL vào ngày nuôi thứ 10 và hạn chế được hiện tượng nhiễm tạp bởi động vật nguyên sinh.

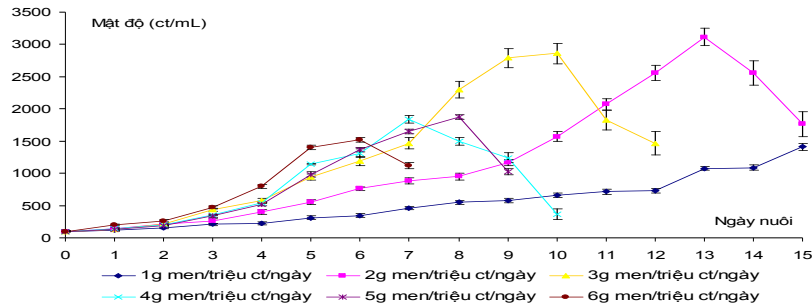
3.4.1.5. Ảnh hưởng của thức ăn là tảo *Nannochloropsis oculata* có bổ sung men bánh mì đến sinh trưởng quần thể luân trùng.

Nhiệt độ nước dao động từ 25,2 đến 25,9°C. Giá trị pH dao động từ 6,8 đến 7,7. Bể nuôi với các mức bổ sung men bánh mì 3, 4 và 5 và 6 g men/triệu ct/ngày xảy ra hiện tượng ôxy hòa tan giảm thấp dưới 1 mgO₂/L (Hình 3.10).



Hình 3.10. Biến động của hàm lượng ôxy hòa tan thấp nhất trong ngày ở các bể nuôi luân trùng khi cho ăn tảo *N. oculata* với các mức bổ sung men bánh mì khác nhau.

Bể nuôi với mức bổ sung 2 g men/triệu ct/ngày có mức ôxy hòa tan thấp nhất trong ngày cũng giảm dần nhưng chậm hơn, đến ngày nuôi thứ 9 mới thấp hơn 1,0 mgO₂/L. Chỉ có bể nuôi với mức bổ sung 1 g men/triệu ct/ngày có giá trị DO_{min} luôn luôn cao hơn 6,0 mgO₂/L. Các mức bổ sung cao 4, 5 và 6 g men/triệu ct/ngày đều cho mật độ luân trùng cao hơn 1500 ct/mL nhưng xảy ra hiện tượng chết đột ngột (Hình 3.11).



Hình 3.11. Biến động mật độ luân trùng *B. plicatilis* khi cho ăn vi tảo *N. oculata* với các mức bổ sung men bánh mì khác nhau.

Ở mức bổ sung 3 g men/triệu ct/ngày, quần thể luân trùng đạt mật độ cực đại vào ngày nuôi thứ 10 là 2860±116 ct/mL. Khi giảm mức bổ sung men bánh mì còn 2 g men/triệu ct/ngày, thời gian luân trùng đạt mật độ cực đại là ngày nuôi thứ 13 với giá trị 3114±134 ct/mL, đồng thời pha cân bằng kéo dài từ ngày thứ 7 đến ngày thứ 14.

Trong khi đó, mặc dù đạt mật độ cực đại (1414±84 ct/mL) chậm - vào ngày nuôi thứ 15 nhưng quần thể luân trùng được cho ăn bổ sung men bánh mì ở mức 1 g men/triệu ct/ngày không hề có dấu hiệu tàn lụi. Xét về tốc độ sinh trưởng quần thể, mức bổ sung men bánh mì cao có thể giúp nâng cao tốc độ sinh trưởng quần thể trong 1- 2 ngày nuôi đầu tiên nhưng sau đó không ổn định, quần thể luân trùng bị chết đột ngột do hiện tượng ô nhiễm hữu cơ từ thức ăn thừa, bể nuôi thiếu ôxy. Khi mật độ luân trùng tăng lên, các mức bổ sung men bánh mì thấp 1 – 2 g men/triệu ct/ngày có tác dụng giúp duy trì ổn định tốc độ sinh trưởng, kéo dài tuổi thọ quần thể. Khi nuôi sinh khối luân trùng bằng tảo *N. oculata*, có thể dùng men bánh mì như là nguồn thức ăn bổ sung. Việc thay đổi mức bổ sung men bánh mì tỷ lệ nghịch với mật độ luân trùng trong bể nuôi nhằm bảo đảm mật độ thức ăn thích hợp cho luân trùng đồng thời hạn chế khả năng gây ô nhiễm môi trường nước bể nuôi do lượng men thừa mà luân trùng không sử dụng hết.. Khi mật độ luân trùng còn thấp (nhỏ hơn 200 ct/mL), có thể bổ sung đến 4 – 5 g men/triệu ct/ngày nhưng khi mật độ đạt cao (trên 400 ct/mL) chỉ nên bổ sung men bánh mì ở mức 2 – 3 g men/triệu ct/ngày.

3.4.2. Ảnh hưởng của các loại thức ăn đến hàm lượng lipít và axit béo của luân trùng.

Kết quả phân tích tại Bảng 3.24 cho thấy thành phần các axit béo có trong luân trùng phản ánh thành phần các axit béo có trong loại thức ăn sử dụng.

Bảng 3.24. Hàm lượng lipít và axit béo ở luân trùng khi cho ăn bằng các loại thức ăn khác nhau.

Tên axit béo/chỉ tiêu	Luân trùng nuôi bằng thức ăn là				
	tảo <i>N. oculata</i>	tảo <i>I. galbana</i>	tảo <i>T. chui</i>	men bánh mì	tảo <i>N. oculata</i> bổ sung men bánh mì
C20:1n-9	0,77±0,18	0,08±0,03	0,26±0,12	1,03±0,20	0,90±0,21
C20:2n-6	-	-	-	0,42±0,26	-
C20:4n-6	1,06±0,03	0,03±0,00	0,28±0,01	-	0,52±0,03
C20:3n-3	-	-	-	-	-
C20:5n-3	6,99±0,18	0,04±0,01	0,54±0,07	0,60±0,22	2,79±0,13
C22:1n-9	0,54±0,15	0,34±0,01	0,14±0,10	0,46±0,11	0,43±0,19
C22:6n-3	-	1,88±0,17	-	0,13±0,22	-
C24:1	-	-	-	0,09±0,16	-
TL	199,1±5,4	146,8±13,8	111,3±3,5	154,1±9,5	169,3±3,2
SFA	11,80±2,00	7,97±0,08	3,28±0,50	5,72±1,30	8,38±3,18
MUFA	13,99±0,29	8,50±0,42	2,75±0,60	13,14±1,95	11,67±1,26
PUFA	10,20±0,24	5,47±0,29	5,28±0,39	2,19±0,63	6,20±0,64
TFA	35,99±2,53	21,94±0,63	11,31±0,50	21,05±3,79	26,26±5,08
n-3 HUFA	7,14±0,18	3,93±0,16	3,25±0,08	0,93±0,36	4,21±0,36

Ghi chú: Bảng trên chỉ thể hiện các axit béo từ C20 đến C22.

Tuy nhiên, hàm lượng lipít cũng như các axit béo, nhất là HUFA gồm ARA, EPA và DHA ở luân trùng thấp hơn so với nguồn thức ăn. Luân trùng nuôi bằng tảo *N. oculata* có chứa ARA và EPA nhưng không có DHA. Ngược lại, luân trùng nuôi bằng tảo *I. galbana* có ít ARA và EPA nhưng lại có chứa DHA. Luân trùng nuôi bằng tảo *T. chui* có chứa ARA và EPA nhưng thấp hơn so với luân trùng nuôi bằng tảo *N. oculata* và cũng không có DHA. Luân trùng nuôi bằng men bánh mì không có ARA, có ít EPA và DHA còn luân trùng nuôi bằng tảo *N. oculata* bổ sung thêm men bánh mì có chứa ARA và EPA với hàm lượng thấp hơn so với luân trùng nuôi bằng tảo *N. oculata* và cũng không có DHA. Chất lượng dinh

đưỡng của luân trùng thu được, cụ thể là hàm lượng các HUFA thấp, không phát hiện thấy DHA là chưa đáp ứng được nhu cầu dinh dưỡng của ấu trùng cá biển nói chung. Vì vậy, cần thực hiện các biện pháp kỹ thuật nhất định để nâng cao chất lượng dinh dưỡng hơn nữa trước khi sử dụng nguồn luân trùng này làm thức ăn cho ấu trùng cá biển.

KẾT LUẬN

1. Môi trường f/2 Guillard đảm bảo cho sự sinh trưởng của ba loài tảo *Nannochloropsis oculata*, *Isochrysis galbana* và *Tetraselmis chui* trong điều kiện nuôi ngoài trời ở Việt Nam. Việc thay thế nitơ dưới dạng nitrat trong công thức môi trường này bằng nitơ dưới dạng amôn không ảnh hưởng đến tốc độ sinh trưởng quần thể và mật độ tế bào đạt được đầu pha cân bằng của quần thể tảo. Tuy nhiên, nồng độ nitơ thích hợp nhất cho 2 loài tảo *I. galbana* và *T. chui* có sai khác so với môi trường f/2. Tảo *I. galbana* sinh trưởng tốt hơn ở nồng độ nitơ là 0,44 mM (bằng ½ nồng độ nitơ trong môi trường f/2). Trong khi đó, tảo *T. chui* sinh trưởng tốt nhất khi nồng độ nitơ là 1,32 mM, cao hơn 1,5 lần so với môi trường f/2.
2. Trong điều kiện sục khí có bổ sung CO₂, quần thể của cả ba loài tảo *N. oculata*, *I. galbana* và *T. chui* đều đạt đến đầu pha cân bằng sớm hơn 1 ngày so với sục khí không bổ sung CO₂, đồng thời mật độ tế bào của ba loài tảo trên lần lượt cao gấp 2,0; 2,2 và 2,5 lần so với điều kiện sục khí bình thường.
3. Việc thay thế muối nitrat tinh khiết trong môi trường dinh dưỡng bằng phân bón nitrat sản xuất công nghiệp giúp giảm thiểu chi phí hóa chất nhưng không ảnh hưởng đến tốc độ sinh trưởng quần thể, mật độ tế bào đạt được đầu pha cân bằng và giá trị dinh dưỡng của ba loài vi tảo *N. oculata*, *I. galbana* và *T. chui* nuôi trong bể có thể tích 2 m³.
4. Mật độ thức ăn có ảnh hưởng đến sinh trưởng quần thể của luân trùng cho ăn bằng các loài vi tảo *N. oculata*, *I. galbana*, *T. chui* hoặc men bánh mì. Trong phạm vi các mật độ thức ăn đã thử nghiệm, mật độ luân trùng đạt được đầu pha cân bằng tăng tỷ lệ thuận với mật độ vi tảo dùng làm thức ăn. Tuy nhiên, khi tăng mật độ men bánh mì làm thức ăn, môi trường nước dễ bị ô nhiễm do thức ăn dư thừa làm quần thể luân trùng nhanh chóng tàn lụi. Lượng men bánh mì thích hợp dùng làm thức ăn cho luân trùng khi nuôi ở bể 200 L có sục khí là 3 g men/triệu ct/ngày.
5. Sinh trưởng của quần thể luân trùng cho ăn tảo *N. oculata* (6,4 - 6,8 triệu tb/mL) thay đổi khi bổ sung men bánh mì ở các mức từ 1 đến 6 g men/triệu ct/ngày. Trong đó, mức

bổ sung 2 g men/triệu ct/ngày cho sinh trưởng quần thể luân trùng tốt nhất, đạt đến đầu pha cân bằng vào ngày nuôi thứ 13 với mật độ 3.114 ± 134 ct/mL.

6. Giá trị dinh dưỡng (hàm lượng lipit tổng số, thành phần và hàm lượng các loại axit béo không no đa nối đôi HUFA) của luân trùng biến đổi và phản ánh trung thực giá trị dinh dưỡng của các loại vi tảo hoặc men bánh mì dùng làm thức ăn cho chúng.
- Luân trùng nuôi bằng tảo *N. oculata* có hàm lượng lipit tổng số, ARA và EPA tính theo khối lượng khô lần lượt là $199,09 \pm 5,43$ mg/g; $1,06 \pm 0,03$ mg/g và $6,99 \pm 0,18$ mg/g; không phát hiện thấy DHA.
 - Luân trùng nuôi bằng tảo *I. galbana* có hàm lượng lipit tổng số, ARA, EPA và DHA tính theo khối lượng khô lần lượt là $146,76 \pm 13,76$ mg/g; $0,03 \pm 0,00$ mg/g, $0,04 \pm 0,01$ mg/g và $1,88 \pm 0,17$ mg/g.
 - Luân trùng nuôi bằng tảo *T. chui* có hàm lượng lipit tổng số, ARA và EPA tính theo khối lượng khô lần lượt là $111,26 \pm 3,48$ mg/g, $0,28 \pm 0,01$ mg/g và $0,54 \pm 0,07$ mg/g; không phát hiện thấy DHA.
 - Luân trùng nuôi bằng men bánh mì có hàm lượng lipit tổng số, EPA và DHA tính theo khối lượng khô lần lượt là $154,14 \pm 9,46$ mg/g, $0,60 \pm 0,22$ mg/g và $0,13 \pm 0,22$ mg/g; không phát hiện thấy ARA.
 - Luân trùng nuôi bằng tảo *N. oculata* bổ sung men bánh mì có hàm lượng lipit tổng số, ARA và EPA tính theo khối lượng khô lần lượt là $169,29 \pm 3,24$ mg/g, $0,52 \pm 0,03$ mg/g và $2,79 \pm 0,13$ mg/g; không phát hiện thấy DHA.