

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
TRƯỜNG ĐẠI HỌC NHA TRANG

MAI ĐỨC THAO

NGHIÊN CỨU LỰA CHỌN VÀ ỨNG DỤNG MỘT SỐ CHỦNG
VI TẢO TRONG SẢN XUẤT GIỐNG TÔM HE (*Penaeus*) TẠI
VIỆT NAM

LUẬN ÁN TIẾN SĨ

KHÁNH HÒA - 2025

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
TRƯỜNG ĐẠI HỌC NHA TRANG

MAI ĐỨC THAO

NGHIÊN CỨU LỰA CHỌN VÀ ỨNG DỤNG MỘT SỐ CHỦNG
VI TẢO TRONG SẢN XUẤT GIỐNG TÔM HE (*Penaeus*) TẠI
VIỆT NAM

Ngành đào tạo: Nuôi trồng Thủy sản
Mã số: 9620301

LUẬN ÁN TIẾN SĨ

NGƯỜI HƯỚNG DẪN KHOA HỌC:

- GS. TS. PHẠM QUỐC HÙNG
- TS. KIM LEE CHANG

KHÁNH HÒA - 2025

LỜI CAM ĐOAN

Tôi cam đoan luận án “**Nghiên cứu lựa chọn và ứng dụng một số chủng vi tảo trong sản xuất giống tôm he (Penaeus) tại Việt Nam**” là công trình khoa học do chính bản thân tôi thực hiện, số liệu kết quả nghiên cứu trình bày trong luận án này là trung thực và chưa từng được công bố bởi bất kỳ tác giả nào khác. Các yêu cầu liên quan đến liêm chính trong học thuật và không đạo văn được nghiêm túc thực hiện trong luận án này.

Các dữ liệu được trình bày trong luận án này thuộc sở hữu của Công ty CP Tập đoàn Thủy sản Minh Phú và CSIRO Australia. Việc khai thác các dữ liệu nghiên cứu dưới bất kỳ hình thức nào vì mục đích thương mại đều phải được cả Công ty CP Tập đoàn Thủy sản Minh Phú và CSIRO chấp thuận.

Nghiên cứu sinh

MAI ĐỨC THAO

LỜI CẢM ƠN

Đầu tiên, tôi xin phép được bày tỏ lòng cảm ơn sâu sắc nhất tới PSG.TS. Hoàng Tùng (CSIRO Agriculture & Food, Australia), người đã trao cho tôi cơ hội tham gia dự án hợp tác nghiên cứu, đây là nền tảng đầu tiên và quan trọng nhất để tôi có cơ hội thực hiện và hoàn thành đề tài luận án này. Trong suốt quá trình thực hiện, Thầy Hoàng Tùng đã tạo rất nhiều điều kiện thuận, giúp đỡ tôi hoàn thành nghiên cứu của mình. Xin chân thành cảm ơn TGD Tập đoàn Thủy sản Minh Phú, Ông Lê Văn Quang người đã luôn đặt niềm tin, trao nhiệm vụ điều hành nhiều mảng nghiên cứu & phát triển của tập đoàn Minh Phú cho tôi, đây là cơ hội cho tôi có thể huy động thêm nguồn lực cho luận án.

Đặc biệt, cho phép tôi được gửi lời cảm ơn chân thành nhất tới hai Thầy hướng dẫn khoa học là GS.TS. Phạm Quốc Hùng (NTU), và T.S. Kim Lee Chang (CSIRO), hai Thầy đã thật gần gũi, tận tình chỉ bảo, hướng dẫn, động viên và tạo những điều kiện không thể tốt hơn giúp tôi hoàn thành các nội dung luận án.

Đề tài luận án nằm trong khuôn khổ Dự án hợp tác nghiên cứu và phát triển giữa CSIRO và Công ty CP Tập đoàn thủy sản Minh Phú (MPSC), qua đây cho phép tôi gửi lời cảm ơn CSIRO, Tập đoàn thủy sản Minh Phú, Ban Lãnh đạo dự án, đã phê duyệt tài trợ nguồn kinh phí, vật tư, thiết bị, và nhân sự cho đề tài nghiên cứu này. Xin cảm ơn tất cả các thành viên Bộ phận nghiên cứu và phát triển MPSC đã hỗ trợ và nỗ lực làm việc trong suốt thời gian qua.

Xin cảm ơn BGH Trường Đại học Nha Trang, Viện Nuôi trồng thủy sản, Phòng Sau đại học, Bộ môn Quản lý sức khỏe Động vật thủy sản, Trung tâm Thí nghiệm và Thực hành, đã giúp đỡ và hỗ trợ tôi rất nhiều trong quá trình thực hiện đề tài luận án.

Lời nói là không đủ để bày tỏ hết lòng biết ơn của tôi tới gia đình, cơ quan tổ chức, Quý Thầy Cô giáo, đồng nghiệp và bạn bè, đã luôn nâng đỡ cho tôi về cả vật chất lẫn tinh thần, nhất là trong thời gian tôi thực hiện đề tài nghiên cứu này.

Một lần nữa, cho tôi xin chân thành cảm ơn ./.

MỤC LỤC

LỜI CAM ĐOAN	i
LỜI CẢM ƠN.....	ii
MỤC LỤC	iii
DANH MỤC KÍ HIỆU VÀ CHỮ VIẾT TẮT	v
DANH MỤC HÌNH ẢNH.....	viii
NHỮNG ĐÓNG GÓP MỚI CỦA LUẬN ÁN.....	x
MỞ ĐẦU	1
CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN	4
1.1. Tổng quan về vi tảo	4
1.1.1. Giới thiệu chung về vi tảo.....	4
1.1.2. Sinh trưởng quần thể vi tảo	5
1.1.3. Giá trị dinh dưỡng của vi tảo	8
1.1.4. Ảnh hưởng của một số điều kiện nuôi cấy lên sinh trưởng và thành phần sinh hóa tế bào vi tảo	12
1.2. Tổng quan về tôm he	21
1.2.1. Một số đặc điểm hình thái và phân loại	21
1.2.2. Một số đặc điểm sinh trưởng và phát triển ấu trùng tôm he	22
1.2.3. Nhu cầu dinh dưỡng ấu trùng tôm he	25
1.2.4. Đôi nét về ngành tôm Việt Nam	30
1.3. Nghiên cứu ứng dụng vi tảo trong sản xuất giống tôm he	34
1.3.1. Ứng dụng vi tảo làm nguồn thức ăn trực tiếp trong sản xuất giống tôm he	34
1.3.2. Ứng dụng của vi tảo làm nguồn thức ăn gián tiếp trong sản xuất giống tôm he	38
2.1. Đối tượng, thời gian và địa điểm nghiên cứu.....	41
2.1.1. Đối tượng nghiên cứu	41
2.1.2. Thời gian nghiên cứu	42
2.1.3. Địa điểm nghiên cứu.....	42
2.2. Phương pháp tiếp cận	42
2.3. Nội dung nghiên cứu	43
2.4. Bố trí thí nghiệm.....	44
2.4.1. Thí nghiệm 1: Khảo sát sinh trưởng quần thể và thành phần sinh hóa tế bào một số chủng vi tảo trong điều kiện Việt Nam.....	44
2.4.2. Thí nghiệm 2: Ảnh hưởng của một số loại môi trường dinh dưỡng (f, f/2, và AGP-C) lên sinh trưởng quần thể và thành phần sinh hóa tế bào một số chủng vi tảo.....	48
2.4.3. Thí nghiệm 3: Tương tác giữa cường độ chiếu sáng và chu kì quang lên sinh trưởng quần thể và thành phần sinh hóa tế bào một số chủng vi tảo.	49
2.4.4. Thí nghiệm 4: Ảnh hưởng của nhiệt độ khác nhau lên thành phần sinh hóa một số chủng vi tảo	51
2.4.5. Thí nghiệm 5: Ảnh hưởng của độ mặn khác nhau lên sinh trưởng quần thể và thành phần sinh hóa một số chủng vi tảo	52

2.4.6. Thí nghiệm 6: Nghiên cứu sử dụng một chủng vi tảo trong nuôi cấy luân trùng, ứng dụng trong sản xuất giống tôm.....	53
2.4.7. Thí nghiệm 7: Ảnh hưởng các khẩu phần thức ăn vi tảo khác nhau lên sinh trưởng, phát triển và sức khỏe ấu trùng tôm he	55
2.5. Chế độ chăm sóc và quản lý bể ương nuôi ấu trùng tôm	56
2.6. Phương pháp thu thập số liệu	57
2.6.1. Thu mẫu và xác định thông số sinh trưởng quần thể vi tảo	57
2.6.2. Phương pháp phân tích lipid và thành phần các axit béo	59
2.6.3. Phương pháp thu thập mẫu và xác định sinh trưởng quần thể luân trùng	61
2.6.4. Phương pháp xác định sinh trưởng và phát triển ấu trùng tôm.....	61
2.6.5. Phương pháp xác định thông số môi trường	63
2.7. Phân tích và xử lý số liệu	64
3.1. Sinh trưởng quần thể và thành phần sinh hóa một số chủng vi tảo tiềm năng (TN 1).65	
3.1.1. Sinh trưởng quần thể một số chủng vi tảo	65
3.1.2. Thành phần sinh hóa một số chủng vi tảo tiềm năng.....	68
3.2. Ảnh hưởng của một số điều kiện nuôi cấy lên sinh trưởng quần thể và thành phần sinh hóa một số chủng vi tảo.	74
3.2.1. Ảnh hưởng của một số loại môi trường dinh dưỡng (f, f/2, và AGP-C) lên sinh trưởng quần thể và thành phần sinh hóa tế bào một số chủng vi tảo (TN 2).....	75
3.2.2. Tương tác giữa cường độ chiếu sáng và chu kì quang lên sinh trưởng quần thể và thành phần sinh hóa tế bào một số chủng vi tảo (TN 3)	88
3.2.3. Ảnh hưởng của nhiệt độ khác nhau lên thành phần sinh hóa một số chủng vi tảo (TN 4).....	101
3.2.4. Thí nghiệm 5: Ảnh hưởng của độ mặn khác nhau lên sinh trưởng quần thể và thành phần sinh hóa một số chủng vi tảo (TN 5)	107
3.3. Nghiên cứu ứng dụng một số chủng vi tảo trong nuôi cấy luân trùng ứng dụng trong sản xuất giống tôm	119
3.3.1. Sinh trưởng quần thể <i>Brachionus plicatilis</i> trong các nghiệm thức thức ăn vi tảo khác nhau.....	119
3.3.2. Nghiên cứu sử dụng thức ăn bổ sung luân trùng trong ương nuôi ấu trùng tôm thẻ chân trắng.....	121
3.4. Ảnh hưởng các khẩu phần thức ăn vi tảo khác nhau lên sinh trưởng, phát triển và sức khỏe ấu trùng tôm he.....	127
CHƯƠNG 4. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ XUẤT.....	136
KẾT LUẬN	136
DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH ĐÃ CÔNG BỐ	138
DANH MỤC TÀI LIỆU THAM KHẢO	139
PHỤ LỤC	- 1 -

DANH MỤC KÍ HIỆU VÀ CHỮ VIẾT TẮT

ARA	: Acid Arachidonic (C20:4 ω 6)
Bộ NN và PTNT:	Bộ Nông nghiệp và phát triển Nông thôn
CSIRO	: the Commonwealth Scientific & Industrial Research Organisation, Australia
Ctv	: Cộng tác viên
DHA	: Acid Docosaheptaenoic (C22:6 ω 3)
DO	: Dissolved oxygen, oxy hòa tan trong nước
Dwt	: Dry weight, Khối lượng khô
EGR	: Exponential growth rate, tốc độ sinh trưởng quần thể ở pha tăng trưởng logarithm
EPA	: Axit Eicosapentaenoic
FAO	: Food and Agriculture Organization, Tổ chức Lương thực và Nông nghiệp Liên hợp quốc.
HUFA	: Highly unsaturated fatty Acid, Axit béo không no, đa nối đôi, mạch dài
ICD	: initial cell density; Mật độ ban đầu nuôi cấy
Lc-PUFA	: axit béo không no, đa nối đôi mạch dài (≥ 20)
L:D	: Light:Dark, Chu kỳ Sáng:Tối (giờ)
MUFA	: Mono-unsaturated fatty acid, Axit béo không no, một nối đôi
μ	: tốc độ sinh trưởng
MCD	: Maximum cell density, mật độ cực đại
NTTS	: Nuôi trồng thủy sản
PUFA	: Poly-unsaturated fatty acid, Axit béo không no, đa nối đôi (≥ 2)
SFA	: saturated fatty acid, axit béo no
TFA	: Total fatty acid; Tổng axit béo
TAN	: total ammonia nitrogen, tổng số nitrogen ở dạng ammonia
v/v	: volume/volume, đơn vị tỉ lệ về thể tích/thể tích
wt	: (wet) weight, Khối lượng tươi

DANH MỤC BẢNG

Bảng 1.1. Hàm lượng axit béo của một số loài vi tảo phổ biến trong nuôi trồng thủy sản (% lipid tổng số)	9
Bảng 1.2. Thành phần% axit amin trong một số loài vi tảo phổ biến	10
Bảng 1.3. Thành phần sinh hóa cơ bản của một số loài vi tảo phổ biến trong nuôi trồng thủy sản.....	12
Bảng 1.4. Cường độ chiếu sáng tối ưu cho nuôi cấy một số loài vi tảo trong nuôi trồng thủy sản.....	14
Bảng 1.5. Khoảng độ mặn tối ưu cho nuôi cấy một số loài vi tảo	19
Bảng 1.6. Nhu cầu dinh dưỡng cho ấu trùng một số loài tôm he	29
Bảng 1.7. Hiện trạng nuôi trồng thủy sản Việt Nam 2020	31
Bảng 1.8. Chế độ thức ăn vi tảo (cell/L^{-1}) bổ sung cho ương nuôi ấu trùng tôm He	38
Bảng 2.1. Các chủng vi tảo sử dụng trong nghiên cứu.....	41
Bảng 2.2. Thành phần và hàm lượng môi trường dinh dưỡng bổ sung f/2 hiệu chỉnh	46
Bảng 2.3. Ma trận tổ hợp cường độ chiếu sáng và chu kì quang trong thiết kế Thí nghiệm 3 trên chủng <i>Chaetoceros muelleri</i>	50
Bảng 3.1. Tổng hợp kết quả sinh trưởng quần thể một số chủng vi tảo (Min-Max Mean $\pm$ SD)	67
Bảng 3.2. Thành phần axit béo (% tổng số axit béo, n=2) và phân loại nhóm lipid (% tổng số lipid) của một số chủng vi tảo trong nghiên cứu	69
(Bảng 3.2. Tiếp).....	70
Bảng 3.3. Tổng hợp kết quả sinh trưởng quần thể vi tảo <i>C. muelleri</i> trong ba môi trường dinh dưỡng bổ sung khác nhau (Min-Max, Mean $\pm$ SD)	77
Bảng 3.4. Thành phần axit béo (% tổng số axit béo, n=2) và phân loại nhóm lipid (% tổng số lipid) vi tảo <i>C. muelleri</i> trong ba môi trường dinh dưỡng khác nhau.....	78
Bảng 3.5. Tổng hợp kết quả sinh trưởng quần thể vi tảo <i>P. tricornutum</i> trong ba môi trường dinh dưỡng bổ sung khác nhau (Min-Max, Mean $\pm$ SD).....	81
Bảng 3.6. Thành phần axit béo (% tổng số axit béo, n=2) và phân loại nhóm lipid (% tổng số lipid) vi tảo <i>P. tricornutum</i> trong ba môi trường dinh dưỡng khác nhau	82
Bảng 3.7. Tổng hợp kết quả sinh trưởng quần thể vi tảo <i>T. weissflogii</i> trong ba môi trường dinh dưỡng bổ sung khác nhau (Min-Max, Mean $\pm$ SD).....	85
Bảng 3.8. Thành phần axit béo (% tổng số axit béo) và phân loại nhóm lipid (% tổng số lipid) vi tảo <i>T. weissflogii</i> trong ba môi trường dinh dưỡng khác nhau	86

Bảng 3.9. Kết quả sinh trưởng quần thể vi tảo <i>C. muelleri</i> trong chín nghiệm thức thí nghiệm (Min-Max, Mean $\pm$ SD).....	90
Bảng 3.10. Thành phần sinh hóa vi tảo <i>C. muelleri</i> trong chín nghiệm thức.....	92
Bảng 3.11. Thông số sinh trưởng quần thể vi tảo <i>P. tricornutum</i> trong chín nghiệm thức thí nghiệm (Min-Max, Mean $\pm$ SD)	94
Bảng 3.12. Thành phần sinh hóa vi tảo <i>P. tricornutum</i> trong chín nghiệm thức	95
Bảng 3.13. Thông số sinh trưởng quần thể vi tảo <i>T. weissflogii</i> trong chín nghiệm thức thí nghiệm (Min-Max, Mean $\pm$ SD)	98
Bảng 3.14. Thành phần sinh hóa vi tảo <i>T. weissflogii</i> trong chín nghiệm thức	99
Bảng 3.15. Thành phần sinh hóa <i>C. muelleri</i> trong 3 nghiệm thức nhiệt độ	102
Bảng 3.16. Thành phần sinh hóa <i>P. tricornutum</i> trong 3 nghiệm thức nhiệt độ	104
Bảng 3.17. Thành phần sinh hóa <i>T. weissflogii</i> trong 3 nghiệm thức nhiệt độ	106
Bảng 3.18. Tổng hợp kết quả sinh trưởng quần thể vi tảo <i>C. muelleri</i> trong ba điều kiện độ mặn khác nhau (Min-Max, Mean $\pm$ SD)	109
Bảng 3.19. Thành phần sinh hóa vi tảo <i>C. muelleri</i> trong các nghiệm thức độ mặn ..	110
Bảng 3.20. Tổng hợp kết quả sinh trưởng quần thể vi tảo <i>P. tricornutum</i> trong ba điều kiện độ mặn khác nhau (Min-Max, Mean $\pm$ SD).....	113
Bảng 3.21. Thành phần sinh hóa vi tảo <i>P. tricornutum</i> trong các điều kiện độ mặn ..	114
Bảng 3.22. Tổng hợp kết quả sinh trưởng quần thể vi tảo <i>T. weissflogii</i> trong ba điều kiện độ mặn khác nhau (Min-Max, Mean $\pm$ SD).....	116
Bảng 3.23. Thành phần sinh hóa <i>T. weissflogii</i> trong 3 nghiệm thức độ mặn	117
Bảng 3.24. Kết quả sinh trưởng quần thể luân trùng trong các nghiệm thức thức ăn vi tảo (Min-Max, Mean $\pm$ SD, n=4).....	120
Bảng 3.25. Chiều dài (mm) và CV (%) ấu trùng tôm ở các nghiệm thức (n=3).....	123
Bảng 3.26. Thời gian chuyển giai đoạn (giờ) ấu trùng tôm thẻ chân trắng.....	125
Bảng 3.27. Khả năng chịu shock môi trường (%) của ấu trùng (n=3)	125
Bảng 3.28. Thông số chất lượng môi trường nước.....	126
Bảng 3.29. Chiều dài (mm) và CV (%) ấu trùng tôm ở các nghiệm thức (n=3).....	130
Bảng 3.30. Thời gian chuyển giai đoạn của ấu trùng tôm he (n=3).....	132
Bảng 3.31. Khả năng chịu shock môi trường (%) của ấu trùng tôm he (n=3)	132
Bảng 3.32. Thông số chất lượng môi trường nước.....	133

DANH MỤC HÌNH ẢNH

Hình 1.1. Các hình thức sinh sản ở vi tảo.....	5
Hình 1.2. Đường cong sinh trưởng quần thể vi tảo (a) và sinh trưởng quần thể biểu diễn dưới dạng logarithm cơ số tự nhiên (b)	7
Hình 1.3. Quang hợp ở vi tảo	15
Hình 1.4. Quá trình phát triển phôi và ấu trùng tôm thẻ chân trắng	24
Hình 1.5. Các vùng trọng điểm sản xuất tôm giống ở Việt Nam	33
Hình 2.1. Hai đối tượng tôm he trong nghiên cứu	41
Hình 2.2. Sơ đồ khối nội dung nghiên cứu.....	44
Hình 2.3. Nhập nội một số chủng vi tảo từ CSIRO về Việt Nam	45
Hình 2.4. Sơ đồ bố trí thí nghiệm 1	47
Hình 2.5. Sơ đồ bố trí thí nghiệm 2	49
Hình 2.6. Sơ đồ bố trí thí nghiệm 4.....	51
Hình 2.7. Sơ đồ bố trí thí nghiệm 5	52
Hình 2.8. Mô phỏng phương pháp xác định pha sinh trưởng quần thể dựa trên mô hình logistic	58
Hình 2.9. Thu mẫu tế bào phân tích thành phần axit béo trong nghiên cứu	60
Hình 2.10. Xác định tỷ lệ cơ:ruột ấu trùng tôm.....	63
Hình 3.1. Đường cong sinh trưởng quần thể 4 chủng tảo khuê trong nghiên cứu	66
Hình 3.2. Sinh trưởng quần thể vi tảo <i>C. muelleri</i> trong môi trường dinh dưỡng bổ sung f ...	75
Hình 3.3. Sinh trưởng quần thể vi tảo <i>C. muelleri</i> trong hai môi trường dinh dưỡng bổ sung f/2 và AGP-C	76
Hình 3.4. Sinh trưởng quần thể và tốc độ sinh trưởng quần thể vi tảo <i>P. tricornutum</i> trong môi trường dinh dưỡng bổ sung f	80
Hình 3.5. Sinh trưởng quần thể vi tảo <i>P. tricornutum</i> trong hai môi trường dinh	81
dưỡng bổ sung f/2 và AGP-C	81
Hình 3.6. Sinh trưởng quần thể và tốc độ sinh trưởng quần thể vi tảo <i>T. weissflogii</i> trong môi trường dinh dưỡng bổ sung f.....	83

Hình 3.7. Sinh trưởng quần thể vi tảo <i>T. weissflogii</i> trong hai môi trường dinh dưỡng bổ sung f/2 và AGP-C	84
Hình 3.8. Sinh trưởng quần thể vi tảo <i>C. muelleri</i> trong chín nghiệm thức thí nghiệm.....	89
Hình 3.9. Sinh trưởng quần thể vi tảo <i>P. tricornutum</i> trong chín nghiệm thức thí nghiệm.....	93
Hình 3.10. Sinh trưởng quần thể vi tảo <i>T. weissflogii</i> trong chín nghiệm thức thí nghiệm.....	97
Hình 3.11. Hàm lượng các nhóm axit béo ở tảo <i>C. muelleri</i> trong các điều kiện khác nhau về nhiệt độ.....	103
Hình 3.12. Hàm lượng các nhóm axit béo ở <i>P. tricornutum</i> trong điều kiện nhiệt độ khác nhau	105
Hình 3.13. Hàm lượng các nhóm axit béo ở <i>T. weissflogii</i> trong các điều kiện độ khác nhau	107
Hình 3.14. Sinh trưởng quần thể vi tảo <i>C. muelleri</i> trong điều kiện độ mặn 20 ppt...108	
Hình 3.15. Sinh trưởng quần thể vi tảo <i>C. muelleri</i> trong hai điều kiện độ mặn 25 ppt và 30 ppt	109
Hình 3.16. Sinh trưởng quần thể vi tảo <i>P. tricornutum</i> trong điều kiện độ mặn 20 ppt.....	112
Hình 3.17. Sinh trưởng quần thể vi tảo <i>P. tricornutum</i> trong hai điều kiện độ mặn 25 ppt và 30 ppt	112
Hình 3.18. Sinh trưởng quần thể vi tảo <i>T. weissflogii</i> trong điều kiện độ mặn 20 ppt.....	115
Hình 3.19. Sinh trưởng quần thể vi tảo <i>T. weissflogii</i> trong hai điều kiện độ mặn 25 ppt và 30 ppt	116
Hình 3.20. Sinh trưởng quần thể <i>B. plicatilis</i> trong 3 nghiệm thức	119
Hình 3.21. Tỷ lệ sống ấu trùng ở các nghiệm thức qua từng giai đoạn	122
Hình 3.22. Tình trạng sức khỏe ấu trùng trong các thí nghiệm (n=3).....	126
Hình 3.23. Tỷ lệ sống ấu trùng ở các nghiệm thức qua từng giai đoạn	129
Hình 3.22. Tình trạng sức khỏe ấu trùng trong các thí nghiệm (n=3).....	133

NHỮNG ĐÓNG GÓP MỚI CỦA LUẬN ÁN

Đề tài luận án: **Nghiên cứu lựa chọn và ứng dụng một số chủng vi tảo trong sản xuất giống tôm he (*Penaeus*) tại Việt Nam**

Ngành: **Nuôi trồng thủy sản**

Mã số: **9620301**

Nghiên cứu sinh: **Mai Đức Thao**

Khóa: **2020**

Người hướng dẫn: **1. GS.TS PHẠM QUỐC HÙNG
2. TS. KIM JYE LEE - CHANG**

Cơ sở đào tạo: **Trường Đại học Nha Trang**

Nội dung:

➤ Luận án là công trình đầu tiên nghiên cứu một cách tương đối đầy đủ ứng dụng của vi tảo trong sản xuất giống tôm he từ khâu đầu tiên trong lựa chọn chủng loài, thuần hóa, tối ưu hóa điều kiện nuôi cấy và ứng dụng làm nguồn thức ăn.

➤ Luận án đã nhập nội, thuần hóa và ứng dụng thành công một số chủng vi tảo mới rất tiềm năng từ Úc về Việt Nam, bao gồm *Nannochloropsis oceanica* CS-179, *Chaetoceros muelleri* CS-176, *Phaeodactylum tricornutum* CS-29, *Tisochrysis lutea* CS-177 và *Thalassiosira weissflogii* (CS-871). Đây là nguồn vật liệu quý giá, đóng góp tích cực vào các hoạt động nghiên cứu, sản xuất thực tiễn nuôi trồng thủy sản nói chung và nghề tôm ở Việt Nam nói riêng.

➤ Nghiên cứu đã lựa chọn thành công một số chủng vi tảo mới (*Chaetoceros muelleri* CS-176, và *Phaeodactylum tricornutum* CS-29) làm nguồn thức ăn trực tiếp cho ấu trùng tôm, nâng cao hiệu quả trong sản xuất giống tôm. Bên cạnh đó, kết quả của nghiên cứu cũng lựa chọn được hai chủng vi tảo mới, giữ vai trò làm nguồn thức ăn gián tiếp trong ương nuôi ấu trùng tôm he, bao gồm *Nannochloropsis oceanica* CS-179, và *Tisochrysis lutea* CS-177.

➤ Nghiên cứu đã tìm ra ảnh hưởng và mối tương tác của một số điều kiện nuôi cấy cơ bản lên sinh trưởng quần thể và giá trị dinh dưỡng tế bào vi tảo, bao gồm môi trường dinh dưỡng bổ sung, nhiệt độ, độ mặn, và điều kiện chiếu sáng. Đây là cơ sở khoa học cho việc lựa chọn và bố trí các điều kiện nuôi cấy cũng như góp phần hoàn thiện qui trình kỹ thuật nuôi cấy vi tảo ở Việt Nam. Kết quả này không chỉ ứng dụng riêng trong

sản xuất giống tôm he mà còn có thể áp dụng cho nhiều đối tượng nuôi trồng thủy sản khác.

➤ Điểm nổi bật nhất trong nghiên cứu này là sự thành công trong việc tìm ra công thức phối trộn đa loài vi tảo làm nguồn thức ăn sống trong ương nuôi ấu trùng tôm. Công thức phối trộn này đã góp phần cải thiện một cách đáng kể hiệu quả trong sản xuất giống tôm ở Việt Nam.

➤ Ý tưởng sử dụng luân trùng làm nguồn thức ăn cho nuôi ấu trùng tôm he có từ lâu. Mặc dù vậy, cho đến nay chưa tìm thấy công trình nào công bố kết quả nghiên cứu ứng dụng này. Luận án cũng là công trình đầu tiên công bố kết quả nghiên cứu ứng dụng luân trùng làm nguồn thức ăn tự nhiên trong qui trình ương nuôi ấu trùng tôm he. Từ đây, lượng nauplii *Artemia* sử dụng trong ương nuôi ấu trùng tôm được giảm bớt, góp phần hạ giá thành sản phẩm, nâng cao hiệu quả sản xuất kinh doanh.

➤ Ở khía cạnh thực tiễn sản xuất, đóng góp đáng kể nhất của luận án là làm nền tảng cơ bản xây dựng thành công “Qui trình sản xuất giống tôm he dựa vào công nghệ đa tảo và luân trùng Minh Phú”. Triển khai áp dụng qui trình kỹ thuật này ở qui mô sản xuất đã tạo ra khoảng 800 triệu giống tôm thẻ chân trắng và khoảng 200 triệu giống tôm sú, tổng giá trị ước đạt khoảng 120 tỷ VNĐ. Bên cạnh đó, cung ứng sinh khối vi tảo cho các hoạt động nuôi tôm thương phẩm của Tập đoàn Thủy sản Minh Phú (gắn với qui trình nuôi tôm thương phẩm Minh Phú Bio) với giá trị kinh tế ước đạt khoảng 2-3 tỷ VNĐ. Những đóng góp hữu ích vào thực tiễn sản xuất của luận án đã được Ban lãnh đạo Tập đoàn Thủy sản Minh phú, Ban lãnh đạo dự án đánh giá cao và ghi nhận là một trong những hợp phần thành công nhất.

**ĐẠI DIỆN
TẬP THỂ CÁN BỘ HƯỚNG DẪN**

NGHIÊN CỨU SINH

GS.TS. Phạm Quốc Hùng

Mai Đức Thao

KEY FINDINGS

Thesis title: **Selection and application of some microalgal strains in
Penaeus shrimp larviculture in Vietnam**

Major: **Aquaculture**

Major code: **9620301**

PhD student: **Mai Duc Thao**

Supervisor: **1. GS.TS PHẠM QUỐC HÙNG**

2. TS. KIM LEE CHANG

Place of Education: **Nha Trang University**

Key findings:

➤ This dissertation is the first comprehensive study to explore the application of microalgae in the larviculture of *Penaeus* shrimp, encompassing the entire process from initial screening and selection of microalgal strains, acclimation, optimization of environmental culturing conditions, and their application as live-feed stock.

➤ The dissertation successfully imported, acclimated, and applied several promising new strains of microalgae from Australia to Vietnam, including *Nannochloropsis oceanica* CS-179, *Chaetoceros muelleri* CS-176, *Phaeodactylum tricornutum* CS-29, and *Tisochrysis lutea* CS-177. These valuable materials significantly contribute to research activities and practical production in aquaculture in general, and specifically to the shrimp industry in Vietnam.

➤ The research successfully selected several new microalgal strains (*Chaetoceros muelleri* CS-176, *Phaeodactylum tricornutum* CS-29) and *Thalassiosira weissflogii* (CS-871) as direct live-food sources for shrimp larval culture, enhancing the efficiency of shrimp larval cultivation. Additionally, the research identified two new microalgal strains, *Nannochloropsis oceanica* CS-179 and *Tisochrysis lutea* CS-177, as indirect live-food sources in shrimp larviculture in Vietnam.

➤ The research identified the effects and interactions of several basic culturing conditions on the population growth and nutritional value of microalgae, including supplementary nutrient mediums, temperature, salinity, and light conditions. The research findings provide a clear scientific basis for selecting and designing culturing conditions as well as refining the technical production process of microalgae in Vietnam. These results can be applied not only in shrimp larviculture but also to various other aquaculture species.

➤ The most important achievement of this research is the successful development of a live-food feeding regime using multiple microalgal species in shrimp larval rearing. This formula has significantly improved the efficiency of shrimp larval production in Vietnam.

➤ The concept of using rotifers as a live feed in the larviculture of *Penaeus* shrimp has been proposed for a long time; however, no published research has previously documented practical outcomes on this topic. This dissertation is the first to report the successful application of rotifers as a live feed in *Penaeus* shrimp larval culture. The findings demonstrate that incorporating rotifers significantly reduces the reliance on *Artemia* nauplii, thereby lowering production costs and improving rearing efficiency.

➤ In terms of practical production, the most significant contribution of the dissertation is providing the foundational basis for the successful development of the "Shrimp Larviculture Process Based on Multi-Algae Species and Rotifer Technology by Minh Phu." The implementation of this technical process on an industrial scale has resulted in approximately 800 million whiteleg shrimp postlarvae and about 200 million black tiger shrimp postlarvae, with an estimated total value of around 120 billion VND. Additionally, it has supplied microalgae biomass for the grow-out shrimp farms of Minh Phu Seafood Corporation (associated with the Minh Phu Bio Shrimp Farming Process), with an estimated value of about 2-3 billion VND. The practical contributions of the dissertation have been highly appreciated and recognized by the leadership of Minh Phu Seafood Corporation and the project leadership as one of the most successful components.

SUPERVISORS

PhD Students

Prof. Hung Quoc Pham

Thao Duc Mai

MỞ ĐẦU

Nuôi trồng thủy sản là một trong những ngành kinh tế đặc biệt quan trọng trong cơ cấu kinh tế đất nước. Nuôi trồng thủy sản góp phần giải quyết việc làm, tăng thu nhập, ổn định đời sống cộng đồng dân cư cũng như giảm thiểu các áp lực khai thác nguồn lợi thủy sản. Tôm nước lợ, mà chủ yếu là tôm thẻ chân trắng và tôm sú là hai đối tượng chủ lực trong các nhóm vật nuôi thủy sản. Phát triển bền vững nuôi trồng thủy sản, đặc biệt là tập trung vào nhóm đối tượng tôm lợ mặn, để đáp ứng nhu cầu thị trường trong và ngoài nước được xác định là hướng đi quan trọng trong bối cảnh bùng nổ dân số toàn cầu và sự gia tăng thị hiếu các mặt hàng thủy hải sản.

Bên cạnh thức ăn và chất lượng môi trường thì con giống được xem là yếu tố then chốt góp phần thúc đẩy nghề nuôi tôm Việt Nam phát triển bền vững, hiệu quả, đáp ứng được các mục tiêu đã đề ra. Chủ động nguồn con giống tôm có chất lượng cao đòi hỏi sự tổ hợp của nhiều yếu tố, đặc biệt trong đó là qui trình sản xuất giống tôm. Ở Việt Nam và nhiều nước trên thế giới như Ecuador, Ấn Độ, Trung Quốc và Thái Lan nghiên cứu và ứng dụng nguồn thức ăn tự nhiên trong ương nuôi ấu trùng tôm luôn là khâu kỹ thuật nhận được nhiều sự quan tâm, chú ý của các nhà nuôi trồng thủy sản.

Cũng như nhiều ấu trùng động vật thủy sản khác, ấu trùng tôm he ở những giai đoạn đầu sử dụng thức ăn ngoài có nhu cầu tương đối khắt khe về đặc điểm nguồn thức ăn. Nhu cầu nguồn thức ăn giàu dinh dưỡng, có kích thước phù hợp, khả năng trôi nổi tốt, dẫn dụ ấu trùng bắt mồi được xem là những thiết yếu cho ấu trùng tôm he ở giai đoạn zoea, mysis và đôi khi là cả hậu ấu trùng postlarvae. Thêm vào đó, ở những giai đoạn con non, cấu trúc và hệ enzyme tiêu hóa của ấu trùng tôm chưa hoàn thiện nên đòi hỏi nguồn thức ăn có các đặc điểm đặc biệt, nhất là dễ tiêu hóa và hấp thu.

Vi tảo, nhất là tảo khuê (hay còn gọi là tảo silic), đáp ứng một cách đầy đủ nhất các yêu cầu về giá trị dinh dưỡng, kích thích tế bào, khả năng trôi nổi, tính dẫn dụ, cũng như tiêu hóa và hấp thu cho ấu trùng tôm. Hay nói cách khác, tảo khuê nắm giữ vai trò đặc biệt quan trọng, góp phần đáng kể vào cải thiện chất lượng con giống và môi trường ương nuôi. Phép so sánh ẩn dụ, vi tảo như là nguồn sữa mẹ cho ấu trùng tôm như để khẳng định vị thế của vi tảo trong hoạt động sản xuất này.

Cũng như nhiều nước khác trên thế giới, sản xuất giống tôm he ở Việt Nam phụ thuộc chủ yếu vào loài tảo khuê *Thalassiosira weissflogii* bởi nhiều đặc điểm sinh học quan trọng như kích thước phù hợp, thành phần sinh hóa tế bào chứa hàm lượng cao các axit amin, axit béo không no đa nối đôi (ARA, EPA, và DHA), vitamin, khoáng chất và một số chất hoạt tính sinh học cao. Bên cạnh đó, với đặc điểm cấu trúc lớp vỏ tế bào silicate, vi tảo này được xem là nguồn thức ăn dễ tiêu hóa và hấp thu cho ấu trùng tôm.

Mặc dù vậy, vẫn còn những mặt hạn chế nhất định khi ứng dụng loài vi tảo *T. weissflogii* này trong sản xuất giống tôm. Thứ nhất, sinh khối cực đại của vi tảo này không cao như nhiều loài vi tảo khác. Ở hầu hết các trại tôm giống ở Việt Nam, mật độ tế bào vi tảo đạt được tại thời điểm thu hoạch khoảng vài trăm ngàn cho tới một triệu tb/mL. Mật độ tế bào không cao dẫn tới một số khó khăn trong công tác ứng dụng như nhu cầu cao về hệ thống, nhân công, nguyên vật liệu trong nuôi cấy. Bên cạnh đó, để đáp ứng đầy đủ nhu cầu tảo cho ấu trùng tôm, sinh khối vi tảo cần cấp cho bể ấu trùng tôm thường là rất lớn, đôi khi vượt quá thể tích bể ương ấu trùng. Điều này tiềm ẩn các rủi ro về xáo trộn môi trường sống, đặc biệt là pH. Thứ hai là cấu tạo lớp vỏ tế bào trơn nhẵn, tế bào tảo nhanh chóng bị chìm xuống đáy bể ương, nhất là trong điều kiện sục khí nhẹ ở những giai đoạn đầu ương nuôi (giai đoạn zoea). Trong khi đó, ấu trùng tôm ở các giai đoạn zoea, mysis có đời sống phù du, một trong những yêu cầu đầu tiên của nguồn thức ăn là có khả năng trôi nổi tốt. Thêm vào đó, mỗi một loài vi tảo thường có giá trị dinh dưỡng đặc trưng riêng. Mỗi loài hoặc nhóm loài thường sẽ giàu hoặc nghèo một vài chất dinh dưỡng nào đó, việc sử dụng kết hợp đa loài thức ăn sẽ là cơ sở để đáp ứng nhu cầu dinh dưỡng cho ấu trùng một cách đầy đủ nhất. Cuối cùng, những nghiên cứu và ứng dụng vi tảo trong sản xuất giống tôm ở Việt Nam cũng như nhiều nước trên thế giới phần lớn tập trung vào vai trò làm nguồn thức ăn trực tiếp cho ấu trùng. Các vai trò quan trọng khác của vi tảo như nguồn thức ăn gián tiếp, vai trò ổn định, nâng cao chất lượng môi trường nước chưa được quan tâm nhiều.

Xuất phát từ những vấn đề vừa đề cập, luận án “**Nghiên cứu lựa chọn và ứng dụng một số chủng vi tảo trong sản xuất giống tôm he (*Penaeus*) tại Việt Nam**” được triển khai thực hiện. Luận án này là một hợp phần trong chương trình hợp tác nghiên cứu giữa Công ty CP Tập đoàn Thủy sản Minh Phú (gọi tắt là Tập đoàn Thủy sản Minh Phú) và CSIRO từ tháng 1 năm 2020 đến tháng 10 năm 2023. Nghiên cứu được triển khai nhằm đạt được các mục tiêu và ý nghĩa:

Mục tiêu tổng quát: Nghiên cứu lựa chọn và ứng dụng một số chủng vi tảo làm nguồn thức ăn trực tiếp và gián tiếp trong sản xuất giống tôm thẻ chân trắng và tôm sú tại Việt Nam.

Mục tiêu cụ thể

- Xác định được 2-3 chủng/loài vi tảo mới tiềm năng làm nguồn thức ăn trực tiếp trong sản xuất giống tôm he tại Việt Nam.
- Xác định được 2-3 chủng/loài vi tảo mới tiềm năng làm nguồn thức ăn gián tiếp trong sản xuất giống tôm he tại Việt Nam.
- Tối ưu hóa một số điều kiện nuôi cấy cơ bản, gắn liền với thực tiễn sản xuất vi tảo tại Việt Nam.
- Xác định vai trò nguồn thức ăn gián tiếp của vi tảo trong sản xuất giống tôm he.
- Xác định khẩu phần thức ăn vi tảo tối ưu trong ương nuôi ấu trùng tôm he, từ đó xây dựng qui trình nuôi cấy và ứng dụng vi tảo trong sản xuất giống tôm he tại Việt Nam.

Ý nghĩa khoa học và thực tiễn của đề tài:

Luận án là nguồn dữ liệu khoa học cung cấp thông tin về đặc điểm sinh trưởng quần thể và thành phần sinh hóa một số chủng/loài vi tảo ứng dụng trong nuôi trồng thủy sản nói chung và sản xuất giống tôm he nói riêng. Kết quả nghiên cứu cung cấp các dẫn liệu khoa học về ảnh hưởng của một số điều kiện nuôi cấy lên sinh trưởng quần thể và giá trị dinh dưỡng tế bào vi tảo. Bên cạnh đó là những hiểu biết về ảnh hưởng khẩu phần thức ăn vi tảo lên kết quả ương nuôi ấu trùng tôm he tại Việt Nam. Nguồn thông tin này góp phần hữu ích phục vụ công tác giảng dạy, nghiên cứu và phát triển nghề nuôi tôm tại Việt Nam.

Thành công của luận án bước đầu tạo cơ sở nguồn giống vi tảo phong phú về chủng loài phục vụ sản xuất giống tôm tại cơ sở. Kết quả nghiên cứu các thí nghiệm tối ưu hóa điều kiện nuôi cấy được ứng dụng làm nền tảng để xây dựng qui trình sản xuất vi tảo tại cơ sở. Bên cạnh đó, qui trình chăm sóc và ương nuôi ấu trùng tôm he được xây dựng và hoàn thiện dựa trên những kết quả nghiên cứu thử nghiệm các loài vi tảo, luân trùng làm thức ăn cho ấu trùng tôm.

CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN

1.1. Tổng quan về vi tảo

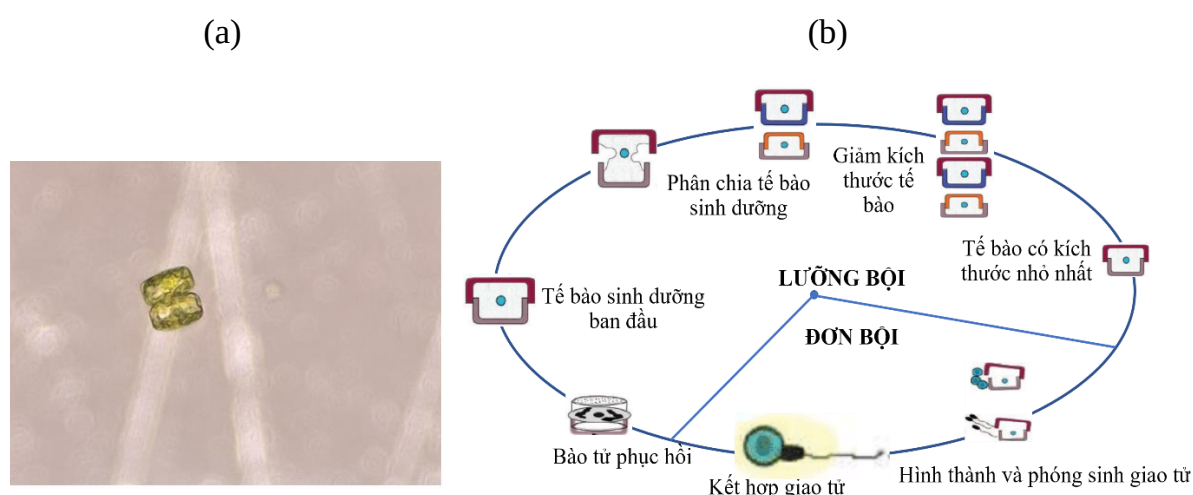
1.1.1. Giới thiệu chung về vi tảo

Vi tảo được biết đến là những sinh vật đơn bào, có thể được tìm thấy trong hầu hết các môi trường như đất, đá, nước (bao gồm cả thủy vực nước ngọt và nước mặn) hay đôi khi là kí sinh trên các sinh vật khác. Tên gọi vi tảo này được bắt nguồn từ kích thước hiển vi của chúng. Môi trường nước là môi trường phổ biến nhất cho sự hiện diện của vi tảo. Trong nhiều trường hợp tên gọi vi tảo được sử dụng để thay thế cho tên gọi thực vật phù du. Tuy nhiên chỉ có những nhóm vi tảo có đời sống trôi nổi, cắt ngang cột nước mới được xếp vào nhóm thực vật phù du, đặc điểm này để phân biệt với nhóm vi tảo có đời sống bám trên nền đáy thủy vực, giá thể, hay các sinh vật khác. Vi tảo là nhóm sinh vật sản xuất đặc biệt phong phú về thành phần loài với số lượng loài ước tính đạt 300.000-800.000 loài, mỗi loại lại có hàng ngàn chủng khác nhau đã được nghiên cứu và công bố [13, 29].

Vi tảo sinh trưởng và phát triển nhanh trong các hệ sinh thái thủy sinh, các hệ sinh thái này bao phủ hơn 71% diện tích bề mặt của trái đất. Vi tảo sản xuất ra phần lớn nguồn chất hữu cơ đưa vào vòng tuần hoàn vật chất trên địa cầu. Chỉ tính riêng với vi tảo biển, hàng năm đã sản xuất ra hơn 1,8 tỷ tấn chất hữu cơ đưa vào vòng tuần hoàn vật chất cho hành tinh trái đất này. Ở khía cạnh môi trường, vi tảo góp phần giảm một lượng rất lớn khí CO₂ đặc biệt trong bối cảnh biến đổi khí hậu với sự gia tăng nhanh chóng của các khí nhà kính. Theo ước tính, có đến hơn 50% lượng khí CO₂ được hấp thu bởi vi tảo biển. Thêm vào đó, vi tảo biển quang hợp sản sinh ra một lượng lớn khí O₂ bổ sung vào sinh quyển. Trong thủy vực, vi tảo đóng vai trò không thay thế ở khâu quan trọng nhất là chuyển hóa nguồn muối dinh dưỡng vô cơ sang hữu cơ [58].

Về mặt hình thái cấu tạo, các tế bào vi tảo có thể tồn tại ở dạng đơn độc một tế bào (unicellular) hay liên kết với nhau dạng chuỗi (colony). Hình dạng và kích thước tế bào vi tảo rất đa dạng, phụ thuộc vào từng loài cụ thể và đôi khi là điều kiện môi trường sống. Mặt ngoài tế bào vi tảo trơn nhẵn hoặc có các gờ hoặc phân phụ là các lông gai hỗ trợ cho khả năng trôi nổi trong môi trường nước. Ở hầu hết các loài vi tảo, lớp vỏ tế bào gồm hai lớp riêng biệt là lớp thành tế bào (cell wall) và lớp màng tế bào (cell membrane), đây là điểm khác biệt với các nhóm các nhóm sinh vật khác, hai lớp này thường là một [10, 51, 59].

Hình thức sinh sản ở vi tảo rất đa dạng. Trong khi phần lớn (tảo lục, tảo lam, tảo lông roi...) có hình thức sinh sản vô tính bằng cách nhân đôi tế bào, thì các nhóm tảo silic, và nhiều loài trong nhóm dinoflagellate lại bao gồm cả hai hình thức sinh sản vô tính và hữu tính bằng bào tử động auxospore. Vi tảo hấp thu chất dinh dưỡng từ môi trường sống, tổng hợp vật chất và tiến hành phân chia tế bào trong một thời gian ngắn (từ vài giờ cho tới vài chục giờ). Ngược lại, khi gặp các điều kiện sống bất lợi, các vi tảo silic, dinoflagellate thường hình thành các bào tử, bào tử chín sẽ phá vỡ thành tế bào phóng sinh ra ngoài môi trường sống. Khi các điều kiện lý, hóa học môi trường thuận lợi trở lại, các bào tử này sẽ kết hợp lại với nhau thành một tế bào mới, với đầy đủ kích thước, hình dạng đặc trưng của loài [51, 107].



Hình 1.1. Hai hình thức sinh sản ở vi tảo

(a)-Nhân đôi tế bào ở tảo khuê *Thalassiosira weissflogii*; (b)-Hai hình thức sinh sản vô tính và hữu tính ở tảo silic

1.1.2. Sinh trưởng quần thể vi tảo

Khác với những sinh vật có kích thước lớn, sinh trưởng của vi tảo nói riêng và vi sinh vật nói chung được đặc trưng bởi sinh trưởng quần thể. Sinh trưởng của một quần thể vi sinh vật được chia thành các pha sinh trưởng với các đặc điểm khác nhau về tốc độ sinh trưởng, thành phần sinh hóa, tình trạng sinh lý nội bào [10].

Trong khi nhiều học giả chia sinh trưởng quần thể thành 4 pha (pha thích nghi - lag phase, pha tăng trưởng theo hàm số mũ - log phase, pha cân bằng stationary phase, và pha tàn lụi - dead phase), thì một số nhóm tác giả lại theo xu hướng chia chu kỳ sinh trưởng thành 5 pha, trong đó pha tăng trưởng theo hàm số mũ chia thành

hai pha nhỏ nối tiếp nhau bao gồm pha tăng trưởng dương (exponential growth phase) và pha tăng trưởng âm (declining relative growth phase). Thêm vào đó, một số tác giả lại chia sinh trưởng quần thể vi tảo thành 6 pha riêng biệt, gồm pha thích nghi (lag phase), pha theo hàm số mũ (exponential phase), pha đường thẳng (linear phase), pha tăng trưởng âm (declining growth phase), pha cân bằng (stationary phase), và pha tàn lụi (dead phase) [10, 51]. Để đơn giản, dễ tiếp cận và ứng dụng trong thực tiễn sản xuất, phần bài viết này tiếp cận theo hướng có 4 pha sinh trưởng cơ bản trong một chu kỳ sinh trưởng của quần thể vi tảo bao gồm pha thích nghi (lag phase), pha tăng trưởng theo hàm số mũ (exponential growth phase), pha cân bằng (stationary phase), và pha tàn lụi (dead phase).

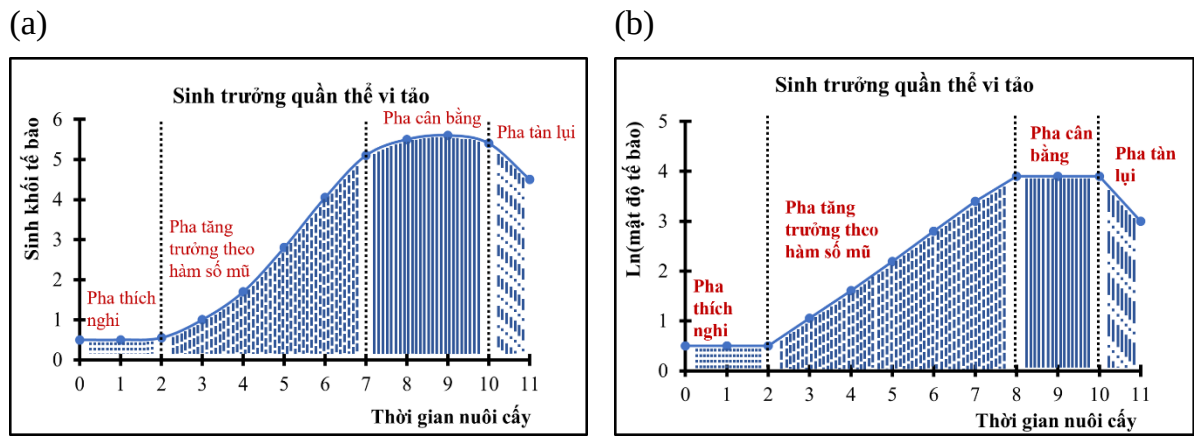
Pha thích nghi

Pha thích nghi là giai đoạn đầu tiên trong chu kỳ sinh trưởng quần thể. Tại đây, vi tảo bắt đầu tiếp xúc và dành nguồn năng lượng nội bào để thích nghi với các điều kiện môi trường sống mới. Các phản ứng sinh lý nội bào thường được diễn ra mạnh nhất trong giai đoạn này, như quá trình sinh lý phiên mã, sinh tổng hợp các protein chức năng và enzyme. Nhờ đó vi tảo nhanh chóng thích nghi với môi trường sống mới [27, 51, 78].

Việc ưu tiên cho các phản ứng sinh lý nội bào này cơ bản tiêu tốn nguồn năng lượng nội bào lớn. Kết quả là sinh khối quần thể vi tảo gần như không tăng lên, đôi khi còn giảm. Độ dài pha thích nghi phụ thuộc vào nhiều yếu tố, có thể kể đến là những đặc trưng của loài, tình trạng sinh lý tế bào và đặc biệt là mức độ khác biệt của các điều kiện môi trường sống mới [51, 78].

Pha tăng trưởng theo hàm số mũ

Sau quá trình thích nghi với điều kiện môi trường sống mới, vi tảo tăng cường hấp thu muối dinh dưỡng, cố định carbon, tổng hợp vật chất để xây dựng tế bào mới. Ngoài ra các điều kiện như mật độ tế bào thấp, môi trường giàu dinh dưỡng và ánh sáng thuận lợi là tiền đề thúc đẩy sự phân chia tế bào diễn ra tích cực nhất. Kết quả là sinh khối quần thể tăng nhanh theo hàm số mũ $C_t = C_0 \cdot e^{\mu t}$ (Trong đó, C_t : mật độ tế bào tại thời điểm t ; C_0 : mật độ tế bào tại thời điểm ban đầu; μ : tốc độ tăng trưởng đặc thù của quần thể ở pha sinh trưởng hàm số mũ).



Hình 1.2. Đường cong sinh trưởng quần thể vi tảo (a) và sinh trưởng quần thể biểu diễn dưới dạng logarithm cơ số tự nhiên (b)

Trong các pha sinh trưởng của quần thể vi tảo thì pha tăng trưởng theo hàm số mũ có tốc độ lớn nhất. Do đó, trong các hoạt động nghiên cứu và ứng dụng trong sản xuất, sự quan tâm nhiều nhất được dành cho pha sinh trưởng này. Độ dài của pha logarithm phụ thuộc vào nhiều yếu tố, nhất là đặc trưng của loài, tình trạng sức khỏe quần thể vi tảo, và các điều kiện môi trường nuôi cấy. Pha logarithm càng dài, tốc độ sinh trưởng ở pha này càng cao thì sinh khối quần thể đạt được trong một đơn vị thời gian càng lớn. Điều này càng mang lại hiệu quả trong nghiên cứu và sản xuất kinh doanh. Về mặt thực tiễn trong nuôi cấy vi tảo việc tính toán mật độ ban đầu mục đích nhằm giúp quần thể vi tảo nằm ở pha tăng trưởng dương ngay sau thời điểm bắt đầu chu kỳ nuôi cấy.

Pha cân bằng

Tại pha sinh trưởng này, sinh khối quần thể vi tảo đã đạt đến giá trị cực đại. Số lượng tế bào mới sinh ra tương đồng với số lượng tế bào chết đi, mặc dù các quá trình quang hợp và phân chia tế bào vẫn diễn ra mạnh mẽ trong suốt pha này. Các đặc điểm về chủng loài vi tảo và các điều kiện nuôi cấy quyết định đến độ dài và biên độ pha cân bằng trong các điều kiện cụ thể. Trong nghiên cứu và ứng dụng vi tảo, pha cân bằng là một trong những chỉ tiêu đánh giá sinh trưởng quần thể thông qua giá trị mật độ cực đại [10, 51].

Pha tàn lụi

Trong pha cuối cùng này, các yếu tố môi trường trở lên bất lợi với sinh trưởng quần thể, sức khỏe và khả năng sinh sản của tế bào giảm đi một cách rõ rệt. Kết quả là sinh khối quần thể giảm theo thời gian nuôi cấy. Pha sinh trưởng này dường như không mang nhiều ý nghĩa trong các hoạt động nghiên cứu và ứng dụng vi tảo.

1.1.3. Giá trị dinh dưỡng của vi tảo

Trong khoảng vài thập kỉ trở lại đây, vi tảo nhận được rất nhiều sự quan tâm và đôi khi được ví như “nguồn nguyên liệu của tương lai”, bởi lẽ những tiềm năng to lớn ở đối tượng này. Đặc biệt phải kể đến (1) tốc độ sinh trưởng vi tảo là rất cao; (2) nhu cầu diện tích canh tác thấp; (3) Hiệu suất cao trong hấp thu và chuyển hóa CO₂; (4) chi phí nguyên liệu phục vụ sản xuất thấp; Và (5) phù hợp với định hướng phát triển bền vững, bảo vệ môi trường. Hơn thế nữa, thành phần sinh hóa cũng như giá trị dinh dưỡng của nguồn nguyên liệu này là đặc biệt quý giá [30, 33, 32, 45].

Lipid và axit béo

Có rất nhiều thành phần sinh hóa quan trọng làm nên giá trị dinh dưỡng của vi tảo. Tuy nhiên, hàm lượng lipid và thành phần các axit béo có lẽ là thành phần được quan tâm nhất trong nghiên cứu và ứng dụng. Đây là nền tảng khẳng định vai trò, vị trí không thay thế của vi tảo. Lipid trong vi tảo được chia thành hai nhóm là lipid phân cực (polar lipid) và lipid không phân cực/trung tính (neutral lipid).

Các lipid thì không tan trong nước, nhưng tan trong hầu hết các dung môi hữu cơ. Polar lipid bao gồm có phospholipid và glycolipid, trong khi đó neutral lipid bao gồm các acylglycerids (3-, 2-, hay monoglyceride) và các axit béo tự do (free fatty acid). Vi tảo sử dụng các neutral lipid như là nguồn năng lượng dự trữ, trong khi đó, polar lipid được tế bào sử dụng để xây dựng lên lớp màng [45]. Ngoài ra, vi tảo còn chứa các chất béo tự do (sterols, steroid hay sắc tố, sẽ được trình bày ở nội dung kế tiếp), các axit béo tự do này không thể chuyển thành các dầu sinh học [45, 81]. Đây là nguyên nhân giải thích cho việc hình thành, tổng hợp sắc tố sẽ làm giảm hàm lượng các axit béo khác.

Khả năng sản xuất và tích lũy lipid trong tế bào vi tảo là khá phức tạp, phụ thuộc vào nhiều yếu tố, trong đó đáng kể nhất phải là bản chất của chủng, loài vi tảo, điều kiện nuôi cấy (ánh sáng, nhiệt độ, pH, CO₂, muối dinh dưỡng bổ sung) cũng như tình trạng sinh lý nội bào. Nhìn chung, hàm lượng lipid trong hầu hết các loài vi tảo ở khoảng 2-23% trọng lượng khô [33].

Nghiên cứu về thành phần các axit béo trong vi tảo là một hướng nghiên cứu tương đối phức tạp do nhu cầu về máy móc và chi phí phân tích cao. Tuy nhiên, đây lại là hướng nghiên cứu được nhiều nhà khoa học quan tâm. Theo đó, thành phần các axit béo trong vi tảo là rất phong phú, và khác nhau phụ thuộc vào nhiều yếu tố. Axit béo là các

axit của carboxylic chứa từ 4-36 phân tử carbon trong mạch, tuy nhiên các axit béo gồm từ 14-22 phân tử carbon trong mạch là những axit béo phổ biến trong hầu hết các loài vi tảo. Các axit béo được chia thành các nhóm, gồm axit béo no (saturated fatty acid, SFA), và các axit béo không no (unsaturated fatty axit, USFA). Dựa vào số lượng các nối đôi có trong mạch carbon, người ta chia các axit béo không no lại thành các nhóm khác nhau, gồm có axit béo không no có 1 nối đôi MUFA (mono-unsaturated fatty acid), axit béo không no đa nối đôi PUFA (polyunsaturated fatty acid). Ở một số cách tiếp cận khác, người ta còn chia PUFA thành axit béo không no có hai nối đôi DUFA (di-unsaturated fatty acid) và axit béo có ba nối đôi TUFA (tri-unsaturated fatty acid) và HUFA (highly unsaturated fatty acids) là các axit béo không no có nhiều hơn 3 nối đôi.

Bảng 1.1. Hàm lượng axit béo của một số loài vi tảo phổ biến trong nuôi trồng thủy sản (% lipid tổng số)

(số liệu được tổng hợp lại dựa trên các nguồn tham khảo [31, 32, 94, 103, 132])

Axit béo	Loài vi tảo							
	<i>N.o</i>	<i>I.g</i>	<i>C.sp</i>	<i>C.m</i>	<i>N.sp</i>	<i>S.c</i>	<i>T.p</i>	<i>P.t</i>
C14:0	3,9	8,9	2,0	15,0	2,67	12,7	9,0	8,8
C16:0	20,5	11,5	19,6	17,3	13,2	9,4	13,1	16,6
C18:0	1,8	-	3,3	0,8	0,45	2,2	0,2	0,6
C20:0	-	-	-	-	-	-	0,2	-
Total SFA	26,7	20,4	25,7	34,1	16,37	25,6	23,3	27,6
C16:1 ω 7	25,2	3,3	6,2	30,0	17,1	19,1	29,7	26,0
C18:1 ω 7+ ω 9	4,1	13,1	7,3	1,9	0,9	2,6	0,4	1,8
C20:1 ω 9	0,0	-	0,1	0,1	-	0,0	0,1	-
C22:1	-	0,6	-	-	-	-	-	0,3
Total MUFA	29,3	17,0	16,2	32,4	18	21,7	30,8	28,1
C16:2 ω 4+ ω 6	0,8	-	4,0	4,8	2,4	5,6	3,5	-
C16:3 ω 3+ ω 4+ ω 6	0,6	-	12,1	7,8	7,2	10,3	7,5	-
C18:2 ω 6	2,2	7,0	11,8	0,7	0,4	1,6	0,3	1,5
C18:3 ω 3+ ω 6	0,9	3,8	22,6	1,4	-	0,2	0,4	0,3
C18:4 ω 3	0,1	12,5	0,1	0,8	-	2,9	9,1	3,3
C20:2 ω 6	0,1	-	0,2	0,0	-	0,2	-	-
C20:3 ω 6	0,3	-	0	0,2	-	0,0	-	-
C20:4 ω 3+ARA	5,3	-	0,5	1,8	4,4	0,2	0,3	2,2
C20:5 ω 3EPA	29,7	0,8	1,3	12,8	26,7	15,4	17,5	28,4
C22:6 ω 3DHA	0,0	15,8	-	0,8	4,2	2,3	3,1	0,2
Total PUFA	40,0	39,9	52,6	31,1	35,5	38,7	45,9	37,2

Ghi chú: *N.o* *Nannochloropsis oculata*; *I.g* *Isochrysis galbana*; *C.sp* *Chlorella* sp.; *C.m* *Chaetoceros muelleri*; *N.sp* *Nitzschia* sp.; *S.c* *Skeletonema costatum*; *T.p* *Thalassiosira pseudonana*; *P.t* *Phaedactylum tricornutum*

Ngoài ra, vị trí gắn của các nối đôi trong mạch cũng rất quan trọng, đặc biệt là vị trí carbon thứ 3 (ω -3) hay vị trí thứ 6 (ω -6). Bên cạnh đó, các đồng phân *cis* (đồng phân cùng phía), và *trans* (đồng phân khác phía) cũng mang nhiều ý nghĩa quan trọng. Cuối cùng, các axit béo không no, đa nối đôi, có mạch carbon dài được gọi là axit béo PUFA mạch dài Lc-PUFA (long-chain PUFA), các axit béo này đặc biệt quan trọng trong vai trò làm nguồn thức ăn cho con người, vật nuôi, và nhiều ứng dụng khác [45, 81, 86].

Protein

Hàm lượng protein trong vi tảo thay đổi rất lớn từ 6 đến 52% trọng lượng khô (dwt) tế bào, phụ thuộc vào từng chủng loài vi tảo. Trong một số trường hợp đặc biệt, hàm lượng protein có thể đạt đến 71% [32]. Bên cạnh các đặc điểm về chủng loài vi tảo, thì các yếu tố môi trường cũng ảnh hưởng rất lớn đến hàm lượng protein nội bào, có thể kể đến như nhiệt độ, độ mặn, ánh sáng, pH, muối dinh dưỡng bổ sung, điều kiện CO₂ [120].

Bảng 1.2. Thành phần% axit amin trong một số loài vi tảo phổ biến [31]

Loài vi tảo	Axit amin thiết yếu										
	Agr	His	Iso	Leu	Lys	Met	Phe	Pro	Thr	Try	Val
<i>C. calcitrans</i>	6,4	1,9	5,5	8,2	6,3	2,6	6,7	5,6	4,5	1,4	5,9
<i>C. gracilis</i>	6,6	2,4	5,8	7,2	5,1	2,4	7,1	6,3	5,9	1,6	6,2
<i>N. closterium</i>	7,1	1,4	5,0	8,1	5,7	1,6	6,9	4,6	5,5	1,4	6,2
<i>P. tricornutum</i>	6,6	1,7	4,9	7,7	5,6	1,9	6,6	6,3	5,4	1,6	5,9
<i>S. costatum</i>	6,4	1,6	5,2	8,3	5,7	2,2	6,4	4,9	5,1	1,3	6,3
<i>T. pseudonana</i>	6,3	1,6	5,5	8,4	5,9	2,2	6,8	4,8	5,2	0,87	6,1
<i>D. tertiolecta</i>	6,8	2,1	4,8	8,4	6,0	1,4	6,7	6,5	4,7	1,5	6,2
<i>N. atomus</i>	5,9	1,8	3,4	7,5	5,2	1,9	5,5	13,1	4,0	1,1	5,9
<i>C. salina</i>	6,7	1,8	4,1	7,8	6,1	2,4	5,5	5,4	5,4	1,3	6,1

Loài vi tảo	Axit amin không thiết yếu									
	Ala	Asp	Cys	Glu	Gly	Hyd	Orn	Ser	Tyr	Ami
<i>C. calcitrans</i>	7,2	9,8	0,42	10,5	5,9	0,18	0,21	5,8	4,5	0,63
<i>C. gracilis</i>	6,9	8,0	0,52	9,4	5,1	0,33	0,33	6,6	5,4	0,75
<i>N. closterium</i>	6,9	8,8	0,58	10,6	6,0	1,4	0,52	6,6	3,9	1,1
<i>P. tricornutum</i>	7,2	8,6	0,38	11,2	5,8	0,31	1,4	5,9	4,1	0,92
<i>S. costatum</i>	7,3	10,1	0,4	10,4	6,4	0,23	0,39	6,1	4,5	0,91
<i>T. pseudonana</i>	7,4	9,7	0,53	10,4	6,2	0,23	0,21	6,8	4,2	0,55
<i>D. tertiolecta</i>	8,0	9,0	0,44	10,3	6,0	0,15	0,35	5,2	5,0	0,54
<i>N. atomus</i>	8,2	8,3	0,55	11,4	6,3	0,30	0,25	4,8	3,9	0,59
<i>C. salina</i>	7,9	9,5	0,63	10,9	5,8	0,04	0,28	5,9	5,6	0,88

Ghi chú: Số liệu trình bày là tỷ lệ % về khối lượng các axit amin thành phần trên axit amin tổng số.

Người ta chia axit amin trong vi tảo nói riêng và các nguồn nguyên liệu sinh học khác nói chung ra làm hai nhóm axit amin thiết yếu (essential amino acid) và không thiết yếu (non-essential amino acid). Giá trị dinh dưỡng protein của vi tảo thường được nhấn mạnh ở hàm lượng cao các axit amin thiết yếu. Vi tảo có khả năng tổng hợp và tích lũy một hàm lượng rất cao các axit amin, đặc biệt phải kể đến glutamic acid, aspartic acid, arginine, leucine, threonine, isoleucine, và glycine [31].

Carbohydrate

Carbohydrate có tên gọi khác là monosaccharide, là đơn vị cấu thành lên các polysaccharide (starch, cellulose, hay glycogen), đây là nguồn năng lượng chính, không chỉ cung cấp cho bản thân tế bào vi tảo mà còn cho các sinh vật tiêu thụ khác. Hàm lượng carbohydrate ở vi tảo là rất khác nhau, từ 15 đến 55% trọng lượng khô tế bào, phụ thuộc vào từng chủng loài vi tảo, điều kiện nuôi cấy cũng như tình trạng sinh lý nội bào. Khi nhắc đến giá trị carbohydrate trong vi tảo, ngoài khía cạnh cung cấp nguồn năng lượng lớn cho sinh vật tiêu thụ, thì một số dạng polysaccharide, nhất là sulfate polysaccharide là đặc biệt quan trọng. Đây là tiền chất cấu thành lên một số chất hoạt tính sinh học cao quý giá, có nguồn gốc tự nhiên như chất chống đông máu (exhibiting anticoagulant), kháng ung (antithrombotic), chất kháng khuẩn (antimicrobial), kháng virus [85].

Sắc tố, vitamin và một số chất hoạt tính sinh học khác

Phycobilins (tên gọi khác là phycobiliprotein) là sắc tố thứ cấp có vai trò hấp thu ánh sáng trong quá trình quang hợp của vi tảo. Sắc tố này có nhiều trong nhóm tảo đỏ (red algae), và được chia thành bốn lớn allophycocyanin (xanh lục, hoặc lam), phycocyanin (xanh lam), phycoerythrin (tím), and phycoerythrocyanin (màu cam). Phycobillin được ứng dụng nhiều trong nghiên cứu y học (nhất là lĩnh vực miễn dịch học), sinh học (công nghệ đánh dấu huỳnh quang), và một số ngành công nghiệp khác [44, 45].

Chlorophyll là sắc tố phổ biến nhất trong vi tảo, có màu xanh lục và tan trong dung môi vòng porphyrin. Trong tế bào vi tảo, chlorophyll giữ vai trò chuyển hóa năng lượng từ dạng quang năng thành dạng hóa năng thông qua quá trình quang hợp. Hầu hết các loài vi tảo đều có chlorophyll a, trong khi đó một số khác chứa cả chlorophyll b, và c (nhất là bộ tảo Dinophyta). Về hàm lượng, chlorophyll chiếm khoảng 0,5 đến 1,0% trọng lượng khô tế bào. Ứng dụng của chlorophyll thì chủ yếu trong các ngành công nghiệp mỹ phẩm, và y học. Đáng kể nhất là dẫn xuất chlorophyllin, được nghiên cứu và ứng dụng nhiều trong chống lão hóa, chất bổ dưỡng, chất chống ung thư [20, 44].

Carotenoid là sắc tố tan trong dung môi hữu cơ (chủ yếu là dầu), giữ vai trò quan trọng trong quá trình quang hợp của vi tảo. Cụ thể, carotenoid tăng cường hấp thu ánh sáng (trong dải hấp thụ) khi hiệu quả hấp thu của chlorophyll không được đảm bảo. Ngoài ra, carotenoid còn đóng vai trò bảo vệ quá trình quang hợp vi tảo trước những phản ứng oxy hóa. Có rất nhiều dạng tồn tại carotenoid trong vi tảo, nhưng những nghiên cứu ứng dụng carotenoid trong vi tảo những năm gần đây vẫn tập trung chủ yếu ở β -carotene, astaxanthin, và lutein [45, 121].

Bảng 1.3. Thành phần sinh hóa cơ bản của một số loài vi tảo phổ biến trong nuôi trồng thủy sản

Loài vi tảo	Thành phần sinh hóa cơ bản (% dw)			Nguồn
	<i>Lipid</i>	<i>Protein</i>	<i>Carbohydrate</i>	
<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	2	57	26	[97]
<i>Spirulina platensis</i>	4-11	42-63	8-14	[97]
<i>Dunaliella salina</i>	6	57	32	[97]
<i>Scenedesmus obliquus</i>	12-4	50-56	10-52	[113]
<i>Chaetoceros muelleri</i>	12,14	45,56	3,74	[80]
<i>Chaetoceros</i> sp.	19,4	43,0	1,31	[80]
<i>Isochrysis</i> sp.	30,0	47,7	3,3	[80]
<i>Pavlova salina</i>	30,5	52,9	5,23	[80]
<i>Isochrysis galbana</i>	16,3	39,8	7,5	[61]

1.1.4. Ảnh hưởng của một số điều kiện nuôi cấy lên sinh trưởng và thành phần sinh hóa tế bào vi tảo

Cũng như các dạng sinh vật sống khác, sự sinh trưởng và phát triển của vi tảo được quyết định bởi các đặc tính lý, hóa và sinh học môi trường sống. Ở khía cạnh ứng dụng vi tảo trong nuôi trồng thủy sản, một vài thông số môi trường được xác định là quan trọng và cần sự tập trung bởi tính khả thi trong các công tác vận hành và quản lý.

Ánh sáng

Cũng giống như các sinh vật quang tự dưỡng khác, ánh sáng là yếu tố quan trọng quyết định đến sinh trưởng, phát triển của vi tảo thông qua quá trình quang hợp. Ở một số điều kiện đặc biệt, đơn cử như lò phản ứng quang sinh học (photobioreactor), khi mà các yếu tố môi trường nuôi cấy (như nhiệt độ, muối dinh dưỡng, pH, CO₂ hòa tan, v.v.) đáp ứng đầy đủ cho nhu cầu sinh trưởng và phát triển, thì điều kiện ánh sáng được tin là

yếu tố giới hạn sinh trưởng vi tảo [46]. Tính đến nay, số lượng các công trình nghiên cứu về ảnh hưởng của ánh sáng tới sinh trưởng và phát triển của vi tảo là rất phong phú, và trên nhiều khía cạnh. Ảnh hưởng của ánh sáng lên sinh trưởng, phát triển và thành phần sinh hóa của vi tảo thể hiện trên cả hai mặt là trực tiếp và gián tiếp. Ánh sáng gián tiếp tác động lên vi tảo chủ yếu thông qua nhiệt độ và sự phát triển của vi sinh vật. Ngược lại, tác động trực tiếp của ánh sáng lên quần thể vi tảo là mạnh mẽ và rõ ràng hơn. Về mặt nguyên lý, ánh sáng tác động đến vi tảo thể hiện dưới 3 khía cạnh tác động là cường độ chiếu sáng (light intensity), chu kì quang (photoperiod hay dark-light cycle), và quang phổ màu ánh sáng (light spectrum).

Trong số 3 khía cạnh tác động của ánh sáng lên sinh trưởng và phát triển của vi tảo vừa trình bày ở trên, thì cường độ chiếu sáng nhận được nhiều sự quan tâm nhất ở lĩnh vực nghiên cứu này. Cường độ chiếu sáng phụ thuộc trực tiếp vào năng lượng nguồn sáng, khoảng cách từ nguồn sáng tới vật được chiếu sáng, và gián tiếp chịu ảnh hưởng bởi độ sâu cột nước (đường kính, thể tích bình/bể nuôi cấy) cũng như một số đặc điểm môi trường [27, 46]. Bên cạnh đó, một số yếu tố khác như thủy động lực học, vật thể lơ lửng có trong môi trường nước (bao gồm cả vi tảo) làm thay đổi cường độ chiếu sáng thông qua ngăn cản sự truyền suốt, sự tán xạ, và sự hấp thụ ánh sáng.

Về cơ bản, cường độ ánh sáng ảnh hưởng một cách trực tiếp và là yếu tố quyết định đến hiệu suất quá trình quang hợp, kết quả là quyết định đến sinh trưởng, sinh khối quần thể vi tảo (hình 1.3). Cụ thể, quá trình quang hợp (P - **p**hotosynthesis) của vi tảo bắt đầu diễn ra khi cường độ ánh sáng lớn hơn một giá trị tới hạn I_c , $I_c > 0$ (Intensity of critical). Đây được coi là khoảng cường độ tối thiểu cho các protein vận chuyển ánh sáng (light harvesting protein/light transporter protein) được hoạt hóa, các photon ánh sáng được gắn vào các protein này bằng các liên kết ion và chuyển trực tiếp từ môi trường vào quang hệ II. Cường độ ánh sáng trong khoảng từ I_c - I_k (I_k - intensity of **k**onstant) được gọi là khoảng cường độ ánh sáng giới hạn cho quá trình quang hợp. Trong khoảng giới hạn này, quang hợp vi tảo biến thiên thuận theo hàm số mũ với cường độ chiếu sáng. Cường độ ánh sáng trong khoảng từ I_k - I_i (I_i - intensity of **i**nhibition: Cường độ ánh sáng ức chế) gọi là khoảng cường độ ánh sáng bão hòa. Trong khoảng giá trị cường độ ánh sáng này, quang hợp vi tảo đã đạt cực đại (P_{max}), sự thay đổi về cường độ không làm thay đổi đáng kể quá trình quang hợp.

Bảng 1.4 Cường độ chiếu sáng tối ưu nuôi cấy một số loài vi tảo trong NTTS

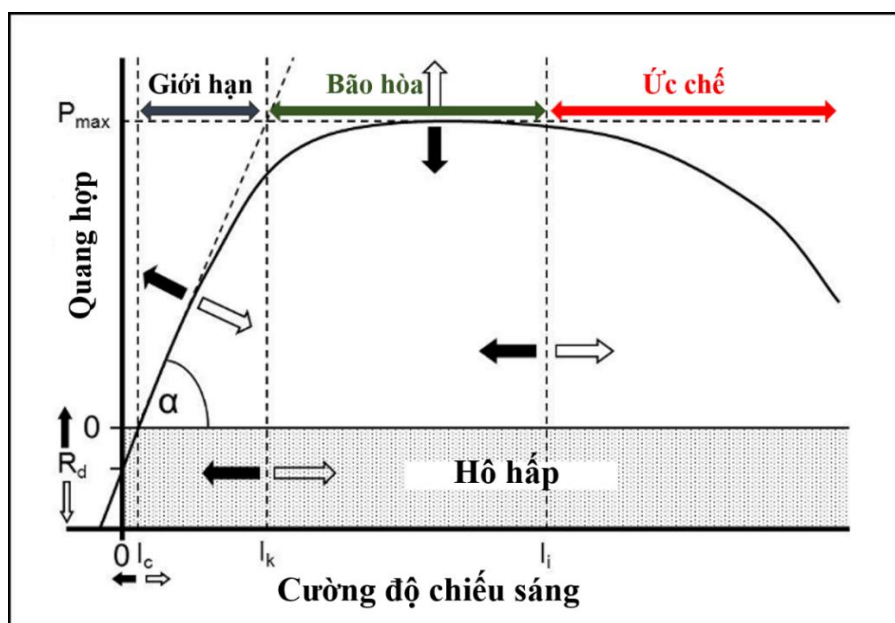
Loài vi tảo	Cường độ ($\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$)	Kết quả	Nguồn
<i>Nannochloropsis</i>	150	BC: 2,1 g/L	[109]
<i>oceanica</i> *	1030	μ_{max} : 0,339 /ngày; BC: 0,7 g/L	
<i>Isochrysis galbana</i>	62	μ_{max} : 1,12 /ngày; MCD: $2,15 \times 10^7$ tb/mL	[56]
<i>Chaetoceros muelleri</i>	50	μ_{max} : 0,25 /ngày	[119]
	150	μ_{max} : 0,87 /ngày	[122]
<i>Chaetoceros calcitrans</i> *	400	μ_{max} : 0,91 /ngày; MCD: $5,8 \times 10^6$ tb/mL	[69]
<i>Skeletonema costatum</i>	50	μ_{max} : 0,3 /ngày	[83]
<i>Thalassiosira pseudonana</i>	40	MCD: $3,9 \times 10^6$ tb/mL	[131]
<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	62	μ_{max} : 1,01 /ngày; MCD: $1,71 \times 10^7$ tb/mL	[56]

Chú thích: μ_{max} : Tốc độ sinh trưởng cực đại; MCD (**m**aximum **c**ell **d**ensity): mật độ cực đại trong chu kỳ nuôi cấy; BC (**b**iomass **c**oncentration): sinh khối vi tảo. Một số nghiên cứu sử dụng đơn vị đo cường độ ánh sáng bằng lux được quy đổi sang $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ ¹. Dấu (*) để chỉ các nghiên cứu thực hiện trên lò phản ứng quang sinh học (photobioreactor)

Một điểm lý thuyết quan trọng được chấp nhận rộng rãi bởi nhiều nhà nghiên cứu là cường độ ánh sáng ảnh hưởng lớn đến giá trị dinh dưỡng của vi tảo. Cụ thể, trong khoảng cường độ ánh sáng từ I_c - I_i cường độ ánh sáng tăng thì hàm lượng các axit béo no (saturated fatty acid – SFA) tăng và hàm lượng các axit béo không no giảm (unsaturated fatty acid - UFA) nhất là DHA và EPA . Cường độ ánh sáng lớn hơn I_i được gọi là khoảng cường độ ức chế (inhibition) quang hợp. Về mặt lý thuyết, cường độ ánh sáng càng cao dẫn đến phản ứng quang oxy hóa (photo-oxidation) trên quang hệ II. Phản ứng quang oxy hóa làm tổn thương các protein thiết yếu cho quá trình vận chuyển electron trong quá trình quang hợp. Kết quả là quang hợp và sinh trưởng của quần thể vi tảo nghịch biến với cường độ chiếu sáng trong khoảng ức chế này [84].

Bên cạnh cường độ chiếu sáng thì chu kỳ quang cũng có những ảnh hưởng rất lớn tới sinh trưởng quần thể và thành phần sinh hóa vi tảo [15, 114]. Chu kỳ quang được hiểu là số giờ chiếu sáng, và số giờ tối trong một đơn vị thời gian (phổ biến nhất là ngày). Về mặt nguyên lý, có hai phản ứng riêng biệt trong quá trình quang hợp vi tảo.

Cụ thể, phản ứng trong pha sáng xảy ra trên lớp màng của lục lạp (chloroplast), tại đó, năng lượng ánh sáng được chuyển hóa thành nguồn hóa năng dưới dạng NADPH (Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate-oxidase), và hợp chất cao năng lượng ATP (Adenosine triphosphate). Kế tiếp là phản ứng trong pha tối, xảy ra trong chất nền của lục lạp (stroma), còn gọi là quá trình hoạt hóa enzyme, hoặc tên gọi phổ biến hơn là chu trình Calvin-Benson. Do đó, bất kì sự thiếu hụt của một trong hai pha sáng hay tối này đều cản trở quá trình sinh trưởng của vi tảo. Về mặt tổng quát, chu kỳ quang 18 giờ sáng: 6 giờ tối, hoặc 12 giờ sáng : 12 giờ tối được tin là khoảng phù hợp cho quá trình sinh trưởng của nhiều quần thể vi tảo [10]. Đặc biệt, trong một số quá trình nuôi cấy vi tảo, khi mà cường độ ánh sáng vượt qua mức bão hòa (khoảng cường độ ức chế), việc giảm số giờ chiếu sáng trong chu kỳ quang được cho là giải pháp hữu hiệu để duy trì sinh trưởng quần thể vi tảo ở mức cao [99].



Hình 1.3. Ảnh hưởng của cường độ chiếu sáng lên quang hợp ở vi tảo

R_d : Respiration in Dark - hô hấp trong điều kiện tối; P_{max} : Photosynthesis of Maximum - quang hợp cực đại; I_c : Intensity of Critical - Cường độ ánh sáng tới hạn; I_k : Intensity of konstant - Hằng số cường độ ánh sáng; I_i : Intensity of inhibition - Cường độ ánh sáng ức chế.

Điểm nổi bật trong các nghiên cứu ảnh hưởng chu kỳ quang trên vi tảo, các nhà nghiên cứu thường quan tâm nhiều hơn đến thành phần sinh hóa tế bào vi tảo. Theo đó, nhiều bằng chứng từ các công trình nghiên cứu chỉ ra rằng, chu kỳ quang là một trong những yếu tố quyết định đến thành phần sinh hóa, hàm lượng sắc tố, sinh tổng hợp lipid và thành phần các axit béo [59]. Đơn cử, Maryam Al-Qasmi (2012) cho rằng, trong cùng một điều

kiện nuôi cấy, việc tăng số giờ chiếu sáng của chu kì quang sẽ làm tăng hàm lượng axit béo no và làm giảm hàm lượng axit béo không no thiết yếu như EPA, và DHA [7]. Không giống như việc xác định cường độ chiếu sáng tối ưu cho nuôi cấy là khá phức tạp, chu kì quang phù hợp để cân đối các giá trị dinh dưỡng của hầu hết các loài vi tảo đang được nuôi cấy hiện nay có số giờ sáng trong khoảng từ 12-18 giờ [9, 10, 45, 73].

Quang phổ ánh sáng được qui định bởi bước sóng ánh sáng, nên trong hầu hết các tài liệu, hai thuật ngữ này được đồng hóa lẫn nhau. Cũng như cường độ chiếu sáng và chu kì quang, quang phổ ánh sáng ảnh hưởng cả tới kết quả sinh trưởng và các thành phần sinh hóa nội bào vi tảo [84]. Về mặt nguyên lý, quang hệ II được kích thích bởi ánh sáng đỏ, trong khi đó, quang hệ I được hoạt hóa mạnh bởi ánh sáng màu lam. Hay nói cách khác, cả ánh sáng đỏ và lam là cần thiết cho quá trình quang hợp của vi tảo [18]. Nghiên cứu về ảnh hưởng của từng quang phổ lên sinh trưởng và thành phần sinh hóa tế bào, Yang và Wealthers (2015) đã chỉ ra rằng, ánh sáng màu đỏ (bước sóng từ 600-700 nm) là tối ưu cho sinh trưởng của vi tảo, trong khi đó ánh sáng màu lam (bước sóng 400-525 nm) là quang phổ màu kích thích tổng hợp lipid và các carotenoid, đôi khi cả sắc tố phụ (accessory pigment/chlorophyll b) và chuyển hóa vật chất thứ cấp (secondary metabolism) [128]. Không khó để nhận ra rằng, việc bố trí các quang phổ màu riêng biệt, hoặc cộng hợp một vài quang phổ màu đơn lẻ trong nuôi cấy vi tảo phục vụ nuôi trồng thủy sản là khá phức tạp, tốn kém chi phí cũng như tính linh hoạt trong ứng dụng không cao. Đây có lẽ là lý do giải thích rằng các cơ sở sản xuất giống thủy sản trong nước cũng như nhiều nước thế giới thường đơn giản hóa khâu này thông qua việc sử dụng ánh sáng trắng từ đèn huỳnh quang, đèn led hoặc ánh sáng mặt trời.

Nhiệt độ

Song song với ánh sáng, nhiệt độ được xem là yếu tố môi trường quan trọng, có tính quyết định lên các quần thể vi tảo. Cụ thể, nhiệt độ ảnh hưởng tới tốc độ sinh trưởng, phát triển, đặc điểm hình thái cấu tạo tế bào, phản ứng sinh lý nội bào cũng như thành phần sinh hóa.

Bắt đầu từ quá trình quang hợp của vi tảo bao gồm hai phản ứng trong pha sáng và pha tối. Trong đó vai trò của các enzyme carboxylase và oxygenase ảnh hưởng nhiều tới hiệu suất của các phản ứng này. Nhiều nghiên cứu đã chỉ ra, cùng với ái lực của các enzyme với CO₂ và O₂, thì nhiệt độ là yếu tố quyết định đến hoạt tính của các enzyme này [101]. Cụ thể, nhiệt độ môi trường tăng từ điểm giới hạn dưới đến giá trị cực thuận,

hoạt tính các enzyme này tăng mạnh, kết quả là sinh trưởng quần thể tăng nhanh (theo hàm số mũ). Biểu diễn cho mối tương quan này, Ahgren, G (1987) đã phát triển công thức xác định hệ số tương quan nhiệt độ (temperature coefficient - Q10) và tốc độ sinh trưởng của quần thể vi tảo dựa trên nền tảng phương trình nhiệt Van't Hoff (1984), theo đó nhiệt độ môi trường tăng 10°C (Q10), tốc độ phân chia/sinh trưởng quần thể vi tảo tăng gấp hai lần [6].

Luôn tồn tại một khoảng giá trị về nhiệt độ mà ở đó tốc độ sinh trưởng của quần thể vi tảo đạt được tối đa (μ_{max}), đây được gọi là khoảng nhiệt độ tối ưu cho sinh trưởng quần thể vi tảo. Phần lớn các nhà tảo học cho rằng, trong khoảng nhiệt độ tối ưu này, hiệu suất quá trình quang hợp vi tảo đạt được cực đại mà không làm thay đổi đáng kể đến thành phần sinh hóa hay những phản ứng sinh lý đặc trưng của vi tảo [101]. Khoảng nhiệt độ tối ưu phần lớn phụ thuộc vào các chủng/loài vi tảo, đôi khi là điều kiện nuôi cấy cụ thể. Ras, M và cộng sự (2013) đã chỉ ra rằng, hầu hết các loài vi tảo trong nuôi trồng thủy sản có khoảng nhiệt độ tối ưu trong khoảng 25°C. Ngoài ra, một số chủng loài vi tảo ưa nhiệt độ cao như *Chaetoceros*, *Anacytis nidulans* có khoảng tối ưu về nhiệt độ ở 40°C. Ngược lại, một số chủng loài ưa nhiệt độ thấp như *Asterionella formosa* có khoảng nhiệt độ tối ưu trong khoảng 17-20°C [101].

Về mặt cơ chế, vi tảo luôn có những sự thay đổi để thích ứng với từng điều kiện nhiệt độ của môi trường, nhất là các điều kiện bất lợi thông qua kích hoạt một số hormone, enzyme tham gia vào quá trình sinh tổng hợp lipid (IAA, ABA, Acetyl CoA carboxylase) hay các enzyme tham gia vào quá trình cố định carbon (RuBisCO). Kết quả làm thay đổi hàm lượng cũng như thành phần các axit béo. Nhiều nhà khoa học đồng thuận rằng việc tăng nhiệt độ môi trường là nguyên nhân cho sự thay đổi độ nhớt của nguyên sinh chất tế bào cũng như hiệu quả sử dụng carbon, nitrogen giảm kết quả là làm tăng tích lũy triacyl-glyceride. Tuy nhiên sự biến đổi cụ thể về tổng hàm lượng lipid nội bào bào lại khác nhau ở từng loài và một số điều kiện nuôi cấy cụ thể. Nghiên cứu được thực hiện bởi Converti và cộng sự (2009) khi tiến hành quan sát sự thay đổi hàm lượng lipid tổng số trên hai loài vi tảo *Nannochloropsis oculata* và *Chlorella vulgaris* khi tăng nhiệt độ môi trường nuôi cấy từ 25 đến 30 °C. Kết quả nghiên cứu chỉ ra rằng hàm lượng lipid ở vi tảo *N. oculata* tăng từ 7,9 lên 14,92%, ngược lại xu hướng giảm hàm lượng lipid tổng số xuất hiện ở loài *C. vulgaris* từ 14,71-5,90% [41]. Một điểm lý thuyết quan trọng khác rất đáng lưu ý là khi nhiệt độ môi trường nuôi cấy tăng,

thì tỷ lệ các nhóm axit béo no thường tăng, trong khi đó các axit béo không no thường giảm, nhất là EPA và DHA [64, 102].

Ngoài ra, nhiệt độ còn ảnh hưởng đến nhiều các thành phần sinh hóa tế bào khác như hàm lượng protein (bao gồm cả thành phần các axit amin thiết yếu), carbohydrate, sắc tố (bao gồm cả chlorophyll và carotenoid), và kích thước tế bào. Đơn cử, việc tăng nhiệt độ làm giảm quá trình sinh tổng hợp protein ở vi tảo *Phaedactylum tricornutum*, *Scenedesmus* sp. Kết quả làm giảm hàm lượng protein nội bào vi tảo. Ở một số loài vi tảo có khả năng kích thích tổng hợp cao như *Dunaliella salina*, *Haematococcus* sp. việc tăng nhiệt độ là yếu tố tiên quyết kích thích quá trình sinh tổng và tích lũy β -carotene hay Astaxanthin [52, 64, 97, 101].

Độ mặn

Cũng giống như phần lớn các yếu tố môi trường khác trong nuôi cấy vi tảo. Độ mặn ảnh hưởng tới sinh trưởng, phát triển, và thành phần sinh hóa tế bào ở hai phương diện là tác động trực tiếp và tác động gián tiếp. Tác động gián tiếp của độ mặn lên sinh trưởng và phát triển của vi tảo thông qua việc làm thay đổi thông số môi trường khác như khí CO₂ hòa tan, khí độc (nhất là H₂S và NH₃), và độc tính của kim loại nặng [28]. Quan trọng hơn, độ mặn ảnh hưởng trực tiếp đến vi tảo thông qua một số tác động như (1) điều hòa áp suất thẩm thấu (osmotic pressure), (2) quá trình quang hợp, và (3) quá trình sinh tổng hợp lipid của vi tảo [8, 54].

Sinh lý trade-off là một trong những cơ chế phức tạp nhất trong vi tảo nói riêng và sinh vật nói chung. Tuy nhiên, đây lại là cơ sở lý luận giải thích cho rất nhiều biểu hiện, phản ứng mà trước đây chưa từng được làm rõ. Ảnh hưởng của độ mặn lên tốc độ sinh trưởng của quần thể vi tảo phần nào đó được giải thích qua cơ chế sinh lý này. Theo đó, các tế bào vi tảo đều có khả năng ưu tiên dành nguồn năng lượng nội bào để duy trì thành phần sinh hóa đặc trưng, cấu trúc tế bào trong một số điều kiện khắc nghiệt của môi trường sống. Nghiên cứu của Strizh và các cộng sự 2004 đã chỉ ra rằng, ở vi tảo *Tetraselmis viridis* tăng khả năng chống lại sự thay đổi về độ mặn của môi trường thông qua phản ứng cân bằng nội mô của Na⁺ transporting ATPase để duy trì ion trong tế bào chất [116]. Nguồn năng lượng dành cho phản ứng sinh lý này càng nhiều, thì nguồn năng lượng dành cho các quá trình sinh lý khác càng bị ít đi. Kết quả là sinh trưởng, phát triển của vi tảo sẽ bị ảnh hưởng [54, 84].

Mỗi một chủng, loài vi tảo có những đặc điểm khác nhau về khả năng chống chịu và thích nghi với độ mặn môi trường sống. Tuy nhiên, kết quả của nhiều nghiên cứu, và hoạt động thực tiễn đã chỉ ra rằng khoảng độ mặn phù hợp nhất cho nuôi cấy hầu hết các chủng loài vi tảo trong nuôi trồng thủy sản nói chung và trong sản xuất giống tôm thẻ chân trắng nói chung trong khoảng 20-25 ‰.

Bảng 1.5. Khoảng độ mặn tối ưu cho nuôi cấy một số loài vi tảo

Loài vi tảo	Độ mặn tối ưu (‰)	Sản xuất sinh khối/ Sinh trưởng	Nguồn
<i>Nannochloropsis sp.</i>	15-20	0,76-0,85 ^a	[50]
<i>Tetraselmis suecica</i>	15-20	0,53-0,63 ^a	[50]
<i>Isochrysis galbana</i>	15-25	NA	[70]
<i>Chaetoceros muelleri</i>	25-27	39 ^b	[84]
<i>Skeletonema costatum</i>	30	0,28 ^a	[49]
<i>Thalassiosira weissflogii</i>	25	1,24 ^a	[53]
<i>Thalassiosira pseudonana</i>	25	19,5×10 ⁵ ^c	[17]

Chú thích: NA (non-available) không xác định được; ^a tốc độ sinh trưởng quần thể (/ngày); ^b năng suất sinh khối (mg/L/ngày); ^c mật độ cực đại (tb/mL).

Muối dinh dưỡng bổ sung

Trong nuôi cấy vi tảo, mật độ tế bào thường cao hơn rất nhiều lần so với các thủy vực tự nhiên, hay ao nuôi trồng thủy sản thông thường khác. Nhu cầu về nguồn năng lượng, và vật chất để tổng hợp lên tế bào là rất lớn. Điều này giải thích cho việc bổ sung các muối dinh dưỡng vào dịch nuôi cấy là một kỹ thuật tất yếu trong nuôi cấy vi tảo. Hướng nghiên cứu ảnh hưởng của các muối dinh dưỡng bổ sung lên sinh trưởng, phát triển và thành phần sinh hóa của vi tảo cũng là một trong những hướng nghiên cứu được quan tâm nhiều nhất, đặc biệt trong lĩnh vực nghiên cứu ứng dụng. Về căn bản, người ta chia các thành phần dinh dưỡng bổ sung thành 2 nhóm chính là (1) Muối dinh dưỡng đa lượng (macronutrient) bao gồm muối dinh dưỡng nitrogen, muối dinh dưỡng phosphorus, muối dinh dưỡng sililcon, và (2) vi lượng bao gồm muối khoáng (trace metals) và vitamin (vitamin).

Nitrogen là nguyên tố chính thứ hai (sau carbon) trong thành phần tế bào vi tảo, chiếm tỷ lệ từ 1-14% khối lượng khô tế bào (phổ biến nhất trong các loài vi tảo là 5-10%) [104]. Nitrogen tham gia xây dựng các thành phần của tế bào vi tảo như axit nucleic, axit amin (protein), sắc tố (như chlorophyll và phycocyanin). So với hầu hết các loài thực vật lớn (higher plant) khác, hàm lượng protein trong các tế bào vi tảo thường cao hơn rất nhiều, khoảng 30-60% [21]. Hay nói cách khác nhu cầu nitrogen để sinh trưởng và phát triển của vi tảo là rất cao và đặc biệt cần thiết, đây chính là cơ sở khoa học cơ bản nhất của việc bổ sung thêm lượng muối dinh dưỡng nitrogen cho quá trình nuôi cấy [78]. Cơ chế tác động của các dạng và hàm lượng muối dinh dưỡng nitrogen lên sinh trưởng và phát triển của vi tảo tương đối phức tạp, liên quan tới biểu hiện của các gene hấp thu, vận chuyển protein nằm trên lớp màng tế bào (cell membrane).

Vi tảo có khả năng hấp thu hầu hết các dạng nitrogen như nitrogen hữu cơ, và muối dinh dưỡng nitrogen (NO_2^- nitrite; NO_3^- nitrate; và NH_4^+ ammonium) [78]. Các muối dinh dưỡng là dạng phổ biến và quan trọng nhất cho sinh trưởng của hầu hết các loài vi tảo, đặc biệt là nitrate. Nhiều loài vi tảo lam (cyanobacteria) và một số loài tảo silic (diatom) có khả năng cố định N_2 tự do thành NH_4^+ thông qua phức hệ enzyme nitrogenase (nitrogenase enzyme complex). Tuy nhiên, quá trình này rất tiêu tốn năng lượng lớn (từ 1 phân tử N_2 cần 16 phân tử ATP để tạo ra 2 phân tử NH_3), và không mang nhiều ý nghĩa trong khoa học ứng dụng của vi tảo. Nguồn dinh dưỡng tiếp theo là nitrogen hữu cơ (phần lớn là axit amin). Khả năng hấp thu nitrogen hữu cơ ở vi tảo xảy ra trên cả các loài tự dưỡng (autotrophic) và dị dưỡng (heterotrophic), tuy nhiên, nhiều kết quả nghiên cứu đã chỉ ra nhiều khó khăn trong ứng dụng (đặc biệt là khó kiểm soát tốc độ sinh trưởng) vi tảo, nhất là nuôi trồng thủy sản [24, 78].

Sau nitrogen, thì phosphorus là yếu tố thứ hai ảnh hưởng lớn đến sinh trưởng, tổng hợp lipid, thành phần axit béo, và các quá trình trao đổi chất ở vi tảo. Phosphorus chiếm khoảng 1% tổng khối lượng khô tế bào và nhu cầu về nồng độ trong môi trường nuôi cấy hầu hết các loài vi tảo khoảng 0,03-0,06% (khối lượng) cho vi tảo sinh trưởng và phát triển. Phosphorus tham gia vào xây dựng một số thành phần của tế bào như màng phospholipid, DNA, RNA, và hợp chất cao năng lượng ATP [126].

Tương tự như nitrogen, việc bổ sung phosphorus là cần thiết trong quá trình nuôi cấy vi tảo. Mặc dù vậy, muối dinh dưỡng phosphorus sử dụng để nuôi cấy vi tảo lại đơn giản hơn. Có hai dạng muối phosphorus mà vi tảo có thể hấp thu bao gồm polyphosphate $[(PO_4^{3-})_n]$ và orthophosphate (PO_4^{3-}) . Trong khi polyphosphate được cho là cần thiết cho một số ít quá trình sinh lý của vi tảo, nhất là tăng khả năng chống chịu với độc tính của kim loại nặng [98], thì orthophosphate dường như là cần thiết cần thiết hơn và dễ được hấp thu hơn bởi vi tảo [126].

Xu hướng tác động của hàm lượng phosphorus trong môi trường nuôi cấy đến sinh trưởng, phát triển và thành phần sinh hóa của vi tảo cũng tương tự như ở nitrogen. Cụ thể, quần thể vi tảo phát triển nhanh trong điều kiện môi trường đầy đủ muối dinh dưỡng phosphorus. Theo Roopnarain và các cộng sự (2014) thì nồng độ phosphorus tối ưu cho sinh trưởng quần thể hầu hết các loài vi tảo trong khoảng 0,001 g/L [106]. Ở chiều hướng ngược lại, khi mà điều kiện môi trường nuôi cấy cạn kiệt muối dinh dưỡng phosphorus, sẽ kích thích một số quá trình sinh tổng hợp lipid, axit béo. Vi tảo lục *Scenedesmus* sp. có khả năng tăng hàm lượng lipid từ 22,3% trong điều kiện nuôi cấy có hàm lượng phosphorus 50 mg/L, lên tới 42,5% trong điều kiện nghèo hàm lượng phosphorus tại 1 mg/L. Tương tự như vậy, nhiều kết quả nghiên cứu thực hiện trên các loài vi tảo khác *Rhodospiridium kratochvilovae*, *Isochrysis galbana*, cũng chứng minh cơ chế kích thích sinh tổng hợp lipid trong điều kiện cạn kiệt muối dinh dưỡng phosphate [93, 127].

Bên cạnh các yếu tố môi trường sống kể trên có ảnh hưởng lớn đến sinh trưởng quần thể, thành phần sinh hóa vi tảo thì còn nhiều yếu tố khác như chế độ sục khí, CO₂ bổ sung, pH, độ kiềm, khoáng bổ sung.

1.2. Tổng quan về tôm he

1.2.1. Một số đặc điểm hình thái và phân loại

Họ tôm he bao gồm bốn giống (*Penaeus*, *Metapenaeus*, *Parapenaeopsis*, và *Metapenaeopsis*) và nhiều loài trong hệ thống phân loại. Trong đó có khoảng tám loài đã được nghiên cứu và trở thành đối tượng nuôi cho sản lượng lớn bao gồm tôm sú (*Penaeus monodon*), tôm nường (*P. chinensis*), tôm thẻ chân trắng (*P. vannamei*), tôm bạc thẻ (*P. merguensis*), tôm thẻ Ấn Độ (*P. indicus*), tôm he Nhật Bản (*P. japonicus*) và tôm rảo (*Metapenaeus ensis*). Ở khía cạnh phân loại học, họ tôm he thuộc bộ Decapoda, lớp Malacostraca, và ngành Arthropoda.

Về hình thái cấu tạo, người ta chia cơ thể tôm thành hai phần tách biệt là phần đầu ngực và phần bụng. Phần đầu ngực có 14 đôi phần phụ bao gồm một đôi mắt kép, hai đôi râu, ba đôi chân bơi và năm đôi chân bò. Đôi mắt kép giữ các chức năng khuour giác và giữ thăng bằng cho cơ thể. Các đôi chân bơi làm nhiệm vụ bắt và giữ con mồi. Phần đầu ngực nằm trong lớp vỏ chitin, gọi là giáp đầu ngực. Ở giáp đầu ngực có các gai, rãnh, và gờ, đây là các đặc điểm hình thái để phân loại giữa các giống và loài trong nhóm họ tôm he. Phía trên và trước giáp đầu ngực là chủy đầu. Hình dạng và số lượng các gai trên chủy và dưới chủy là khác nhau ở từng loài tôm he. Đây cũng là đặc điểm quan trọng và dễ nhận biết để phân biệt các loài trong họ tôm he này [3, 42].

Có bảy đốt ở phần bụng của tôm he. Năm đôi chân bơi hay còn gọi là chân bụng nằm ở năm đốt đầu tiên của phần bụng này. Đốt bụng cuối cùng phát triển thành telson hợp với đôi chân đuôi phân nhánh tạo thành đuôi. Phần đuôi giúp cho các hoạt động lên xuống theo độ sâu cột nước hay búng nhảy của tôm [3].

Tôm he bao gồm nhiều giống và loài, mỗi một loài có những đặc điểm phân bố địa lý khác nhau tùy theo đặc tính của loài. Ở Việt Nam hai loài tôm he phổ biến và có giá trị kinh tế lớn là tôm sú (*P. monodon*) và tôm thẻ chân trắng (*P. vannamei*). Tôm sú được biết đến là loài bản địa Việt Nam, được phân bố chủ yếu ở các khu vực ven biển miền trung và một số tỉnh phía Nam (Kiên Giang). Ở giai đoạn ấu trùng và đầu hậu ấu trùng ($\leq PL\ 5$), tôm sú có đời sống trôi nổi ở tầng mặt và tầng giữa. Cuối giai đoạn hậu ấu trùng, tôm chuyển sang sống đáy và di cư dần ra xa bờ để thành thực và sinh sản [3].

Trong khi đó, tôm thẻ chân trắng (*P. vannamei*) là đối tượng nuôi ngoại nhập, có nguồn gốc từ bờ biển phía Đông Thái Bình Dương, từ Sonora, Mexico ở phía Bắc, qua Trung và Nam Mỹ, và kéo dài đến Tumbes ở Peru, ở những nơi có nhiệt độ nước thường $\geq 20^{\circ}C$. Vùng biển nhiệt đới là nơi phân bố chủ yếu của tôm thẻ chân trắng. Con trưởng thành sống và đẻ trứng ngoài biển khơi, hậu ấu trùng di cư vào bờ biển để trải qua giai đoạn con non, thiếu niên và trưởng thành ở các cửa sông ven biển, đầm phá hoặc khu vực rừng ngập mặn [3, 42].

1.2.2. Một số đặc điểm sinh trưởng và phát triển ấu trùng tôm he

Quá trình phát triển phôi bao gồm nhiều giai đoạn nhỏ, bắt đầu từ khi trứng được thụ tinh đến khi trứng nở. Thời gian phát triển phôi của ấu trùng khoảng từ 12 đến trên 20 giờ phụ thuộc vào loài và một số điều kiện môi trường sống nhất là nhiệt độ. Kết thúc quá trình phát triển phôi là giai đoạn phát triển của ấu trùng. Dựa vào các đặc điểm về

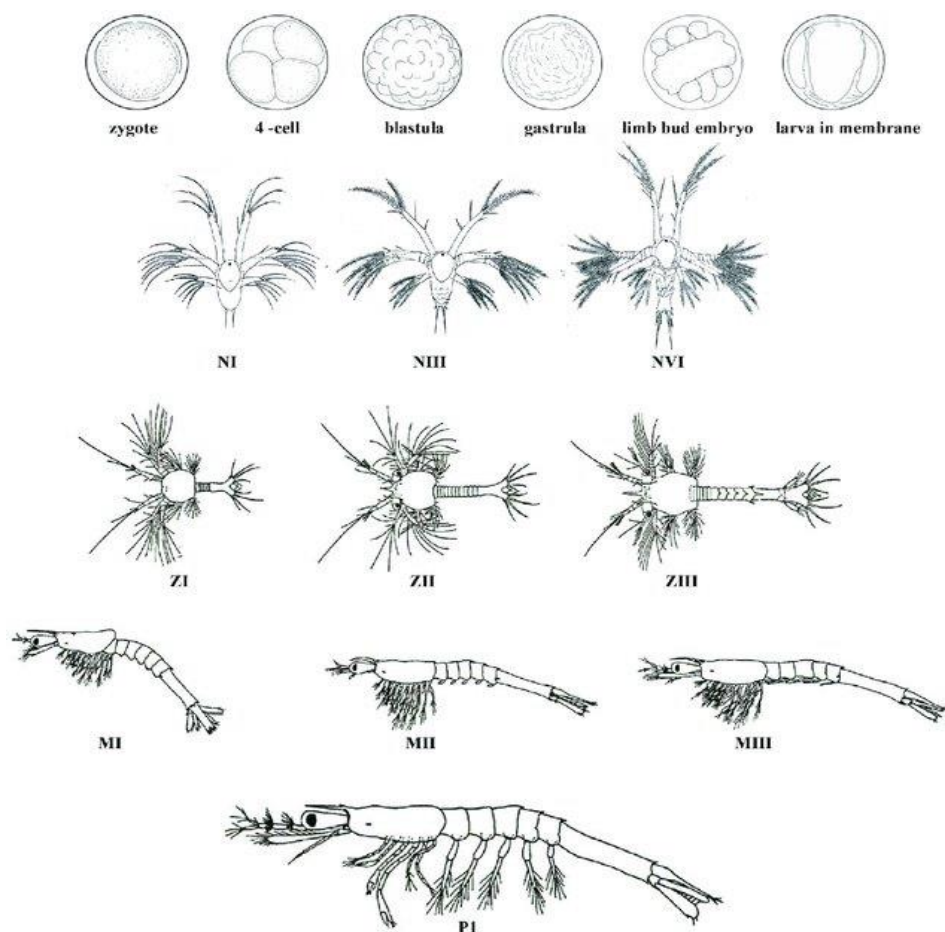
hình thái, tập tính bơi lội, bắt mồi, người ta chia các giai đoạn phát triển của ấu trùng tôm thành 4 giai đoạn nauplius (N), zoea (Z), mysis (M) và post-larvae (PL) [3].

Đặc điểm nhận dạng ấu trùng nauplius của tôm he là bao gồm 3 đôi phần phụ và một điểm mắt. Trong đó, đôi phần phụ thứ nhất không phân nhánh là mầm của đôi râu 1. Các đôi phần phụ còn lại được phân thành các nhánh là mầm cho các đôi râu còn lại và đôi hàm. Trên phần phụ này có lông cứng nhỏ, dạng lông chim. Ở hầu hết các loài tôm he, người ta chia giai đoạn nauplius thành 6 giai đoạn phụ. Ngoại trừ trường hợp duy nhất ở loài *P. setiferus*, giai đoạn nauplius được chia thành 5 giai đoạn phụ. Các đặc điểm về gai đuôi, các máu lồi của các đôi hàm, chân hàm là các đặc điểm quan trọng để phân biệt các giai đoạn phụ nauplius [3].

Kết thúc giai đoạn nauplius, ấu trùng chuyển sang giai đoạn zoea. Người ta chia giai đoạn zoea thành 3 giai đoạn phụ khác nhau về các đặc điểm chủ đầu, cuống mắt, và mầm chân đuôi. Cơ thể ấu trùng Z_1 kéo dài, chia thành hai phần là phần đầu và phần sau. Chủ đầu bắt đầu xuất hiện ở ấu trùng Z_2 . Ở giai đoạn này cuống mắt và mầm chân đuôi chưa xuất hiện. Giai đoạn Z_2 , ấu trùng bơi lội chủ động về phía trước nhờ hai đôi râu và ba đôi chân hàm. Sang giai đoạn Z_3 , phần đầu ngực được hình thành và bao phủ bởi giáp đầu ngực. Mặt bụng có mầm của các đôi chân ngực, phần bụng được chia thành 7 đốt riêng biệt bao gồm 6 đốt bụng và 1 chạc đuôi. Ấu trùng ở giai đoạn zoea bắt đầu sử dụng thức ăn ngoài với hình thức ăn lọc là chủ yếu. Cuối giai đoạn zoea, ấu trùng cũng có khả năng bắt mồi chủ động. Thức ăn của ấu trùng là sinh vật phù du và mùn bã hữu cơ. Khoảng thời gian cho mỗi giai đoạn phụ trung bình khoảng 36 giờ (30-42 giờ) tùy theo tình trạng sinh lý ấu trùng và điều kiện nhiệt độ môi trường ương nuôi [3].

Giống như ở giai đoạn zoea, giai đoạn mysis cũng được chia thành 3 giai đoạn phụ. Các đặc điểm về sự phát triển của mầm chân bụng, tập tính bơi lội là đặc điểm chính để phân biệt các giai đoạn phụ mysis. Giai đoạn M_1 , chưa có mầm chân bụng, cơ thể thon dài, hơi thẳng. Sang giai đoạn M_2 , mầm chân bụng có 1 đốt, cơ thể bắt đầu cong gập, tập tính bơi lội búng ngược xuất hiện. Giai đoạn M_3 , mầm chân bụng có 2 đốt, cơ thể cong gập, xu hướng di chuyển xuống đáy bể ương, bơi lội bằng búng ngược [3].

Giai đoạn hậu ấu trùng postlarval, tôm đã có hình dạng đặc trưng của loài. Sắc tố được hình thành và hoàn thiện. Post-larvae có tập tính bơi thẳng, định hướng về phía trước bằng 5 đôi chân bụng. Tuổi hậu ấu trùng post-larvae tôm he được tính theo ngày. Thời gian cho mỗi lần lột xác phụ thuộc vào từng loài cụ thể, tình trạng sinh lý, và điều kiện ương nuôi [3].



Hình 1.4. Quá trình phát triển phôi và ấu trùng tôm thẻ chân trắng [123]

Hiện trạng ương nuôi ấu trùng tôm he ở Việt Nam mang nhiều nét đặc trưng và tương đối khác biệt phụ thuộc vào từng cơ sở sản xuất cụ thể. Một số đơn vị sản xuất giống tôm có qui mô và sản lượng PL lớn bao gồm Tập đoàn thủy sản Việt Úc, Công ty cổ phần chăn nuôi C.P. Việt Nam, Công ty TNHH Sản xuất giống Thủy sản Minh Phú, Công ty TNHH Khoa Kỹ Sinh Vật Thăng Long, Công ty TNHH Đầu tư Thủy sản Nam Miền Trung, Công ty TNHH Bình Minh Capital .v.v. Bên cạnh những khác biệt trong qui trình kỹ thuật giữa các cơ sở này về nguồn tôm bố mẹ, qui trình xử lý nước, thức ăn công nghiệp, và men vi sinh thì có điểm chung là sử dụng vi tảo *Thalassiosira weissflogii* làm nguồn thức ăn cho ấu trùng từ giai đoạn Zoea 1 đến Postlarval 1 [75]. Các tiêu chí đánh giá chất lượng tôm giống khá phong phú nhưng cơ bản nằm ở tỷ lệ sống, chiều dài thân, mức độ phân đàn (CV), hình thái, tình trạng gan tụy, tỷ lệ cơ ruột, khả năng chịu shock môi trường và sạch các mầm bệnh nguy hiểm. Kết quả ương nuôi ấu trùng tôm tương đối khác nhau, không chỉ phụ thuộc vào từng cơ sở sản xuất mà còn phụ thuộc vào mùa vụ, thời tiết, tình hình dịch bệnh. Qua khảo sát thực tế, tỷ lệ sống (tính đến thời điểm xuất bán) đạt khoảng 60-80%, chiều dài PL₁₂ khoảng 10,5-12,5 mm, CV khoảng 10-18%.

1.2.3. Nhu cầu dinh dưỡng ấu trùng tôm he

Nghiên cứu nhu cầu dinh dưỡng của giáp xác nói chung và động vật thủy sản nói riêng đòi hỏi nhiều kỹ thuật phức tạp, đặc biệt là ở giai đoạn ấu trùng. Do đó, những hiểu biết về đặc điểm dinh dưỡng của ấu trùng tôm còn nhiều hạn chế. Phần lớn các nguồn thông tin được áp dụng từ những dẫn liệu khoa học trên giai đoạn ấu niên hay trưởng thành. Mặc dù vậy, quan điểm chung là những thành phần dinh dưỡng mà giáp xác không tự tổng hợp được ở giai đoạn ấu niên hay trưởng thành cũng là thành phần dinh dưỡng thiết yếu ở giai đoạn ấu trùng [11]. So sánh với giai đoạn ấu niên và trưởng thành, cấu trúc cơ thể tôm ở giai đoạn ấu trùng chưa hoàn thiện, nhiều quá trình sinh tổng hợp các chất chưa được thực hiện một cách đầy đủ, nhu cầu về các dưỡng chất này cần được bổ sung trực tiếp từ nguồn thức ăn. Một luận điểm quan trọng cần được nhấn mạnh rằng tốc độ của các quá trình trao đổi, chuyển hóa vật chất, và sinh trưởng tôm giai đoạn ấu trùng cao hơn các giai đoạn ấu niên, trưởng thành nên ấu trùng tôm thường có độ nhạy cảm cao với các tình trạng thiếu các chất dinh dưỡng thiết yếu. Giống như nhiều động vật thủy sinh khác, ấu trùng tôm he có đầy đủ các nhu cầu dinh dưỡng về protein, lipid, carbohydrate, khoáng chất và vitamin cho sinh trưởng và phát triển [11, 112].

Nhu cầu protein và axit amin

Protein là thành phần chính trong cấu trúc mô của cơ thể và chức năng của mọi sinh vật, bao gồm cả tôm he. Nhìn chung, nhu cầu protein rất cao trong khẩu phần ăn của ấu trùng tôm he để đáp ứng cho tốc độ cao các quá trình sinh tổng hợp, cấu tạo các mô trong cơ thể trong những giai đoạn này. Sử dụng các kỹ thuật vi nang và đánh dấu phóng xạ, người ta xác định được 10 axit amin thiết yếu cho tôm he ở cả các giai đoạn từ ấu trùng tới con trưởng thành bao gồm, arginine, valine, threonine, methionine, leucine, isoleucine, phenylalanine, lysine, histidine, và tryptophan [11]. Tương tự như ở cá và các động vật bậc cao khác, các axit amin này là tiền chất cho các quá trình sinh tổng hợp protein trong cơ thể ấu trùng tôm. Hàm lượng axit amin thiết yếu trong cơ thể hoàn toàn phụ thuộc vào đặc điểm nguồn thức ăn bổ sung. Ngược lại, lượng axit amin không thiết yếu (asparagine, serine, axit glutamic, proline, glycine, alanine, cystine, và tyrosine) trong cơ thể được điều hòa thông qua các quá trình sinh lý ở từng điều kiện cụ thể [11].

Nhu cầu protein trong khẩu phần ăn của ấu trùng tôm he dao động trong khoảng 30-56%, phụ thuộc vào đặc điểm nguồn thức ăn, giai đoạn phát triển, tình trạng sinh lý và các đặc điểm lý hóa học môi trường khác [11]. Sheen & Huang (1998) đã chỉ ra rằng khả năng tiêu hóa thức ăn của ấu trùng tôm sú, *Penaeus monodon*, là khác nhau phụ thuộc vào giai đoạn phát triển. Ở giai đoạn zoea II, khả năng tiêu hóa thức ăn của ấu trùng tôm là không khác biệt với 3 khẩu phần thức ăn khác nhau, nhưng sự khác biệt lớn được ghi nhận khi ấu trùng tôm chuyển sang giai đoạn mysis II [110]. Đặc điểm nguồn thức ăn (phần lớn là thành phần và hàm lượng axit amin) cũng ảnh hưởng lớn tới khả năng tiêu hóa và hấp thu của ấu trùng tôm [11]. Quan sát trên ấu trùng tôm hùm *Homarus americanus*, các nhà khoa học đã nhận ra rằng hiệu suất quá trình chuyển hóa protein của ấu trùng tôm tăng lên khi hàm lượng protein trung bình trong khẩu phần ăn thấp, và ngược lại [35]. Nhiều bằng chứng khoa học cũng đã chỉ ra rằng tỷ lệ sống của hậu ấu trùng tôm he tăng lên trong điều kiện khẩu phần ăn có nguồn protein dễ tiêu hóa và hấp thu [11]. Điều kiện môi trường sống cũng ảnh hưởng tới nhu cầu protein của tôm he và nhiều loài động vật thủy sinh khác. Kết quả nghiên cứu của Shiau và cộng tác viên (1991) đã chỉ ra rằng, tôm sú có nhu cầu protein trong khẩu phần ăn cao hơn trong điều kiện độ mặn môi trường sống thấp. Các nhà nuôi trồng thủy sản học cho rằng tôm và giáp xác có xu hướng sử dụng protein (thay vì lipid) làm nguồn năng lượng cho các quá trình sinh lý cơ thể trong điều kiện môi trường độ mặn thấp, đây để giải thích cho nhu cầu protein của ấu trùng tôm he khác nhau trong các điều kiện khác nhau về độ mặn môi trường [112].

Nhu cầu lipid và axit béo

Không giống nhu cầu protein, ấu trùng và tôm he trưởng thành đều không có nhu cầu lipid một cách nhất định, do đó việc xác định nhu cầu lipid trong khẩu phần thức ăn tôm thường gặp nhiều khó khăn. Nhu cầu lipid được khuyến cáo trong nhiều tài liệu trong khoảng 6-7,5% và tối đa không vượt quá 10% [112]. Một số khác thì cho rằng nhu cầu lipid ấu trùng tôm he nên ở khoảng 5,5% [11]. Ngược lại, thành phần các nhóm lipid và axit béo đường như quan trọng hơn đối với ấu trùng tôm he. Khi nhắc tới nhu cầu dinh dưỡng lipid của ấu trùng tôm, phần đông các học giả cho rằng có ba khía cạnh cần đặc biệt chú ý là axit béo không no đa nối đôi mạch dài, phospholipids, và sterols [112].

Lipid trung tính, nhất là triacylglycerides (TAG), có vai trò quan trọng cho ấu trùng tôm. Là nguồn năng lượng dự trữ cho tôm he nói riêng và động vật thủy sản nói chung. Lipid này được tích tụ và lưu trữ ở gan tụy, là yếu tố quyết định cho ấu trùng tôm trong những thời điểm thiếu hụt nguồn thức ăn. Một số lipid khác như phospholipid, và hầu hết các axit béo không no đa nối đôi mạch dài ($C \geq 20$, L-PUFAs) không hoặc rất hiếm tự tổng hợp được bởi các động vật giáp xác nói chung. Các lipid này thường phải được cung cấp từ nguồn thức ăn [11, 39].

Phospholipid tham gia vào cấu trúc màng tế bào cơ thể ấu trùng và đóng vai trò quan trọng trong quá trình điều hòa áp suất thẩm thấu (kích hoạt cho quá trình truyền tải Natri tại lớp màng tế bào). Bên cạnh đó, phospholipid tham gia chính vào quá trình vận chuyển các thành phần lipid trong mạch bạch huyết dưới dạng hợp chất cao phân tử lipoprotein. Sự hình thành của các hợp chất cao phân tử này dựa trên sự chuyển hóa giữa glycerides và các axit béo lấy từ nguồn thức ăn hoặc huy động từ các nội mô khác trong cơ thể. Cuối cùng, quá trình vận chuyển các cholesterol từ gan tụy đến mạch bạch huyết được quyết định bởi các phospholipid này [11, 65].

Sterol giữ có vai trò rất quan trọng trong sinh trưởng, trao đổi chất, và điều hòa quá trình lột xác ở tôm he. Cũng giống như nhiều lipid khác, tôm he không có khả năng tự tổng hợp các sterol này. Nhu cầu về sterol được đáp ứng từ các khẩu phần ăn của ấu trùng. Trong số các sterol thì cholesterol là quan trọng nhất, là tiền chất tham gia vào quá trình sinh tổng hợp các hormone điều khiển quá trình lột xác ở tôm [11, 65].

Các axit béo, nhất là các axit béo không no đa nối đôi mạch dài (long-chain polyunsaturated fatty acids, Lc-PUFAs) là đặc biệt quan trọng. Các axit béo này tham gia vào hầu hết các quá trình trao đổi chất, phản ứng sinh lý, và quyết định đến khả năng sinh trưởng và phát triển các giai đoạn ấu trùng [42]. Ấu trùng tôm he không có khả năng tự tổng hợp hoặc chuyển hóa từ axit béo không no một nối đôi (MUFAs). Nhu cầu về các axit béo PUFAs này được cung cấp từ khẩu phần thức ăn. Người ta ghi nhận rằng, sự thiếu hụt PUFAs trong khẩu phần ăn là nguyên nhân dẫn tới nhiều dấu hiệu bệnh lý, chậm lớn, kém thành thực, và đôi khi là chết. Tương tự như axit amin, các PUFAs này được gọi là các axit béo thiết yếu (essential fatty acids, EFAs). Nhiều tài liệu trước đây sử dụng thuật ngữ HUFAs (highly unsaturated fatty axit) để đại diện cho các EFAs này.

Đây là những axit béo không no ω -3 có mạch từ 20 phân tử C trở lên, và có nhiều hơn 3 liên kết đôi trong cấu trúc phân tử. Nhưng trong những năm gần đây, thuật ngữ này ít được dùng hơn. Thay vào đó một thuật ngữ chung các axit béo không no đa nối đôi mạch dài (Lc-PUFAs) được ưu tiên sử dụng [11, 42, 112].

Bằng các nghiên cứu của mình, Kanazawa và cộng tác viên (1979) đã khẳng định rằng có 4 loại axit béo được xem là thiết yếu cho sinh trưởng và phát triển của ấu trùng tôm he Nhật Bản, *Penaeus japonicus*, bao gồm linoleic (18:2n-6), linolenic (18:3n-3), eicosapentaenoic (20:5n-3, EPA), và decosahexaenoic (22:6n-3, DHA) [66]. Trong khi đó, các nghiên cứu của Read (1981), Leger (1985), và Catacutan (1991) chỉ ra 2 loại axit béo thiết yếu cho ấu trùng tôm he Ấn Độ (*Penaeus indicus*), và tôm sú (*Penaeus monodon*) bao gồm EPA và DHA. Bên cạnh đó, nhiều quan điểm cho rằng các axit béo ($C \geq 20$) dường như quan trọng hơn đối với ấu trùng tôm. Ấu trùng tôm có xu hướng tổng hợp, chuyển hóa các axit béo C18 thành các axit béo $C \geq 20$, mặc dù quá trình này gặp nhiều hạn chế ở ấu trùng tôm he [11, 42, 112].

Nhu cầu carbohydrates

Ấu trùng tôm he không có nhu cầu trực tiếp nào về carbohydrates. Trong nuôi trồng thủy sản nói chung và ương nuôi tôm nói riêng, các polysaccharides bao gồm tinh bột và đường dextrin thường được sử dụng trong khẩu phần thức ăn của ấu trùng tôm để tạo nguồn năng lượng dự trữ, thay thế cho các nguồn protein đắt tiền. Ấu trùng tôm he có nhu cầu carbohydrates khoảng 7,5-33% [35, 36]. Carbohydrates từ nguồn thức ăn được ấu trùng tôm tiêu hóa, hấp thu và lưu trữ ở gan tụy dưới dạng glycogen. Đây là nguồn vật chất dự trữ được sử dụng như là những tiền chất tổng hợp nên những vật chất trung gian trong quá trình trao đổi chất, hoặc để tổng hợp các axit amin không thiết yếu, các axit nucleic và chitin ở lớp biểu bì [11].

Vitamin và khoáng chất

Không giống với nhu cầu protein, axit amin thiết yếu, hay lipid, những hiểu biết về nhu cầu vitamin và khoáng chất ở ấu trùng tôm he rất hạn chế. Mặc dù vậy, quan điểm được thừa nhận rộng rãi rằng vitamin có vai trò rất quan trọng, thiết yếu đối với quá trình phát triển và sức khỏe của ấu trùng tôm he, đặc biệt là trong khâu sản xuất giống nơi mà ấu trùng sinh trưởng trong điều kiện hạn chế về nguồn dinh dưỡng bổ

sung. Vitamin C (ascorbic acid) được biết đến là chất chống oxy hóa và tham gia vào quá trình hình thành collagen, đặc biệt quan trọng trong quá trình hình thành phát triển phôi và ấu trùng tôm he nói riêng và giáp xác nói chung. Wouters và cộng sự (1999) kết luận rằng hàm lượng vitamin trong chế độ cho ăn của tôm thẻ chân trắng mẹ, *Penaeus vannamei*, ảnh hưởng lớn tới tình trạng sinh lý, sức khỏe ấu trùng [125].

Bảng 1.6. Nhu cầu dinh dưỡng cho ấu trùng một số loài tôm he [11, 42, 112]

Dinh dưỡng	Nhu cầu			
	<i>P. monodon</i>	<i>P. vannamei</i>	<i>P. indicus</i>	<i>P. japonicus</i>
Protein (% khẩu phần)				
Protein tổng số	36-50	30-36	43	50
Lipid và axit béo (% khẩu phần)				
EPA+DHA	0,5-1	0,5-1	1,1	1,1
Cholesterol	0,35	1	0,5	2
phospholipid	1-1,5	1,5	0,5-1	0,5-1
Khoáng (g/100 g thức ăn)				
Calcium	R	R	R	R
Phosphorus	0,74	1-2	1-2	2
Potassium	1-1,2	-	-	1
Magnesium	-	0,26-0,35	-	0,3
Vitamin (mg/kg thức ăn)				
Vitamin A	2,51	1,44	36-54	-
Vitamin E	85-89	99	-	-
Thiamin	14	-	100	60-120
Riboflavin	22,5	-	-	80
Vitamin B6	72-89	80-100	100-120	120
Biotin	2,0-2,4	-	-	-
Vitamin B12	0,2	-	-	-

R (required): cần ở nồng độ thấp, “-” không có số liệu.

Vi lượng và khoáng chất cũng rất quan trọng đối với ấu trùng tôm he. Nhu cầu về các chất dinh dưỡng được sử dụng cho nhiều quá trình trao đổi chất. Các khoáng chất phổ biến cho ấu trùng tôm he bao gồm calcium, magnesium, sodium, potassium và chloride. Ấu trùng tôm hấp thu các dưỡng chất này qua lớp biểu mô mỏng ở khoang mang và thành ruột. Trong môi trường nước mặn, nơi có hàm lượng cao các ion khoáng và vi lượng, đáp ứng đầy đủ các nhu cầu về dinh dưỡng này cho ấu trùng tôm. Ngược lại, các khoáng chất thường bị thiếu hụt và được xem là yếu tố giới hạn, ức chế sinh trưởng và sức khỏe của ấu trùng tôm trong môi trường ương nuôi nước ngọt [11].

1.2.4. Đôi nét về ngành tôm Việt Nam

Nghề nuôi trồng thủy sản trên thế giới có lịch sử hình thành và phát triển rất lâu đời. Rất nhiều học giả cho rằng, NTTS bắt nguồn từ Trung Quốc cách đây 3.500-4.000 năm trước [115]. Những năm 1970 là điểm mốc quan trọng, đánh dấu sự thay đổi xu hướng của nghề cá thế giới, với trọng tâm đẩy mạnh các hoạt động nuôi trồng hơn là khai thác. Sau chặng đường dài phát triển, nghề nuôi trồng thủy sản trên thế giới đã gặt hái nhiều thành tựu to lớn. Theo số liệu thống kê của Tổ chức Lương thực và Nông nghiệp Liên Hợp Quốc (FAO – Food and Agriculture Organization), tổng sản lượng thủy sản năm 2022 ước đạt 223 triệu tấn, tăng khoảng 2,1% so với năm trước. Trung Quốc, Ấn Độ, Indonesia và các nước Châu Á được xem như là những nơi canh tác thủy sản trọng điểm trên toàn thế giới, chiếm hơn 70% tổng sản lượng.

Với đặc điểm có hệ thống sông ngòi dày đặc, đường bờ biển dài hơn 3,260 km và khu đặc quyền kinh tế với diện tích 1 triệu km² Việt Nam được xem như một quốc gia có các điều kiện lý tưởng về địa lý cho ngành nuôi trồng thủy sản [100]. Bên cạnh đó, Việt Nam thuộc vùng khí hậu nhiệt đới, với điều kiện trung bình năm trên cả nước về nhiệt độ (khoảng 25°C) và số giờ chiếu sáng (khoảng 2500 giờ/năm) cao hơn nhiều so với mức bình quân chung trên toàn cầu (khoảng 15°C, và 2300 giờ chiếu sáng), đây được xem như những tiền đề thuận lợi cho canh tác thủy sản [100]. Thêm vào đó, cơ cấu nền kinh tế quốc dân tập trung chủ yếu ở sản xuất nông nghiệp, truyền thống canh tác lâu đời, và nhiều chủ trương quan trọng trong chiến lược phát triển Nuôi trồng thủy sản đã được Chính phủ thông qua.

Số liệu thống kê của Tổng cục thủy sản (TCTS), Bộ Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn (Bộ NN&PTNT) cho thấy, sản lượng thủy sản Việt Nam tăng đều qua các năm, trong đó sản lượng nuôi trồng tăng mạnh và đều hơn so với khai thác thủy sản. Tính đến năm 2022, tổng diện tích nuôi trồng thủy sản ước đạt 1,14 triệu ha, tổng sản lượng NTTS 4,4-4,5 triệu tấn (chiếm khoảng 53,7% tổng sản lượng thủy sản), đóng góp khoảng 4-5% GDP, giá trị kim ngạch xuất khẩu các mặt hàng thủy sản đạt khoảng 5,4 tỷ USD (8-9% tổng kim ngạch xuất khẩu, xếp thứ 5 sau điện tử, may mặc, dầu thô, giày dép) [4].

Vùng đồng bằng Sông Cửu Long vẫn là vùng trọng điểm canh tác nuôi trồng thủy sản trên cả nước, chiếm trên 70% về cả diện tích lẫn sản lượng. Theo sau đó là đồng bằng Sông Hồng, bắc trung bộ và duyên hải miền trung. Vùng nuôi đông nam bộ có diện tích nuôi giảm mạnh trong giai đoạn 2015-2020 (giảm 50% so với thời điểm trước đó) do chuyển mục đích sử dụng sang du lịch, công nghiệp và phi nông nghiệp khác. Tuy nhiên, sản lượng vẫn tăng mạnh qua các năm [4].

Bảng 1.7. Hiện trạng nuôi trồng thủy sản Việt Nam 2020 [4]

Vùng nuôi	Diện tích			Sản lượng		
	<i>Tổng DT</i> (000 ha)	<i>Tỷ trọng</i> ¹ (%)	<i>TT</i> ² (%)	<i>Tổng SL</i> (000 tấn)	<i>Tỷ trọng</i> ¹ (%)	<i>TT</i> ² (%)
ĐBSCL ³	811,1	72,02	1,1	2 917,7	70,1	4,92
ĐBSH ⁴	136,2	12,09	1,13	703	12,09	7,51
BTB&DHMT ⁵	91,2	8,09	1,67	242,8	8,09	4,18
ĐNB ⁶	26	4,79	10	132,1	3,12	7,51
TD&MNPB ⁷	47,8	4,2	2,0	128,2	3,07	8,69
Tây Nguyên	13,9	1,23	0,84	38	0,91	7,45
Cả nước	1.140	100	1	4.400	100	5,5

Chú thích: ¹ tỷ lệ % trên toàn quốc. *TT*²: Tăng trưởng bình quân năm, tính trong 5 năm gần nhất 2015-2020. ĐBSCL³ Đồng bằng Sông Cửu Long. ĐBSH⁴ Đồng bằng Sông Hồng. BTB&DHMT⁵ Bắc trung bộ và Duyên hải miền trung. ĐNB⁶ Đông nam bộ. TD&MNPB⁷ Trung du và Miền núi phía bắc

Môi trường nuôi trồng thủy sản đa dạng gồm nước ngọt, nước lợ và nuôi biển. Trong đó, sản lượng từ nuôi nước ngọt là chủ yếu, chiếm 67,1-77,3% tổng sản lượng NTTS. Sản lượng các đối tượng nuôi nước lợ dao động trong khoảng 17,7-5,5% tổng sản lượng NTTS. Còn lại là sản lượng từ các hoạt động nuôi biển. Các đối tượng nuôi chủ lực vẫn là cá tra, tôm nước lợ, cá biển, nhuyễn thể, tôm hùm, và rong biển. Báo cáo tổng kết Đề án “Phát triển giống cây nông, lâm nghiệp, giống vật nuôi và giống thủy sản đến năm 2020” của Tổng cục thủy sản, tính đến năm 2020, tổng diện tích canh tác nuôi trồng thủy sản nội địa toàn quốc ước đạt 1,14 triệu ha, trong đó diện tích nuôi tôm nước lợ ước đạt 720.000 ha, sản lượng 750.000 tấn, giá trị xuất khẩu 3,4 tỷ USD. Các vùng nuôi tôm nước lợ vẫn tập trung ở 8 tỉnh vùng ven biển đồng bằng Sông Cửu Long. Diện tích canh tác thủy sản cho cá Tra trên toàn quốc ước đạt 6.600 ha, với tổng sản lượng và giá trị xuất khẩu ước đạt lần lượt là 1.150 triệu tấn và 3,2 tỷ USD (năm 2020). Cả nước có khoảng 1,1 triệu m³ lồng và 5.166 ha nuôi cá biển, sản lượng ước đạt 45 ngàn tấn. 300 ngàn tấn nhuyễn thể trên diện tích canh tác 41.200 ha. Bên cạnh đó là tôm hùm và rong biển đạt sản lượng khoảng 1,5 ngàn tấn và 120 ngàn tấn [4].

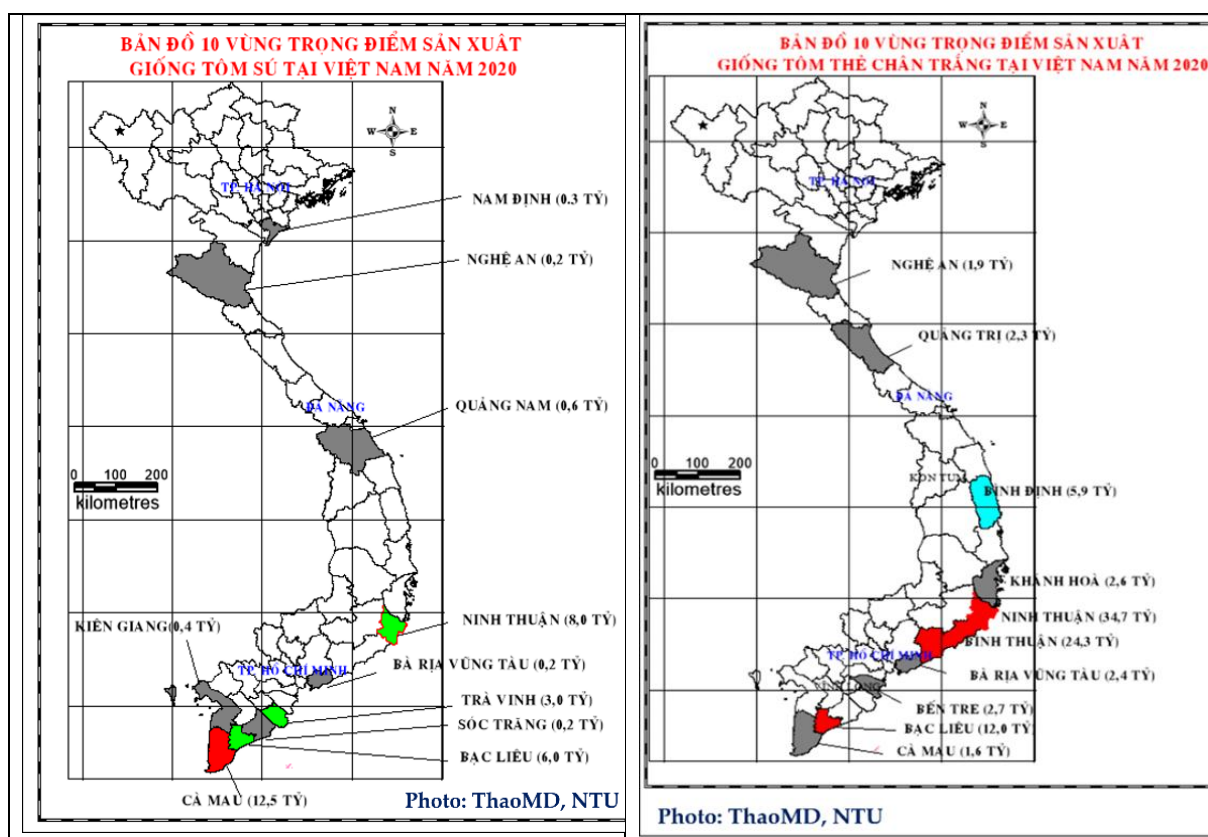
Hai đối tượng chính trong ngành tôm ở Việt Nam là tôm sú và tôm thẻ chân trắng. Bên cạnh đó, tôm hùm và tôm càng xanh cũng có đóng góp tương đối vào tổng sản lượng chung ngành nuôi trồng thủy sản (khoảng 1,5-2 ngàn tấn/năm). Theo thống kê

của Tổng cục Thủy sản (2020), diện tích nuôi tôm nước lợ trên toàn quốc tăng không nhiều trong giai đoạn 5 năm vừa qua (từ 2015 đến 2020), so với bình quân tăng trưởng về diện tích nuôi tôm khoảng 1,2%/năm ở giai đoạn trước đó. Trong khi diện tích nuôi tôm sú có xu hướng giảm trong những năm gần đây, thì ngược lại xu hướng tăng nhanh về diện tích nuôi tôm thẻ chân trắng lại thể hiện tương đối rõ ràng [2].

Tính đến 2020, tổng diện tích nuôi tôm nước lợ khoảng 720.000 ha, trong đó diện tích nuôi tôm sú và tôm thẻ chân trắng lần lượt là 619.000 ha và 99.100 ha. Khác với diễn biến về mặt diện tích, sản lượng nuôi tôm nước lợ Việt Nam lại tăng trưởng nhanh chóng với tốc độ tăng trưởng trung bình hàng năm đạt khoảng 5,5%, đạt 750.000 tấn, năm 2020. Sản lượng tôm thẻ chân trắng tăng mạnh trong 5 năm trở lại đây, (481.812 tấn, năm 2020) chiếm phần lớn tỷ trọng sản lượng ngành tôm Việt Nam. Tuy nhiên, sản lượng tôm sú có xu hướng giảm. Theo ước tính, sản lượng tôm sú đạt 268.188 tấn trong năm 2020 [4].

Các vùng nuôi tôm nước lợ trọng điểm trong nước chủ yếu tập trung ở 8 tỉnh đồng bằng Sông Cửu Long, lần lượt chiếm 94,3% và 75,8% tổng diện tích nuôi tôm sú và tôm thẻ chân trắng trong cả nước. Tương ứng với mặt diện tích canh tác, sản lượng tôm nước lợ của vùng này cũng là sản lượng chính của ngành tôm Việt Nam, chiếm 94,7% và 74,4% sản lượng tôm sú và tôm thẻ chân trắng trong cả nước. Về hình thức canh tác, trong khi mô hình nuôi thâm canh là chủ yếu trong nuôi tôm thẻ chân trắng với diện tích trung bình khoảng 0,5 ha/ao. Ngược lại tôm sú được nuôi cả theo hai hình thức là thâm canh và quảng canh, diện tích canh tác khoảng từ 1-3 ha/ao. Bên cạnh đó, ở một số mô hình nuôi kết hợp tôm sú với rừng ngập mặn, diện tích nuôi quảng canh này trong khoảng 5-10 ha.

Theo thống kê của Tổng cục thủy sản (2020), cả nước có khoảng 2.187 cơ sở sản xuất giống tôm nước lợ (bao gồm 1.548 cơ sở sản xuất giống tôm sú và 639 cơ sở sản xuất giống tôm thẻ chân trắng), sản lượng con giống ước đạt 135 tỷ (35 tỷ postlarvae tôm sú và 100 tỷ postlarvae tôm thẻ chân trắng). Khu vực sản xuất giống tôm trọng điểm thuộc các tỉnh duyên hải Nam Trung Bộ (Bình Định, Khánh Hòa, Ninh Thuận, và Bình Thuận) cung ứng khoảng 60–70% sản lượng tôm giống cho cả nước. Ngoài ra một số tỉnh đồng bằng Sông Cửu Long, Quảng Ninh, Nghệ An, Hà Tĩnh cũng là nơi sản xuất tương đối lớn giống tôm nước lợ.



Hình 1.5. Các vùng trọng điểm sản xuất tôm giống ở Việt Nam

Theo ước tính, nhu cầu nguồn tôm bố mẹ hàng năm vào khoảng 250.000 con (trong đó 200.000 tôm thẻ chân trắng và 50.000 tôm sú). Nguồn giống tôm bố mẹ sử dụng trong sản xuất giống đến từ đánh bắt tự nhiên, nhập khẩu và gia hóa. Tính trong năm 2020, cả nước nhập khẩu khoảng 220.000 tôm thẻ chân trắng bố mẹ, chủ yếu từ SIS-Shrimp Improvement System (chiếm 65%), CP – Charoen Pokphand (chiếm 20%) và nguồn khác bao gồm Benchmak, Hendrix genetic Kona Bay, American Penaeid Inc, Syaqua. Về sản xuất tôm bố mẹ trong nước, nguồn tôm sú bố mẹ trên thị trường phần lớn được cung cấp bởi Công ty TNHH Moana Ninh Thuận (đơn vị được Bộ NN&PTNT công nhận giống mới đối với tôm sú dòng Moana). Cụ thể, nguồn tôm Postlarvae 15-20 được tuyển chọn từ Mỹ, ương nuôi và gia hóa tại Việt Nam, cung ứng được khoảng 15.000-20.000 tôm sú bố mẹ hàng năm. Nguồn tôm thẻ chân trắng bố mẹ gia hóa chủ yếu từ Công ty CP Thủy sản Việt Úc (đơn vị được Bộ NN&PTNT công nhận giống mới đối với tôm thẻ chân trắng thế hệ G₃). Lượng tôm bố mẹ từ đơn vị này hàng năm khoảng 25.000 con, cung ứng cho sản xuất nội bộ của đơn vị [4].

1.3. Nghiên cứu ứng dụng vi tảo trong sản xuất giống tôm he

Trong môi trường sống tự nhiên, ấu trùng tôm he ban đầu ăn thực vật phù du và mảnh vụn hữu cơ, sau đó là thực vật lớn, động vật thân mềm, giáp xác cỡ nhỏ, và động vật phù du khi trưởng thành. Đây chính là những cơ sở khoa học cho việc nghiên cứu các nguồn thức ăn bổ sung cho ấu trùng tôm trong sản xuất giống tôm he cũng như nhiều đối tượng thủy sản khác [47]. Vi tảo với sự đa dạng về thành phần loài, mỗi loài lại mang các đặc điểm sinh hóa khác nhau phụ thuộc vào từng điều kiện nuôi cấy cụ thể. Do đó, vi tảo được xem nguồn thức ăn đa dạng, phù hợp với nhu cầu dinh dưỡng của ấu trùng tôm ở nhiều giai đoạn phát triển. Bên cạnh các thành phần dinh dưỡng chủ yếu (bảng 1.6), vi tảo còn chứa một hàm lượng cao các sắc tố và chất có hoạt tính sinh học. Thêm vào đó, khả năng tiêu hóa dễ dàng cũng là một trong những ưu điểm của vi tảo trong vai trò làm thức ăn cho ấu trùng tôm nói riêng và động vật thủy sản nói chung [47].

1.3.1. Ứng dụng vi tảo làm nguồn thức ăn trực tiếp trong sản xuất giống tôm he

Cho đến nay, có khoảng 16 chi tảo đã được nghiên cứu và ứng dụng làm thức ăn cho ấu trùng tôm he, phổ biến nhất là *Chaetoceros*, *Tetraselmis*, *Isochrysis*, *Pavlova*, *Phaeodactylum*, *Dunaliella*, *Skeletonema*, và *Thalassiosira* (bảng 1.6). Hầu hết các chủng loài vi tảo này thuộc nhóm thực vật phù du và có kích thước trong khoảng từ 2-20 μm [47, 60]. Phần lớn các kết quả nghiên cứu đã chỉ ra vai trò quan trọng của vi tảo, quyết định đến sự thành công trong sản xuất giống tôm he. Quan điểm chung trong các nghiên cứu này chủ yếu tập trung vào khả năng tiêu hóa, hàm lượng dinh dưỡng và nguồn năng lượng có trong vi tảo [96].

Bảng 1.6. Thành phần dinh dưỡng (% trọng lượng khô) của một số loài vi tảo sử dụng trong ương nuôi ấu trùng tôm

Loài vi tảo	Protein	Lipid	Carbohydrate	Nguồn
<i>Chaetoceros calcitrans</i>	30–43	12–27	6–11	[19, 108]
<i>Chaetoceros muelleri</i>	18–40	9–27	8–23	[79, 105]
<i>Isochrysis galbana</i>	36–62	17–31	15–47	[111, 130]
<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	40–60	10–22	32–50	[23, 34]
<i>Thalassiosira weissflogii</i>	16–28	20–29	23–40	[14]
<i>Thalassiosira pseudonana</i>	34–45	19–22	14–17	[117]
<i>Skeletonema costatum</i>	18–25	14–24	24–30	[95]

Cũng như nhiều loài động vật thủy sản khác, ấu trùng tôm he trong những giai đoạn đầu có cấu trúc cơ thể chưa hoàn thiện, nhất là cấu trúc đường tiêu hóa và hệ enzyme. Lựa chọn nguồn thức ăn dễ tiêu hóa như vi tảo được xem là cách thức phù hợp nhất [3, 48]. Nghiên cứu của Tang và cộng tác viên (2020) đã chỉ ra rằng ấu trùng tôm sú có khả năng tiêu hóa dễ dàng nguồn thức ăn vi tảo *T. weissflogii* và *C. muelleri*. Từ đây kết quả sinh trưởng và phát triển ấu trùng tôm thu được cao hơn các nguồn thức ăn dạng bột khác [118].

Ở khía cạnh cung cấp nguồn năng lượng, ấu trùng tôm he cũng cần cung cấp một cách đầy đủ cho các quá trình sinh trưởng và phát triển. Nguồn năng lượng này được bổ sung từ hàm lượng carbohydrates và lipid có trong khẩu phần thức ăn cho ấu trùng. Theo Pina và các cộng tác viên, tế bào vi tảo *T. suecica* và *C. muelleri* có nguồn năng lượng lớn 1,99 và 1,53 $\mu\text{J/tb}$. Nguồn thức ăn hai loài vi tảo này đưa đến hiệu quả cao hơn trong ương nuôi ấu trùng tôm thẻ chân trắng so với khẩu phần thức ăn vi tảo *Isochrysis* sp. (có nguồn năng lượng tế bào thấp hơn ở 0,74 $\mu\text{J/tb}$) [42, 47, 96].

Ấu trùng tôm cũng như mọi sinh vật tiêu thụ khác, đòi hỏi được cung cấp một lượng đầy đủ hàm lượng dinh dưỡng protein, lipid, carbohydrate, khoáng chất, và vitamin cho quá trình sinh trưởng và phát triển. Trong khi carbohydrate là nguồn năng lượng cơ bản cho ấu trùng tôm, thì protein và các axit amin thiết yếu cần thiết cho rất nhiều quá trình phát triển. Lipid là nguồn năng lượng dự trữ và tham gia cấu thành lên cấu trúc màng tế bào cơ thể, hình thành hormone (steroid). Khoáng chất và vitamin cần thiết cho nhiều phản ứng sinh lý, sinh hóa. Nhu cầu dinh dưỡng của ấu trùng tôm he khác nhau phụ thuộc vào nhiều yếu tố như giai đoạn phát triển của ấu trùng, điều kiện ương nuôi. Ở khía cạnh nguồn dinh dưỡng cho ấu trùng tôm, hầu hết các nghiên cứu tập trung nhiều vào hai thành phần chính là protein và lipid [3, 112].

Nhu cầu protein trong thức ăn cho ấu trùng tôm he sinh trưởng phát triển tốt trong khoảng 50-57% khối lượng khô, các axit amin như Arginine (4,5%), Lysine (5,3%), Threonine (3%), Valine (3,7%), Methionine + Cystine (3,3%). Trong khi đó, nhu cầu lipid của ấu trùng tôm trong khoảng 12-15% khối lượng khô [60]. Bên cạnh đó là nhu cầu rất lớn về các axit béo. Ấu trùng tôm he nói chung và tôm thẻ chân trắng nói riêng có nhu cầu cao các axit béo không no đa nối đôi nhất là các axit béo C20 và C22: ω -3 và ω -6. Nhiều nghiên cứu chỉ ra rằng, tôm tăng trưởng nhanh hơn khi trong thành phần thức ăn phong phú các axit docosahexaenoic (DHA) 22: 6 ω -3 và eicosapentaenoic

(EPA) 20: 5 ω -3. Ngược lại, sự thiếu hụt hàm lượng ω -3 HUFA trong thành phần thức ăn được tin là nguyên nhân chính dẫn đến tỷ lệ chết cao hoặc các vấn đề khác về chất lượng tôm giống. Về cơ bản, *C. muelleri* và *T. weissflogii* là hai loài vi tảo được sử dụng phổ biến nhất trong sản xuất giống tôm he trên thế giới.

Các nghiên cứu ứng dụng vi tảo trong sản xuất giống tôm he trên thế giới tập trung chủ yếu vào việc chọn lọc các chủng loài và cách thức ứng dụng. Trong các nghiên cứu này, vi tảo được sử dụng làm nguồn thức ăn cho hầu hết các giai đoạn phát triển của ấu trùng từ nauplius cho đến postlarvae. Theo Rodriguez và cộng tác viên (2012), hàm lượng protein tổng số (lên đến 40% khối lượng khô) và các axit béo ω -3 cao là cơ sở khoa học giải thích cho việc ứng dụng *C. muelleri* rộng rãi trong ương nuôi ấu trùng tôm he [105]. Trong khi đó, *T. weissflogii* lại mang các đặc điểm hàm lượng lipid tổng số (lên đến 29% dwt) và các axit béo không no đa nối đôi vượt trội hơn so với các loài tảo khác [43].

Trong số các loài tôm he phổ biến thì tôm thẻ chân trắng được tập trung nghiên cứu nhiều nhất. Nunez et al (2002), Pina et al (2006), Rodriguez et al (2012), Khojasteh et al, và Jamalie et al (2015) triển khai nghiên cứu ứng dụng một số loài vi tảo trong ương nuôi ấu trùng tôm thẻ chân trắng từ giai đoạn Z₁-Z₃. Kết quả nghiên cứu chỉ ra rằng, vi tảo silic *C. muelleri* cho kết quả ương nuôi tốt nhất. Kế đến là các loài *C. gracilis*, *Tetraselmis* sp., và *T. suecica* [61, 67, 89, 96, 105]. Ngược lại, các nghiên cứu thực hiện trên tôm sú và một số đối tượng tôm he khác thì ít hơn. Đơn cử nghiên cứu của Kiatmetha et al (2011) [68] thực hiện ương nuôi ấu trùng tôm sú và Okauchi & Tokuda (2003) [90] trên ấu trùng tôm he Nhật Bản (*P. japonicus*) từ giai đoạn Z₁ cho đến postlarvae cho thấy hiệu quả ứng dụng cao nhất ở vi tảo *Thalassiosira weissflogii*, kế đến là *C. gracilis* ở cả hai đối tượng tôm he này.

Một hướng nghiên cứu nổi bật đã và đang nhận được nhiều sự quan tâm của các nhà nghiên cứu ở khía cạnh ứng dụng vi tảo làm nguồn thức ăn cho ấu trùng tôm là việc kết hợp đồng hai hay nhiều loài vi tảo trong khẩu phần ăn của ấu trùng tôm he. Như đã đề cập ở các phần nội dung trước, mỗi một loài vi tảo có đặc điểm thành phần dinh dưỡng khác nhau. Việc sử dụng đơn loài vi tảo làm thức ăn trong ương nuôi ấu trùng tôm có thể tiềm ẩn nguy cơ thiếu hụt các chất dinh dưỡng thiết yếu cho ấu trùng tôm [47, 68, 96, 105]. Thêm vào đó, nhu cầu dinh dưỡng ấu trùng tôm là rất lớn. Đây chính là cơ sở khoa học của việc kết hợp hai hay nhiều loài vi tảo trong khẩu phần thức ăn

giúp nâng cao kết quả quá trình ương nuôi. Thật vậy, kết quả nghiên cứu của Pina et al (2006), Rodriguez et al (2012, và Jamali et al (2015) khẳng định việc kết hợp hai trong số loài vi tảo *C. muelleri*, *Isochrysis* sp., *I. galbana*, và *T. suecica* đưa đến kết quả cao hơn một cách rõ rệt so với việc sử dụng đơn loài vi tảo trong ương nuôi ấu trùng tôm thẻ chân trắng [61, 96, 105]. Tương tự như vậy, hiệu quả ương nuôi ấu trùng tôm sú được cải thiện rõ rệt trong các điều kiện thí nghiệm với khẩu phần thức ăn là sự kết hợp hai loài *C. gracilis* và *T. weissflogii* [68].

Ngoài ra, còn có một điểm lý thuyết rất quan trọng mà chưa nhận được sự quan tâm của nhiều nhà khoa học trong hướng nghiên cứu ứng dụng vi tảo vào sản xuất giống tôm đó là khả năng trôi nổi của tế bào vi tảo. Tôm thẻ chân trắng nói riêng và tôm he nói chung có đời sống trôi nổi trong suốt các giai đoạn phát triển của ấu trùng [12]. Logic giản đơn cho thấy tầm quan trọng của khả năng trôi nổi của nguồn thức ăn với khả năng bắt mồi của các ấu trùng tôm. Hay nói cách khác, tiêu chí lựa chọn và ứng dụng vi tảo vào sản xuất giống tôm rất cần bổ sung đặc tính trôi nổi của tế bào trong điều kiện bể ương.

Ở Việt Nam, các nghiên cứu ứng dụng vi tảo trong ương nuôi ấu trùng tôm he là không nhiều. Nghiên cứu và ứng dụng vi tảo trong lĩnh vực này phụ thuộc chủ yếu vào một vài loài cơ bản, nhất là *T. weissflogii* [5]. Tuy nhiên, vẫn còn những mặt hạn chế nhất định khi ứng dụng loài vi tảo *T. weissflogii* này trong sản xuất giống tôm. Thứ nhất, sinh khối cực đại của vi tảo này không cao như nhiều loài vi tảo khác. Ở hầu hết các trại tôm giống ở Việt Nam, mật độ tế bào vi tảo đạt được tại thời điểm thu hoạch khoảng vài trăm ngàn cho tới một triệu tb/mL. Mật độ tế bào không cao dẫn tới một số khó khăn trong công tác ứng dụng như nhu cầu cao về hệ thống, nhân công, nguyên vật liệu trong nuôi cấy. Thêm vào đó, để đáp ứng đầy đủ nhu cầu tảo cho ấu trùng tôm, sinh khối vi tảo cần cấp cho bể ấu trùng tôm thường là rất lớn, đôi khi vượt quá thể tích bể ương ấu trùng. Điều này tiềm ẩn các rủi ro về xáo trộn môi trường sống, đặc biệt là pH. Thứ hai là cấu tạo lớp vỏ tế bào trơn nhẵn, tế bào tảo nhanh chóng bị chìm xuống đáy bể ương, nhất là trong điều kiện sục khí nhẹ trong những giai đoạn đầu ương nuôi (giai đoạn zoea). Trong khi đó, ấu trùng tôm ở các giai đoạn zoea, mysis có đời sống phù du, một trong những yêu cầu đầu tiên của nguồn thức ăn là có khả năng trôi nổi tốt. Thứ ba là hướng nghiên cứu đầy triển vọng là kết hợp hai hay nhiều loài vi tảo trong khẩu phần thức ăn ấu trùng tôm chưa được thực hiện một cách bài bản ở Việt Nam.

Bảng 1.7. Chế độ thức ăn vi tảo (tb/mL) trong ương nuôi ấu trùng tôm he [74]

Giai đoạn	<i>Chaetoceros gracilis</i>	<i>Tetraselmis chui</i>
Nauplius _{5/6}	60.000	0-15.000
Zoea ₁	100.000-120.000	30.000
Zoea ₂	120.000	35.000
Zoea ₃	120.000	35.000
Mysis ₁	100.000	30.000
Mysis ₂	75.000	20.000
Mysis ₃	50.000-75.000	20.000
Post-larvae ₁₋₁₅	20.000-75.000	5.000-20.000

1.3.2. Ứng dụng của vi tảo làm nguồn thức ăn gián tiếp trong sản xuất giống tôm he

Trong qui trình sản xuất giống tôm he ở Việt Nam và nhiều nước trên thế giới nguồn thức ăn tự nhiên sử dụng trong ương nuôi ấu trùng là vi tảo và nauplii *Artemia* (instar I/II). Trứng nghỉ *Artemia* được ấp nở trong khoảng thời gian 24-36 giờ tùy theo điều kiện môi trường ấp và hệ thống tại cơ sở. Nauplii *Artemia* sau khi ấp nở (giai đoạn instar I, II) được sử dụng làm thức ăn trực tiếp cho ấu trùng tôm ở giai đoạn zoea II cho tới postlarvae. Bên cạnh *Artemia*, một số đối tượng động vật phù du khác như luân trùng, copepod cũng được xem là nguồn thức ăn sống rất có giá trị trong sản xuất giống giáp xác nói riêng và động vật thủy sản nói chung [48]. Trong khi ở copepod vẫn đang phải đối diện với bài toán về nuôi thu sinh khối thì những nghiên cứu, ứng dụng luân trùng trong sản xuất giống vật nuôi thủy sản đã có lịch sử phát triển lâu đời và gặt hái nhiều thành tựu quan trọng.

Nghiên cứu ứng dụng luân trùng trong ương nuôi ấu trùng động vật thủy sản đã xuất hiện từ những năm 1960s khi các nhà nghiên cứu Nhật Bản phát hiện ra rằng luân trùng *Brachionus plicatilis* có thể sử dụng làm thức ăn cho những giai đoạn đầu phát triển của ấu trùng động vật thủy sản [48, 62]. Luân trùng được khẳng định là nguồn thức ăn quý giá đối với hơn 60 loài cá biển và 18 loài giáp xác [76]. Với đặc điểm kích thước cơ thể nhỏ bé (từ 40 µm-2mm), luân trùng rất phù hợp với cỡ miệng của nhiều ấu trùng động vật thủy sản. Luân trùng thuộc nhóm động vật có tập tính ăn lọc, thức ăn của chúng là các loài vi tảo, mảnh vụn chất hữu cơ, vi khuẩn. Một đặc điểm đặc biệt quan trọng là tốc độ lọc thức ăn và tăng sinh rất nhanh chóng của luân trùng giúp cho chúng giữ vai

trò đặc biệt quan trọng trong sản xuất giống các đối tượng nuôi thủy sản. Bnenett và Boraas (1989) đã khẳng định rằng luân trùng có khả năng tăng sinh khối nhanh hơn bất kỳ một động vật đa bào nào [25]. Do vậy, nhiều nhà nuôi trồng thủy sản học đã ứng dụng luân trùng như là một vật chất mang, chuyển tải một số dưỡng chất từ ngoài môi trường vào cơ thể ấu trùng vật nuôi thủy sản trong giai đoạn con non. Ứng dụng hướng đi này phổ biến nhất trong sản xuất giống cá biển.

Bên cạnh đó luân trùng cũng mang giá trị dinh dưỡng rất có giá trị cho sự phát triển của ấu trùng, con non vật nuôi thủy sản. Hàm lượng protein, lipid, HUFAs, và AA nội bào có thể lên đến (theo thứ tự) 59%, 13% và 3,1% trọng lượng cơ thể. Như nội dung đã trình bày ở nhóm đối tượng vi tảo, bổ sung luân trùng làm nguồn thức ăn được xem là giải pháp hiệu quả khắc phục điểm hạn chế về đặc trưng thành phần dinh dưỡng của một nguồn thức ăn (bên cạnh Artemia), là tiền đề đáp ứng đầy đủ nhu cầu dinh dưỡng của ấu trùng. Cuối cùng, cũng giống như các nhóm thức ăn sống khác, nguồn thức ăn bổ sung luân trùng góp phần tăng cường hệ enzyme tiêu hóa, kích thích và nâng cao hiệu quả tiêu hóa, hấp thụ thức ăn ấu trùng động vật thủy sản [48].

Cơ sở lý luận rất rõ ràng như vậy nhưng những thông tin về thực trạng nghiên cứu và ứng dụng luân trùng trong sản xuất giống tôm he là rất ít ỏi. Cho đến nay, chưa tìm thấy công trình nghiên cứu nào ở Việt Nam cũng như trên thế giới trình bày kết quả nghiên cứu ứng dụng luân trùng làm nguồn thức ăn bổ sung cho ấu trùng tôm he. Ở khía cạnh thực tiễn sản xuất, ứng dụng luân trùng vào ương nuôi ấu trùng tôm he chưa phổ biến. Ngoài ra, có thông tin cho rằng sản xuất giống tôm he ở Việt Nam đã từng sử dụng luân trùng nhưng ở trình độ thâm canh thấp và qui mô thử nghiệm nhỏ. Các nguyên nhân giải thích cho hiện trạng này thì cũng chưa từng được phân tích một cách cụ thể. Mặc dù vậy, quan điểm cho rằng mấu chốt nằm ở vấn đề an toàn sinh học trong nuôi thu sinh khối luân trùng được một số học giả thừa nhận. Mô hình nuôi luân trùng phổ biến và truyền thống nhất là sử dụng nguồn thức ăn men bánh mì tiềm ẩn các nguy cơ các tác nhân gây bệnh [48]. Trong khi đó, qui trình sản xuất giống tôm thường đòi hỏi ở mức rất cao yêu cầu an toàn sinh học.

Nói tóm lại, nghiên cứu ứng dụng luân trùng vào sản xuất giống tôm he là một hướng đi đầy triển vọng. Một vài rào cản về mặt kỹ thuật, nhất là an toàn sinh học, có thể giải thích cho hiện trạng này. Hướng tiếp cận cho những thách thức này là sử dụng nguồn thức ăn sạch các tác nhân gây bệnh. Và rõ ràng, sử dụng vi tảo là giải pháp rất

hợp logic và tiềm năng. Cho tới nay, vài công trình nghiên cứu nhỏ xoay quanh vai trò của luân trùng như công cụ vận chuyển một số vật chất từ ngoài môi trường vào trong cơ thể ấu trùng tôm. Đơn cử như Hadi Jamali và cộng tác viên (2015) nghiên cứu sử dụng luân trùng như vật chất mang, chuyển tải vi khuẩn có lợi *Bacillus* spp. vào ấu trùng tôm thẻ chân trắng. Kết quả nghiên cứu chỉ ra việc sử dụng luân trùng giúp nâng cao tỷ lệ sống, chiều dài, và khối lượng ấu trùng tôm [62].

Nghiên cứu sử dụng vi tảo nuôi cấy luân trùng được thực hiện rất nhiều trên thế giới và ở Việt Nam. Mặc dù, ban đầu luân trùng phân lớn được nuôi cấy bằng nguồn thức ăn chủ yếu là men bánh mì. Nhưng về sau, nhiều nghiên cứu đã chỉ ra rằng sử dụng vi tảo lục *Chlorella* hay *Nannochloropsis* spp. mang lại cho hiệu quả cao hơn về giá trị dinh dưỡng luân trùng. Để cải thiện chất lượng luân trùng, người ta thường nuôi bằng kết hợp nhiều các loài vi tảo, nhất là *Chlorella*, *Nannochloropsis*, và *Isochrysis* [76].

Nói tóm lại, như đã trình bày ở trên, với các đặc điểm sinh học rất phù hợp về kích thước tế bào, cấu tạo lớp vỏ (cell wall), thành phần sinh hóa, khả năng trôi nổi, tảo khuê nắm giữ những vai trò đặc biệt quan trọng trong sản xuất giống tôm he. Sinh trưởng quần thể và giá trị dinh dưỡng tế bào rất khác nhau phụ thuộc vào đặc điểm từng loài cũng như điều kiện nuôi cấy cụ thể. Một số điều kiện nuôi cấy vi tảo cơ bản trong thực tiễn sản xuất nhận được nhiều sự quan tâm bao gồm nhiệt độ, ánh sáng, môi trường dinh dưỡng bổ sung và độ mặn. Trong sản xuất giống tôm he ở hầu hết các trại giống tại Việt Nam, ứng dụng đơn loài tảo khuê *T. weissflogii* làm nguồn thức ăn trực tiếp cho ấu trùng tôm là mô hình rất phổ biến. Bên cạnh những ưu điểm của loài tảo này mang lại thì vẫn còn một số thách thức rất đáng được quan tâm, nhất là sinh khối cực đại và khả năng trôi nổi của tế bào. Quan trọng hơn nữa là mỗi loài vi tảo thường có một giá trị dinh dưỡng đặc trưng. Việc phối trộn hai hay nhiều loài vi tảo làm nguồn thức ăn cho ấu trùng vật nuôi thủy sản được cho là giải pháp hữu hiệu khắc phục những nhược điểm về giá trị dinh dưỡng đặc trưng của từng loài vi tảo. Cho đến nay, ứng dụng của vi tảo trong sản xuất giống tôm he ở Việt Nam cũng như nhiều nước trên thế giới mới chỉ dừng lại ở vai trò làm nguồn thức ăn trực tiếp cho ấu trùng. Ở một hướng tiếp cận mới, ứng dụng luân trùng vào sản xuất giống tôm là một hướng đi mang nhiều hứa hẹn. Khác với nhiều đối tượng nuôi thủy sản khác, sản xuất giống tôm yêu cầu ở mức độ rất cao về an toàn sinh học. Trong số các tác nhân ảnh hưởng đến an toàn sinh học, nguồn thức ăn cho nuôi cấy luân trùng được xem là thách thức lớn nhất. Giải pháp tiềm năng nhất có thể kể đến là sử dụng vi tảo. Hay nói khác đi, vai trò gián tiếp của vi tảo trong sản xuất giống tôm he rất cần được xem xét và nghiên cứu phát triển.

CHƯƠNG 2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng, thời gian và địa điểm nghiên cứu

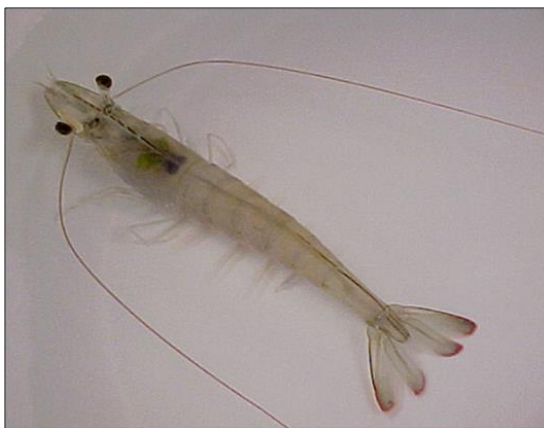
2.1.1. Đối tượng nghiên cứu

Đối tượng nghiên cứu là 10 chủng vi tảo từ bộ sưu tập giống vi tảo ANACC (Australian National Algae Culture Collection), CSIRO, Australia.

Bảng 2.1. Các chủng vi tảo sử dụng trong nghiên cứu

STT	Tên khoa học loài	Mã số chủng	Phân loại (Lớp)	Nguồn gốc
1	<i>Chaetoceros calcitrans</i>	CS-178	Coscinodiscophyceae	Japan
2	<i>Chaetoceros muelleri</i>	CS-176	Coscinodiscophyceae	USA
3	<i>Isochrysis galbana</i>	CS-186	Coccolothophyceae	USA
4	<i>Nannochloropsis oceanica</i>	CS-179	Eustigmaophyceae	Japan
5	<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	CS-29	Bacillariophyceae	UK
6	<i>Tisochrysis lutea</i>	CS-177	Coccolothophyceae	Tahiti
7	<i>Thalassiosira pseudonana</i>	CS-173	Coscinodiscophyceae	USA
8	<i>Thalassiosira weissflogii</i>	CS-871	Coscinodiscophyceae	USA

Các chủng vi tảo này được nghiên cứu ứng dụng làm nguồn thức ăn trực tiếp trong sản xuất giống hai đối tượng tôm he phổ biến nhất ở Việt Nam là tôm thẻ chân trắng, *Penaeus vannamei* Boone, 1931 (dòng SIS tiêu chuẩn) và tôm sú *Penaeus monodon* Fabricius, 1798 (từ nhà cung cấp Moana Ninh Thuận). Bên cạnh đó, nghiên cứu còn sử dụng vi tảo làm nguồn thức ăn trong nuôi cấy luân trùng (*Brachionus plicatilis*) và ứng dụng trong ương nuôi ấu trùng tôm he.



(a) Tôm thẻ chân trắng (SIS-tiêu chuẩn)



(b) Tôm sú (Moana-Ninh Thuận)

Hình 2.1. Hai đối tượng tôm he trong nghiên cứu

2.1.2. Thời gian nghiên cứu

- Các nghiên cứu thực hiện tại Trường Đại học Nha Trang trong khoảng thời gian từ tháng 1 năm 2021 đến tháng 8 năm 2021.
- Các nghiên cứu thực hiện tại Công ty TNHH Sản xuất Giống Thủy sản Minh Phú trong khoảng thời gian từ tháng 9 năm 2021 đến tháng 12 năm 2023.

2.1.3. Địa điểm nghiên cứu

- Các nghiên cứu khảo sát sinh trưởng quần thể tiềm năng được tiến hành tại Phòng thí nghiệm Vi tảo, Viện Nuôi trồng Thủy sản, Trường Đại học Nha Trang.
- Các nghiên cứu ảnh hưởng của một số điều kiện môi trường nuôi cấy lên sinh trưởng quần thể và thành phần sinh hóa tế bào vi tảo, các nghiên cứu trên luân trùng, cũng như các thử nghiệm sử dụng thức ăn trên ấu trùng tôm được thực hiện tại Công ty TNHH Sản xuất Giống Thủy sản Minh Phú, An Hải-Ninh Phước-Ninh Thuận.
- Công tác chuẩn bị, xử lý mẫu vi tảo phục vụ phân tích thành phần sinh hóa tế bào được thực hiện tại Trung tâm Thí nghiệm và Thực hành.
- Các phân tích thành phần axit béo tế bào vi tảo được thực hiện bởi phòng thí nghiệm CSIRO Ocean and Atmosphere, Hobart, Tasmania, Australia.

2.2. Phương pháp tiếp cận

- Bước đầu, nhóm nghiên cứu thuộc hợp phần vi tảo của dự án và đơn vị đối tác (Trung tâm giống tảo quốc gia Úc, ANACC, CSIRO, Úc) tiến hành thảo luận, khảo sát và đánh giá các chủng vi tảo hiện có trong bộ sưu tập ANACC (khoảng hơn 1,000 chủng). Kết quả quá trình khảo sát đã lựa chọn ra được khoảng 8 chủng/loài được xem là tiềm năng ứng dụng cao trong sản xuất giống tôm he tại Việt Nam. Tám chủng vi tảo (từ đây được gọi là các chủng tảo tiềm năng) này được nhập nội về Phòng thí nghiệm Vi tảo, Viện Nuôi trồng thủy sản, Trường Đại học Nha Trang.
- Các chủng vi tảo trong nghiên cứu được định hướng gắn với hai khía cạnh ứng dụng trong sản xuất giống tôm he. Thứ nhất là hướng ứng dụng làm nguồn thức ăn trực tiếp cho ấu trùng tôm (ưu tiên nhóm tảo silic), và hướng thứ hai là gián tiếp thông qua vai trò làm thức ăn trong nuôi thu sinh khối luân trùng.
- Kết quả khảo sát sinh trưởng quần thể và thành phần sinh hóa tế bào trong điều kiện khí hậu Việt Nam được định hướng lựa chọn ra một số chủng tảo silic (3 chủng)

làm nguồn thức ăn trực tiếp cho ấu trùng tôm he. Tương tự như vậy, ở khía cạnh ứng dụng làm nguồn thức ăn gián tiếp, các chủng vi tảo mới và tiềm năng nhất (2 chủng) được lựa chọn làm vật liệu cho những nghiên cứu sử dụng vi tảo làm thức ăn trong nuôi cấy luân trùng ứng dụng trong sản xuất giống tôm he tại Việt Nam.

➤ Các chủng vi tảo làm nguồn thức ăn cho ấu trùng tôm được xác định là đối tượng nghiên cứu vi tảo chính trong các thí nghiệm tối ưu hóa các điều kiện nuôi cấy. Một số điều kiện nuôi cấy cơ bản trong công tác quản lý tại cơ sở (theo thứ tự bao gồm môi trường dinh dưỡng bổ sung, ánh sáng, nhiệt độ, độ mặn) được lựa chọn tương ứng với các thí nghiệm. Tính kế thừa kết quả của thí nghiệm trước cho thí nghiệm sau được sử dụng trong nghiên cứu này.

➤ Kết thúc các thí nghiệm tối ưu hóa điều kiện môi trường nuôi cấy, các chủng vi tảo silic sẽ được sử dụng trong các nghiên cứu ảnh hưởng của các khẩu phần thức ăn vi tảo lên sinh trưởng, phát triển và sức khỏe ấu trùng tôm he.

➤ Các chủng tảo còn lại được sử dụng trong các hướng nghiên cứu vai trò nguồn thức ăn gián tiếp của vi tảo trong sản xuất giống tôm he ở Việt Nam. Trong thí nghiệm này, các chủng vi tảo mới được nghiên cứu ứng dụng làm nguồn thức ăn trong nuôi thu sinh khối luân trùng *Brachionus plicatilis*. Sinh khối luân trùng thu được sử dụng như nguồn thức ăn sống bổ sung vào khẩu phần thức ăn cho ấu trùng tôm.

➤ Kết quả từ các thí nghiệm được sử dụng làm cơ sở dữ liệu cho những thử nghiệm sản xuất giống tôm he tại cơ sở ở qui mô lớn nhằm đánh giá rõ hơn kết quả thu được.

2.3. Nội dung nghiên cứu

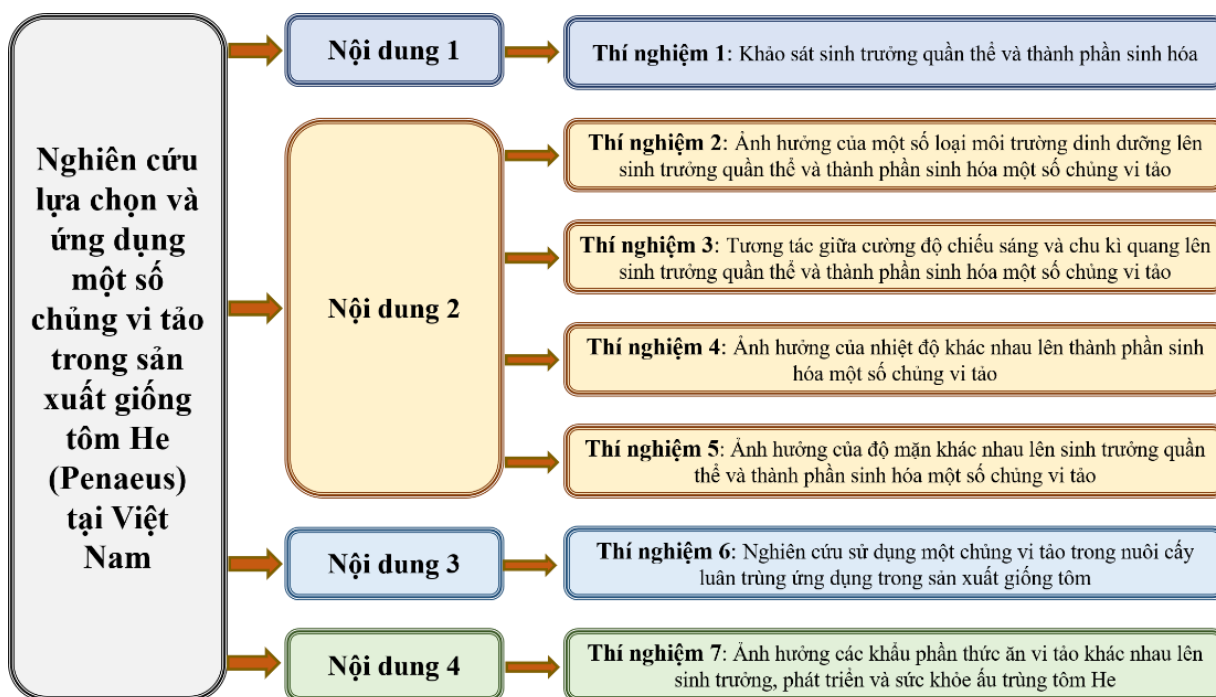
Luận án thực hiện 4 nội dung nghiên cứu, bao gồm:

❖ **Nội dung 1:** Sinh trưởng quần thể và thành phần sinh hóa một số chủng vi tảo tiềm năng.

❖ **Nội dung 2:** Ảnh hưởng của một số điều kiện nuôi cấy lên sinh trưởng quần thể và thành phần sinh hóa một số chủng vi tảo.

❖ **Nội dung 3:** Nghiên cứu sử dụng một số chủng vi tảo trong nuôi cấy luân trùng ứng dụng trong sản xuất giống tôm.

❖ **Nội dung 4:** Ảnh hưởng các khẩu phần thức ăn vi tảo khác nhau lên sinh trưởng, phát triển và sức khỏe ấu trùng tôm he.



Hình 2.2. Sơ đồ khối nội dung nghiên cứu

2.4. Bố trí thí nghiệm

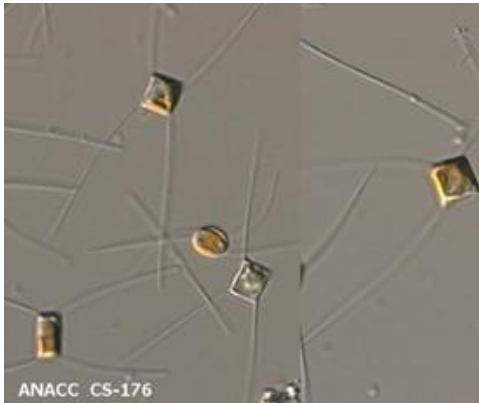
2.4.1. Thí nghiệm 1: Khảo sát sinh trưởng quần thể và thành phần sinh hóa tế bào một số chủng vi tảo trong điều kiện Việt Nam

➤ Tám chủng vi tảo được đánh giá là tiềm năng trong ứng dụng làm nguồn thức ăn cho ấu trùng tôm he ở Việt Nam được nhập nội về Phòng Thí nghiệm vi tảo, Trường Đại học Nha Trang. Các chủng vi tảo này được lưu giữ trong các ống nghiệm đã tiệt trùng (ở 121°C, 1,5 atm, và 30 phút) có dung tích 15 mL chứa 10 mL dịch nuôi.

➤ Trong quá trình lưu giữ, nguồn nước biển nhân tạo (theo mô tả của Goldman và McCarthy 1978, Phụ lục 2.2) [55] được sử dụng, độ mặn được hiệu chỉnh về 25 ppt bằng nước cất. Môi trường dinh dưỡng bổ sung f/2 (Guillard và Ryther 1975) được sử dụng để bổ sung vào dịch nuôi cấy [10].

➤ Để có những hiểu biết chính xác hơn các đặc điểm sinh trưởng quần thể và thành phần sinh hóa tế bào trong điều kiện nuôi cấy mới (điều kiện khí hậu Việt Nam), các chủng vi tảo được trải qua quá trình thuần hóa trước khi tiến hành thí nghiệm. Theo Anderson (2005) và Brand (1981), khoảng thời gian tối thiểu cho quá trình thuần hóa tế bào vi tảo trong điều kiện môi trường sống mới tối thiểu là 10 thế hệ. Trong nghiên cứu này, chu kì thuần hóa qua trên 20 thế hệ được áp dụng bằng hình thức nuôi đơn loài và bán liên tục [10, 29].

Chaetoceros mueller CS-176



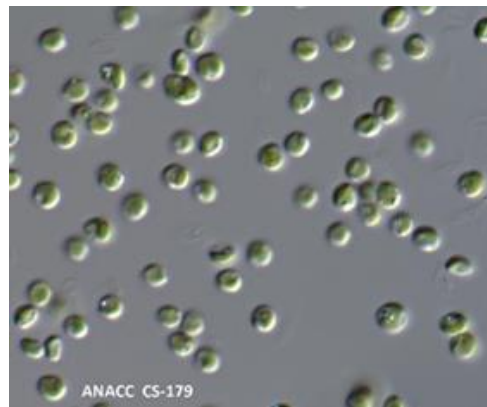
Phaeodactylum tricornutum CS-29



Thalassiosira weissflogii CS-871



Nannochloropsis oceanica CS-179



Hình 2.3. Hình ảnh tế bào vi tảo trong nghiên cứu

- Kết thúc giai đoạn thuần hóa, khảo sát sinh trưởng quần thể và thành phần sinh hóa tế bào các chủng vi tảo được thực hiện. Cũng tương tự như ở bước thuần hóa, các chủng vi tảo được nuôi cấy trong một điều kiện tiền thí nghiệm trong khoảng từ ba đến năm ngày (tùy theo từng chủng tảo cụ thể) nhằm duy trì sự ổn định trong sinh trưởng quần thể, đặc điểm sinh hóa tế bào trước khi chính thức tiến hành thí nghiệm. Trong công tác tiền thí nghiệm này, hình thức nuôi mẻ và bán liên tục (khoảng 30% dịch nuôi cấy được thay thế hàng ngày) được áp dụng [77].
- Nguồn nước sử dụng trong nghiên cứu là nước biển tự nhiên độ mặn 25 ppt được lọc sạch, tiệt trùng trong điều kiện nhiệt độ 120°C, áp suất 1 atm, và thời gian là 30 phút. Các điều kiện môi trường nước khác được điều chỉnh theo điều kiện thực tế của cơ sở bao gồm pH trong khoảng 7,5-8,5, độ kiềm 150-180 mgCaCO₃/L.
- Môi trường dinh dưỡng bổ sung f/2 Guillard và Ryther (1975) được sử dụng. Các điều kiện môi trường nuôi cấy khác bao gồm nhiệt độ ở 25°C, cường độ ánh sáng

75 μ E/m²/s, chu kì quang 12hL:12hD (12 giờ chiếu sáng: 12 giờ tối), chế độ sục khí liên tục được bố trí. Không bổ sung CO₂ trong suốt quá trình thí nghiệm.

➤ Trong thí nghiệm này, tám chủng vi tảo tiềm năng được sử dụng làm vật liệu nghiên cứu, tương ứng với tám nghiệm thức thí nghiệm. Các chủng vi tảo được nuôi cấy trong các bình tam giác thủy tinh có dung tích 1000 mL, chứa 800 mL dịch nuôi cấy. Mỗi nghiệm thức lặp được lại 3 lần, tạo thành 8×3 = 24 đơn vị thí nghiệm.

➤ Bố trí độ ban đầu trong tám nghiệm thức thí nghiệm được xác định nhằm cắt bỏ pha thích nghi trong sinh trưởng quần thể. Mục đích của phương pháp này để tiết kiệm khoảng thời gian nghiên cứu ở các pha ít có ý nghĩa hơn trong nghiên cứu ứng dụng (pha thích nghi) và mô phỏng điều kiện sản xuất tại cơ sở. Để xác định chính xác ngày nuôi cấy đầu tiên nằm chính xác ở pha sinh trưởng logarithm, công tác tiền thí nghiệm được tiến hành và tìm hiểu sinh trưởng các quần thể vi tảo. Sinh khối quần thể tương ứng với pha logarithm được xác định và sử dụng làm cơ sở để bố trí mật độ ban đầu trong thí nghiệm [77].

Bảng 2.2. Thành phần và hàm lượng môi trường dinh dưỡng bổ sung f/2 hiệu chỉnh

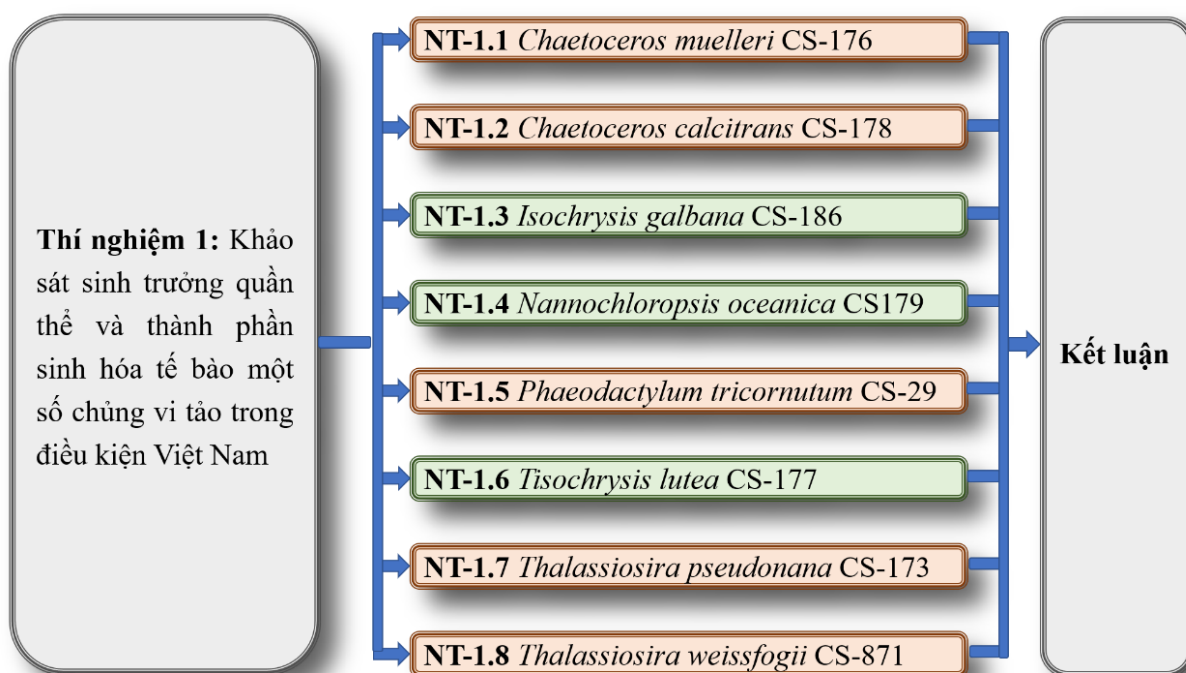
<i>Thành phần</i>	<i>Dung dịch mẹ (g/L H₂O)</i>	<i>Lượng dùng</i>	<i>Nồng độ trong dịch nuôi cấy (M)</i>
<i>Dung dịch đa lượng</i>			
NaNO ₃	75	1 mL	8,82×10 ⁻⁴
NaH ₂ PO ₄ .2H ₂ O	5,6	1 mL	3,62×10 ⁻⁵
Na ₂ SiO ₃ .9H ₂ O	30	1 mL	1,06×10 ⁻⁴
<i>Dung dịch vi lượng</i>			
FeCl ₃ .6H ₂ O	-	3,15 g	1,17×10 ⁻⁵
Na ₂ EDTA.2H ₂ O	-	4,36	1,17×10 ⁻⁵
MnCl ₂ .4H ₂ O	180,0	1 mL	9,10×10 ⁻⁷
ZnSO ₄ .7H ₂ O	22,0	1 mL	7,65×10 ⁻⁸
CoCl ₂ .6H ₂ O	10,0	1 mL	4,2×10 ⁻⁸
CuSO ₄ .5H ₂ O	9,8	1 mL	3,93×10 ⁻⁸
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	6,3	1 mL	2,60×10 ⁻⁸
<i>Dung dịch vitamin</i>			
Thiamine.HCl (Vitamin B1)	-	200 mg	2,96×10 ⁻⁷
Biotin (Vitamin H)	1,0	1 mL	2,05×10 ⁻⁹
Cyanocobalamin (Vitamin B12)	1,0	1 mL	3,96×10 ⁻¹⁰

Ghi chú: Liều lượng sử dụng của dung dịch vi lượng và vitamin là 1 mL dung dịch stock cho 1 L dịch nuôi cấy vi tảo

➤ Sinh trưởng quần thể các chủng/loài vi tảo được xác định thông qua việc định kì thu thập mẫu tế bào vi tảo. Số liệu về mật độ tế bào theo ngày được sử dụng để xác định các thông số sinh trưởng quần thể được trong nghiên cứu, bao gồm mật độ cực đại (maximum cell densities, MCDs), tốc độ sinh trưởng quần thể ở pha logarithm (exponential growth rate, EGRs), tốc độ sinh trưởng đặc trưng theo ngày cao nhất thu được (maximum specific growth rates, Max SGRs) [10].

➤ Tại thời điểm nửa cuối pha logarithm, 50mL dịch nuôi tảo được thu thập để tiến hành phân tích thành phần sinh hóa tế bào vi tảo. Hàm lượng lipid và thành phần các axit béo trong vi tảo được phân tích bởi Phòng thí nghiệm sinh hóa, CSIRO Hobart để xác định thành phần sinh hóa các chủng vi tảo.

➤ Kết thúc thí nghiệm, các kết quả nghiên cứu về sinh trưởng quần thể và thành phần sinh hóa tế bào vi tảo được phân tích tổng hợp, làm cơ sở cho việc lựa chọn các chủng vi tảo. Định hướng của dự án nghiên cứu là lựa chọn 3 chủng tảo khuê làm nguồn thức ăn trực tiếp cho ấu trùng tôm và 2 chủng vi tảo khác trong nuôi cấy luân trùng. Sinh khối luân trùng được sử dụng làm nguồn thức ăn bổ sung cho ấu trùng tôm he.



Hình 2.4. Sơ đồ bố trí thí nghiệm 1

2.4.2. Thí nghiệm 2: Ảnh hưởng của một số loại môi trường dinh dưỡng (f, f/2, và AGP-C) lên sinh trưởng quần thể và thành phần sinh hóa tế bào một số chủng vi tảo

Kết quả từ thí nghiệm 1 đã chỉ ra 3 chủng vi tảo khuê tiềm năng nhất làm thức ăn trực tiếp cho ấu trùng tôm he, bao gồm *Chaetoceros muelleri* CS-176, *Thalassiosira weissflogii* CS-871 và *Phaeodactylum tricornutum* CS-252. Bên cạnh đó, hai chủng vi tảo tiềm năng làm nguồn thức ăn gián tiếp trong sản xuất giống tôm he bao gồm *Nannochloropsis oceanica* CS-179 và *Tisochrysis lutea* CS-177. Trong đó, ba chủng vi tảo silic được xác định là quan trọng cho hợp phần nghiên cứu vi tảo của dự án, và cũng là đối tượng nghiên cứu trong thí nghiệm tối ưu hóa điều kiện nuôi cấy này.

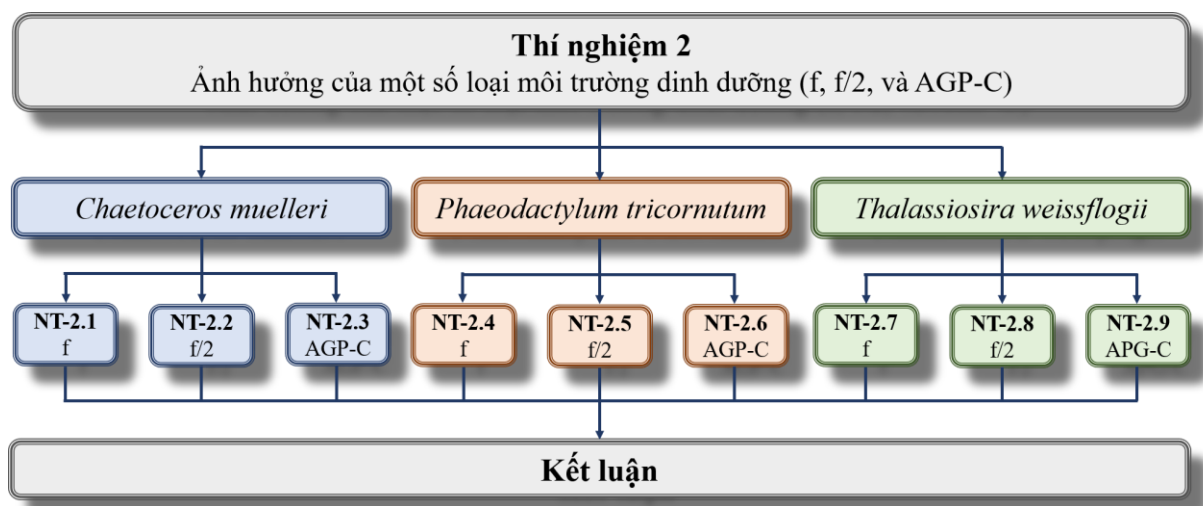
➤ Thí nghiệm được tiến hành với ba loại môi trường dinh dưỡng bổ sung khác nhau là f, f/2, và môi trường thương mại AGP-C. Cơ sở khoa học của việc lựa chọn các môi trường dinh dưỡng trong nghiên cứu này được xác định dựa trên tính khả thi, định hướng ứng dụng của dự án. Cụ thể, môi trường dinh dưỡng bổ sung f/2 (Guillard và Ryther, 1975) được xem là môi trường phổ biến nhất trong nuôi cấy vi tảo trên toàn thế giới [1, 10]. Môi trường dinh dưỡng bổ sung f có nồng độ các thành phần gấp đôi so với môi trường dinh dưỡng bổ sung f/2. Môi trường dinh dưỡng bổ sung này được khuyến cáo bởi đơn vị cung cấp tảo giống ANACC, CSIRO – Australia. AGP-C (Algal Growth Promoting - Complete) là môi trường thương mại phổ biến nhất và được sử dụng ở hầu hết các cơ sở sản xuất tôm he lớn tại Việt Nam. Môi trường này được cung cấp bởi Epicore BioNetworks Inc, USA. Thành phần hóa học tương tự như môi trường f/2 và điểm khác biệt là có bổ sung một số chất kích thích sinh trưởng. Liều lượng sử dụng tuân theo hướng dẫn của nhà sản xuất là 250 ppm. Môi trường thương mại AGP-C không có thành phần silicate. Do vậy, nghiệm thức thí nghiệm sử dụng AGP-C trong nuôi cấy tảo khuê được bổ sung Na_2SiO_3 với nồng độ 30 ppm.

➤ Các chủng vi tảo được nuôi cấy trong các bình thủy tinh 1 L chứa 800 mL dịch nuôi cấy. Ngoại trừ điều kiện môi trường dinh dưỡng bổ sung, các điều kiện nuôi cấy vi tảo trong thí nghiệm này bao gồm thể tích nuôi cấy, nguồn nước, nhiệt độ, độ mặn, ánh sáng và chế độ sục khí tương tự như ở thí nghiệm 1.

➤ Có ba đối tượng nghiên cứu tương ứng với ba chủng vi tảo khuê *Chaetoceros muelleri* CS-176, *Thalassiosira weissflogii* CS-871 và *Phaeodactylum tricornutum*

CS-29. Ở mỗi chủng vi tảo, ba nghiệm thức khác nhau về môi trường dinh dưỡng bổ sung được bố trí. Mỗi nghiệm thức được lặp lại bốn lần tạo thành tổng số $3 \times 3 \times 4 = 36$ đơn vị thí nghiệm.

➤ Các thông số về sinh trưởng quần thể và thành phần sinh hóa tế bào vi tảo được thu thập và phân tích tương tự như ở thí nghiệm 1.



Hình 2. 5. Sơ đồ bố trí thí nghiệm 2

2.4.3. Thí nghiệm 3: Tương tác giữa cường độ chiếu sáng và chu kì quang lên sinh trưởng quần thể và thành phần sinh hóa tế bào một số chủng vi tảo.

➤ Tương tự như ở thí nghiệm 2, ba chủng vi tảo silic *Chaetoceros muelleri* CS-176, *Thalassiosira weissflogii* CS-871 và *Phaeodactylum tricornutum* CS-29 làm nguồn thức ăn trực tiếp cho ấu trùng tôm he được sử dụng làm vật liệu nghiên cứu.

➤ Qua khảo sát, cường độ ánh sáng $100 \mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ ($\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$) là khoảng cường độ được sử dụng phổ biến tại cơ sở nghiên cứu và một số trại giống tôm lớn ở Việt Nam. Bên cạnh đó, kết quả của nhiều nghiên cứu đã chỉ ra khoảng cường độ ánh sáng này được cho là tối ưu cho sinh trưởng quần thể nhiều loài vi tảo. Cường độ ánh sáng $75 \mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ được khuyến cáo bởi CSIRO cho hầu hết thí nghiệm. Đây là cơ sở cho việc bố trí ba ngưỡng cường độ chiếu sáng trong thí nghiệm 3, bao gồm 75, 100, và $125 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$.

➤ Tương tự như vậy, chu kì quang 12hL:12hD được cho là điều kiện tiêu chuẩn trong nhiều nghiên cứu và ứng dụng sản xuất cho hầu hết các loài vi tảo [10]. Mặc dù vậy, quan điểm của cơ sở sản xuất theo hướng chiếu sáng liên tục để thu được sinh khối quần thể cao trong khoảng thời gian ngắn nhất, đáp ứng các nhu cầu sinh khối tảo trong

sản xuất. Hai căn cứ này là cơ sở để bố trí ba chế độ chu kỳ quang trong nghiên cứu này là 12hL:12hD, 18hL:6hD và 24hL:0hD.

➤ Thí nghiệm 3 được thiết kế dưới dạng ma trận tổ hợp của ba mức cường độ chiếu sáng khác nhau là 75, 100, và 125 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ và ba chế độ chiếu sáng (chu kỳ quang) là 12 giờ sáng: 12 giờ tối (12hL:12hD), 16 giờ sáng: 8 giờ tối (16hL:8hD), và 24 giờ chiếu sáng liên tục (24hL:0hD). Có chín nghiệm thức từ tổ hợp này đối với mỗi chủng vi tảo nghiên cứu. Mỗi nghiệm thức được lặp lại 3 lần tạo thành 3 (loài tảo) $\times$ 9 (tổ hợp) $\times$ 3 (lần lặp) = 81 đơn vị thí nghiệm.

Bảng 2. 3. Ma trận tổ hợp cường độ chiếu sáng và chu kỳ quang trong thiết kế thí nghiệm 3 trên chủng *Chaetoceros muelleri*

	75 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$	100 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$	125 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$
12hL: 12hD	NT-3.1	NT-3.2	NT-3.3
	(75 μE +12hL)	(100 μE +12hL)	(125 μE +12hL)
18hL: 6hD	NT-3.4	NT-3.5	NT-3.6
	(75 μE +18hL)	(100 μE +18hL)	(125 μE +18hL)
24hL:0hD	NT-3.7	NT-3.8	NT-3.9
	(75 μE +24hL)	(100 μE +24hL)	(125 μE +24hL)

➤ Tương tự như ở *C. muelleri*, cách bố trí thí nghiệm và sắp xếp tên các nghiệm thức cho hai chủng tảo silic còn lại là *Thalassiosira weissflogii* và *Phaeodactylum tricornutum* được thực hiện như mô tả ở Bảng 2.2. Cụ thể, chín nghiệm thức từ NT-3.10 đến NT-3.18 được sử dụng cho chủng *T. weissflogii*. Các nghiệm thức cho chủng *P. tricornutum* được mã số từ NT-3.19 đến NT-3.27.

➤ Ba chủng tảo silic được nuôi cấy trong các bình thủy tinh 1 L chứa 800 mL dịch nuôi cấy. Môi trường dinh dưỡng bổ sung trong các nghiệm thức được sử dụng từ kết quả nghiên cứu của thí nghiệm 2. Các điều kiện nuôi cấy vi tảo trong thí nghiệm này bao gồm nguồn nước, nhiệt độ, độ mặn, ánh sáng và chế độ sục khí tương tự như ở thí nghiệm 1.

➤ Các thông số sinh trưởng quần thể và thành phần sinh hóa tế bào được thu thập, phân tích và đánh giá tương tự như ở thí nghiệm 1.

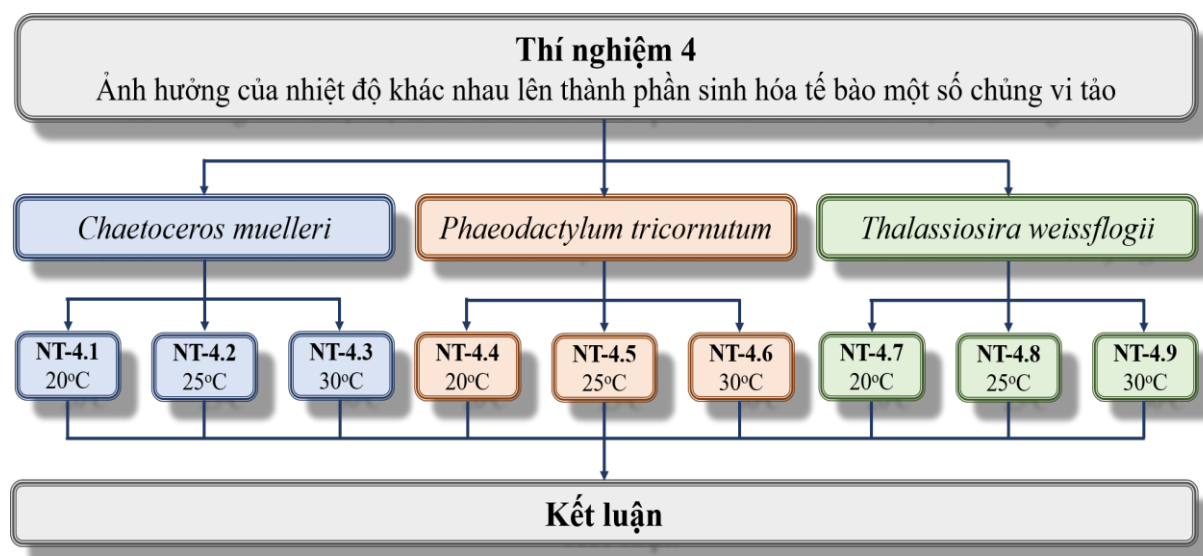
2.4.4. Thí nghiệm 4: Ảnh hưởng của nhiệt độ khác nhau lên thành phần sinh hóa một số chủng vi tảo

➤ Thí nghiệm được bố trí với ba nghiệm thức tương ứng với ba điều kiện nhiệt độ là 20, 25, và 30°C. Trong đó, 20°C là điều kiện nhiệt độ phổ biến nhất được duy trì ở cơ sở lưu giữ, bảo quản các giống vi tảo tại ANACC, CSIRO. Trong sản xuất vi tảo tại cơ sở (Minh Phú Ninh Thuận) có hai điều kiện sản xuất vi tảo, bao gồm nuôi cấy tảo giống trong phòng với điều kiện nhiệt độ được duy trì ở 25°C và nuôi thu sinh khối ngoài trời. Trong nuôi thu sinh khối ngoài trời, nhiệt độ thay đổi phụ thuộc vào điều kiện thời tiết. Mặc dù vậy, điều kiện nhiệt độ ở 30°C được xác định là điều kiện nhiệt độ tối ưu trong bể ương nuôi ấu trùng tôm đối với cả hai loài tôm he đang sản xuất tại cơ sở. Đây là những cơ sở khoa học để bố trí ba ngưỡng nhiệt độ trong thí nghiệm này.

➤ Các chủng vi tảo được nuôi cấy trong các bình thủy tinh tam giác 250 mL chứa 200 mL dịch nuôi tảo. Các tủ nuôi ổn nhiệt để duy trì điều kiện nhiệt độ thí nghiệm.

➤ Tương tự như ở thí nghiệm 2, ba chủng vi tảo silic làm thức ăn trực tiếp cho ấu trùng tôm he được sử dụng làm vật liệu cho nghiên cứu trong thí nghiệm 4 này (hình 2.6). Mỗi nghiệm thức được lặp lại bốn lần tạo thành $3 \times 3 \times 4 = 36$ đơn vị thí nghiệm.

➤ Các dữ liệu về sinh trưởng quần thể và thành phần sinh hóa tế bào được tiến hành tương tự như ở các thí nghiệm trước.



Hình 2.6. Sơ đồ bố trí thí nghiệm 4

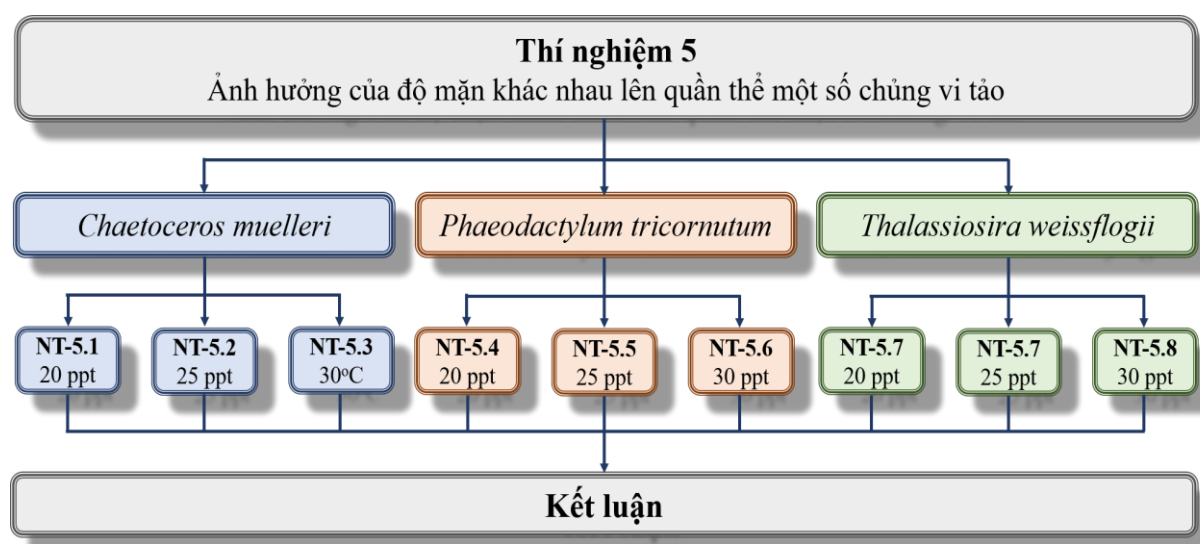
2.4.5. Thí nghiệm 5: Ảnh hưởng của độ mặn khác nhau lên sinh trưởng quần thể và thành phần sinh hóa một số chủng vi tảo

➤ Tương tự như ở thí nghiệm 4, thí nghiệm 5 được bố trí với ba nghiệm thức tương ứng với ba điều kiện khác nhau về độ mặn (20, 25, và 30 ppt). Cơ sở khoa học chính của việc bố trí ba độ mặn dựa vào điều kiện độ mặn trong quá trình ương nuôi ấu trùng tôm he tại cơ sở, cũng như nguồn dữ liệu thứ cấp nuôi cấy một số loài vi tảo. Cụ thể, ngưỡng độ mặn 30 ppt là điều kiện tiêu chuẩn trong nước ương nuôi giai đoạn nauplius tại Minh Phú Ninh Thuận, 20 ppt là độ mặn của nguồn nước khi ấu trùng chuyển sang giai đoạn postlarvae. Qua khảo sát, độ mặn 25 ppt được xem là phổ biến nhất trong nuôi cấy các loài vi tảo phục vụ nuôi trồng thủy sản ở Việt Nam.

➤ Ba chủng vi tảo silic được xác định làm đối tượng nghiên cứu trong thí nghiệm này. Các chủng vi tảo được nuôi cấy trong các bình tam giác thủy tinh có dung tích 1 L, chứa 800 mL dịch nuôi cấy. Mỗi chủng vi tảo được bố trí với ba nghiệm thức độ mặn, bốn lần lặp được thực hiện trên mỗi nghiệm thức tạo thành $3 \times 3 \times 4 = 36$ đơn vị thí nghiệm (hình 2.7).

➤ Ở các nghiệm thức thí nghiệm, các điều kiện cơ bản về môi trường nước, chế độ sục khí được áp dụng tương tự như ở thí nghiệm 1. Các điều kiện khác bao gồm nhiệt độ, ánh sáng, môi trường dinh dưỡng bổ sung được sử dụng từ kết quả của các nghiên cứu trước.

➤ Các dữ liệu về sinh trưởng quần thể và thành phần sinh hóa tế bào được tiến hành tương tự như ở các thí nghiệm trước.



Hình 2.7. Sơ đồ bố trí thí nghiệm 5

2.4.6. Thí nghiệm 6: Nghiên cứu sử dụng một chủng vi tảo trong nuôi cấy luân trùng, ứng dụng trong sản xuất giống tôm

❖ Thí nghiệm 6.1. Nghiên cứu ảnh hưởng nguồn thức ăn vi tảo lên sinh trưởng quần thể luân trùng *Brachionus plicatilis*

➤ Với định hướng nghiên cứu ứng dụng vi tảo làm nguồn thức ăn gián tiếp trong sản xuất giống tôm he tại Việt Nam, trong nghiên cứu này hai chủng vi tảo *Nannochloropsis oceanica* và *Tisochrysis lutea* được sử dụng làm nguồn thức ăn cho luân trùng *Brachionus plicatilis* trong thí nghiệm này. Về vị trí phân loại, luân trùng *B. plicatilis* Muller, 1786 thuộc giống *Brachionus*, họ *Brachionidae*, bộ *Ploimida*, lớp *Monogononta*, và ngành *Rotifera*.

➤ Các chủng vi tảo được nuôi cấy trong các bình carboy 20-L chứa 18 L dịch nuôi cấy. Các điều kiện nuôi cấy vi tảo (nguồn nước, nhiệt độ, độ mặn, môi trường dinh dưỡng..) được bố trí tương tự như ở thí nghiệm 1.

➤ Nguồn luân trùng *B. plicatilis* cỡ nhỏ (S) được cung cấp bởi Công ty TNHH SXG Thủy sản Minh Phú được sử dụng làm vật liệu nghiên cứu. Luân trùng được nuôi trong các bể tròn có thể tích 500 L chứa 400 L nước biển sạch. Mật độ ban đầu trong ương nuôi ấu trùng 100 con/mL. Không sử dụng men bánh mì trong quá trình nuôi cấy. Chế độ sục khí và chăm sóc được áp dụng theo tiêu chuẩn chung tại cơ sở.

➤ Nghiên cứu được tiến hành với 3 nghiệm thức NT-6.1 sử dụng hoàn toàn thức ăn vi tảo *Nannochloropsis oceanica*. Nghiệm thức NT-6.2 sử dụng hoàn toàn thức ăn vi tảo *Tisochrysis lutea* và nghiệm thức NT-6.3 sử dụng kết hợp hai loài *N. oceanica* + *T. lutea* làm thức ăn cho luân trùng. Mỗi nghiệm thức được lặp lại 4 lần tạo thành 12 đơn vị thí nghiệm.

➤ Kết quả nghiên cứu của Cái Ngọc Bảo Anh (2010) [1] đã chỉ ra sinh trưởng quần thể luân trùng không có sự khác biệt lớn với khẩu phần thức ăn vi tảo *Nannochloropsis oculata* từ 6-12 triệu tb/mL. Đây là cơ sở để bố trí khẩu phần thức ăn cho nghiệm thức NT-6.1 ở mức 6×10^6 tb/mL. Tương tự như vậy, khẩu phần thức ăn *Tisochrysis lutea* cho luân trùng ở nghiệm thức NT-6.2 là 3×10^6 tb/mL. Khẩu phần thức ăn vi tảo cho nghiệm thức thí nghiệm NT-6.3 được xác định là *N. oceanica*: *T. lutea* = 50:50 (tương đương với 3×10^6 tb/mL *N. oceanica* + $1,5 \times 10^6$ tb/mL *T. lutea*).

➤ Định kỳ hằng ngày thu thập mẫu luân trùng để đánh giá sinh trưởng quần thể trong các điều kiện thí nghiệm. Sinh trưởng quần thể luân trùng được xác định dựa vào

các thông số sinh trưởng quần thể (mật độ cực đại, tốc độ sinh trưởng theo ngày) theo mô tả của Cái Ngọc Bảo Anh (2010) [1].

❖ Thí nghiệm 6.2. Nghiên cứu ảnh hưởng của nguồn thức ăn bổ sung luân trùng lên sinh trưởng, phát triển và sức khỏe ấu trùng tôm thẻ chân trắng

➤ Ấu trùng tôm thẻ chân trắng *Penaeus vannamei* (SIS, dòng tiêu chuẩn) cung cấp bởi Công ty TNHH SXG Thủy sản Minh Phú được sử dụng làm vật liệu nghiên cứu.

➤ Nguồn nước biển tự nhiên, đã qua xử lý lắng, chlorine, và hệ thống lọc UF (kích thước màng lọc 0.01 μm) có độ mặn 32 ppt, pH 7.5-8, và độ kiềm 180 mgCaCO_3/L được sử dụng để ương nuôi ấu trùng trong nghiên cứu này.

➤ Nhiệt độ nước bể ương được duy trì ổn định trong khoảng 30-31°C bằng hệ thống nâng nhiệt. Ấu trùng tôm thẻ chân trắng được ương nuôi trong các bể composite hình trụ, có dung tích 500 L, chứa 450 L nước ương nuôi. Mật độ ấu trùng ương nuôi được bố trí ở 200 con/L. Thời gian thí nghiệm được kéo dài từ giai đoạn N₅ cho đến PL₁₂.

➤ Có ba nghiệm thức thí nghiệm sử dụng thức ăn bổ sung luân trùng, bao gồm NT-6.4 với khẩu phần ăn 50 ct/at/ngày, NT-6.5 với khẩu phần ăn là 75 ct/at/ngày, NT-6.6 với khẩu phần ăn 100 ct/at/ngày, và nghiệm thức đối chứng NT-6ĐC không sử dụng luân trùng. Mỗi nghiệm thức được lặp lại 3 lần tạo thành 12 đơn vị thí nghiệm.

➤ Trong thí nghiệm này, luân trùng được xác định là lượng thức ăn bổ sung, cung cấp cho ấu trùng tôm thẻ chân trắng. Căn cứ vào một số điều kiện thực tế tại cơ sở (khả năng sản xuất, hiệu quả kinh tế...), nhóm nghiên cứu xác định lượng luân trùng bổ sung cho ấu trùng tôm trong khoảng 50-100 ct/at/ngày (cá thể/ấu trùng/ngày). Thời gian bổ sung kéo dài từ giai đoạn Z₁ đến PL₁. Luân trùng được làm giàu bằng sản phẩm DHA selco Protein từ nhà cung cấp INVE Việt Nam với liều lượng 0,03 g/triệu cá thể trước khi cho ăn. Luân trùng được cấp vào bể ấu trùng vào 9.00 sáng hằng ngày.

➤ Các điều kiện chăm sóc ấu trùng tôm được áp dụng theo tiêu chuẩn chung tại cơ sở bao gồm thức ăn công nghiệp dạng lỏng, thức ăn tổng hợp, men vi sinh, vitamin bổ sung. Riêng lượng thức ăn nauplii *Artemia* (instar I) được tính toán cắt giảm cho các nghiệm thức thí nghiệm (NT-6.4, NT-6.5, và NT-6.6).

➤ Kết thúc thí nghiệm, các thông số sinh trưởng, phát triển và sức khỏe ấu trùng được xác định bao gồm tỷ lệ sống, thời gian chuyển giai đoạn, kích thước ấu trùng, lipid

gan tụy, khả năng chịu shock formalin, khả năng chịu shock độ mặn, thông số chất lượng môi trường nước, mật độ vibrio, và kiểm tra các bệnh thường gặp.

2.4.7. Thí nghiệm 7: Ảnh hưởng các khẩu phần thức ăn vi tảo khác nhau lên sinh trưởng, phát triển và sức khỏe ấu trùng tôm he

➤ Thí nghiệm được tiến hành trên cả hai đối tượng tôm he phổ biến nhất ở Việt Nam là tôm sú, *Penaeus monodon* và tôm thẻ chân trắng *P. vannamei*. Nguồn tôm giống Nauplii 5/6 được cung cấp bởi Công ty TNHH Sản xuất giống Thủy sản Minh Phú.

➤ Thí nghiệm được thiết kế với 6 nghiệm thức khác nhau về khẩu phần thức ăn vi tảo. Bao gồm ba nghiệm thức sử dụng đơn loài *T. weissflogii*, *C. muelleri*, và *P. tricornutum* và ba nghiệm thức kết hợp hai loài bao gồm *T. weissflogii* + *C. muelleri*, *T. weissflogii* + *P. tricornutum*, và *C. muelleri* + *P. tricornutum*. Các nghiệm thức thí nghiệm trên đối tượng tôm sú được kí hiệu lần lượt là: NT-7.1 (*T. weissflogii*), nghiệm thức NT-7.2 (*C. muelleri*), nghiệm thức NT-7.3 (*P. tricornutum*), nghiệm thức NT-7.4 (*T. weissflogii* + *C. muelleri*), nghiệm thức NT-7.5 (*T. weissflogii* + *P. tricornutum*) và nghiệm thức NT-7.6 (*C. muelleri* + *P. tricornutum*). Tương tự như vậy, các nghiệm thức trên đối tượng tôm thẻ chân trắng sẽ theo thứ tự từ NT-7.7 đến NT-7.12. Mỗi nghiệm thức được lặp lại 3 lần tạo thành 36 đơn vị thí nghiệm.

➤ Việc tính toán khẩu phần thức ăn từng loài vi tảo dựa vào công tác tiên khảo sát, tình hình thực tế sản xuất tại Việt Nam và qui đổi sinh khối vi tảo dựa trên căn cứ nguồn năng lượng nội bào (đơn vị carbon trong một tế bào vi tảo). Cụ thể, các tiên thí nghiệm trên ấu trùng tôm sú chỉ ra rằng, khẩu phần thức ăn vi tảo *C. muelleri* tốt nhất cho ấu trùng tôm sú giai đoạn zoea là 150×10^3 tb/at/ngày, và ở giai đoạn mysis là 100×10^3 tb/at/ngày. Kết quả nghiên cứu công bố hàm lượng carbon nội bào *C. muelleri* đạt 9,2 pg C/tb được sử dụng để tính toán qui đổi sang hai loài *T. weissflogii* và *P. tricornutum*. Hàm lượng carbon nội bào của *T. weissflogii* và *T. tricornutum* được xác định là 120 và 12,79 pg C/tb [26, 72, 82].

➤ Sinh khối vi tảo được nuôi cấy trong các bình carboy 20-L, điều kiện nuôi cấy là được rút ra từ các thí nghiệm trong nội dung 2. Sinh khối vi tảo này được sử dụng làm nguồn thức ăn cho ấu trùng trong các nghiệm thức.

➤ Kết thúc thí nghiệm, các thông số tỷ lệ sống, thời gian chuyển giai đoạn, chiều dài, khối lượng khô ấu trùng, khả năng chịu shock môi trường và chất lượng ấu trùng được đánh giá. Cơ sở khoa học của việc lựa chọn các thông số đánh giá sinh trưởng, phát triển và sức khỏe của ấu trùng tôm dựa theo căn cứ của Nguyễn Trọng Nho và cộng sự (2006) [3] và Luu Thi Tam và cộng sự 2021 [75].

2.5. Chế độ chăm sóc và quản lý bể ương nuôi ấu trùng tôm

❖ *Nguồn nước*

➤ Nguồn nước biển tự nhiên (cách bờ khoảng 200m) được bơm dẫn vào ao chứa lắng. Thời gian chứa – lắng được duy trì trong khoảng 2-3 ngày.

➤ Sau giai đoạn chứa lắng, nguồn nước được xử lý chlorine-B (nồng độ 20-30 ppm) để diệt các tác nhân gây bệnh. Thời gian ủ chlorine khoảng 24 giờ trước khi phơi nắng và sục khí mạnh để xử lý dư lượng chlorine.

➤ Nguồn nước biển sau khi loại bỏ dư lượng chlorine được tiếp tục xử lý qua hệ thống màng lọc công nghệ cao sợi ống rỗng PVDF - Polyvinylidene fluoride (hollow fiber membrane system) bằng máy lọc Ntesco (model NHFM-series.), kích thước lỗ lọc là 0,01 μm .

➤ Nước biển sau quá trình lọc được chứa trong các bể chứa sẵn sàng (200 m³) trước khi bơm dẫn qua các bộ phận sản xuất. Cũng trong giai đoạn này, một số thông số chất lượng nước cơ bản được điều chỉnh bao gồm độ mặn, độ kiềm, độ cứng và pH.

❖ *Chế độ cho ăn và chăm sóc ấu trùng tôm*

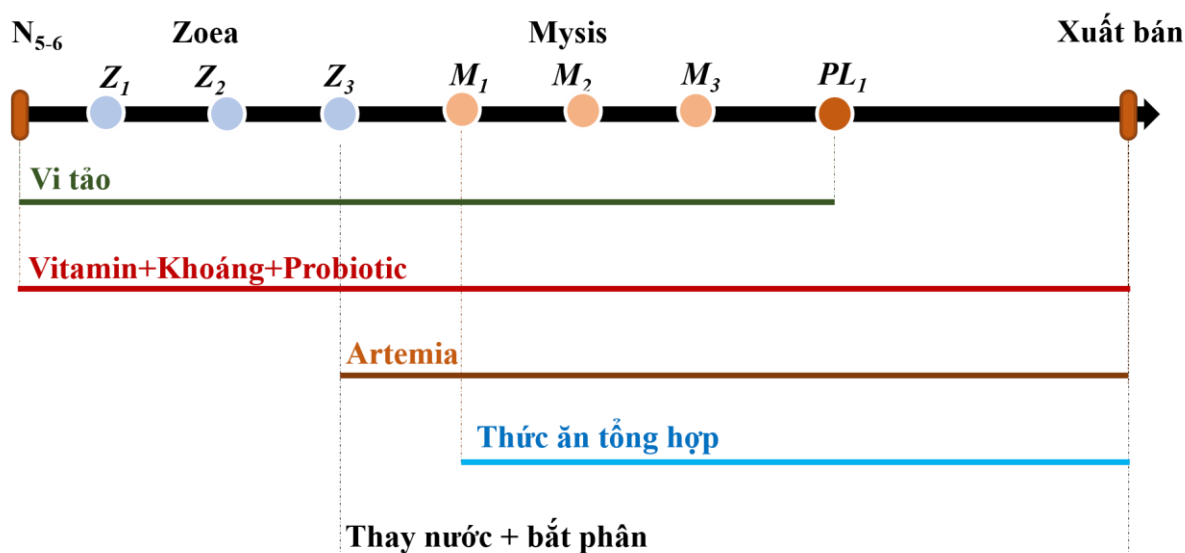
Các chế độ cho ăn, chăm sóc và quản lý bể ương được mô phỏng theo qui trình tại cơ sở, trong đó:

➤ Vi tảo được nuôi thu sinh khối trong các bể xi măng thể tích 24 m³, tính toán khẩu phần ăn và bơm trực tiếp vào bể ương nuôi ấu trùng 2 lần/ngày.

➤ Nauplii Artemia (nguồn SEO-Art) ở giai đoạn instarI được bổ sung cho ấu trùng tôm với khẩu phần 80-140-240 g/triệu AT/ngày (tương ứng với các giai đoạn phụ Z₁, Z₂, và Z₃). Khẩu phần ăn Artemia được tăng lên ở giai đoạn phụ M₁, M₂, và M₃ theo thứ tự là 300, 400, và 600 g/triệu AT/ngày. Ở các giai đoạn của postlarvae, khẩu phần Artemia cho ấu trùng tôm là 600 g/triệu AT/ngày (PL₁) và tăng đều 100 g mỗi ngày.

➤ Thức ăn tổng hợp được phối trộn cho phù hợp với từng giai đoạn. Thức ăn L2 (25% Lansy + 10% PlanktonAP + 65% Frippak #2) cho ấu trùng ở giai đoạn mysis với khẩu phần ăn 30-50 g/triệu AT/ngày. Thức ăn L3 (35% Frippak #3 + 35% Frippak 150 + 30% Larvar 200) cho hậu ấu trùng tôm PL₁-PL₃, khẩu phần thức ăn dao động trong khoảng 60-120 g/triệu AT/ngày. Thức ăn L4 (70% Flake V8 + 30% Shrimp PL) cho các giai đoạn từ PL₄ về sau với khẩu phần ăn 180-240 g/triệu AT/ngày.

➤ Chế độ thay nước và bắt phân được tiến hành khi ấu trùng kết thúc giai đoạn Z3.



Hình 2.8. Chế độ chăm sóc và quản lý ấu trùng tôm theo qui trình tại cơ sở

2.6. Phương pháp thu thập số liệu

2.6.1. Thu mẫu và xác định thông số sinh trưởng quần thể vi tảo

❖ Xác định các thông số sinh trưởng quần thể vi tảo

Mẫu tế bào vi tảo được định kì thu thập vào lúc 8.00 sáng hằng ngày để xác định các thông số sinh trưởng quần thể. Dịch nuôi cấy vi tảo được lắc đều trước khi thu mẫu. Mẫu vi tảo được thu thập bằng micropipette (1000 μ L) và chứa trong các ống eppendorf (1,5 mL) cố định bằng dung dịch Lugol's đậm đặc trung tính (với nồng độ KI là 10%, và I_2 là 5%). 1 giọt dung dịch Lugol's đậm đặc được sử dụng cho 1mL dịch tảo để đạt nồng độ cố định khoảng 5%.

Đối với các tế bào vi tảo thuộc nhóm đơn độc một tế bào buồng đếm tế bào máu Neubauer improved (độ sâu 0,1mm) và kính hiển vi quang học Olympus BX 21 với độ phóng đại 40×10 được sử dụng để xác định mật độ tế bào [Eq-1]. Nguyên tắc đếm Neubauer (Neubauer regulation) được áp dụng để xác định mật độ tế bào. Số tế bào nằm trên hai cạnh phía trên và bên trái của ô đếm được thu thập cho kết quả của ô đếm đó. Mỗi mẫu tế bào vi tảo được đếm tối thiểu 3 lần rồi lấy giá trị trung bình. Mật độ tế bào tảo được xác định qua công thức:

$$D=A*X*10^4 \quad [Eq-1]$$

Trong đó, D: mật độ tế bào (tb/mL); A: Tổng số tế bào được đếm trong cả buồng đếm X: Hệ số pha loãng (nếu có); 10^4 : Quy đổi giá trị thể tích buồng đếm. Mật độ cực đại được xác định bằng mật độ cao nhất thu được theo ngày trong chu kì nuôi cấy.

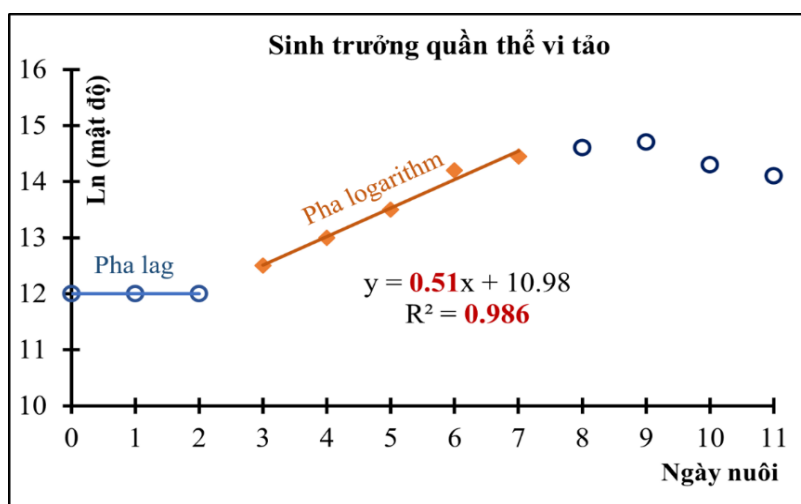
Dựa vào số liệu mật độ tế bào tảo qua các ngày nuôi cấy, các thông số sinh trưởng quần thể vi tảo được xác định, bao gồm mật độ cực đại (MCDs – maximum cell densities), tốc độ sinh trưởng quần thể ở pha logarithm (EGRs – exponential growth rates), và tốc độ sinh trưởng theo ngày cao nhất thu được (SGRs – specific growth rates). Mật độ cực đại được xác định là mật độ tế bào cao nhất thu được trong từng đơn vị thí nghiệm. Tốc độ sinh trưởng theo ngày được xác định theo công thức [Eq – 2] theo mô tả của Anderson (2005) [10].

$$\mu = \frac{\ln(N_t) - \ln(N_0)}{\Delta t} \quad [Eq - 2]$$

Tốc độ sinh trưởng quần thể vi tảo trong logarithm được xác định thông qua phương pháp mô hình logistic được mô tả bởi Fogg và Thake (1987) bằng phần mềm Microsoft Excel [51]. Sinh trưởng quần thể vi tảo ở pha logarithm biểu hiện qua phương trình $C_t = C_0 \times e^{\mu t}$ [Eq - 3]. Biểu thị hai vế của Eq-3 dưới dạng hàm số logarithm cơ số tự nhiên e thu được phương trình có dạng $\ln(C_t) = \ln(C_0 \cdot e^{\mu t}) \leftrightarrow \ln(C_t) = \ln(C_0) + \mu t$ [Eq - 4]. Phương trình có thể biểu diễn dưới dạng Phương trình [Eq - 4] có thể biểu diễn dưới dạng

$$y = \mu x + b \quad [Eq - 5]$$

Trong đó, μ là tốc độ tăng trưởng tại pha logarithm của quần thể, y là giá trị mật độ tảo dưới dạng logarithm cơ số tự nhiên, x là đơn vị thời gian nuôi cấy (ngày). Xác định đường thẳng phương trình [Eq - 5] bằng phương pháp vẽ đường thẳng hồi qui tuyến tính các giá trị mật độ tảo (biểu diễn dưới dạng hàm số logarithm cơ số e) từ ngày nuôi thứ 0, đến ngày nuôi thứ n cao nhất thu được. Cơ sở xác định đường thẳng tuyến tính dựa vào hệ số tương quan R^2 ($R^2 > 0,97$ [87]).



Hình 2.9. Mô phỏng phương pháp xác định pha sinh trưởng quần thể dựa trên mô hình logistic

2.6.2. Phương pháp phân tích lipid và thành phần các axit béo

Với định hướng ứng kết quả nghiên cứu vào thực tiễn sản xuất tại cơ sở, sinh khối vi tảo được thu thập vào ngày thứ 3 trong qui trình nuôi cấy ở tất cả các nghiệm thức. Phân tích hàm lượng các lipid và thành phần axit béo các mẫu vi tảo trong các nghiệm thức được thực hiện bởi phòng thí nghiệm phân tích sinh hóa, Ocean & Atmosphere, CSIRO.

50mL dịch nuôi cấy vi tảo được thu thập và chứa trong các ống falcon. Tiến hành li tâm ở 2500 vòng/phút trong khoảng 10 phút để loại nước. Phần lắng được sấy đông khô ở -20°C trong khoảng thời gian 24 giờ. Mẫu đông khô được bảo quản kỹ càng và chuyển về phòng thí nghiệm sinh hóa CSIRO, Úc để tiến hành phân tích.

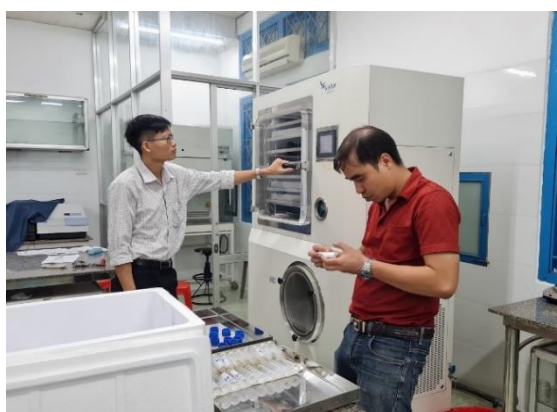
10 mg mẫu tảo đông khô được lấy ra và chiết xuất bằng phương pháp Bligh và Dyer cải tiến (1959), sử dụng hỗn hợp dichloromethane (DCM) - methanol (MeOH) - nước. Sau quá trình tách pha, lipid được thu hồi từ lớp DCM bên dưới. Tái tách chiết được thực hiện để tối ưu hóa hiệu suất thu hồi lipid. Dung môi sau đó được loại bỏ bằng chân không. Hàm lượng lipid thu hồi được xác định bằng phương pháp cân trọng lượng. Một phần lipid tổng số được pha loãng đến thể tích xác định để phân tích bằng sắc ký lớp mỏng kết hợp phát hiện ion hóa ngọn lửa (TLC-FID).

Để xác định các lớp lipid, một lượng lipid sau tách chiết được sử dụng, pha loãng để xác định tỷ lệ của từng lớp lipid riêng lẻ bằng thiết bị Iatroscan MK V TLC-FID (Iatron Laboratories, Japan). 1 μL mẫu được bơm vào mao dẫn silica gel SIII (kích thước hạt 5 μm) bằng micropipete sử dụng 1 lần. Hệ dung môi được sử dụng để tách lipid bao gồm hexane-diethyl ether-acetic acid (60:17:0,2 v/v), giúp phân tách hiệu quả các hợp chất không phân cực như wax ester, triacylglycerol và axit béo tự do. Sau 30 phút, các ống sắc ký được sấy khô (8 phút) và tiến hành phân tích ngay để giảm thiểu sự hấp thụ các chất ô nhiễm từ môi trường. Kết quả thu được là tỷ lệ phần trăm định tính của từng lớp lipid. Phương pháp Iatroscan đã được chứng minh có độ tái lập $\pm 10\%$ hoặc tốt hơn.

Lipid sau chiết xuất được chuyển hóa thành dạng FAME bằng dung dịch methanol/dichloromethane/HCl (10:1:1 v/v/v) để chuyển axit béo từ lipid phức hợp sang dạng FAME. Một lượng xác định dichloromethane chứa chất chuẩn nội (19:0 FAME) sau đó được thêm vào mỗi ống mẫu. Thành phần axit béo được biểu thị dưới dạng phần trăm trên tổng axit béo (TFA). Phương pháp sắc ký khí (GC) được sử dụng để xác định và định lượng axit béo, thực hiện trên hệ thống Agilent Technologies 7890A GC (Palo Alto, CA, USA) được trang bị cột mao quản silica không phân cực Equity-1™ (15 m $\times$

0,1 mm i.d., độ dày 0,1 mm), đầu dò ngọn lửa ion hóa (FID) và bộ bơm mẫu split/splitless. Mẫu được bơm trong chế độ splitless tại nhiệt độ buồng 120 °C, sau đó nhiệt độ được tăng lên 270 °C với tốc độ 10 °C/phút, rồi tiếp tục tăng lên 310 °C với tốc độ 5 °C/phút. Thời gian lưu (retention time) của từng FAME được so sánh với tiêu chuẩn thương mại và tiêu chuẩn phòng thí nghiệm. Diện tích peak được định lượng bằng phần mềm Agilent Technologies ChemStation (Palo Alto, CA, USA).

Phương pháp sắc ký khí khối phổ (GC-MS) được sử dụng để xác nhận danh tính của từng hợp phần và được thực hiện trên hệ thống ThermoScientific 1310 GC kết hợp với TSQ triple quadrupole. Mẫu được tiêm bằng bộ lấy mẫu tự động Tripleplus RSH, với phân tích thực hiện trên cột HP-5 Ultra 2 bonded-phase không phân cực (50 m × 0,32 mm i.d. × 0,17 µm độ dày màng). Cột HP-5 có tính phân cực tương tự với cột sử dụng trong phân tích GC. Nhiệt độ lò ban đầu được duy trì ở 45 °C trong 1 phút, sau đó tăng 30 °C/phút đến 140 °C, tiếp theo tăng 3 °C/phút đến 310 °C, và giữ ở 310 °C trong 12 phút. Helium (He) được sử dụng làm khí mang.



Hình 2.10. Thu mẫu tế bào phân tích thành phần axit béo trong nghiên cứu

2.6.3. Phương pháp thu thập mẫu và xác định sinh trưởng quần thể luân trùng

Bể nuôi luân trùng được tắt sục khí trước khi lấy mẫu. Mẫu luân trùng được thu thập hằng ngày vào lúc 9.00 sáng bằng các ống thủy tinh có chiều dài 1 m, đường kính ống 8 mm. Ống thu mẫu được đưa thẳng từ trên xuống đáy bể. Bịt chặt đầu trên của ống, đưa ống ra ngoài và đựng mẫu luân trùng trong cốc thủy tinh 250 mL. Tiến hành thu mẫu ở 5 điểm gần cách đều nhau trong bể và trộn đều nhau trong 1 cốc thủy tinh.

Mẫu luân trùng sau đó được cố định bằng dung dịch Lugol's đậm đặc, trung tính với nồng độ cố định khoảng 5%. Tiến hành xác định mật độ luân trùng và số cá thể luân trùng mang trứng bằng buồng đếm sinh vật phù du Sedgwick-Rafter 1,000 ô (Đức, thể tích buồng đếm 1 mL) và kính hiển vi quang học Olympus BX-21 ở độ phóng đại 4×10 lần. Mật độ luân trùng được xác định là trung bình cộng các lần đếm mẫu với số lần đếm tối thiểu một mẫu là 3 lần.

Tỷ lệ cá thể mang trứng được xác định theo công thức:

$$TLT = x/n \quad [Eq-6]$$

Trong đó, TLT : Tỷ lệ luân trùng mang trứng; x số luân trùng mang trứng đếm được trong 1 mẫu trong buồng đếm; n là tổng số luân trùng có trong buồng đếm của 1 mẫu.

Tốc độ sinh trưởng luân trùng theo ngày được xác định theo công thức

$$\mu = (\ln N_1 - \ln N_0)/(t_1 - t_0) \quad [Eq-7]$$

Trong đó, μ là tốc độ sinh trưởng luân trùng theo ngày; N_1 là mật độ luân trùng tại thời điểm t_1 (theo ngày), N_0 là mật độ luân trùng tại thời điểm t_2 .

Để đánh giá sinh trưởng các quần thể luân trùng, các chỉ tiêu mật độ cực đại và tốc độ sinh trưởng theo ngày cao nhất được sử dụng tương tự như ở thí nghiệm 1 trên đối tượng nghiên cứu vi tảo.

2.6.4. Phương pháp xác định sinh trưởng và phát triển ấu trùng tôm

❖ Phương pháp xác định tỷ lệ sống ấu trùng tôm qua từng giai đoạn

$$SR = (N_S/N_T) \times 100\%$$

Trong đó SR (survival rate) là tỷ lệ sống ở một giai đoạn bất kì ; N_T số lượng ấu trùng trong bể ở giai đoạn trước đó. N_S số lượng ấu trùng trong bể ở giai đoạn cần xác định

❖ Phương pháp xác định thời gian chuyển giai đoạn ấu trùng tôm

Được xác định bằng khoảng thời gian cần thiết để 50% số lượng các ấu trùng trong bể chuyển qua giai đoạn mới (đơn vị giờ).

❖ Phương pháp xác định chiều dài ấu trùng tôm

– 30 ấu trùng tôm ở mỗi giai đoạn PL₁, PL₁₂ được thu thập một cách ngẫu nhiên, Chiều dài ấu trùng và chỉ số CV của postlarval 12 được xác định dựa trên đo kích thước bằng kính hiển vi soi nổi Olympus SZ61 và phần mềm Amscope MU1003 (USB2.0)

❖ Phương pháp xác định khả năng chịu shock fomalin.

– Khoảng 100 cá thể ấu trùng tôm ở giai đoạn postlarvae được thu thập đem vào thử nghiệm shock trong các bình nước mặn có nồng độ formalin 100 ppm. Thời gian shock trong khoảng 30 phút.

– Sau thời gian shock, ấu trùng được thả trở lại môi trường nước nuôi, lượng ấu trùng sống sót khỏe mạnh sau quá trình shock được thu thập làm cơ sở tính toán cho khả năng chịu shock formalin.

❖ Phương pháp xác định khả năng chịu shock độ mặn

– 100 cá thể ấu trùng tôm ở giai đoạn Postlarvae được thu thập đem vào thử nghiệm shock trong các bình nước ngọt (độ mặn 0 ppt). Thời gian shock trong khoảng 30 phút.

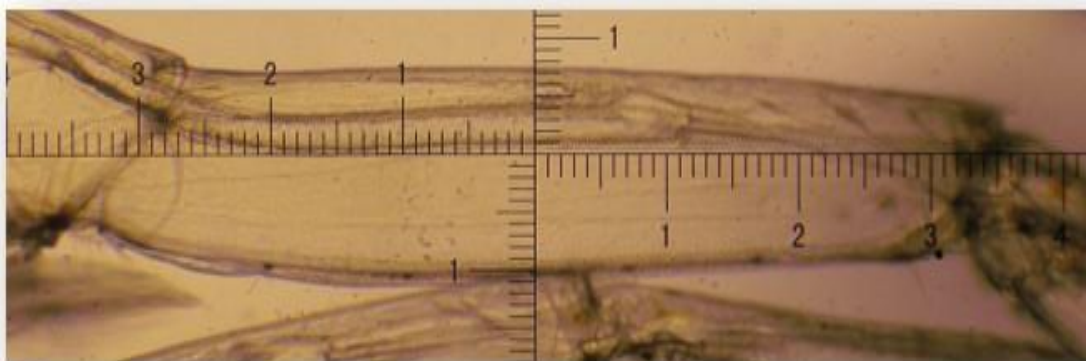
– Lượng ấu trùng sống sót khỏe mạnh sau quá trình shock được thu thập làm cơ sở tính toán cho khả năng chịu shock độ mặn.

❖ Phương pháp xác định khối lượng khô ấu trùng

– Ở mỗi nghiệm thức thí nghiệm, khoảng 300 ấu trùng postlarval 12 được lấy ngẫu nhiên, đem sấy khô ở 60⁰C trong 5 ngày liên tục để xác định khối lượng khô ấu trùng tôm sú.

❖ Phương pháp đánh giá chất lượng postlarvae

Chỉ tiêu tỷ lệ cơ ruột được xác định trên kính hiển vi quang, tỷ lệ này xác định độ dày lớp cơ và độ rộng đường ruột tại 1/3 đốt bụng thứ sáu phía tiếp giáp với đốt bụng thứ 5 theo mô tả của Wiradana và cộng sự (2022) [124].



Hình 2.11. Xác định tỷ lệ cơ:ruột ấu trùng tôm

Đánh giá tình trạng lipid gan tụy dựa trên tiêu chuẩn chất lượng tại cơ sở. Mô tiêu bản gan tụy được quan sát dưới kính hiển vi có độ phóng đại 10×40 lần. Căn cứ vào mức độ hiện diện của giọt dầu, tình trạng lipid gan tụy được chia thành 5 mức A (rất tốt), mức B (tốt), mức C (trung bình), mức D (xấu), và mức D (rất xấu).

2.6.5. Phương pháp xác định thông số môi trường

Nhiệt độ, độ mặn, độ kiềm, oxy hòa tan, pH được đo đặc 2 lần vào lúc 7.00 và 14.00 hằng ngày. Môi trường cấy khuẩn TCBS được sử dụng để xác định mật số vi khuẩn vibrio hiện diện trong bể ương ấu trùng với tần suất kiểm tra 1 lần/ngày.

- Nhiệt độ được xác định bằng nhiệt kế rượu, độ chính xác 1⁰C.
- Độ mặn: được đo bằng khúc xạ kế (refractometer), độ chính xác 1 ppt.
- pH: được đo bằng bút đo điện cực Hanna HI98128, độ chính xác 0,1.
- Oxy hòa tan được đo bằng máy đo điện cực cầm tay Hanna HI9146, Rumania, độ chính xác 0,1 ppm.
- Độ kiềm tổng đo bằng test kit sera.
- Cường độ ánh sáng được đo bằng máy đo cường độ ánh sáng cầm tay, Lutron LM-81LX, Taiwan, độ chính xác 5 rdg.

2.7. Phân tích và xử lý số liệu

Các dữ liệu được tổng hợp và trình bày dưới dạng giá trị nhỏ nhất – giá trị lớn nhất (min-max) và giá trị trung bình (Mean±SD), tốc độ sinh trưởng quần thể, đồ thị biểu diễn sinh trưởng quần thể vi tảo, và so sánh giá trị trung bình (trường hợp có hai nhóm so sánh) được thực hiện trên phần mềm MS-Excel 2020, version 365).

Phép phân tích phương sai một yếu tố (ANOVA), Duncan's test, độ tin cậy 95% được sử dụng để so sánh giá trị trung bình trong trường hợp có nhiều hơn 2 nhóm. Các phép kiểm định tính đồng nhất của phương sai và phân bố chuẩn được kiểm tra trước khi thực hiện phép phân tích này.

Để xác định tương tác giữa cường độ chiếu sáng và chu kỳ quang lên sinh trưởng quần thể vi tảo, phân tích hồi qui tuyến tính đa biến (Multiple Linear Regression with Interaction Terms) được thực hiện, phương trình mô phỏng:

$$y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 (X_1 \times X_2) + \alpha$$

Trong đó, β_0 là hằng số, β_1 và β_2 là hệ số hồi qui các biến độc lập X_1 (cường độ ánh sáng) và X_2 (chu kỳ quang), β_3 là hệ số tương tác giữa X_1 và X_2 , α là sai số ngẫu nhiên, và y là sinh khối quần thể vi tảo.

Các phép kiểm định được thực hiện trên phần mềm SPSS Statistics 20.0.

CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Sinh trưởng quần thể và thành phần sinh hóa một số chủng vi tảo tiềm năng (TN 1)

3.1.1. Sinh trưởng quần thể một số chủng vi tảo

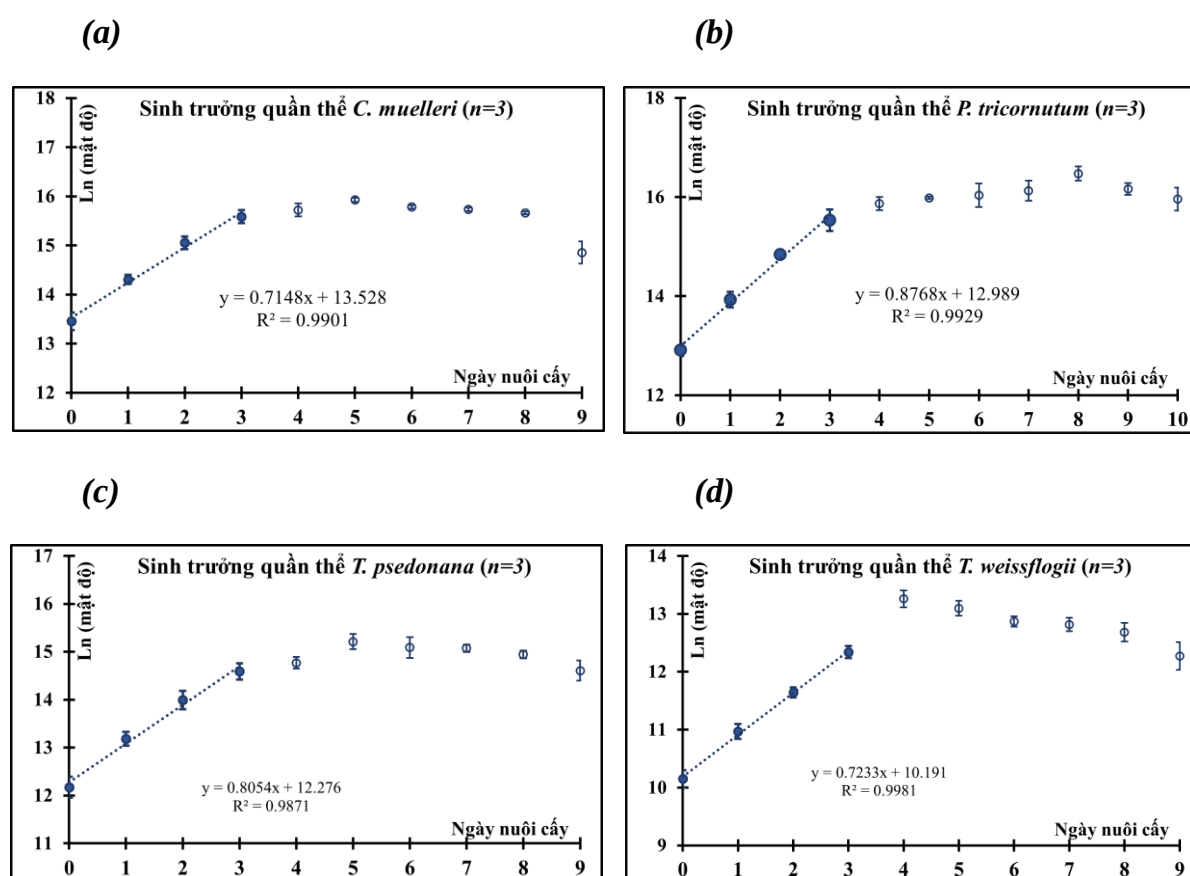
Kết quả nghiên cứu chỉ ra rằng hầu hết các chủng vi tảo có nguồn gốc từ Bộ sưu tập giống tảo Quốc gia Úc thích nghi tốt với các điều kiện thí nghiệm và tăng sinh nhanh chóng sau ngay ngày đầu tiên nuôi cấy. Pha sinh trưởng dương (pha logarithm) được bắt đầu vào ngày thứ 0 và kéo dài đến ngày thứ 3 trong chu kỳ nuôi cấy ở hầu hết các nghiệm thức thí nghiệm. Ngoại trừ duy nhất trường hợp ở tảo *Nannochloropsis oceanica*, pha logarithm kéo dài từ ngày 0 đến ngày thứ 4 trong chu kỳ nuôi cấy. Có sự khác biệt lớn về sinh trưởng giữa các quần thể vi tảo trong thí nghiệm này (bảng 3.1 và phụ lục 3.1.2).

Xét ở khía cạnh mật độ cực đại (MCDs), sinh trưởng quần thể tảo *N. oceanica* đạt cao nhất trong số các chủng vi tảo thí nghiệm. Quần thể *N. oceanica* tăng sinh nhanh chóng và sinh khối đạt cực đại ở $78,92 \pm 5,63 \times 10^6$ tb/mL, vào ngày nuôi thứ 8 trong chu kỳ nuôi cấy. Sinh khối này gấp 5,5 lần sinh khối cực đại ghi nhận được ở chủng vi tảo xếp thứ hai, *P. tricornutum*, ở $14,37 \pm 2,04 \times 10^6$ tb/mL (bảng 3.1). Kế đến tảo silic biển, *C. muelleri* có MCDs đạt $8,26 \pm 0,35 \times 10^6$ tb/mL. Sự khác biệt về mật độ cực đại giữa các chủng vi tảo này là có ý nghĩa thống kê với mức ý nghĩa α ở 0,05.

Ở chiều ngược lại, sinh trưởng quần thể ở nghiệm thức tảo silic biển *Thalassiosira weissflogii* có giá trị mật độ cực đại là thấp nhất trong số tám chủng vi tảo đã khảo sát, đạt $0,60 \pm 0,04 \times 10^6$ tb/mL. Mật độ cực đại này thấp hơn có ý nghĩa thống kê so với ba chủng vi tảo *N. oceanica*, *P. tricornutum* và *C. muelleri* nhưng không có sự khác biệt với các chủng tảo còn lại, bao gồm *C. calcitrans*, *I. galbana*, *T. lutea* và *T. pseudonana*. Các nghiệm thức ở các chủng vi tảo này có giá trị mật độ cực đại dao động trong khoảng $3-4 \times 10^6$ tb/mL. Kết quả phân tích ANOVA một yếu tố cho thấy không có sự sai khác có ý nghĩa thống kê giữa về mật độ cực đại giữa bốn chủng vi tảo này (bảng 3.1, phụ lục 3.1.2, và phụ lục 3.1.3).

Tương tự như ở MCDs, tốc độ sinh trưởng quần thể tại pha logarithm (EGRs) của vi tảo *N. oceanica* là cao nhất, đạt $0,98 \pm 0,07$ /ngày. Giá trị này cao hơn hầu các chủng vi tảo còn lại trong nghiên cứu, ngoại trừ *P. tricornutum* (đạt $0,88 \pm 0,07$ /ngày).

Ngược lại, tảo khuê *C. calcitrans* có kết quả EGRs đạt được thấp nhất trong các chủng vi tảo nghiên cứu, thấp hơn ba lần so với *N. oceanica* ($0,33 \pm 0,1$ /ngày). Sự khác biệt là có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Các chủng tảo khuê còn lại, *T. pseudonana*, *T. weissflogii*, và *C. muelleri* có kết quả tốc độ sinh trưởng quần thể ở pha logarithm thu được là khá cao, lần lượt đạt $0,81 \pm 0,09$, $0,72 \pm 0,04$, và $0,71 \pm 0,03$ /ngày. Không có sự khác biệt về mặt thống kê giữa các EGRs của ba chủng tảo khuê này. Tương tự như vậy, EGRs thu được ở hai nghiệm thức trên hai chủng vi tảo lông roi lệch *I. galbana* và *T. lutea* tương đồng về mặt thống kê ($\alpha = 0,05$), và lần lượt là $0,58 \pm 0,04$ và $0,57 \pm 0,16$ /ngày (bảng 3.1 và phụ lục 3.1.3).



Hình 3.1. Đường cong sinh trưởng quần thể 4 chủng tảo khuê trong nghiên cứu

Các dấu tròn kín thể hiện sinh trưởng quần thể vi tảo ở pha logarithm, các dấu tròn mở thể hiện sinh trưởng quần thể nằm ngoài pha logarithm. Phương trình kèm theo $y = ax + b$, trong đó trị số a biểu diễn tốc độ sinh trưởng quần thể vi tảo ở pha logarithm.

Kết quả nghiên cứu đã cho thấy rằng, tốc độ sinh trưởng theo ngày cao nhất (Max SGRs) ghi nhận được ở các ngày nuôi trong pha tăng trưởng dương, khoảng ngày nuôi thứ nhất đến ngày thứ hai ở tất cả các nghiệm thức. So với hai thông số MCDs và EGRs

thì kết quả quan sát ở tốc độ sinh trưởng quần thể theo ngày cao nhất thu được có một số sự khác biệt. Trong đó, nhóm các nghiệm thức thí nghiệm cho kết quả Max SGRs cao nhất thu được bao gồm *N. oceanica* (1,24±0,14 /ngày), *P. tricornutum* (1,11±0,06 /ngày), và *T. pseudonana* (1,06±0,12 /ngày).

Trong khi đó, các nghiệm thức trên các chủng vi tảo *C. calcitrans*, *I. galbana* và *T. lutea* cho kết quả Max SGRs lần lượt đạt 0,57±0,04, 0,63±0,06, và 0,64±0,17 /ngày. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với mức ý nghĩa 0,05 giữa hai nhóm nghiệm thức thí nghiệm. Cuối cùng, hai chủng vi tảo silic quan trọng, tiềm năng còn lại bao gồm *C. muelleri* và *T. weissflogii* biểu hiện Max SGRs tương đối cao, lần lượt đạt 0,89±0,13 và 0,95±0,19 /ngày. Hai giá trị Max SGRs này khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức *N. oceanica* và nhóm nghiệm thức có Max SGRs thấp (bảng 3.1).

Bảng 3.1. Tổng hợp kết quả sinh trưởng quần thể một số chủng vi tảo (Min-Max, Mean±SD, n=3)

Tên chủng/loài vi tảo	MCDs ($\times 10^6$ tb/mL)	EGRs (/ngày)	Max SGRs (/ngày)
<i>Chaetoceros calcitrans</i> CS-178	4,11-4,6 4,37±0,25 ^a	0,31-0,34 0,33±0,1 ^a	0,53-0,62 0,57±0,04 ^a
<i>Chaetoceros muelleri</i> CS-176	7,88-8,55 8,26±0,35 ^b	0,68-0,75 0,71±0,03 ^c	0,75-1,01 0,89±0,13 ^b
<i>Isochrysis galbana</i> CS-186	3,40-3,81 3,60±0,20 ^a	0,54-0,61 0,58±0,04 ^b	0,57-0,70 0,63±0,06 ^a
<i>Nannochloropsis oceanica</i> CS-179	72,50-83,00 78,92±5,63 ^d	0,92-1,06 0,98±0,07 ^e	1,09-1,36 1,24±0,14 ^c
<i>Phaeodactylum tricornutum</i> CS-29	12,50-16,55 14,37±2,04 ^c	0,79-0,92 0,88±0,07 ^{de}	1,05-1,17 1,11±0,06 ^{bc}
<i>Tisochrysis lutea</i> CS-177	3,70-4,20 3,88±0,28 ^a	0,41-0,69 0,57±0,16 ^b	0,45-0,76 0,64±0,17 ^a
<i>Thalassiosira pseudonana</i> CS-173	3,49-4,61 4,11±0,57 ^a	0,70-0,87 0,81±0,09 ^{cd}	0,94-1,18 1,06±0,12 ^{bc}
<i>Thalassiosira weissflogii</i> CS-871	0,56-0,64 0,60±0,04 ^a	0,70-0,77 0,72±0,04 ^c	0,73-1,09 0,95±0,19 ^b

Ghi chú: các chữ cái khác nhau trong cùng một cột thể hiện sự sai khác có ý nghĩa thống kê với mức ý nghĩa 0,05

3.1.2. Thành phần sinh hóa một số chủng vi tảo tiềm năng

Nhìn chung, có sự khác biệt lớn về thành phần sinh hóa giữa các chủng vi tảo trong nghiên cứu (bảng 3.2). Hàm lượng lipid thu được trong các chủng vi tảo dao động từ 16 đến 90 mg/g (khối lượng khô). Hai chủng tảo Haptophytes là *Tisochrysis lutea* và *Isochrysis galbana* có hàm lượng lipid cao nhất lần lượt là 90,3 và 61,1 mg/g. Tiếp đến là vi tảo Eustigmatophyte, *Nannochloropsis oceanica*, chứa tổng lipid ở mức 55 mg/g. Hàm lượng lipid tổng thấp nhất được tìm thấy trong các nghiệm thức trên vi tảo silic biển, đặc biệt ở cả hai loài *Thalassiosira weissflogii* và *T. pseudonana* ở mức 16 mg/g.

Trong số các lớp lipid thì lipid phân cực chiếm tỷ trọng lớn, dao động trong khoảng khoảng từ 87,2 đến 97,3% tổng lượng lipid trong hầu hết các vi tảo được nghiên cứu. Kết quả cũng cho thấy triacylglycerol được phát hiện ở cả 8 loài vi tảo, với hàm lượng lipid tổng số dao động từ 0,01 đến 2,5%.

Kết quả nghiên cứu ở bảng 3.2 đã chỉ ra rằng sự phong phú về thành phần các axit béo (FA) trong các chủng vi tảo nghiên cứu. Mặc dù vậy, axit béo phổ biến nhất được tìm thấy trong mười vi tảo là những FA có số nguyên tử carbon là số chẵn và chứa khoảng 16 (C16) và 18 (C18) nguyên tử cacbon trong phân tử. Các FA này chiếm khoảng 50 đến 70% tổng số các axit béo (TFA). Các axit béo có mạch dài ($\geq C_{20}$, LC) được tìm thấy ở tất cả 10 loài vi tảo. Mặc dù vậy, ở hầu hết các loài vi tảo đều có tỷ lệ C22 FA thấp. Hầu hết các axit béo C20 được tìm thấy trong nghiên cứu này đều là PUFA. Tỷ lệ FA có C20 là rất thấp (dưới 1% TFA) ở Coccolithophyceae, *T. lutea* và *I. galbana*.

Ba loại axit béo đặc biệt quan trọng trong ương nuôi ấu trùng tôm he nói riêng và vật nuôi thủy sản nói chung là ARA, EPA và DHA xuất hiện ở hầu hết các chủng vi tảo nghiên cứu. Hàm lượng các FA tương đối khác biệt theo từng loài vi tảo. Mỗi một chủng loài vi tảo trong nghiên cứu thường có đặc điểm là hàm lượng cao hoặc thấp ở một hay một số loại FA. ARA cao nhất ở các ở tảo khuê *C. mueller* (10,6% TFA). Tiếp đến là *N. oceanica* với hàm lượng khoảng 6,5% TFA. Hàm lượng ARA thấp nhất được tìm thấy ở hai chủng vi tảo Haptophytes là *I. galbana* và *T. lutea* (dưới 0,1% TFA). Tương tự như vậy, EPA được tìm thấy có hàm lượng thấp ở các chủng tảo *I. galbana* (0,5%) và *T. lutea* (0,6%). Trong khi đó, hàm lượng này ở chủng vi tảo *N. oceanica* và *T. pseudonana* là rất cao, lần lượt đạt 30,0 và 29,0% TFA. Kết quả phân tích cũng chỉ ra rằng, DHA không tìm thấy ở vi tảo *N. oceanica* nhưng lại rất giàu ở hai chủng vi tảo Haptophytes.

Bảng 3.2. Thành phần axit béo (TB $\pm$ SD) (% tổng số axit béo và phân loại nhóm lipid (% tổng số lipid) của một số chủng vi tảo trong nghiên cứu

Loài	<i>C. calcitrans</i>	<i>C. muelleri</i>	<i>I. galbana</i>	<i>N. oceanica</i>
Mã số chủng	CS-178	CS-176	CS-186	CS-179
Axit béo (% TFA)				
14:0	13,1 $\pm$ 4,9	10,1 $\pm$ 1,2	10,2 $\pm$ 5,2	5,3 $\pm$ 0,6
C16 PUFA	13,0 $\pm$ 7,5	21,3 $\pm$ 10,6	0,1 $\pm$ 0,1	0,8 $\pm$ 0,3
16:1 ω 7c	26,9 $\pm$ 15,5	24,5 $\pm$ 12,3	3,5 $\pm$ 2,5	20,2 $\pm$ 7,6
16:0	7,2 $\pm$ 3,0	15,1 $\pm$ 7,3	17 $\pm$ 6,1	21,8 $\pm$ 6,7
18:3 ω 6+18:5 ω 3	0,1 $\pm$ 0,0	0,5 $\pm$ 0,2	6,6 $\pm$ 4,7	1,0 $\pm$ 0,4
18:4 ω 3	0,7 $\pm$ 0,3	0,9 $\pm$ 0,6	15,4 $\pm$ 10,9	0,1 $\pm$ 0,1
18:2 ω 6	0,5 $\pm$ 0,3	0,6 $\pm$ 0,1	3,1 $\pm$ 2	1,9 $\pm$ 0,9
18:3 ω 3	0,3 $\pm$ 0,3	0,1 $\pm$ 0,1	5,2 $\pm$ 3,7	0,1 $\pm$ 0,0
18:1 ω 9c	0,5 $\pm$ 0,3	0,6 $\pm$ 0,3	11,6 $\pm$ 8,2	6,1 $\pm$ 2,3
18:1 ω 7c	0,2 $\pm$ 0,1	0,8 $\pm$ 0,4	4,1 $\pm$ 2,9	0,3 $\pm$ 0,1
18:0	0,4 $\pm$ 0,4	1,9 $\pm$ 2	4,1 $\pm$ 4,1	0,4 $\pm$ 0,2
20:4 ω 6 ARA	2,3 $\pm$ 2,9	10,6 $\pm$ 10,7	Tr	6,5 $\pm$ 1,5
20:5 ω 3 EPA	21,2 $\pm$ 11,3	0,7 $\pm$ 0,3	0,5 $\pm$ 0,1	30,0 $\pm$ 7,4
22:6 ω 3 DHA	0,8 $\pm$ 0,0	0,5 $\pm$ 0,2	10,1 $\pm$ 0,8	Tr
Nhóm (%TFA)				
Σ SFA	20,7	27,2	31,3	27,5
Σ MUFA	27,6	25,9	19,2	26,6
Σ PUFA	38,9	35,1	41,1	40,4
Σ LC-PUFA	22,0	11,0	10,6	30,0
Lớp lipid (% lipid)				
Wax ester	Tr	0,2	2,2	Tr
Triacylglycerol	Tr	2,0	2,5	Tr
Free fatty acid	2,5	5,7	0,0	2,5
Sterol	1,1	1,3	0,9	1,1
Polar lipid	96,3	90,8	94,4	96,3
Total lipid (mg/g)	55,0	43,7	61,1	55,0

(Bảng 3.2. Tiếp)

Loài	<i>P. tricornutum</i>	<i>T. lutea</i>	<i>T. pseudonan</i>	<i>T. weissflogi</i>
Mã số chủng	CS-178	CS-176	CS-186	CS-179
Axit béo (% TFA)				
14:0	5,6 ±0,9	16,8 ±2,6	11,3 ±4,5	6,9 ±5,4
C16 PUFA	10,8 ±7,7	0,3 ±0,1	13,0 ±9,2	25,8 ±18,2
16:1ω7c	19,4 ±13,7	8,3 ±2,1	27,8 ±19,6	15,1 ±10,7
16:0	11,6 ±2,2	11,4 ±2,2	10,0 ±1,9	8,1 ±2,4
18:3ω6+18:5ω3	0,5 ±0,4	2,6 ±0,7	0,1 ±0,1	1,0 ±0,7
18:4ω3	0,4 ±0,5	21,0 ±4,4	4,3 ±1,5	0,6 ±0,7
18:2ω6	1,3 ±0,5	4,4 ±3,9	0,4 ±0,1	2,1 ±2,1
18:3ω3	0,2 ±0,1	5,5 ±1,7	0,2 ±0,1	0,1 ±0,2
18:1ω9c	5,6 ±3,9	7,7 ±1,9	1,0 ±0,7	2,2 ±1,5
18:1ω7c	0,3 ±0,2	1,8 ±0,5	0,2 ±0,1	0,3 ±0,2
18:0	0,4 ±0,2	0,3 ±0,2	0,7 ±0,1	2,2 ±3,1
20:4ω6 ARA	1,2 ±0,5	0,1 ±0,1	0,2 ±0,1	1,3 ±1,1
20:5ω3 EPA	29,0 ±7,8	0,6 ±0,2	23,9 ±6,1	17,2 ±9,9
22:6ω3 DHA	1,7 ±1,2	11,1 ±2,8	3,5 ±0,6	6,2 ±3,5
Nhóm (%TFA)				
ΣSFA	17,6	28,5	22,0	17,2
ΣMUFA	25,3	17,8	29,0	17,5
ΣPUFA	45,1	45,4	45,7	54,5
ΣLC-PUFA	30,7	11,7	27,4	23,5
Lớp lipid (% lipid)				
Wax ester	0,4	0,0	0,4	0,8
Triacylglycerol	1,4	1,8	1,8	1,6
Free fatty acid	0,0	3,0	5,1	1,8
Sterol	0,9	0,9	1,3	3,0
Polar lipid	97,3	94,3	91,4	92,7
Total lipid (mg/g)	45,5	90,3	16,1	16,1

Nghiên cứu về thành phần sinh hóa các chủng vi tảo trong các điều kiện nuôi cấy cụ thể được thực hiện rất nhiều trên thế giới và ở Việt Nam. Vi tảo *C. calcitrans* được sử dụng nhiều trong nuôi trồng thủy sản, nhất là sản xuất giống và ương nuôi động vật

thân mềm. Về thành phần sinh hóa, kết quả nghiên cứu trên đối tượng tảo khuê này có nhiều nét tương đồng với nhiều nghiên cứu trước đây được thực hiện trong cùng điều kiện nghiên cứu. Robert G. Ackman và cộng sự (1990) đã tiến hành phân tích thành phần sinh hóa *C. calcitrans*. Kết quả chỉ ra hàm lượng ARA, EPA, DHA, Σ SFA, và Σ PUFA lần lượt đạt 0,17, 21,5, 1,2, 22,4, và 47,0% TFA là rất tương đồng với kết quả thu được từ nghiên cứu này [88]. Tương tự như vậy, thành phần sinh hóa các loài vi tảo *I. galbana*, *N. oceanica*, *P. tricornutum* *T. pseudona* trong nghiên cứu này có nhiều điểm tương đồng với nhiều công bố trước đây [32, 94, 132].

Ở Việt Nam, so với nghiên cứu sinh trưởng quần thể và thành phần sinh hóa vi tảo *I. galbana* được thực hiện bởi Cái Ngọc Bảo Anh (2010) có thể thấy nhiều nét tương đồng về kết quả sinh mật độ cực đại và tốc độ sinh trưởng quần thể. Tuy nhiên, kết quả phân tích thành phần sinh hóa của một số thành phần axit béo (EHA, SFA, MUFA, và PUFA) trong nghiên cứu này cao hơn so với kết quả được báo cáo trong nghiên cứu của tác giả Cái Ngọc Bảo Anh [1].

Một nghiên cứu được thực hiện bởi Luu Thi Tam và các cộng tác viên (2020), nuôi cấy vi tảo *T. weissflogii* và ứng dụng trong ương nuôi giống tôm thẻ chân trắng. Kết quả nghiên cứu chỉ ra sinh trưởng quần thể *T. weissflogii* đạt mật độ cực đại khoảng $1,5 \times 10^6$ tb/mL cao hơn khoảng 2,5 lần so với ở nghiên cứu này. Về thành phần sinh hóa, kết quả phân tích có nhiều nét tương đồng ở ARA, EPA, MUFA. SFA. Riêng về hàm lượng DHA thì có sự khác biệt lớn [75]. Trong khi đó, so sánh với tình hình sản xuất thực tiễn tại các trại sản xuất giống tôm tại khu vực trọng điểm Ninh Thuận, sinh trưởng quần thể *T. weissflogii* trong nghiên cứu ở mức trung bình đến cao so với mặt bằng chung.

Như đã trình bày ở các nội dung phía trước, nghiên cứu này được thực hiện nhằm lựa chọn và ứng dụng một số chủng vi tảo trong sản xuất giống tôm he ở Việt Nam ở cả hai khía cạnh là nguồn thức ăn trực tiếp và nguồn thức ăn gián tiếp. Việc ra quyết định lựa chọn một hay một số chủng vi tảo đều không dễ dàng. Bên cạnh đó, tiêu chí lựa chọn các chủng vi tảo trong sản xuất giống tôm cũng chưa được mô tả nhiều trong các tài liệu khoa học, ngoại trừ phần mô tả ngắn gọn và sơ bộ của Patrick Lavens và Patrick Sorgeloos (1996). Trong công bố của mình, Patrick Laven và cộng

sự đã liệt kê một số tiêu chí lựa chọn thức ăn tươi sống nói chung bao gồm độ tinh sạch, phù hợp cỡ miệng, khả năng sử dụng và tiêu hóa thức ăn, cung cấp nguồn năng lượng và dinh dưỡng cho ấu trùng. Bên cạnh đó là tính khả thi và công tác vận hành trong thực tiễn nuôi cấy [71].

Một điểm lý thuyết nhận được sự đồng thuận cao của hầu hết các nhà khoa học là các loài tảo silic đặc biệt phù hợp trong sản xuất giống tôm, nhất là tôm he. Bên cạnh các đặc điểm rất dễ nhận thấy là kích thước phù hợp với cỡ môi ấu trùng, tính dẫn dụ và giá trị dinh dưỡng tế bào cao, thì nhóm vi tảo này còn có đặc điểm lớp vỏ tế bào (cell wall) được cấu tạo từ lớp silicate, dễ dàng cho ấu trùng tiêu hóa và hấp thu, nhất là giai đoạn con non, bắt đầu sử dụng thức ăn ngoài, cấu trúc đường ruột và hệ enzyme tiêu hóa chưa hoàn thiện [11, 32, 42, 48, 71].

Trong sản xuất giống tôm he ở Việt Nam, tảo silic biển *T. weissflogii* được sử dụng một cách rất rộng rãi làm nguồn thức ăn tự nhiên cho ấu trùng zoea và mysis tôm he ở hầu hết các cơ sở ương nuôi. Số lượng các công trình nghiên cứu nuôi thu sinh khối loài vi tảo này là rất nhiều cả trên thế giới và ở Việt Nam. Kết quả sinh trưởng quần thể vi tảo *T. weissflogii* trong nghiên cứu này tương đối giống với nhiều công trình đã công bố trước đó [75]. Bên cạnh đó, kết quả khảo sát sinh trưởng quần thể vi tảo này so với tình hình sản xuất chung ở các trại sản xuất giống tôm ở Việt Nam là tương đối tốt. Kích thước tế bào lớn ($720-900\ \mu\text{m}^3$), năng lượng dự trữ trong tế bào cao (120 pgC/tb) là những lợi thế lớn của loài vi tảo này trong vai trò nguồn thức ăn cho ấu trùng tôm he [26, 40]. Với kết quả nghiên cứu và những luận điểm khoa học vừa nêu, tảo silic biển *T. weissflogii* CS-871 được nhóm nghiên cứu đánh giá là tiềm năng và quyết định lựa chọn là một trong số các chủng vi tảo chính cho mục đích làm cơ sở nguồn thức ăn trực tiếp.

Một trong những tiêu chí quan trọng trong lựa chọn nguồn thức ăn tươi sống trong sản xuất giống tôm he nói riêng và vật nuôi thủy sản nói chung là đáp ứng các nhu cầu nguồn năng lượng cho ấu trùng [71]. Hay nói cách khác, sinh khối nguồn thức ăn vi tảo cần đủ lớn để đáp ứng cho nhu cầu nguồn năng lượng trong khẩu phần ăn của ấu trùng. Kết quả thí nghiệm đã chỉ ra rằng vi tảo silic, *Phaeodactylum tricornutum*, sinh trưởng với tốc độ rất nhanh, sinh khối quần thể đạt đến cực đại trong thời gian ngắn (cao hơn hai mươi lần so với loài tảo silic phổ biến nhất trong sản xuất giống tôm hiện nay

là *T. weissflogii*). Mặc dù kích thước tế bào *P. tricornutum* (chiều dài khoảng 15 μm , độ dày 2-3 μm , thể tích 72,5 μm^3), tổng năng lượng dự trữ trong tế bào nhỏ (7,6 pgC/tb), nhưng với mật độ tế bào rất cao trong dịch nuôi cấy, vi tảo này thể hiện là một trong loài có tiềm năng nhất làm thức ăn tươi sống trong sản xuất giống tôm he. Thêm vào đó, hình dạng tế bào thuôn dài, giúp cho tế bào có khả năng trôi nổi tốt trong môi trường bể ương cũng như rất phù hợp với tập tính ăn lọc của ấu trùng tôm he những giai đoạn đầu sử dụng thức ăn ngoài [71, 112].

Kết quả sinh trưởng quần thể các chủng vi tảo silic trong nghiên cứu cho thấy một ứng viên nữa cũng rất tiềm năng, đó là *Chaetoceros muelleri*. Sinh trưởng quần thể vi tảo trong nghiệm thức này cũng cho kết quả rất cao ở cả MCDs, EGRs, và Max SGRs (bảng 3.1). Về đặc điểm cấu tạo và sinh hóa tế bào *C. muelleri* cũng có nhiều nét tương đồng với *P. tricornutum*, nhất là kích thước tế bào tương đối nhỏ (dài 7 μm , dày 7 μm), tổng lượng carbon nội bào thấp (9,2 pgC/tb) [40, 82]. Mặc dù vậy, *C. muelleri* lại có thêm hai đặc điểm hết sức quan trọng, tiềm năng ứng dụng trong sản xuất giống tôm he. Thứ nhất là tế bào có các lông gai ở đỉnh góc tế bào, điều này giúp cho khả năng trôi nổi theo chiều sâu cột nước là rất tốt, nhất là trong điều kiện bể ương ấu trùng giai đoạn đầu có chế độ sục khí rất nhỏ. Thứ hai là những nghiên cứu ban đầu của CSIRO tại Bribie Island Research Center (một hợp phần khác thuộc khuôn khổ dự án nghiên cứu này) cho thấy những dấu hiệu rất khả quan về khả năng ức chế sự bùng phát của vi khuẩn vibrio của *C. muelleri* trong hệ thống ương nuôi.

Không giống như ở các tiêu chí sinh trưởng quần thể, kích thước tế bào cũng như sự tương thích về phân bố trong môi trường nước, lựa chọn các chủng loài vi tảo làm nguồn thức ăn trực tiếp dựa trên các tiêu chí về giá trị dinh dưỡng dường như phức tạp hơn nhiều. Thành phần sinh hóa của vi tảo là rất khác nhau phụ thuộc vào từng chủng loài cụ thể, tình trạng sinh lý và điều kiện môi trường nuôi cấy. Mỗi một chủng/loài vi tảo thường có những giá trị riêng biệt về giá trị dinh dưỡng. Hay nói cách khác, việc tìm kiếm một chủng loài vi tảo có đầy đủ các giá trị dinh dưỡng là hướng đi không khả thi. Thay vào đó, phương án phối trộn hai hay nhiều loài để cung cấp đầy đủ các dưỡng chất cho ấu trùng tôm được xem như giải pháp hiệu quả cả phương diện lý thuyết cũng như thực hành sản xuất [47, 68, 73].

Ở khía cạnh ứng dụng vi tảo làm nguồn thức ăn gián tiếp (nuôi thu sinh khối luân), các tiêu chí lựa chọn thức ăn đường như ít khắt khe hơn so với hướng ứng dụng làm thức ăn trực tiếp cho ấu trùng tôm. Tiêu chí lựa chọn các chủng vi tảo làm nguồn thức ăn trong nuôi thu sinh khối luân trùng phần lớn tập trung vào kích thước tế bào (2-20 μm), cung ứng nguồn năng lượng, sinh khối tế bào, và một số thành phần dinh dưỡng (chủ yếu là hàm lượng lipid và các axit béo) [48, 71, 76]. Theo đó, vi tảo *Nannochloropsis oceanica* biểu hiện tiềm năng rất lớn cho mục đích ứng dụng này. So sánh với loài *N. oculata* là loài tảo sử dụng phổ biến nhất trong nuôi cấy luân trùng Việt Nam, thì *N. oceanica* có khả năng cho sinh khối cao hơn rất nhiều (khoảng 2,5 lần) [1]. Hai chủng *Isochrysis galbana* và *Tisochrysis lutea* không có sự khác biệt lớn về kết quả sinh trưởng, mặc dù vậy xét ở khía cạnh thành phần sinh hóa, chủng tảo *T. lutea* có hàm lượng lipid tổng số cao hơn nhiều so với *I. galbana*. Với kết quả nghiên cứu và luận cứ khoa học vừa trình bày, hai chủng vi tảo *Nannochloropsis oceanica* CS-179 và *Tisochrysis lutea* CS-177 được lựa chọn làm nguồn thức ăn trong nuôi thu sinh khối luân trùng trong nghiên cứu này.

Nói tóm lại, kết quả sinh trưởng quần thể, thành phần sinh hóa và một số đặc điểm sinh học tế bào trong thí nghiệm 1 này là các cơ sở để lựa chọn ba chủng vi tảo khuê làm thức ăn trực tiếp cho ấu trùng tôm he là *Chaetoceros muelleri*, *Phaeodactylum tricornutum* và *Thalassiosira weissflogii*. Bên cạnh đó, hai chủng vi tảo được lựa chọn cho thí nghiệm nghiên cứu ứng dụng làm nguồn thức ăn gián tiếp trong sản xuất giống tôm he bao gồm *Nannochloropsis oceanica* và *Tisochrysis lutea*.

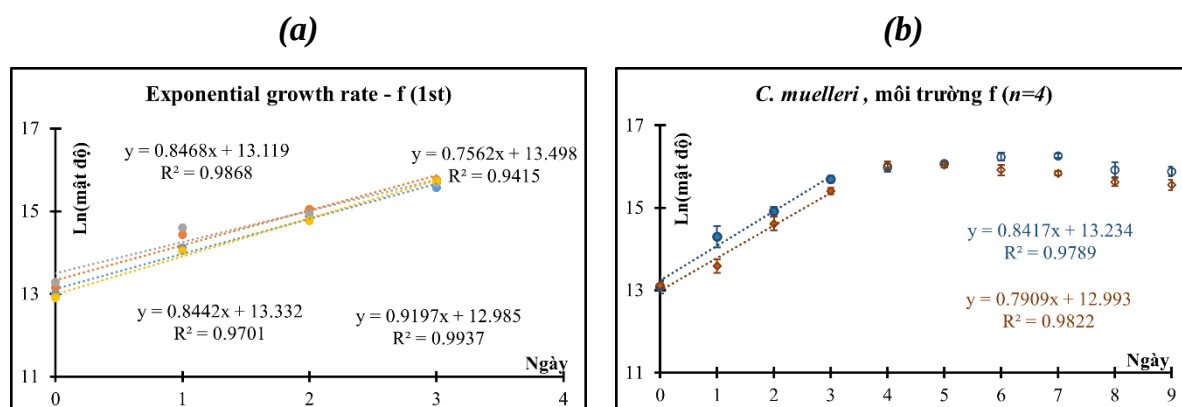
3.2. Ảnh hưởng của một số điều kiện nuôi cấy lên sinh trưởng quần thể và thành phần sinh hóa một số chủng vi tảo.

Để có những hiểu biết chính xác hơn ảnh hưởng của các điều kiện nuôi cấy lên sinh trưởng quần thể và thành phần sinh hóa tế bào vi tảo, các thí nghiệm được tiến hành với hai lần độc lập (kí hiệu 1st và 2nd) với hai nguồn tảo giống có mã số hoàn toàn khác biệt. Tuy nhiên, vì một số lý do như số lượng các mẫu cần phân tích rất lớn, chủ trương ưu tiên cho một số nội dung nghiên cứu quan trọng, nên các phân tích thành phần sinh hóa vi tảo ở nội dung này được thực hiện một lần cho một nghiệm thức thí nghiệm.

3.2.1. Ảnh hưởng của một số loại môi trường dinh dưỡng (f, f/2, và AGP-C) lên sinh trưởng quần thể và thành phần sinh hóa tế bào một số chủng vi tảo (TN 2)

❖ Ảnh hưởng của các môi trường dinh dưỡng khác nhau lên sinh trưởng quần thể và thành phần sinh hóa vi tảo *Chaetoceros muelleri*

Kết quả nghiên cứu đã chỉ ra rằng, tảo khuê *C. muelleri* thích nghi và sinh trưởng tốt trên cả ba loại môi trường dinh dưỡng bổ sung f, f/2 và AGP-C. Quần thể vi tảo bắt đầu pha tăng trưởng dương ngay sau ngày đầu tiên nuôi cấy và kéo dài trong 3 ngày tiếp theo. Sinh khối quần thể đạt cực đại vào khoảng ngày thứ 6-7 trong chu kỳ nuôi cấy, và sau đó có dấu hiệu tàn lụi ở ngày kế tiếp (ngày thứ 8). Sinh trưởng quần thể thể hiện tương đối đồng nhất giữa hai lần thí nghiệm 1 và 2 (hình 3.2 và hình 3.3).

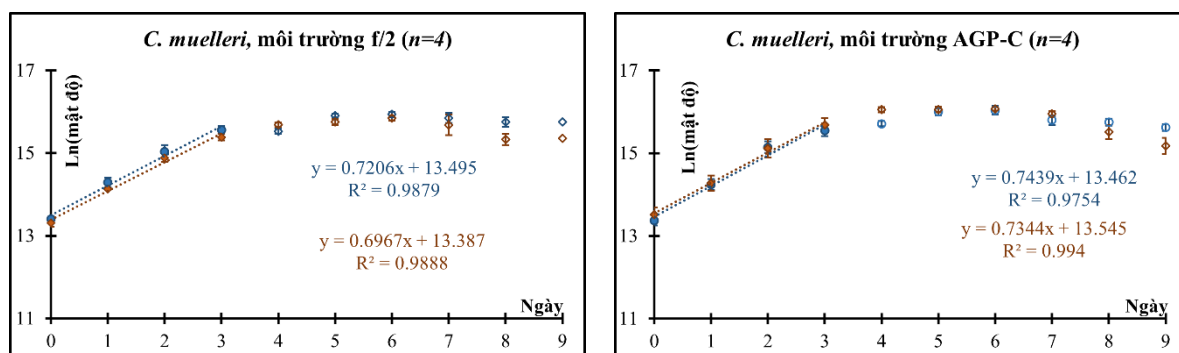


Hình 3.2. Sinh trưởng quần thể vi tảo *C. muelleri* trong môi trường dinh dưỡng bổ sung f (n=4)

Ghi chú: đồ thị (a) biểu diễn tốc độ sinh trưởng quần thể ở pha logarithm trong 4 lần lặp ở NT-2.1 của lần thí nghiệm thứ nhất. Đồ thị (b) biểu diễn đường cong sinh trưởng quần thể, các dấu tròn và phương trình màu xanh lam biểu diễn kết quả nghiên cứu ở lần thí nghiệm thứ nhất, các dấu hình thoi và phương trình màu cam biểu diễn kết quả ở lần thí nghiệm thứ hai. Các dấu đậm, kín biểu thị kết quả sinh trưởng quần thể nằm trong pha logarithm. Các dấu hở biểu thị kết quả sinh trưởng quần thể nằm ngoài pha logarithm.

Kết quả nghiên cứu từ bảng 3.3 chỉ ra rằng nghiệm thức thí nghiệm với môi trường dinh dưỡng bổ sung f (NT-2.1) đưa đến kết quả sinh trưởng quần thể *C. muelleri* là tốt nhất trong 3 môi trường dinh dưỡng bổ sung, biểu hiện ở cả ba thông số quan sát là mật độ cực đại (MCDs), tốc độ sinh trưởng quần thể ở pha logarithm (EGRs) và tốc độ sinh trưởng theo ngày cao nhất (Max SGRs). Cụ thể, ở lần thí nghiệm thứ nhất, MCDs, EGRs, và Max SGRs quần thể *C. muelleri* trong nghiệm thức NT-2.1 đạt được cao nhất, theo thứ tự lần lượt là $12,01 (\times 10^6 \text{ tb/mL})$, 0,84 và 1,21 (/ngày). Trong khi đó,

sinh trưởng quần thể vi tảo này thấp nhất ở nghiệm thức sử dụng môi trường dinh dưỡng bổ sung f/2 (NT-2.2), thể hiện ở MCDs, EGRs, và Max SGRs lần lượt đạt $8,54 (\times 10^6 \text{ tb/mL})$, 0,72, và 0,88 (/ngày). Kết quả phân tích thống kê ANOVA chỉ ra môi trường dinh dưỡng bổ sung f cho hiệu quả cao nhất về sinh trưởng quần thể biểu hiện ở MCDs và EGRs với mức ý nghĩa 0,05.



Hình 3.3. Sinh trưởng quần thể vi tảo *C. muelleri* trong hai môi trường dinh dưỡng bổ sung f/2 và AGP-C

Ghi chú: các dấu tròn và phương trình màu xanh lam biểu diễn kết quả nghiên cứu ở lần thí nghiệm thứ nhất, các dấu hình thoi và phương trình màu cam biểu diễn kết quả ở lần thí nghiệm thứ hai. Các dấu đậm, kín biểu thị kết quả sinh trưởng quần thể nằm trong pha logarithm. Các dấu mờ, hở biểu thị kết quả sinh trưởng quần thể nằm ngoài pha logarithm

Tương tự như ở lần thí nghiệm thứ nhất, kết quả sinh trưởng quần thể *C. muelleri* trong ba môi trường dinh dưỡng ở lần thí nghiệm thứ hai cũng chỉ ra một xu hướng tương tự. Vi tảo khuê *C. muelleri* sinh trưởng tốt nhất trong môi trường dinh dưỡng bổ sung f, kế đến là môi trường thương mại AGP-C và cuối cùng là môi trường dinh dưỡng f/2 ở tất cả các thông số quan sát (MCDs, EGRs, và Max SGRs). Kết quả phân tích thống kê ANOVA một yếu tố trong lần thí nghiệm thứ hai này chỉ ra sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở cả ba thông số quan sát (bảng 3.3).

Với kết quả nghiên cứu đã trình bày ở trên, nhóm nghiên cứu đã rút ra kết luận rằng trong ba loại môi trường dinh dưỡng bổ sung của thí nghiệm ngày, môi trường dinh dưỡng bổ sung f là tốt nhất cho sinh trưởng quần thể *C. muelleri*. Kế đến là môi trường dinh dưỡng thương mại AGP-C, và cuối cùng là f/2.

Bảng 3.3. Tổng hợp kết quả sinh trưởng quần thể vi tảo *C. muelleri* trong ba môi trường dinh dưỡng bổ sung khác nhau (Min-Max, Mean±SD, n=4)

	f	f/2	AGP-C
Lần thí nghiệm thứ nhất			
MCDs ($\times 10^6$ tb/mL)	11,45-12,51	8,26-8,91	9,29-10,11
	12,01±0,48 ^c	8,54±0,30 ^a	9,81±0,37 ^b
EGRs (/ngày)	0,76-0,92	0,66-0,76	0,70-0,79
	0,84±0,07 ^b	0,72±0,05 ^a	0,74±0,04 ^a
Max SGRs (/ngày)	1,12-1,32	0,73-1,08	1,02-1,13
	1,21±0,10 ^b	0,88±0,15 ^a	1,08±0,05 ^b
Lần thí nghiệm thứ hai			
MCDs ($\times 10^6$ tb/mL)	9,61-10,13	7,46-8,21	9,81-10,03
	9,95±0,23 ^b	7,79±0,31 ^a	9,92±0,11 ^b
EGRs (/ngày)	0,74-0,87	0,64-0,77	0,68-0,77
	0,79±0,06 ^b	0,70±0,06 ^a	0,73±0,04 ^{ab}
Max SGRs (/ngày)	0,92-1,24	0,71-0,97	0,78-0,91
	1,03±0,14 ^b	0,82±0,11 ^a	0,84±0,07 ^a

Ghi chú: các chữ cái khác nhau chỉ sự khác nhau có ý nghĩa thống kê (mức ý nghĩa 0,05) trong cùng một hàng.

Kết quả phân tích thành phần sinh hóa vi tảo *C. muelleri* trong thí nghiệm này cho thấy các yếu tố dinh dưỡng ảnh hưởng lớn đến thành phần sinh hóa vi tảo. Hàm lượng lipid tổng số cao nhất thu được ở nghiệm thức NT-2.2 (sử dụng môi trường dinh dưỡng bổ sung f/2) đạt 125,6 mg/g. Hàm lượng này cao hơn khoảng hai lần so với ở nghiệm thức sử dụng môi trường dinh dưỡng bổ sung f (NT.2-1) đạt 63,1 mg/g. Nghiệm thức NT-2.3 sử dụng môi trường dinh dưỡng thương mại AGP-C đưa đến kết quả hàm lượng lipid tổng số đạt khoảng 90 mg/g.

Kết quả nghiên cứu ở bảng 3.4. cũng chỉ ra rằng hàm lượng hai lipid quan trọng là triacylglycerol và sterol cao nhất ở nghiệm thức sử dụng môi trường dinh dưỡng f/2 (NT-2.2), lần lượt đạt 4,2 và 1,5 (% TL). Ngược lại, nghiệm thức sử dụng môi trường dinh dưỡng bổ sung AGP-C cho kết quả hàm lượng hai loại lipid này là thấp nhất, lần lượt đạt 3,15 và 0,87 (%TL). Cuối cùng, nghiệm thức NT-2.1 đưa đến kết quả hàm lượng triacylglycerol đạt 3,8 và sterol đạt 1,32 (%TL). Hàm lượng các lớp lipid còn lại như wax ester, free fatty acid, và polar lipid là khác biệt giữa các nghiệm thức nhưng với xu hướng không thật sự rõ ràng.

Bảng 3.4. Thành phần axit béo (% tổng số axit béo và phân loại nhóm lipid (% tổng số lipid) vi tảo *C. muelleri* trong ba môi trường dinh dưỡng khác nhau

Thành phần	Môi trường dinh dưỡng bổ sung		
	f	f/2	AGP-C
Axit béo (%TFA)			
14:0	10,87	8,66	14,27
C16 PUFA	7,0	3,9	0,9
16:1 ω 7c	22,55	28,48	27,11
16:0	8,41	11,95	15,71
18:3 ω 6+18:5 ω 3	0,90	1,14	0,74
18:4 ω 3	1,27	0,78	0,40
18:2 ω 6	0,96	0,81	1,31
18:3 ω 3	0,00	0,00	0,00
18:1 ω 9c	0,6	0,8	1,23
18:1 ω 7c	tr	tr	tr
18:0	12,74	8,69	3,79
20:4 ω 6 ARA	1,64	5,30	4,20
20:5 ω 3 EPA	24,27	20,94	10,48
22:6 ω 3 DHA	1,13	1,42	0,84
Nhóm (% TFA)			
Σ SFA	36,49	33,17	46,11
Σ MUFA	25,84	31,96	35,01
Σ PUFA	37,66	34,87	18,88
Σ LC-PUFA	30,17	30,39	17,97
Lớp lipid (% lipid)			
Wax ester	0,18	3,65	2,12
Triacylglycerol	3,8	4,2	3,15
Free fatty acid	3	4,35	3,46
Sterol	1,32	1,5	0,87
Polar lipid	91,7	86,3	90,4
Total lipid (mg/g)	63,1	125,6	90,0

Thành phần các axit béo thu được ở vi tảo *C. muelleri* trong thí nghiệm này cũng có nhiều điểm tương tự như ở thí nghiệm 1, ngoại trừ trường hợp duy nhất xảy ra ở axit béo 18:1 ω 7c là không phát hiện trong kết quả phân tích của thí nghiệm 2 này. Kết quả nghiên cứu ở bảng 3.4 chỉ ra rằng, hàm lượng các axit béo SFAs và MUFAs thu được ở các nghiệm thức thí nghiệm sử dụng môi trường dinh dưỡng bổ sung f và f/2 là thấp hơn so với nghiệm thức thí nghiệm sử dụng môi trường dinh dưỡng thương mại AGP-C.

Ngược lại, hàm lượng các PUFAs, Lc-PUFAs được tìm thấy cao hơn trong hai nghiệm thức NT-2.1 và NT-2.2. Xu hướng này cũng được thấy rõ khi quan sát hai axit béo quan trọng là EPA và DHA. Cụ thể, hàm lượng EPA được tìm thấy cao trong hai nghiệm thức sử dụng môi trường dinh dưỡng bổ sung f và f/2, lần lượt đạt 24,27 và 20,94 (%TFA). Trong khi đó, hàm lượng axit béo EPA này thu được chỉ đạt 10,48 (%TFA) ở nghiệm thức sử dụng môi trường thương mại AGP-C.

Tương tự như vậy, hàm lượng DHA thu được trong hai nghiệm thức NT-2.1 và NT-2.2 này lần lượt đạt 1,13 và 1,42 (%TFA), cao hơn ở nghiệm thức NT-2.3 đạt 0,84 (%TFA). Sự khác biệt về xu hướng thay đổi được tìm thấy khi quan sát hàm lượng axit béo ARA. Theo đó, hàm lượng axit béo ARA được tìm thấy rất cao ở hai nghiệm thức NT-2.2 (sử dụng môi trường f/2) và NT-2.3 (sử dụng môi trường AGP-C), lần lượt đạt 5,3 và 4,2 (%TFA), con số này cao hơn nhiều so với ở nghiệm thức sử dụng môi trường dinh dưỡng bổ sung f (NT-2.1) đạt 1,64 (%TFA).

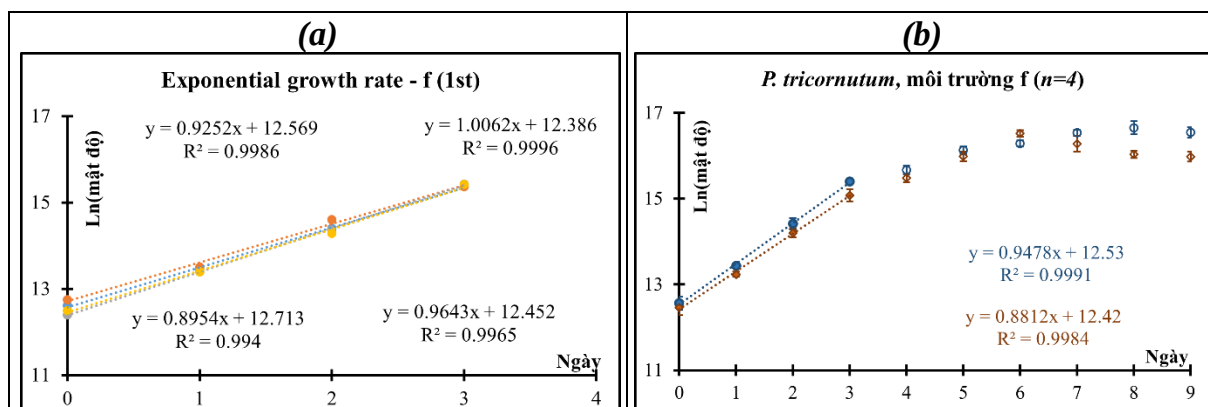
Nói tóm lại, môi trường dinh dưỡng bổ sung f cho kết quả sinh trưởng quần thể vi tảo *C. muelleri* là tốt nhất. Trong khi đó, môi trường dinh dưỡng f/2 đưa đến kết quả thấp nhất về sinh trưởng quần thể loài vi tảo này. Ngược lại, quá trình tích lũy lipid, sinh tổng hợp DHA, và các axit béo không no mạch dài đa nối đôi (Lc-PUFAs) đạt được cao nhất ở nghiệm thức thí nghiệm sử dụng môi trường dinh dưỡng f/2.

❖ Ảnh hưởng của các môi trường dinh dưỡng khác nhau lên sinh trưởng quần thể và thành phần sinh hóa vi tảo *Phaeodactylum tricornutum*

Cũng tương tự như ở vi tảo *C. muelleri*, sinh trưởng quần thể vi tảo *P. tricornutum* biểu hiện tốt nhất trong các nghiệm thức thí nghiệm sử dụng môi trường dinh dưỡng bổ sung f. Ngược lại môi trường dinh dưỡng bổ sung f/2 đưa đến kết quả thấp nhất về sinh trưởng quần thể trong nghiên cứu này. Cụ thể, trong lần thí nghiệm thứ nhất mật độ cực đại và tốc độ sinh trưởng quần thể ở pha logarithm trong nghiệm thức sử dụng môi trường dinh dưỡng bổ sung f (NT-2.4) thu được cao nhất, lần lượt là $21,54 \pm 2,62 \times 10^6$ (tb/mL) và $0,95 \pm 0,05$ (/ngày). Kế đến là nghiệm thức sử dụng môi trường dinh dưỡng AGP-C (NT-2.6) với hai giá trị lần lượt là $18,22 \pm 0,89 \times 10^6$ (tb/mL) và $0,86 \pm 0,04$ (/ngày). Cuối cùng là NT-2.5 (sử dụng môi trường dinh dưỡng bổ sung f/2) có MCDs đạt $14,81 \pm 1,82 \times 10^6$ (tb/mL) và EGRs đạt $0,78 \pm 0,02$ (/ngày). Sự khác biệt là có ý nghĩa thống kê với mức ý nghĩa α ở 0,05. Mặc dù vậy, có một khác biệt nhỏ khi quan sát tốc

độ sinh trưởng theo ngày cực đại. Theo đó, hai nghiệm thức NT-2.4 và NT-2.6 đều cho kết quả Max SGRs tương đồng và rất cao, lần lượt đạt 1,07 và 0,98 (/ngày) cao hơn một cách có ý nghĩa thống kê so với chúng ở nghiệm thức NT-2.5 đạt 0,9 (/ngày) (bảng 3.5).

Xu hướng về kết quả này cơ bản được lặp lại trong lần thí nghiệm thứ hai. Trong đó, kết quả về tốc độ sinh trưởng quần thể tại pha logarithm và tốc độ sinh trưởng theo ngày cực đại ở các nghiệm thức thí nghiệm (xếp theo thứ tự từ nhỏ tới lớn) là NT-2.5, NT-2.6, và NT-2.4. Sự khác biệt là có ý nghĩa thống kê với mức ý nghĩa 0,05.



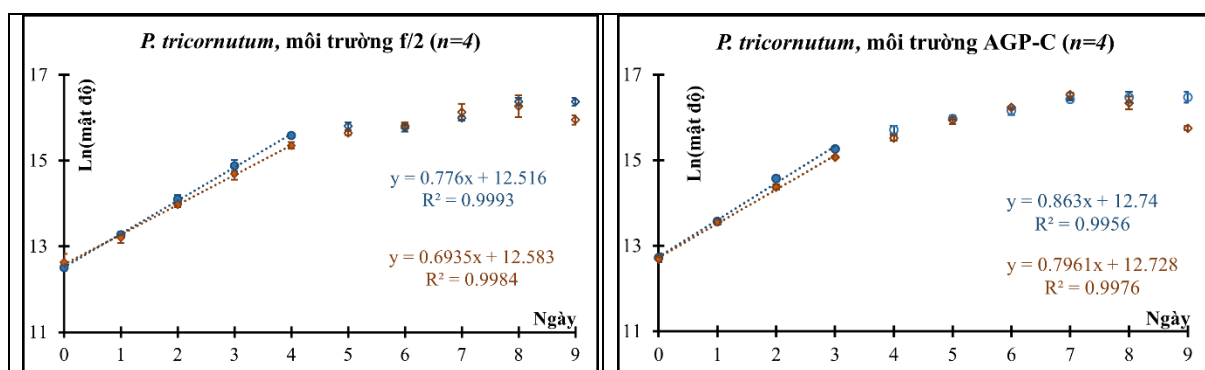
Hình 3.4. Sinh trưởng quần thể và tốc độ sinh trưởng quần thể vi tảo *P.*

***tricornutum* trong môi trường dinh dưỡng bổ sung f**

Ghi chú: (a) biểu diễn 4 lần lặp trong NT-2.4 ở lần thí nghiệm thứ nhất. Trong đồ thị (b), các dấu tròn và phương trình màu xanh lam biểu diễn kết quả nghiên cứu ở lần thí nghiệm thứ nhất, các dấu hình thoi và phương trình màu cam biểu diễn kết quả ở lần thí nghiệm thứ hai.

Bên cạnh đó, mật độ cực đại ở hai nghiệm thức sử dụng môi trường dinh dưỡng bổ sung f (NT-2.4) và nghiệm thức sử dụng môi trường dinh dưỡng thương mại AGP-C (NT-2.6) đều đạt rất cao, lần lượt là $14,96 \pm 1,07$ và $15,19 \pm 0,85 \times 10^6$ (tb/mL). Sự khác biệt là không có ý nghĩa thống kê giữa hai giá trị MCDs này. Mật độ cực đại thu được ở hai nghiệm thức NT-2.4 và NT-2.6 cao hơn đáng kể, khoảng 1,5 lần so với nghiệm thức sử dụng môi trường dinh dưỡng bổ sung f/2 ($p < 0,05$).

Một điểm đáng lưu ý rằng kết quả sinh trưởng quần thể *P. tricornutum* trong lần thí nghiệm thứ hai thấp hơn lần thứ nhất và ở thí nghiệm 1 tương đối nhiều ở cả ba thông số quan sát là MCDs, EGRs, và SGRs. Về cơ bản, có nhiều nguyên nhân dẫn đến sự khác biệt trong giữa các đợt thí nghiệm. Đáng kể nhất có thể kể đến đặc thù của các mã chủng khác nhau.



Hình 3.5. Sinh trưởng quần thể vi tảo *P. tricornutum* trong hai môi trường dinh dưỡng bổ sung f/2 và AGP-C

Ghi chú: các dấu tròn và phương trình màu xanh lam biểu diễn kết quả nghiên cứu ở lần thí nghiệm thứ nhất, các dấu hình thoi và phương trình màu cam biểu diễn kết quả ở lần thí nghiệm thứ 2.

Vi tảo nói riêng và vi sinh vật nói chung có khả năng biến đổi và thích ứng nhanh với các điều kiện môi trường sống, do đó luôn luôn xuất hiện một số điểm khác nhau giữa các mã chủng về tình trạng sinh lý nội bào [77]. Điều này dẫn đến một số sự khác biệt về kết quả sinh trưởng quần thể. Kết quả trong nghiên cứu này góp phần khẳng định thêm luận điểm khoa học đó cũng như cho thấy sự phù hợp trong cách bố trí thí nghiệm trong hai lần riêng biệt với hai mã chủng vi tảo khác biệt.

Bảng 3.5. Tổng hợp kết quả sinh trưởng quần thể vi tảo *P. tricornutum* trong ba môi trường dinh dưỡng bổ sung khác nhau (Min-Max, Mean±SD, n=4)

	f	f/2	AGP-C
Lần thí nghiệm thứ nhất			
MCDs ($\times 10^6$ tb/mL)	18,46-24,61	12,86-16,50	17,36-19,25
	21,54±2,62 ^c	14,81±1,82 ^a	18,22±0,89 ^b
EGRs (/ngày)	0,90-1,01	0,76-0,80	0,82-0,90
	0,95±0,05 ^c	0,78±0,02 ^a	0,86±0,04 ^b
Max SGRs (/ngày)	0,97-1,13	0,85-0,97	0,98-1,05
	1,07±0,07 ^b	0,90±0,05 ^a	0,98±0,15 ^b
Lần thí nghiệm thứ hai			
MCDs ($\times 10^6$ tb/mL)	13,68-16,06	8,60-13,51	14,40-16,26
	14,96±1,07 ^b	10,25±2,21 ^a	15,19±0,85 ^b
EGRs (/ngày)	0,87-0,90	0,64-0,76	0,77-0,83
	0,87±0,90 ^c	0,69±0,06 ^a	0,80±0,03 ^b
Max SGRs (/ngày)	0,94-1,02	0,75-0,84	0,87-0,90
	0,97±0,04 ^c	0,79±0,04 ^a	0,87±0,90 ^b

Ghi chú: các chữ cái khác nhau chỉ sự khác nhau có ý nghĩa thống kê (mức ý nghĩa 0,05) trong cùng một hàng.

Thành phần sinh hóa vi tảo *P. tricornutum* trong các nghiệm thức thí nghiệm khác nhau về môi trường dinh dưỡng thì khác nhau. Không giống như ở thí nghiệm trên tảo silic *C. muelleri*, ở tảo *P. tricornutum* hàm lượng lipid cao nhất thu được trong nghiệm thức thí nghiệm sử dụng môi trường dinh dưỡng AGP-C (NT-2.6) đạt 103,3 mg/g. Kế đến là NT-2.5 có hàm lượng lipid tổng số đạt 92,7 mg/g. Cuối cùng là NT-2.4 có kết quả phân tích hàm lượng lipid tổng số đạt 65,1 mg/g.

Bảng 3.6. Thành phần axit béo (% tổng số axit béo và phân loại nhóm lipid (% tổng số lipid) vi tảo *P. tricornutum* trong ba môi trường dinh dưỡng khác nhau

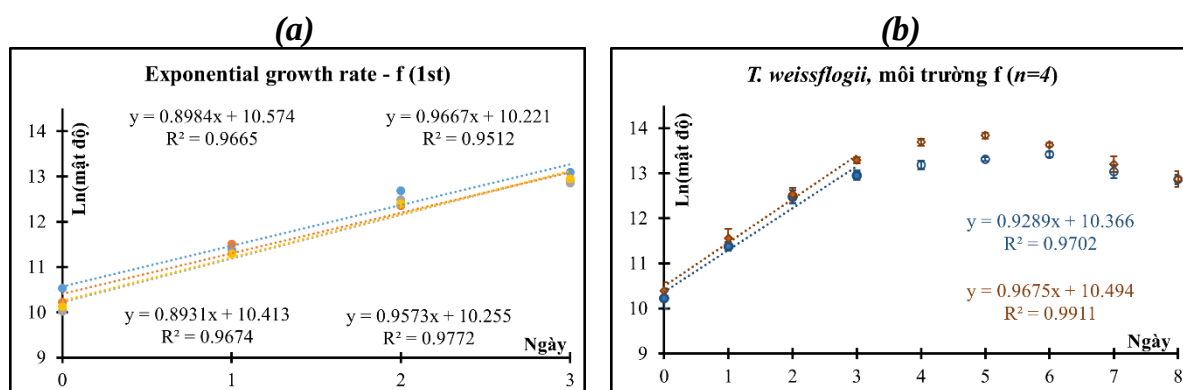
Thành phần	Môi trường dinh dưỡng bổ sung		
	f	f/2	AGP-C
Axit béo (%TFA)			
14:0	5,21	5,25	6,12
C16 PUFA	3,50	4,50	4,02
16:1 ω 7c	16,62	16,22	16,42
16:0	13,17	14,44	15,22
18:3 ω 6+18:5 ω 3	0,18	0,17	0,20
18:4 ω 3	0,46	0,43	0,37
18:2 ω 6	2,30	2,00	2,28
18:3 ω 3	0,43	0,32	0,44
18:1 ω 9c	1,65	1,38	1,40
18:1 ω 7c	0,87	1,41	1,13
18:0	11,11	11,28	10,91
20:4 ω 6 ARA	1,44	0,96	0,85
20:5 ω 3 EPA	33,74	32,58	29,86
22:6 ω 3 DHA	1,63	2,21	2,04
Nhóm (%TFA)			
Σ SFA	34,58	35,67	37,88
Σ MUFA	21,26	20,60	21,72
Σ PUFA	44,16	43,73	40,41
Σ LC-PUFA	36,26	35,69	32,83
Lớp lipid (% lipid)			
Wax ester	1,4	0	1,3
Triacylglycerol	0,3	1,8	1,8
Free fatty acid	3,2	0,2	0,1
Sterol	1,3	1,6	0,92
Polar lipid	93,8	96,4	95,7
Total lipid (mg/g)	65,1	92,7	103,3

Các lớp lipid như polar lipid, sterol, và triacylglycerol thu được cao nhất ở nghiệm thức sử dụng môi trường dinh dưỡng bổ sung f, lần lượt đạt 96,4, 1,6, và 1,8 (%TL). Ngược lại hàm lượng sterol và free fatty acid thấp nhất thu được ở nghiệm thức sử dụng môi trường thương mại AGP-C. Xu hướng biến đổi về hàm lượng các lớp lipid trong thí nghiệm này tương đối đa dạng, phụ thuộc vào từng thành phần sinh hóa cụ thể.

Đặc biệt, hàm lượng các axit béo và các nhóm axit béo khác biệt không đáng kể giữa ba nghiệm thức thí nghiệm này. Trong số ba axit béo không no đa nối đôi quan trọng thì loài vi tảo này biểu hiện giàu hàm lượng EPA nhất, hàm lượng EPA trong cả ba nghiệm thức dao động trong khoảng 29,86 đến 33,74% TFA. Ngược lại, hàm lượng ARA thấp nhất đạt khoảng 0,85 đến 1,44% TFA. Các axit béo PUFA vẫn chiếm tỷ lệ cao nhất trong các nhóm lipid khoảng 40,41 – 44,16% TFA. Ngược lại hàm lượng các axit béo MUFA là thấp nhất ở loài tảo này trong cả ba nghiệm thức.

❖ Ảnh hưởng của các môi trường dinh dưỡng khác nhau lên sinh trưởng quần thể và thành phần sinh hóa vi tảo *Thalassiosira weissflogii*

Kết quả nghiên cứu ở hình 3.6, hình 3.7 và bảng 3.7 đã cho thấy rằng tảo silic biển *T. weissflogii* thích nghi tốt với điều kiện khí hậu Việt Nam cũng như trong các điều kiện thí nghiệm. Quần thể tăng sinh nhanh chóng ngay sau ngày đầu tiên nuôi cấy và đạt cực đại vào ngày thứ 4-5 ở các nghiệm thức. Có sự khác biệt tương đối lớn về sinh trưởng quần thể giữa hai lần thí nghiệm, đặc biệt là ở giá trị mật độ cực đại, trong đó lần thí nghiệm thứ hai cho kết quả MCDs cao hơn nhiều so với lần thứ nhất (bảng 3.7).

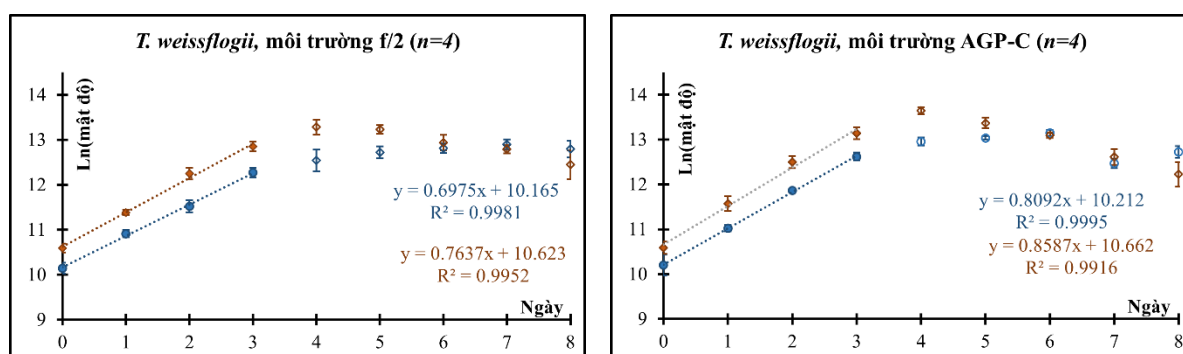


Hình 3.6. Sinh trưởng quần thể và tốc độ sinh trưởng quần thể vi tảo *T. weissflogii* trong môi trường dinh dưỡng bổ sung f

Ghi chú: (a) biểu diễn 4 lần lặp trong NT-2.7 ở lần thí nghiệm thứ nhất. Trong đồ thị (b), các dấu tròn và phương trình màu xanh lam biểu diễn kết quả nghiên cứu ở lần thí nghiệm thứ nhất, các dấu hình thoi và phương trình màu cam biểu diễn kết quả ở lần thí nghiệm thứ hai.

Ở lần thí nghiệm thứ nhất, MCDs thu được ở các nghiệm thức sử dụng môi trường dinh dưỡng bổ sung f (NT-2.7), nghiệm thức bổ sung môi trường f/2 (NT-2.8) và nghiệm thức sử dụng môi trường dinh dưỡng thương mại AGP-C (NT-2.9) theo thứ tự lần lượt là $0,67 \pm 0,04$, $0,40 \pm 0,04$, và $0,52 \pm 0,04 \times 10^6$ (tb/mL). Sự khác biệt là có ý nghĩa thống kê với mức ý nghĩa 0,05.

Kết quả này được lặp lại hoàn toàn tương tự ở lần thí nghiệm thứ hai. Điều đó cho thấy trong ba môi trường nghiên cứu thì môi trường dinh dưỡng bổ sung f là phù hợp nhất cho sinh trưởng quần thể *T. weissflogii*. Ngược lại, môi trường dinh dưỡng bổ sung f/2 cho kết quả sinh trưởng quần thể vi tảo là kém nhất.



Hình 3.7. Sinh trưởng quần thể vi tảo *T. weissflogii* trong hai môi trường dinh dưỡng bổ sung f/2 và AGP-C

Quan sát kết quả tốc độ sinh trưởng quần thể tại pha logarithm và tốc độ sinh trưởng theo ngày cực đại cũng đồng thời đưa đến kết luận về sự phù hợp của môi trường dinh dưỡng bổ sung f cho quần thể *T. weissflogii* sinh trưởng ở cả hai lần thí nghiệm (bảng 3.7). Mặc dù vậy, một vài khác biệt nhỏ được tìm thấy trong kết quả EGRs và Max SGRs ở lần thí nghiệm thứ nhất. Cụ thể, EGRs và Max SGRs giữa hai nghiệm thức này là tương đồng về mặt thống kê. Hai giá trị này ở NT-2.8 lần lượt đạt $0,70 \pm 0,05$ và $0,71 \pm 0,05$ (/ngày). Tương tự như vậy, ở nghiệm thức NT-2.9 là $0,89 \pm 0,11$ và $0,93 \pm 0,10$ (/ngày). Nói tóm lại, kết quả nghiên cứu trong thí nghiệm này đã chỉ ra rằng, môi trường dinh dưỡng bổ sung f đưa đến kết quả sinh trưởng quần thể vi tảo *T. weissflogii* là tốt nhất.

Bảng 3.7. Tổng hợp kết quả sinh trưởng quần thể vi tảo *T. weissflogii* trong ba môi trường dinh dưỡng bổ sung khác nhau (Min-Max, Mean±SD, n=4)

	f	f/2	AGP-C
<i>Lần thí nghiệm thứ nhất</i>			
MCDs ($\times 10^6$ tb/mL)	0,64-0,74	0,34-0,44	0,49-0,56
	0,67±0,04 ^c	0,40±0,04 ^a	0,52±0,04 ^b
EGRs (/ngày)	0,89-0,97	0,65-0,75	0,68-0,79
	0,93±0,04 ^b	0,70±0,05 ^a	0,71±0,05 ^a
Max SGRs (/ngày)	1,16-1,30	0,75-1,01	0,80-1,06
	1,26±0,07 ^b	0,89±0,11 ^a	0,93±0,10 ^a
<i>Lần thí nghiệm thứ hai</i>			
MCDs ($\times 10^6$ tb/mL)	0,96-1,10	0,60-0,68	0,79-0,92
	1,03±0,06 ^c	0,63-0,04 ^a	0,84±0,06 ^b
EGRs (/ngày)	0,90-1,04	0,73-0,86	0,82-0,89
	0,97±0,05 ^c	0,76±0,06 ^a	0,86±0,04 ^b
Max SGRs (/ngày)	1,12-1,23	0,84-0,98	0,92-1,08
	1,16±0,05 ^c	0,90±0,06 ^a	1,02±0,07 ^b

Ghi chú: các chữ cái khác nhau chỉ sự khác nhau có ý nghĩa thống kê (mức ý nghĩa 0,05) trong cùng một hàng.

Cũng giống như ở các thí nghiệm trên hai loài vi tảo silic *C. muelleri* và *P. tricornutum*, thành phần sinh hóa của *T. weissflogii* cũng thay đổi rất lớn tùy theo các điều kiện muối dinh dưỡng trong môi trường sống. Hàm lượng lipid tổng số thu được cao nhất ở nghiệm thức sử dụng môi trường dinh dưỡng bổ sung f/2 (NT-2.8) đạt 34,72 mg/g.

Ở một chiều hướng khác, lipid tổng số thấp nhất thu được ở nghiệm thức NT-2.9 đạt 31,43 mg/g. So sánh với kết quả thí nghiệm 1 thì hàm lượng lipid trong thí nghiệm này cao hơn khoảng hai lần. Triacylglycerol và sterol thu được cao nhất ở nghiệm thức NT-2.9. Trong khi đó free fatty acid và triacylglycerol thấp nhất thu được ở nghiệm thức NT-2.7. Thành phần polar lipid ở các nghiệm thức NT-2.7 và NT-2.8 thu được là tương đối cao và đồng nhất ở khoảng 92-93 (%TL). Ngược lại, giá trị này thấp nhất ở NT-2.9 đạt 88,6 (%TL).

Bảng 3.8. Thành phần axit béo (% tổng số axit béo) và phân loại nhóm lipid (% tổng số lipid) vi tảo *T. weissflogii* trong ba môi trường dinh dưỡng khác nhau

Thành phần	Môi trường dinh dưỡng bổ sung		
	f	f/2	AGP-C
Axit béo (%TFA)			
14:0	8,00	8,66	9,18
C16 PUFA	2,47	3,45	3,64
16:1 ω 7c	19,47	17,82	17,34
16:0	12,87	12,48	13,43
18:3 ω 6+18:5 ω 3	0,00	0,08	0,00
18:4 ω 3	0,75	0,81	0,39
18:2 ω 6	0,50	0,54	0,60
18:3 ω 3	0,15	0,15	0,20
18:1 ω 9c	0,21	0,36	0,27
18:1 ω 7c	0,05	0,07	0,15
18:0	18,03	18,28	20,20
20:4 ω 6 ARA	0,07	0,00	0,07
20:5 ω 3 EPA	23,75	24,05	21,04
22:6 ω 3 DHA	3,96	4,02	4,07
Nhóm (% TFA)			
Σ SFA	44,42	43,93	47,47
Σ MUFA	22,06	21,35	21,10
Σ PUFA	31,64	33,10	30,02
Σ LC-PUFA	29,18	29,65	26,37
Lớp lipid (% lipid)			
Wax ester	2,2	0,7	3,1
Triacylglycerol	2	1,7	1,85
Free fatty acid	1,4	1,8	2,3
Sterol	1,6	2,4	4,2
Polar lipid	92,8	93,3	88,6
Total lipid (mg/g)	33,0	34,72	31,43

Thành phần axit béo ở *T. weissflogii* trong thí nghiệm này cũng có nhiều khác biệt so với ở thí nghiệm 1. Đặc biệt là hàm lượng ARA và PUFAs trong thí nghiệm này thấp hơn nhiều so với kết quả phân tích thu được ở thí nghiệm 1. Ngược lại, hàm lượng EPA và SFA thu được lại tương đối cao. Sự khác nhau về thành phần các axit béo ở các nghiệm thức không thật sự rõ như ở nghiệm thức trên loài *C. muelleri*.

Nói tóm lại, kết quả nghiên cứu trong thí nghiệm 2 đã chỉ ra rằng môi trường dinh dưỡng bổ sung có ảnh hưởng lớn tới sinh trưởng quần thể vi tảo *C. muelleri*, *P. tricornutum* và *T. weissflogii*. Trong số ba môi trường dinh dưỡng bổ sung thì môi trường f mang đến kết quả sinh trưởng quần thể tốt nhất ở cả ba loài vi tảo trong nghiên cứu này.

Bên cạnh đó, sự khác nhau về điều kiện muối dinh dưỡng môi trường nuôi cấy đường như cũng làm thay đổi thành phần sinh hóa tế bào vi tảo. Các loài vi tảo khác nhau có xu hướng khác nhau trong sinh tổng hợp và tích lũy các thành phần sinh hóa.

Trong các nghiên cứu nuôi cấy và ứng dụng vi tảo, việc bổ sung các muối dinh dưỡng vào môi trường nuôi cấy vi tảo mang tính quyết định đến sinh trưởng quần thể vi tảo. Thật vậy, vi tảo có nhu cầu lớn về nitrogen và phosphorus để xây dựng lên các thành phần tế bào nhất là trong các điều kiện mật độ tế bào cao. Một cách giản đơn, việc bổ sung đầy đủ các muối dinh dưỡng vào dịch nuôi cấy sẽ thúc đẩy quần thể vi tảo tăng sinh và ngược lại [78].

Ở chiều hướng khác, nhiều nghiên cứu đã chỉ ra rằng việc bổ sung dư thừa muối dinh dưỡng đều đến kết quả sinh trưởng quần thể trở nên kém đi. Các nhà khoa học tin rằng, hàm lượng cao muối dinh dưỡng ammonium gây độc cho hầu hết các loài vi tảo, đặc biệt là tảo khuê. Độc tính của ammonium với vi tảo ở nồng độ cao thể hiện trên cả hai phương diện là ảnh hưởng trực tiếp và ảnh hưởng gián tiếp. Ammonium tồn tại trong hệ cân bằng ammonia, tại đó sự tương tác qua lại giữa ammonium (NH_4^+), ammonia (NH_3 tự do), và pH là rất chặt chẽ. Hàm lượng NH_4^+ tăng cao trong nước là nguyên nhân dẫn đến NH_3 tự do và pH giảm [78]. Ảnh hưởng của pH lên vi tảo trong trường hợp này được xem là tác động gián tiếp. Ảnh hưởng gián tiếp này dường như ít hơn các ảnh hưởng trực tiếp, chính là tăng cao về hàm lượng ammonia tự do. NH_3 cao trong môi trường nuôi cấy kéo theo tăng trong môi trường nội bào vi tảo ở cơ chế hấp thụ bị động. Từ đây, NH_3 sẽ ức chế sinh trưởng, phát triển của hầu hết các loài vi tảo ở hai cơ chế (1) giảm hiệu quả chuyển hóa ATP thành ADP ở màng lục lạp, và (2) gây tổn thương các tiểu phần trong phức hệ giải phóng oxy OEC trong quá trình quang hợp. Thêm vào đó, nhiều kết quả nghiên cứu về phản ứng sinh lý trên tảo khuê đã chỉ ra rằng hàm lượng ammonium cao trong nước làm giảm rất rõ rệt các biểu hiện của gene hấp thu muối dinh dưỡng chính. Dẫn tới là việc vận chuyển và hấp thu muối dinh dưỡng lại trở nên kém đi. Kết quả của việc bổ sung NH_4^+ quá cao trong môi trường nuôi cấy ($\geq 25 \mu\text{M}$) [98] là nguyên nhân gây ức chế quá trình sinh trưởng, sắc tố và quá trình quang hợp ở vi tảo [38].

Kết quả từ nghiên cứu này cho thấy xu hướng là các điều kiện thí nghiệm có nồng độ muối dinh dưỡng cao thì sinh trưởng quần thể càng lớn. Hay nói cách khác, những biểu hiện về độc tính của muối dinh dưỡng nitrogen không được thể hiện. Điều này có thể được giải thích bởi môi trường dinh dưỡng bổ sung trong nghiên cứu này đều ở dạng nitrate.

Dạng muối dinh dưỡng này không độc đối với các nhóm vi tảo. Thêm vào đó, hàm lượng các muối dinh dưỡng trong các điều kiện thí nghiệm được tin là nằm trong khoảng phù hợp cho sinh trưởng quần thể các loài vi tảo thuộc nghiên cứu [10, 51, 77].

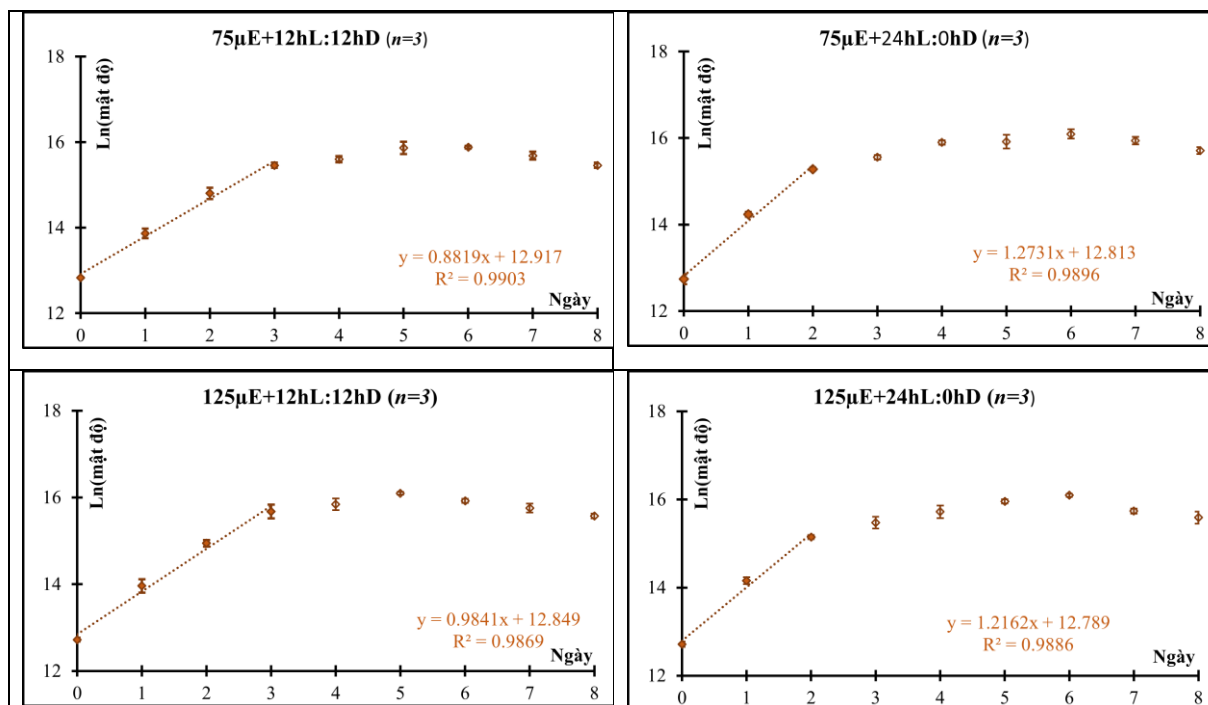
Rất nhiều bằng chứng chỉ ra rằng sự thiếu hụt hay dư thừa muối dinh dưỡng là các tín hiệu để kích thích hay ức chế các quá trình sinh tổng hợp của vi tảo. trong trường hợp quá thấp (hoặc cạn kiệt) nguồn muối dinh dưỡng nitrogen, đây là tác nhân làm tăng sinh tổng hợp lipid (đặc biệt là tăng hàm lượng các axit béo SFA, đôi khi là MUFA/TUFA), carbohydrate, và protein. Đơn cử, kết quả nghiên cứu của Rodolfi, L (2009) đã chỉ ra rằng hàm lượng lipid trong vi tảo *Nannochloropsis* sp. tăng lên từ 32% trong điều kiện đủ muối dinh dưỡng nitrogen lên 60% trong điều kiện cạn kiệt dinh dưỡng. Tương tự như vậy, điều này cũng xảy ra ở nhiều loài vi tảo khác như *Scenedesmus* sp. [92], *Chlorella* sp. và *Nannochloropsis oculata* [91], hay *Isochrysis galbana* [130]. Kết quả từ nghiên cứu này có nhiều nét tương đồng như các nghiên cứu trước đó. Trong nhiều trường hợp, việc tăng cường tích lũy lipid và các axit béo không no thiết yếu tìm thấy ở các nghiệm thức có hàm lượng muối dinh dưỡng thấp (trong nghiên cứu này là môi trường dinh dưỡng bổ sung f/2).

3.2.2. Tương tác giữa cường độ chiếu sáng và chu kì quang lên sinh trưởng quần thể và thành phần sinh hóa tế bào một số chủng vi tảo (TN 3)

❖ Tương tác giữa chu kì cường độ ánh sáng và chu kì quang lên sinh trưởng quần thể và thành phần sinh hóa vi tảo *C. muelleri*

Trong nghiên cứu này, do một số nguyên nhân khách quan từ cơ sở nghiên cứu đã ảnh hưởng tới chất lượng số liệu của đợt thí nghiệm thứ hai. Để đảm bảo các thông tin kết quả nghiên cứu chính xác cũng như loại trừ những bất khoản không đáng có, các kết quả trình bày trong thí nghiệm này chỉ sử dụng của một đợt thí nghiệm đối với cả ba loài vi tảo.

Nhìn chung, vi tảo *C. muelleri* thích nghi và sinh trưởng tốt trong cả chín nghiệm thức thí nghiệm về ánh sáng. Quần thể vi tảo bắt đầu vào pha logarith ngay sau ngày đầu tiên nuôi cấy. Pha logarith kéo dài từ ngày 0 đến ngày thứ 3 ở nhóm các nghiệm thức có cường độ chiếu sáng thấp ($75\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$) bao gồm NT-3.1, NT-3.4 và NT-3.7. Ở các nghiệm thức còn lại, pha tăng trưởng dương này kéo dài từ ngày thứ 0 đến ngày thứ 2. Quần thể *C. muelleri* tăng sinh và đạt đến giá trị cực đại vào khoảng ngày thứ 5 và thứ 6 ở hầu hết các nghiệm thức (hình 3.8 và phụ lục 3.3.3).



Hình 3.8. Sinh trưởng quần thể vi tảo *C. muelleri* ở 4 trong 9 nghiệm thức thí nghiệm

Ghi chú: Các dấu tròn, đậm biểu diễn sinh trưởng quần thể trong pha logarith. Các dấu mở biểu diễn sinh trưởng nằm ngoài pha logarith

Vi tảo thuộc nhóm sinh vật sản xuất, sử dụng năng lượng ánh sáng để cố định CO_2 tạo thành các phân tử đường. Về mặt lý luận, ánh sáng là một trong những yếu tố quan trọng, ảnh hưởng trực tiếp đến sinh trưởng quần thể cũng như các đặc điểm sinh hóa vi tảo. Thật vậy, kết quả nghiên cứu trong thí nghiệm này khẳng định sự tác động của ánh sáng ở cả hai khía cạnh chu kỳ quang và cường độ lên quần thể vi tảo. Kết quả nghiên cứu ở bảng 3.9 đã chỉ ra rằng sinh trưởng quần thể *C. muelleri* dường như thấp hơn ở các nghiệm thức có điều kiện chiếu sáng thấp (cường độ ở $75 \mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ và chu kỳ quang 12hL:12hD). Ngược lại, ở các nghiệm thức có cường độ chiếu sáng lớn ($125 \mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$) và chu kỳ quang dài (24 giờ chiếu sáng liên tục) đưa đến kết quả cao hơn về sinh trưởng quần thể.

Để đánh giá ảnh hưởng của cường độ chiếu sáng và chu kỳ quang cũng như tương tác của hai biến độc lập này lên sinh trưởng quần thể vi tảo *C. muelleri*, phân tích hồi đa biến được thực hiện trên ba thông số sinh trưởng bao gồm tốc độ sinh trưởng ở pha logarith, tốc độ sinh trưởng theo ngày cực đại và mật độ cực đại.

Tương tác giữa cường độ chiếu sáng (CĐ) và chu kì quang (CKQ) lên sinh trưởng quần thể *C. muelleri* thể hiện rất rõ ràng khi quan sát kết quả tốc độ sinh trưởng quần thể ở pha logarithm (EGRs). Kết quả phân tích hồi qui tuyến tính đa biến mô hình [EGRs = $0,82 \times \text{CĐ} + 1,91 \times \text{CKQ} - 1,25 \times (\text{CĐ} \times \text{CKA})$] có ý nghĩa thống kê cao ($R^2 = 0,901$ và $p=0,000$). Theo đó, chu kì quang có ảnh hưởng lớn nhất, quyết định đến tốc độ sinh trưởng quần thể ở pha logarithm ($\beta = 1,91$, $t = 5,8$, $p < 0,001$). Thời gian chiếu sáng càng cao, EGRs quần thể vi tảo *C. muelleri* thu được càng lớn. Tương tự như vậy, cường độ ánh sáng cũng có tác động rõ rệt, thúc đẩy sinh trưởng quần thể vi tảo này ($\beta = 0,82$, $t = 3,3$, $p=0,003$) (phụ lục 3.3.3). Đặc biệt, kết quả nghiên cứu cũng chỉ ra rằng tương tác giữa cường độ chiếu sáng và chu kì quang lên EGRs là có ý nghĩa thống kê ($\beta = -1,25$, $t = -3,07$, $p = 0,005$). Hệ số hồi qui âm cho sự tương tác giữa cường độ chiếu sáng và chu kì quang chỉ ra rằng những ảnh hưởng thúc đẩy sinh trưởng quần thể của việc tăng cường độ ánh sáng sẽ bị suy giảm khi tăng thời gian chiếu sáng trong chu kì nuôi cấy.

Bảng 3.9. Kết quả sinh trưởng quần thể vi tảo *C. muelleri* trong chín nghiệm thức thí nghiệm (Min-Max, Mean $\pm$ SD, n=3)

Nghiem thức	MCDs ($\times 10^6$ tb/mL)	EGRs (/ngày)	Max SGRs (/ngày)
NT-3.1	7,85-9,15	0,87-0,90	0,99-1,16
(75 μ E12hL:12hD)	8,38$\pm$0,68	0,88$\pm$0,02	1,10$\pm$0,10
NT-3.2	8,93-10,25	1,05-1,11	1,20-1,35
(75 μ E18hL:6hD)	9,63 $\pm$ 0,67	1,08 $\pm$ 0,03	1,29 $\pm$ 0,07
NT-3.3	9,50-10,13	1,21-1,33	1,16-1,43
(75 μ E24hL:0hD)	9,76$\pm$0,33	1,27$\pm$0,06	1,27$\pm$0,14
NT-3.4	8,88-9,15	0,91-0,96	1,19-1,35
(100 μ E12hL:12hD)	9,02$\pm$0,14	0,93$\pm$0,03	1,29$\pm$0,09
NT-3.5	9,45-10,43	1,08-1,17	1,32-1,48
(100 μ E18hL:6hD)	9,92$\pm$0,49	1,14$\pm$0,05	1,42$\pm$0,09
NT-3.6	9,55-11,05	1,19-1,24	1,19-1,22
(100 μ E24hL:0hD)	10,15$\pm$0,7	1,21$\pm$0,03	1,20$\pm$0,02
NT-3.7	9,68-10,65	0,93-1,04	1,34-1,62
(125 μ E12hL:12hD)	10,13$\pm$0,49	0,98$\pm$0,05	1,50$\pm$0,15
NT-3.8	8,65-11,03	1,07-1,18	1,33-1,54
(125 μ E18hL:6hD)	9,77$\pm$1,19	1,11$\pm$0,06	1,46$\pm$0,11
NT-3.9	9,45-10,13	1,17-1,26	1,37-1,56
(125 μ E24hL:0hD)	9,75$\pm$0,34	1,22$\pm$0,05	1,44$\pm$0,10

Ảnh hưởng của cường độ chiếu sáng và chu kì quang lên sinh trưởng quần thể *C. muelleri* càng được thấy rõ hơn khi quan sát thông số mật độ cực đại (MCDs). Kết quả phân tích hồi qui tuyến tính đa biến trên thông số này cũng đồng thời chỉ ra các tác động có ý nghĩa thống kê của cường độ chiếu sáng, chu kì quang và tương tác của hai biến này lên MCDs quần thể vi tảo. Tương tự như kết quả quan sát thông số EGRs, MCDs quần thể đồng biến với cường độ chiếu sáng ($\beta = 1,77$) và chu kì quang ($\beta = 2,3$). Đồng thời nghịch biến với sự tương tác của hai biến này ($\beta = -2,4$).

Kết quả phân tích thành phần sinh hóa vi tảo *C. muelleri* trong các điều kiện ánh sáng khác nhau (bảng 3.10) cho thấy vi tảo silic biển này có sự phong phú về thành phần các axit béo và các loại lipid và cũng có nhiều điểm tương tự như ở các thí nghiệm trước đây. Các axit béo chứa từ 18-22 phân tử carbon chiếm ưu thế chủ yếu trong các loại FA. Đặc biệt là sự hiện diện của với nồng độ cao của EPA (20:5w3), và DHA (22:6w3). Cũng giống như ở nhiều loài tảo silic khác, polar lipid là lớp lipid chủ yếu của *C. muelleri* chiếm trên 70% hàm lượng lipid của tế bào.

Nhìn chung, ánh sáng có ảnh hưởng tới thành phần sinh hóa vi tảo *C. muelleri* với các mức độ khác nhau, tùy vào từng thành phần cụ thể. Đáng kể nhất là hàm lượng lipid tổng số. Hàm lượng lipid này tăng lên đồng biến với cả cường độ ánh sáng và chu kì quang. Cụ thể, ở điều kiện cường độ chiếu sáng và chu kì quang thấp (tức là 75 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ và 12hL:12hD), khi tăng cường độ ánh sáng và chu kì quang lên mức 100 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ và 18 giờ chiếu sáng, lipid tổng số tăng lên một cách rõ rệt (khoảng 20%). Tiếp tục tăng cường độ chiếu sáng và chu kì quang lên mức 125 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ và 24 giờ chiếu sáng liên tục, lipid tổng số này có tăng lên nhưng ở mức độ thấp hơn (Bảng 3.10). Xu hướng này được lặp lại khi quan sát hàm lượng triacylglycerol. Ngược lại, hàm lượng sterol có xu hướng giảm xuống khi cường độ ánh sáng và chu kì quang tăng.

Thành phần các axit béo tương đối ổn định giữa các nghiệm thức. Mặc dù vậy, ảnh hưởng của điều kiện chiếu sáng lên hàm lượng hai axit béo quan trọng là EPA và DHA cũng được tìm thấy. Theo đó, *C. muelleri* có xu hướng tăng cường tích lũy, tổng hợp các EPA và DHA nội bào trong các điều kiện môi trường có cường độ ánh sáng và chu kì quang cao. Tương tự như vậy, hàm lượng Lc-PUFA của vi tảo này cũng tăng lên trong các điều kiện môi trường sống có cường độ và chu kì quang lớn. Các thành phần sinh hóa khác của vi tảo này ít biến động hơn trong các điều kiện khác nhau của cường độ ánh sáng và chu kì quang.

Bảng 3.10. Thành phần sinh hóa vi tảo *C. muelleri* trong chín nghiệm thức

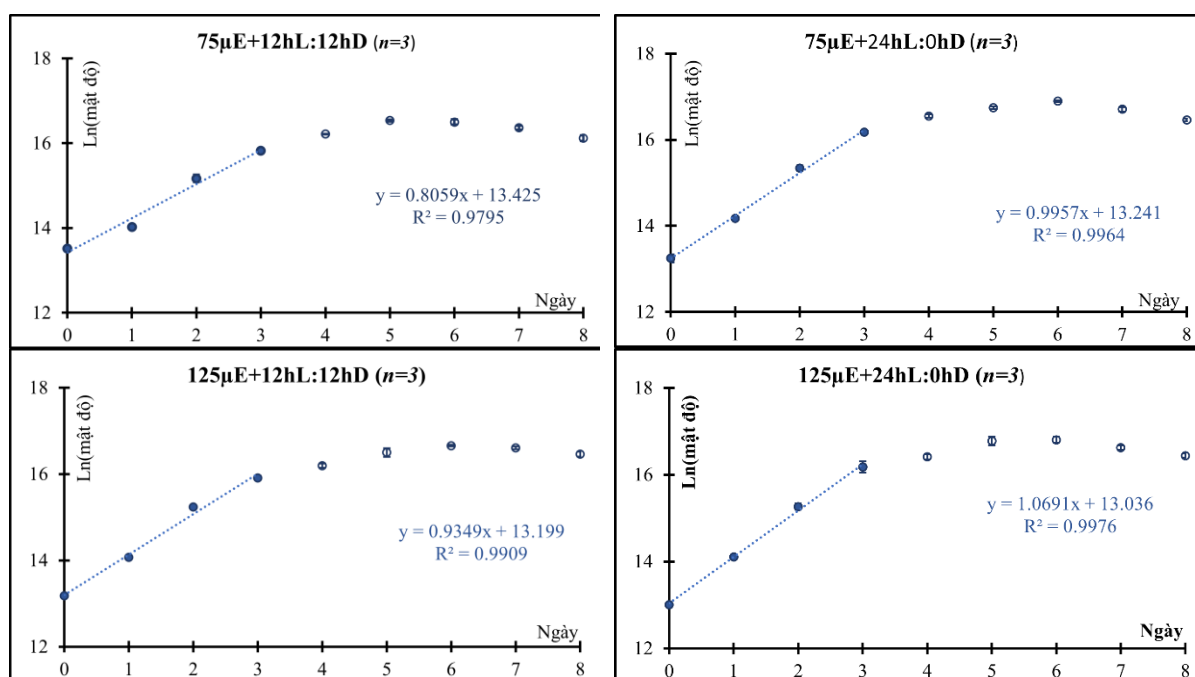
	<i>Nghiệm thức (NT)</i>								
	3.1	3.2	3.3	3.4	3.5	3.6	3.7	3.8	3.9
<i>Thành phần axit béo (% TFA)</i>									
14:0	9,29	8,83	10,15	10,87	8,91	10,05	13,37	13,14	9,64
16:1w7c	38,82	36,88	42,41	47,97	39,34	45,04	60,60	62,73	41,88
16:0	14,59	13,86	15,94	17,53	14,38	16,33	21,85	22,04	15,43
18:3w6+18:5w3	0,90	0,86	0,98	0,33	0,27	0,11	1,21	1,12	0,48
18:4w3	0,20	0,19	0,22	0,23	0,15	0,06	0,08	0,21	0,16
18:2w6	0,72	0,68	0,79	0,10	0,09	1,13	2,10	1,46	0,29
18:3w3	1,17	1,11	1,28	0,67	0,55	0,43	0,38	-0,50	0,78
18:1w9c	0,00	0,08	0,20	0,10	0,16	2,11	3,12	0,65	0,40
18:1w7c	1,63	1,55	1,78	1,25	1,02	0,98	1,12	0,27	1,28
18:0	1,39	1,32	1,52	0,95	0,78	0,69	0,73	1,30	1,02
20:4w6 ARA	2,07	1,97	2,26	1,80	1,48	1,50	1,82	1,01	1,76
20:5w3 EPA	5,69	6,41	7,40	6,35	7,21	7,65	7,61	7,09	8,64
22:6w3 DHA	0,35	0,33	0,46	0,42	0,60	1,11	0,64	0,65	1,21
<i>Nhóm axit béo (% TFA)</i>									
SFA	11,58	11,00	12,65	12,15	9,96	10,86	15,32	15,56	11,14
MUFA	40,45	38,51	44,39	49,32	40,52	48,12	64,84	63,66	43,55
PUFA	11,10	11,55	13,39	9,91	10,34	11,99	13,85	11,05	13,31
Lc-PUFA	8,11	8,71	10,12	8,57	9,29	10,26	10,07	8,75	11,61
<i>Lớp lipid (% lipid)</i>									
Wax ester	0,21	0,24	0,28	0,29	0,24	0,27	0,36	0,35	0,26
Triacylglycerol	7,36	7,69	8,84	9,68	7,94	9,01	12,05	12,11	8,53
Free fatty acid	12,12	11,10	10,55	12,13	8,35	6,84	6,47	7,33	1,40
Sterol	4,75	4,06	3,85	4,43	3,90	3,20	3,38	4,26	3,12
Polar lipid	75,55	76,92	76,49	73,46	79,57	80,68	77,75	75,96	86,69
Total lipid (mg/g)	21,97	26,52	29,32	23,4	32,1	33,42	32,6	38,5	36,82

Cùng với cường độ chiếu sáng, nhiều bằng chứng từ các công trình nghiên cứu chỉ ra rằng, chu kì quang là một trong những yếu tố quyết định đến thành phần sinh hóa vi tảo. Maryam Al-Qasmi (2012) cho rằng, trong cùng một điều kiện nuôi cấy, việc tăng số giờ chiếu sáng của chu kì quang sẽ làm tăng hàm lượng axit béo no và làm giảm hàm lượng axit béo không no thiết yếu như EPA, và DHA [7, 97]. Kết quả từ nghiên cứu này là tương tự với kết quả của Maryam Al-Qasmi ở khía cạnh SFAs. Đối với EPA và DHA, xu hướng này chỉ thể hiện ở hai nhóm nghiệm thức có cùng cường độ chiếu sáng là 125 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$. Ở khía cạnh tương tác giữa chu kì quang và cường độ chiếu sáng lên sự thay đổi về thành phần sinh hóa vi tảo, quan điểm tiếp cận của một số nhà nghiên cứu

là là cường độ ánh sáng và chu kì quang quyết định tổng lượng ánh sáng trong một ngày cung cấp cho quang hợp vi tảo. Vi tảo sẽ thay đổi, điều chỉnh và thích nghi với từng điều kiện cụ thể đó. Một vài nghiên cứu được thực hiện nhằm tìm ra mối tương tác này nhưng chưa ghi nhận kết quả rõ ràng [9].

❖ Tương tác giữa chu cường độ ánh sáng và chu kì quang lên sinh trưởng quần thể và thành phần sinh hóa vi tảo *P. tricornutum*

Cũng giống như ở thí nghiệm trên loài *C. muelleri*, sinh trưởng quần thể *P. tricornutum* là rất khác nhau ở từng điều kiện chiếu sáng cụ thể. Ở tất cả các nghiệm thức thí nghiệm, quần thể vi tảo tăng sinh nhanh chóng và bước vào pha logarithm ngay sau ngày đầu tiên nuôi cấy. Chu kì pha sinh trưởng này kéo dài từ ngày thứ 0 đến ngày thứ 3 trong chu kì nuôi cấy. Sinh khối quần thể đạt cực đại vào khoảng ngày thứ 5 và thứ 6 tùy theo từng điều kiện cụ thể. Cũng tương tự như nhiều thí nghiệm trước, sinh khối cực quần thể *P. tricornutum* đạt được cao hơn nhiều lần so với các chủng vi tảo còn lại. Cũng tương tự như ở *C. muelleri*, các nghiệm thức có điều kiện ánh sáng cao về cường độ và chu kì quang dường như cho kết quả sinh trưởng quần thể vi tảo này cao hơn (hình 3.9, bảng 3.11 và phụ lục 3.3.2).



Hình 3.9. Sinh trưởng quần thể vi tảo *P. tricornutum* ở 4 trong 9 nghiệm thức

Ghi chú: Các dấu tròn, đậm biểu diễn sinh trưởng quần thể trong pha logarith. Các dấu mở biểu diễn sinh trưởng nằm ngoài pha logarith

Kết quả phân tích hồi qui tuyến tính (phụ lục 3.3.3) đã chỉ ra một số ảnh hưởng của cường độ chiếu sáng, chu kì quang cũng như tương tác hai biến này lên sinh trưởng quần thể *P. tricornutum*. Cụ thể, mô hình hồi qui tuyến tính dự đoán tốc độ sinh trưởng quần thể ở pha logarithm thu được [$EGRs = 0,78 \times CD + 1,39 \times CKQ - 0,66 \times (CD \times CKA)$] có ý nghĩa thống kê cao, $p < 0,001$). Mô hình này được tin là giải thích cho khoảng 86% sự biến thiên về EGRs quần thể *P. tricornutum* ($R^2 = 0,860$).

Bảng 3.11. Thông số sinh trưởng quần thể vi tảo *P. tricornutum* trong chín nghiệm thức thí nghiệm (Min-Max, Mean $\pm$ SD, n=3)

	MCDs ($\times 10^6$ tb/mL)	EGRs (/ngày)	Max SGRs (/ngày)
NT-3.10	15,43-22,25	0,79-0,82	1,07-1,22
(75 μ E12hL:12hD)	18,64$\pm$3,43	0,81$\pm$0,01	1,14$\pm$0,08
NT-3.11	15,75-21,25	0,94-0,96	1,04-1,08
(75 μ E18hL:6hD)	18,50$\pm$2,75	0,95$\pm$0,01	1,06$\pm$0,02
NT-3.12	15,25-21,75	0,96-1,02	1,11-1,21
(75 μ E24hL:0hD)	18,67$\pm$3,26	1,00$\pm$0,03	1,16$\pm$0,05
NT-3.13	16,75-17,50	0,85-0,89	0,90-1,04
(100 μ E12hL:12hD)	17,25$\pm$0,43	0,86$\pm$0,02	0,95$\pm$0,08
NT-3.14	19,50-20,50	0,91-0,95	1,05-1,17
(100 μ E18hL:6hD)	19,92$\pm$0,52	0,94$\pm$0,02	1,11$\pm$0,06
NT-3.15	21,00-22,50	1,06-1,10	1,32-1,40
(100 μ E24hL:0hD)	21,75$\pm$0,75	1,09$\pm$0,03	1,36$\pm$0,04
NT-3.16	16,75-17,50	0,93-0,94	1,14-1,19
(125 μ E12hL:12hD)	17,17$\pm$0,38	0,93$\pm$0,00	1,16$\pm$0,03
NT-3.17	19,75-21,25	0,93-0,98	1,00-1,13
(125 μ E18hL:6hD)	20,50$\pm$0,75	0,96$\pm$0,03	1,08$\pm$0,08
NT-3.18	20,43-21,50	1,02-1,10	1,11-1,21
(125 μ E24hL:0hD)	20,80$\pm$0,61	1,07$\pm$0,05	1,16$\pm$0,05

Cũng giống như kết quả nghiên cứu trên đối tượng *C. muelleri*, chu kì quang có ảnh hưởng mang tính quyết định đến sinh trưởng quần thể vi tảo này. Thời gian chiếu sáng càng lớn sinh trưởng quần thể *P. tricornutum* thu được càng cao. Tác động này có ý nghĩa thống kê cao ($\beta = 1,39$, $t = 3,6$, $p = 0,002$). Cũng cùng xu hướng như vậy, cường độ chiếu sáng tăng cũng làm tăng sinh trưởng quần thể tảo này một cách đáng kể. So với chu kì quang thì tác động của cường độ ánh sáng lên sinh trưởng quần thể *P. tricornutum* này là yếu hơn ($\beta = 0,72$, $t = 2,42$, $p = 0,024$).

Tương tác giữa cường độ ánh sáng và chu kì quang lên sinh trưởng quần thể vi tảo cũng theo xu hướng nghịch biến. Mặc dù vậy, điểm khác biệt so với kết quả nghiên cứu trên loài *C. muelleri* là tương tác giữa hai biến này lên sinh trưởng quần thể *P. tricornutum* không có ý nghĩa về mặt thống kê ($p=1.82$) (phụ lục 3.3.3).

Kết quả nghiên cứu từ bảng 3.12 đã chỉ ra rằng tảo silic biển có sự phong phú về thành phần các axit béo cũng như các loại lipid khác. Kết quả phân tích ở thí nghiệm này có 2 giá trị cao bất thường, không rõ lý do ở triacylglycerol trong hai nghiệm thức NT-3.15 và NT3-17.

Bảng 3.12. Thành phần sinh hóa vi tảo *P. tricornutum* trong chín nghiệm thức

	<i>Nghiệm thức (NT)</i>								
	<i>3.10</i>	<i>3.11</i>	<i>3.12</i>	<i>3.13</i>	<i>3.14</i>	<i>3.15</i>	<i>3.16</i>	<i>3.17</i>	<i>3.18</i>
<i>Thành phần axit béo (% TFA)</i>									
14:0	3,09	2,86	2,97	2,69	2,60	2,30	2,54	2,74	2,86
16:1w7c	18,82	22,72	26,50	20,07	21,07	26,28	22,13	21,44	25,37
16:0	8,62	9,63	8,60	9,71	8,66	10,83	9,60	11,11	9,06
18:3w6+18:5w3	0,34	0,26	0,22	0,28	0,18	0,14	0,23	0,28	0,11
18:4w3	1,05	0,35	0,33	0,34	0,39	0,37	0,32	0,32	0,36
18:2w6	2,04	1,58	1,45	1,83	1,39	1,26	1,59	1,63	1,10
18:3w3	0,66	1,15	1,16	0,55	0,69	0,74	0,47	0,82	0,79
18:1w9c	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
18:1w7c	0,50	0,58	0,55	0,76	0,94	1,37	1,08	0,89	1,02
18:0	0,29	0,30	0,30	0,32	0,31	0,37	0,37	0,37	0,31
20:4w6 ARA	0,60	0,47	0,36	0,60	0,39	0,28	0,48	0,55	0,20
20:5w3 EPA	32,38	28,94	27,80	30,99	31,51	26,65	30,02	29,42	28,58
22:6w3 DHA	1,52	1,42	1,40	1,71	2,38	2,75	2,12	2,21	3,26
<i>Nhóm axit béo ((% TFA)</i>									
SFA	12,00	12,79	11,87	12,73	11,57	13,50	12,51	14,22	12,23
MUFA	19,32	23,30	27,05	20,83	22,01	27,64	23,21	22,33	26,39
PUFA	38,59	34,17	32,72	36,29	36,92	32,18	35,25	35,22	34,40
Lc-PUFA	34,24	30,62	29,43	32,97	34,07	29,53	32,38	31,90	31,96
Wax ester	0,39	0,22	0,20	0,28	0,29	0,14	0,16	0,19	0,23
<i>Lớp lipid (% lipid)</i>									
Triacylglycerol	2,68	2,18	2,10	2,99	3,42	17,27	2,34	21,26	4,20
Free fatty acid	2,15	4,30	3,88	1,27	1,52	0,00	0,00	0,00	0,00
Sterol	0,61	1,05	0,87	0,77	0,55	0,55	0,46	0,58	0,72
Polar lipid	94,36	88,97	107,09	86,82	57,15	47,51	57,45	52,95	60,96
Total lipid (mg/g)	100,18	96,72	114,15	92,14	62,93	65,48	60,41	74,98	66,12

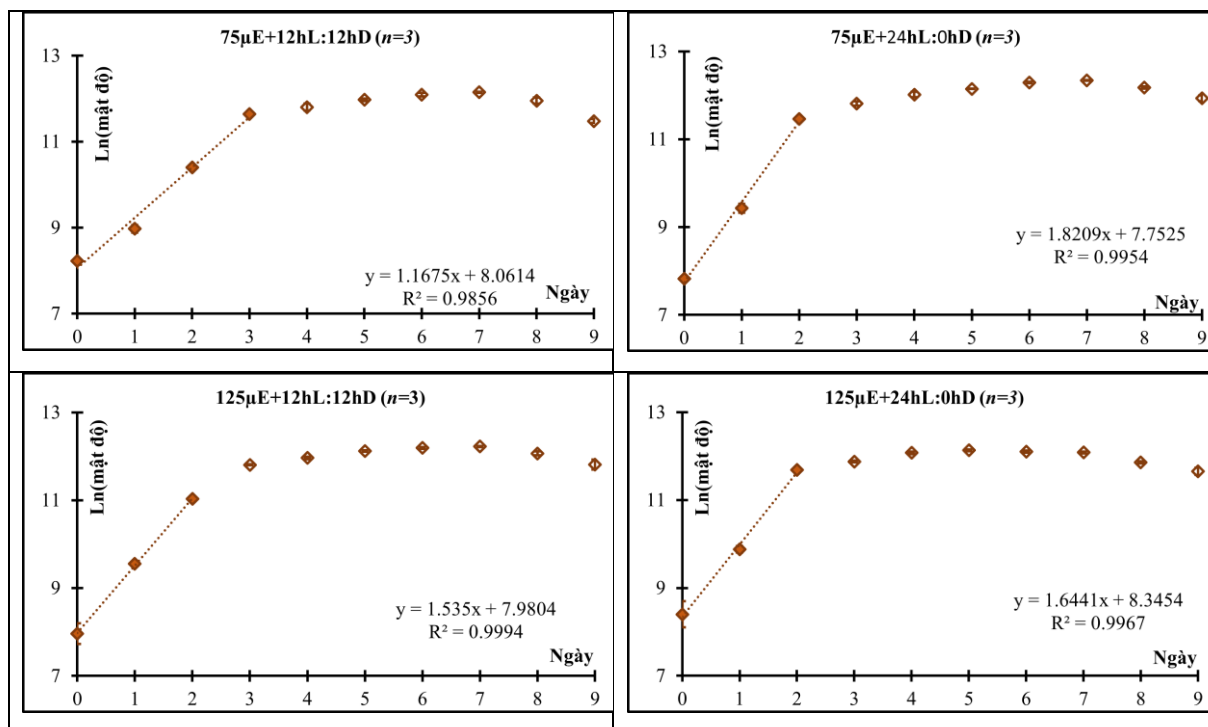
Ảnh hưởng của các điều kiện chiếu sáng lên thành phần sinh hóa vi tảo *P. tricornutum* cũng đa dạng tùy theo từng thành phần cụ thể. Đầu tiên là lipid tổng số, kết quả phân tích đã chỉ ra rằng, việc tăng cường độ chiếu sáng dường như làm giảm đáng kể hàm lượng lipid tổng số ở loài vi tảo này. Đơn cử, khi tăng cường độ từ 75 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ lên 100 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ lipid tổng số giảm một cách rõ rệt. Xu hướng tác động này càng được thấy rõ khi quan sát ở nhóm nghiệm thức có chu kì quang cao (18hL:6hD và 24hL:0hD). Tương tự như lipid tổng số, hàm lượng polar lipid ở *P. tricornutum* cũng giảm rõ rệt khi điều kiện cường độ chiếu sáng tăng lên. Ngược lại, ảnh hưởng của chu kì quang lên hàm lượng lipid tổng số không thật sự rõ ràng.

Ở một chiều hướng khác, hàm lượng hàm lượng DHA có xu hướng tăng lên khi cường độ và/hoặc chu kì quang tăng. Ngược lại hàm lượng EPA có xu hướng giảm khi tăng các điều kiện chiếu sáng. Các thành phần sinh hóa khác ở *P. tricornutum* thay đổi nhẹ hoặc giữ nguyên trong các điều kiện khác nhau về ánh sáng ở nghiên cứu này.

❖ Tương tác giữa chu cường độ ánh sáng và chu kì quang lên sinh trưởng quần thể và thành phần sinh hóa vi tảo *T. weissflogii*

Nhìn chung, quần thể vi tảo *T. weissflogii* sinh trưởng rất tốt trong tất cả chín nghiệm thức thí nghiệm. Pha logarithm được bắt đầu vào ngày 0 và kéo dài đến ngày thứ 2 trong chu kì nuôi cấy. Ngoại trừ ở hai nghiệm thức có cường độ ánh sáng và chu kì quang thấp là NT-3.19 và NT-3.22. Sinh khối quần thể đạt cực đại vào ngày 5 và có dấu hiệu tàn lụi vào khoảng thứ 7 (hình 3.10 và phụ lục 3.3.2).

So với hai đối tượng nghiên cứu *C. muelleri* và *P. tricornutum*, sinh khối cực đại trong các nghiệm thức của loài tảo này tương đối thấp (dao động trong khoảng 200.000 tb/mL). Mặc dù vậy, kết quả nghiên cứu đã chỉ ra tốc độ sinh trưởng ở loài tảo này rất cao, khoảng 150% so với hai loài còn lại. Bên cạnh đó, các nghiệm thức có điều kiện cường độ chiếu sáng cao, thời gian chiếu sáng dài cũng cho kết quả tốt hơn sinh trưởng quần thể *T. weissflogii* (bảng 3.13).



Hình 3.10. Sinh trưởng quần thể vi tảo *T. weissflogii* ở 4 trong 9 nghiệm thức

Ghi chú: Các dấu tròn, đậm biểu diễn sinh trưởng quần thể trong pha logarith. Các dấu mở biểu diễn sinh trưởng nằm ngoài pha logarith

Kết quả tương tác giữa cường độ chiếu sáng và chu kì quang lên sinh trưởng quần thể *T. weissflogii* biểu hiện rất rõ ràng và cụ thể. Tác động này rất đồng nhất và có ý nghĩa thống kê trên tất cả các thông số sinh trưởng quần thể đã quan sát, bao gồm EGRs, MCDs, và SGRs. Thật vậy, kết quả xây dựng mô hình hồi qui tuyến tính giữa cường độ chiếu sáng và chu kì quang lên EGRs đạt $[EGRs = 1,22 \times CD + 2,12 \times CKQ - 1,65 \times (CD \times CKA)]$. Mô hình này có ý nghĩa thống kê cao với $p < 0,001$, $R^2 = 0,792$. Cả chu kì quang và cường độ ánh sáng đều có ảnh hưởng lớn và đồng biến với EGRs quần thể. Bên cạnh đó, cũng giống như kết quả nghiên cứu ở loài *C. muelleri*, ảnh hưởng của chu kì quang lên sinh trưởng quần thể vi tảo này là lớn hơn. Tương tác giữa cường độ chiếu sáng và chu kì quang lên sinh trưởng quần thể *T. weissflogii* có ý nghĩa về mặt thống kê ($\beta = -1,65$, $t = -2,8$, $p = 0,01$) cho thấy ảnh hưởng của chu kì quang lên EGRs cũng đồng thời phụ thuộc vào số giờ chiếu sáng trong chu kì quang.

Hoàn toàn tương tự khi quan sát kết quả phân tích hồi qui tuyến tính ảnh hưởng của ánh sáng lên hai thông số sinh trưởng quần thể còn lại. Mô hình hồi qui tuyến tính dự đoán mật độ cực đại $[MCDs = 2,18 \times CD + 3,37 \times CKQ - 3,77 \times (CD \times CKA)]$ và tốc độ sinh trưởng theo ngày cực đại $[SGRs = 1,22 \times CD + 2,12 \times CKQ - 1,65 \times (CD \times CKA)]$ đều

có ý nghĩa thống kê cao. Bên cạnh đó, tác động của từng biến số cường độ ánh sáng, chu kì quang, và tương tác hai yếu tố này đều biểu hiện xu hướng tương tự và có ý nghĩa về mặt thống kê.

Bảng 3.13. Thông số sinh trưởng quần thể vi tảo *T. weissflogii* trong chín thí nghiệm thức thí nghiệm (Min-Max, Mean±SD, n=3)

	MCDs ($\times 10^6$ tb/mL)	EGRs (/ngày)	Max SGRs (/ngày)
NT-3.19	0,19-0,19	1,15-1,18	1,31-1,50
(75µE12hL:12hD)	0,19±0,00	1,17±0,01	1,43±0,10
NT-3.20	0,20-0,21	1,51-1,75	1,44-1,61
(75µE18hL:6hD)	0,20±0,00	1,66±0,13	1,55±0,10
NT-3.21	0,23-0,23	1,81-1,83	1,41-1,70
(75µE24hL:0hD)	0,23±0,00	1,82±0,01	1,61±0,17
NT-3.22	0,20-0,20	1,21-1,31	1,95-2,05
(100µE12hL:12hD)	0,20±0,00	1,28±0,06	2,00±0,05
NT-3.23	0,22-0,23	1,77-1,78	1,84-1,95
(100µE18hL:6hD)	0,22±0,00	1,78±0,01	1,88±0,06
NT-3.24	0,22-0,23	1,71-1,89	1,67-2,08
(100µE24hL:0hD)	0,22±0,01	1,83±0,10	1,92±0,22
NT-3.25	0,20-0,21	1,40-1,62	1,95-2,16
(125µE12hL:12hD)	0,22±0,00	1,53±0,12	2,04±0,11
NT-3.26	0,22-0,23	1,61-1,84	1,95-1,98
(125µE18hL:6hD)	0,23±0,00	1,76±0,13	1,97±0,02
NT-3.27	0,18-0,19	1,72-1,93	1,73-1,88
(125µE24hL:0hD)	0,19±0,00	1,80±0,12	1,82±0,07

Kết quả nghiên cứu từ bảng 3.14 cho thấy tảo silic biển *T. weissflogii* có sự phong phú về thành phần các axit béo. Trong đó, phần lớn là các axit béo mạch dài và có số phân tử carbon là số chẵn. Nhiều nhất là axit béo chứa từ 18-22 phân tử carbon, hàm lượng các axit béo này chiếm trên 65% tổng số các axit béo (TFAs). Đặc biệt là sự hiện diện của hầu hết các axit béo thiết yếu không no đa nối đôi L-PUFAs (Long chain Poly-Unsaturated Fatty Acids), các đồng phân cis, và omega 3, 6 như linoleate (18:2w6), alpha-linolenic (18:3w3), ARA (20:4w6), EPA (20:5w3), và DHA (22:6w3), nhóm L-PUFAs này chiếm khoảng 25-30% TFA. Chỉ tính riêng EPA, vi tảo *T. weissflogii* này được phát hiện có chứa hàm lượng rất cao, dao động từ 19,60-23,30% tổng số các axit béo. Kết quả nghiên cứu cũng chỉ ra rằng, hàm lượng các axit béo không no một nối đôi MUFAs (mono-unsaturated fatty axit) phát hiện trong nghiên cứu này ở khoảng 21,09-

31,60% TFA. Ngoài ra, kết quả phân tích cũng chỉ ra sự hiện diện và tương đối đồng nhất giữa các nghiệm thức của một số thành phần sinh hóa khác như sáp (wax ester), axit béo tự do (free fatty axit), sterol và polar lipid.

Bảng 3.14. Thành phần sinh hóa vi tảo *T. weissflogii* trong chín nghiệm thức

	<i>Nghiệm thức (NT)</i>								
	3.19	3.20	3.21	3.22	3.23	3.24	3.25	3.26	3.27
<i>Thành phần axit béo (% TFA)</i>									
14:0	5,28	6,12	7,11	5,12	6,43	6,78	5,57	6,04	7,27
16:1w7c	20,59	27,31	27,75	24,37	28,47	31,38	24,40	27,17	32,61
16:0	10,35	14,85	15,11	13,23	16,26	17,86	11,73	13,86	19,55
18:3w6+18:5w3	0,14	0,11	0,09	0,12	0,11	0,12	0,14	0,13	0,12
18:4w3	1,96	0,03	0,81	1,82	1,38	0,82	1,91	1,46	0,93
18:2w6	0,55	0,40	0,31	0,46	0,39	0,41	0,49	0,43	0,37
18:3w3	0,20	0,29	0,28	0,29	0,32	0,36	0,28	0,28	0,37
18:1w9c	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
18:1w7c	0,51	0,34	0,34	0,45	0,31	0,22	0,48	0,31	0,25
18:0	0,19	0,28	0,29	0,23	0,26	0,26	0,19	0,21	0,28
20:4w6 ARA	0,12	0,00	0,03	0,12	0,09	0,07	0,14	0,09	0,04
20:5w3 EPA	22,29	21,10	22,21	23,16	19,77	21,43	23,30	22,00	19,60
22:6w3 DHA	3,30	2,91	3,45	3,81	2,79	3,23	3,70	3,13	2,72
<i>Nhóm axit béo (% TFA)</i>									
SFA	15,82	21,26	22,51	18,58	22,95	24,91	17,49	20,12	27,10
MUFA	21,09	27,65	28,09	24,82	28,78	31,60	24,88	27,47	32,86
PUFA	28,55	24,85	27,19	29,77	24,85	26,42	29,97	27,53	24,15
Lc-PUFA	25,72	24,13	25,76	27,09	22,68	24,77	27,15	25,26	22,44
<i>Lớp lipid (% lipid)</i>									
Wax ester	0,36	0,90	1,34	0,71	0,82	0,68	0,61	1,46	0,68
Triacylglycerol	0,83	8,45	7,81	2,08	8,07	20,48	2,48	8,69	23,03
Free fatty acid	3,63	2,61	2,91	4,72	2,35	4,18	2,87	3,93	2,93
Sterol	0,69	1,83	1,85	1,01	1,96	2,42	1,69	2,56	2,77
Polar lipid	38,58	44,94	35,78	41,98	37,12	42,10	48,95	45,85	37,65
Total lipid (mg/g)	44,08	58,73	49,69	50,51	50,31	69,86	56,60	62,50	67,06

Ảnh hưởng của cường độ chiếu sáng và chu kì quang lên thành phần sinh hóa vi tảo được thể hiện tương đối rõ ràng ở một số thành phần sinh hóa. Việc tăng cường độ chiếu sáng dường như làm tăng quá trình tích lũy, tổng hợp lipid tổng số ở *T. weissflogii* này. Đơn cử như ở điều kiện chu kì quang 12hL:12hD, hàm lượng lipid tổng số tăng từ 44,08 mg/g (ở điều kiện 75 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$) lên 50,51 mg/g (ở điều kiện 100 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$) và đạt 56,60 mg/g (ở điều kiện 125 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$). Xu hướng biến động này cũng được tìm thấy ở sterol. Đặc biệt, xu hướng tác động còn tìm thấy ở các axit béo no (SFAs), nhóm các

axit béo không no một nối đôi (MUFAs), và triacylglycerol. Theo đó, việc tăng cường độ chiếu sáng hay tăng chu kì quang dẫn đến sự gia tăng về thành phần các axit béo no và axit béo không no một nối đôi. Các thành phần sinh hóa còn lại khác dường như không có sự biến động lớn giữa các điều kiện thí nghiệm.

Nói tóm lại, tương tác giữa cường độ chiếu sáng và chu kì quang lên sinh trưởng quần thể là rất rõ ràng. Bên cạnh đó, ở mỗi loài vi tảo khác nhau, các ảnh hưởng này cũng biểu hiện một số khác biệt. Trong nghiên cứu này, tương tác giữa cường độ chiếu sáng và chu kì quang lên sinh trưởng quần thể *T. weissflogii* là rõ ràng và lớn nhất. Kế đến là *C. muelleri* và cuối cùng là *P. tricornutum*. Đặc biệt, cường độ chiếu sáng, chu kì quang và tương tác hai biến này đều có những tác động rõ ràng lên sinh trưởng quần thể vi tảo. Trong khi cường độ chiếu sáng và chu kì quang tác động theo chiều đồng biến thì tương tác của hai yếu tố này lại nghịch biến với sinh trưởng các quần thể vi tảo nghiên cứu. Bên cạnh đó, ảnh hưởng của các điều kiện chiếu sáng lên thành phần sinh hóa vi tảo là khác nhau, phụ thuộc vào từng loài cụ thể.

Cũng giống như nhiều đối tượng quang tự dưỡng khác, sinh trưởng vi tảo phụ thuộc rất lớn vào các điều kiện chiếu sáng. Vi tảo cần nguồn năng lượng ánh sáng cho các quá trình quang hợp. Trong nhiều trường hợp, điều kiện ánh sáng được cho là yếu tố giới hạn sinh trưởng quần thể vi tảo. Về cơ bản, trong khoảng giới hạn chịu đựng, cường độ ánh sáng và chu kì quang càng lớn, hiệu suất quang hợp vi tảo càng cao. Kết quả làm tăng sinh trưởng quần thể [27, 29, 46, 57, 63]. Đây có lẽ là những cơ sở khoa học cơ bản giải thích cho các kết quả ảnh hưởng của cường độ chiếu sáng và chu kì quang đồng biến với sinh trưởng các quần thể vi tảo trong nghiên cứu này.

Tương tác giữa cường độ chiếu sáng và chu kì quang lên sinh trưởng quần thể vi tảo đã được khái quát dưới hai khía cạnh. Thứ nhất là tổng năng lượng ánh sáng cung cấp cho tế bào vi tảo và ảnh hưởng đến hai phản ứng trong quá trình quang hợp (trong pha sáng và trong pha tối) của tế bào vi tảo [10, 23, 27, 46]. Việc thiếu hụt số giờ chiếu sáng hoặc trong các điều kiện cường độ và chu kì quang rất cao gây ra các tín hiệu ức chế sinh trưởng vi tảo.

Maryam Al-Qasbi (2012) cho rằng, trong cùng một điều kiện nuôi cấy, việc tăng số giờ chiếu sáng của chu kì quang sẽ làm tăng hàm lượng axit béo no và làm giảm hàm lượng axit béo không no thiết yếu như EPA, và DHA [7, 97]. Kết quả từ nghiên cứu này

là tương tự với kết quả của Maryam Al-Qasmi ở khía cạnh SFAs. Đối với EPA và DHA, xu hướng này chỉ thể hiện ở hai nhóm nghiệm thức có cùng cường độ chiếu sáng là 125 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$. Ở khía cạnh tương tác giữa chu kỳ quang và cường độ chiếu sáng lên sự thay đổi về thành phần sinh hóa vi tảo, quan điểm tiếp cận của một số nhà nghiên cứu là là cường độ ánh sáng và chu kỳ quang quyết định tổng lượng ánh sáng trong một ngày cung cấp cho quang hợp vi tảo. Vi tảo sẽ thay đổi, điều chỉnh và thích nghi với từng điều kiện cụ thể đó. Một vài nghiên cứu được thực hiện nhằm tìm ra mối tương tác này nhưng chưa ghi nhận kết quả rõ ràng [9].

3.2.3. Ảnh hưởng của nhiệt độ khác nhau lên thành phần sinh hóa một số chủng vi tảo (TN 4)

Trong thí nghiệm này, do đặc thù của điều kiện thí nghiệm tiến hành trên yếu tố nhiệt độ nên khó khăn trong việc bố trí thí nghiệm nuôi cấy ở các thể tích lớn cũng như mô phỏng điều kiện sản xuất thực tiễn tại cơ sở. Do đó, các bình thủy tinh 250mL chứa 200 mL dịch nuôi cấy và tủ ổn nhiệt được sử dụng để bố trí các nghiệm thức thí nghiệm. Về cơ bản, bố trí thí nghiệm này không thật sát với điều kiện sản xuất tại cơ sở, nhất là chế sục khí và khuấy đảo. Các thông số sinh trưởng quần thể mặc dù có tiến hành thu thập, nhưng khá khác biệt so với các nghiệm thức cùng nhóm thí nghiệm khác. Biểu hiện ở chu kỳ sinh trưởng, thời gian đạt cực đại, mật độ cực đại và tốc độ sinh trưởng quần thể. Do đó, các dữ liệu về sinh trưởng quần thể vi tảo trong thí nghiệm được xem xét và loại ra khỏi nội dung báo cáo này.

Ảnh hưởng của nhiệt độ khác nhau lên thành phần sinh hóa vi tảo *Chaetoceros muelleri*

Kết quả nghiên cứu ở bảng 3.14 đã chỉ ra rằng nhiệt độ có ảnh hưởng lớn tới thành phần sinh hóa vi tảo *C. muelleri*. Nhiệt độ tăng kích thích quá trình sinh tổng hợp và tích lũy lipid ở vi tảo *C. muelleri*. Thật vậy, lipid tổng số (TL) ở vi tảo silic này tăng từ 43,73 mg/g trong điều kiện nhiệt độ thấp 20°C (NT-4.1), lên đến 50,33 mg/g ở nhiệt độ 25°C (NT-4.2) và đạt 61,3 mg/g ở nhiệt độ 30°C (NT-4.3). Xu hướng biến động này cũng được tìm thấy ở sterol, hàm lượng lipid này tăng nhẹ từ 1,3%TL (ở điều kiện 20°C lên đến 1,7 ở điều kiện 30°C).

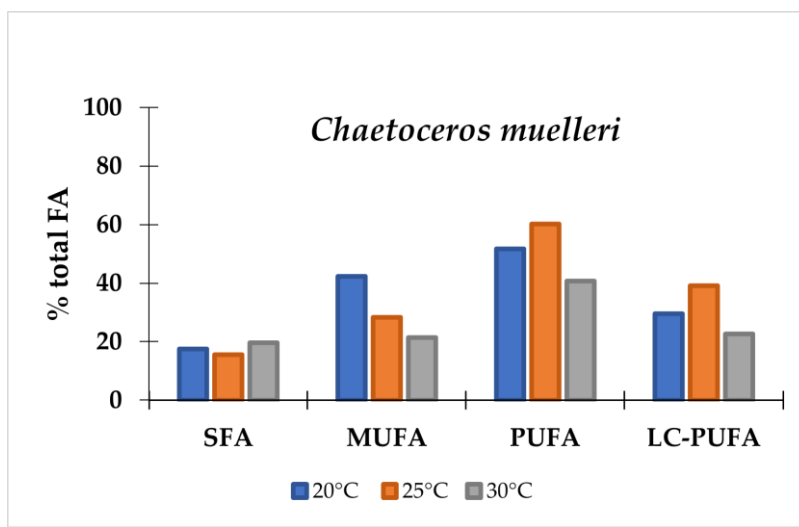
Thành phần các axit béo cũng có những sự thay đổi khác nhau, phụ thuộc vào từng loại FA cụ thể. Hàm lượng AA trong vi tảo *C. muelleri* có xu hướng tăng lên khi

nhệt độ môi trường tăng (bảng 3.14). Trong khi đó, hàm lượng axit béo EPA thay đổi một cách khác biệt, không theo định hướng cụ thể. Nghiệm thức NT-4.2 (25°C) cho kết quả hàm lượng EPA là cao nhất, đạt 34,27%TFA. Kế đến là ở NT-4.1 (20°C), hàm lượng EPA thu được đạt 26,53%TFA, và cuối cùng là ở NT-4.3 (30°C) đạt 18,83%TFA. Hàm lượng DHA trong *C. muelleri* có xu hướng ổn định trong cả 3 nghiệm thức thí nghiệm khác nhau về nhiệt độ.

Bảng 3.15. Thành phần sinh hóa *C. muelleri* trong 3 nghiệm thức nhiệt độ

Thành phần	Nhiệt độ môi trường		
	20°C	25°C	30°C
Axit béo (%TFA)			
14:0	10,35	9,07	11,67
16:1w7c	24,51	17,95	27,96
16:1w7t	0,29	0,14	0,00
16:1w5c	2,16	1,66	0,32
16:0	6,11	5,32	5,72
18:3w6+18:5w3	0,48	1,00	0,96
18:4w3	1,42	1,49	0,26
18:2w6	0,74	1,00	0,06
18:3w3	0,12	0,10	0,94
18:1w9c	0,57	0,71	0,00
18:1w7c	0,80	0,92	0,47
20:4w6 AA	0,65	1,78	2,14
20:5w3 EPA	26,53	34,27	18,83
22:6w3 DHA	0,44	0,46	0,50
Nhóm (%TFA)			
ΣSFA	16,47	14,39	17,39
ΣMUFA	28,33	21,37	28,75
ΣPUFA	30,38	40,12	23,69
ΣLC-PUFA	27,63	36,52	21,48
Lớp lipid (% lipid)			
Wax ester	0,2	0,3	0,3
Triacylglycerol	2,0	1,2	0,0
Free fatty acid	5,7	4,2	6,3
Sterol	1,3	1,4	1,7
Polar lipid	90,8	92,8	91,6
Total lipid (mg/g)	43,73	50,33	61,3

Kết quả tổng hợp hàm lượng các nhóm axit béo trong các điều kiện khác nhau về nhiệt độ cũng cho thấy những điểm đáng lưu ý. Hàm lượng các axit béo SFAs cao trong các điều kiện nhiệt độ cao (30°C). Trong khi đó, nhiệt độ thấp (20°C) làm gia tăng hàm lượng các axit béo không no một nối đôi MUFA. Hàm lượng cao axit béo PUFAs và Lc-PUFAs được tìm thấy trong các điều kiện nhiệt độ 25°C (Hình 3.11).



Hình 3.11. Hàm lượng các nhóm axit béo ở tảo *C. muelleri* trong các điều kiện khác nhau về nhiệt độ

Ảnh hưởng của nhiệt độ khác nhau lên thành phần sinh hóa vi tảo *Phaeodactylum tricornutum*

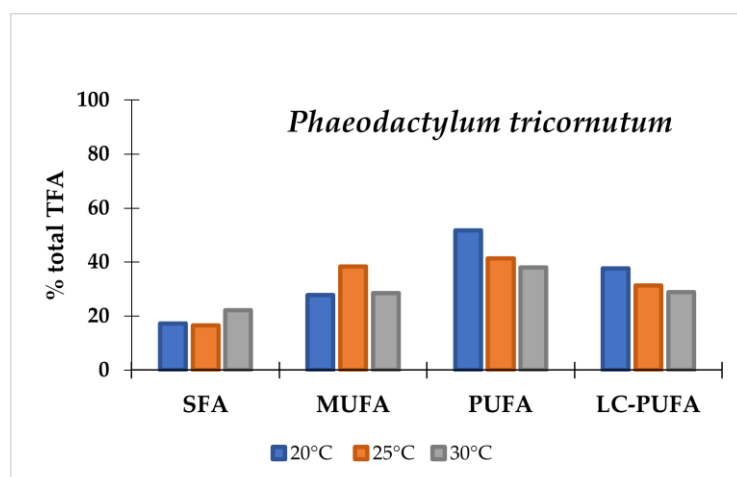
Tương tự như ở *C. muelleri*, hàm lượng lipid tổng số ở tảo silic *P. tricornutum* tăng lên một cách đáng kể theo sự gia tăng nhiệt độ môi trường sống. Hàm lượng lipid tổng số này tăng khoảng hai lần, từ 45,54 mg/g lên đến 89,7 mg/g khi nhiệt độ môi trường tăng từ 20 lên đến 30°C.

Quan sát kết quả phân tích hàm lượng wax ester cũng đưa đến xu hướng tương tự trong kết quả. Theo đó hàm lượng lớp lipid này tăng nhẹ từ 0,37 lên đến 0,7 mg/g khi nhiệt độ tăng từ 20 lên đến 30°C. Hàm lượng triacylglycerol và free fatty axit cao trong điều kiện nhiệt độ 25°C. Ngược lại, hàm lượng sterol và pola lipid tìm thấy là thấp trong điều kiện nhiệt độ này.

Bảng 3.16. Thành phần sinh hóa *P. tricornutum* trong 3 nghiệm thức nhiệt độ

Thành phần	Nhiệt độ môi trường		
	20°C	25°C	30°C
Axit béo (%TFA)			
14:0	5,01	5,48	5,39
16:1w7c	19,39	19,34	21,95
16:1w7t	0,05	8,78	0,00
16:1w5c	2,43	1,70	0,00
16:0	9,99	8,78	12,48
18:3w6+18:5w3	0,53	0,32	0,12
18:4w3	0,73	0,24	0,35
18:2w6	1,64	0,71	0,00
18:3w3	0,30	0,15	0,25
18:1w9c	5,56	8,10	6,08
18:1w7c	0,32	0,36	0,46
20:4w6 AA	1,52	1,91	0,81
20:5w3 EPA	34,56	28,35	26,82
22:6w3 DHA	1,66	1,11	1,31
Nhóm (% TFA)			
ΣSFA	15,00	14,26	17,87
ΣMUFA	27,76	38,27	28,49
ΣPUFA	40,94	32,79	29,66
ΣLC-PUFA	37,74	31,37	28,94
Lớp lipid (% lipid)			
Wax ester	0,37	0,37	0,7
Triacylglycerol	1,39	0,45	0,0
Free fatty acid	0,00	19,97	10,9
Sterol	0,92	0,69	1,1
Polar lipid	97,32	78,52	87,2
Total lipid (mg/g)	45,54	75,58	89,7

Ngược lại xu hướng với sự biến đổi ở hàm lượng lipid tổng số, axit béo EPA, các PUFAs và Lc-PUFAs được tìm thấy có hàm lượng cao trong các điều kiện nhiệt độ thấp. Nhiệt độ càng cao hàm lượng các axit béo này càng giảm. Trong khi đó, nhiệt độ 25°C đưa đến hàm lượng cao các MUFAs.



Hình 3.12. Hàm lượng các nhóm axit béo ở *P. tricornutum* trong điều kiện nhiệt độ khác nhau

Ảnh hưởng của nhiệt độ khác nhau lên thành phần sinh hóa vi tảo Thalassiosira weissflogii

Tương tự như kết quả thu được trong thí nghiệm ở hai loài tảo silic *C. muelleri* và *P. tricornutum*, hàm lượng lipid tổng số ở *T. weissflogii* trong thí nghiệm này cũng biểu hiện xu hướng tăng lên khi nhiệt độ môi trường tăng. Lipid tổng số này tăng từ 16,07 mg/g ở NT-4.7 lên đến 28,6 mg/g ở nghiệm thức NT-4.9.

Một số dữ liệu về lớp lipid trong nghiệm thức NT-4.9 không thu thập được bởi lý do kỹ thuật. Do đó, xác định sự biến đổi hàm lượng các lớp lipid theo các điều kiện nhiệt độ ở tảo này không được thực hiện. Mặc dù vậy, so sánh giữa hai điều kiện nhiệt độ 20 và 25°C, có thể thấy rằng hàm lượng các triacylglycerol và polar lipid cao hơn trong nghiệm thức 25°C. Ngược lại, hàm lượng wax ester, free fatty acid và sterol được tìm thấy cao hơn trong điều kiện nhiệt độ 20°C (bảng 3.17).

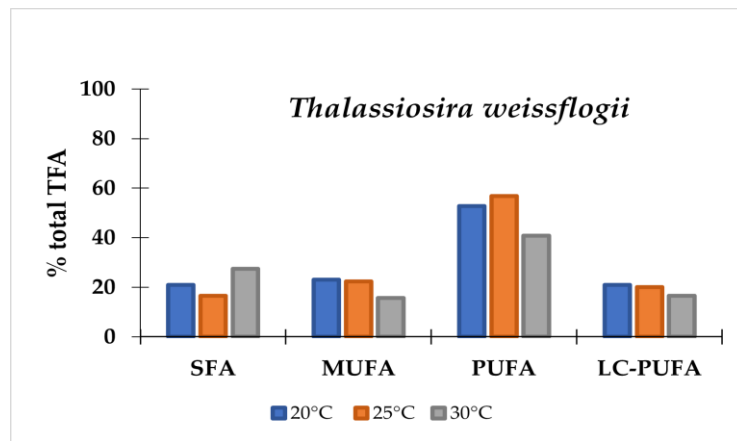
Ảnh hưởng của nhiệt độ lên thành phần các axit béo của loài tảo này cũng có nhiều điểm khác biệt so với hai loài tảo *C. muelleri* và *P. tricornutum*. Trong khi thành phần các axit béo thiết yếu (bao gồm AA, EPA và DHA) có xu hướng biến động mạnh theo điều kiện nhiệt độ môi trường, thì các axit béo còn lại tương đối ổn định. Đặc biệt là nhóm các axit béo no C14, C16 và C19.

Hàm lượng axit béo AA cao nhất thu được ở nghiệm thức có điều kiện nhiệt độ cao 30°C thì DHA lại cao nhất ở điều kiện nhiệt độ thấp (20°C). Trong khi đó, hàm lượng EPA ở loài tảo này cao nhất thu được trong điều kiện thí nghiệm ở 25°C.

Bảng 3.17. Thành phần sinh hóa *T. weissflogii* trong 3 nghiệm thức nhiệt độ

Thành phần	Nhiệt độ môi trường		
	20°C	25°C	30°C
Axit béo (%TFA)			
14:0	10,72	8,23	12,32
16:1w7c	15,07	14,19	14,35
16:1w7t	1,06	0,79	0,00
16:1w5c	4,33	3,84	1,01
16:0	6,39	5,00	8,53
18:3w6+18:5w3	1,02	0,68	0,63
18:4w3	1,12	1,11	3,21
18:2w6	3,58	2,89	0,14
18:3w3	0,28	0,28	2,43
18:1w9c	2,18	2,95	0,00
18:1w7c	0,28	0,42	0,23
20:4w6 AA	2,09	1,21	6,22
20:5w3 EPA	10,25	11,96	2,12
22:6w3 DHA	8,72	6,84	8,12
Nhóm (% TFA)			
ΣSFA	17,11	13,23	20,85
ΣMUFA	22,92	22,20	15,59
ΣPUFA	27,05	24,97	22,86
ΣLC-PUFA	21,05	20,01	16,45
Lớp lipid (% lipid)			
Wax ester	0,82	0,45	-
Triacylglycerol	1,625	1,85	-
Free fatty acid	1,85	1,56	-
Sterol	2,96	1,26	-
Polar lipid	92,74	94,88	-
Total lipid (mg/g)	16,07	23	28,6

Sự biến động về các nhóm axit béo lại dễ nhận thấy hơn, hàm lượng PUFAs và Lc-PUFAs cao trong điều kiện nhiệt độ 25°C. Trong khi đó, điều kiện nhiệt độ 30°C làm gia tăng hàm lượng các SFAs. Nhiệt độ 20-25°C đưa đến kết quả cao về hàm lượng các MUFAs (hình 3.13).



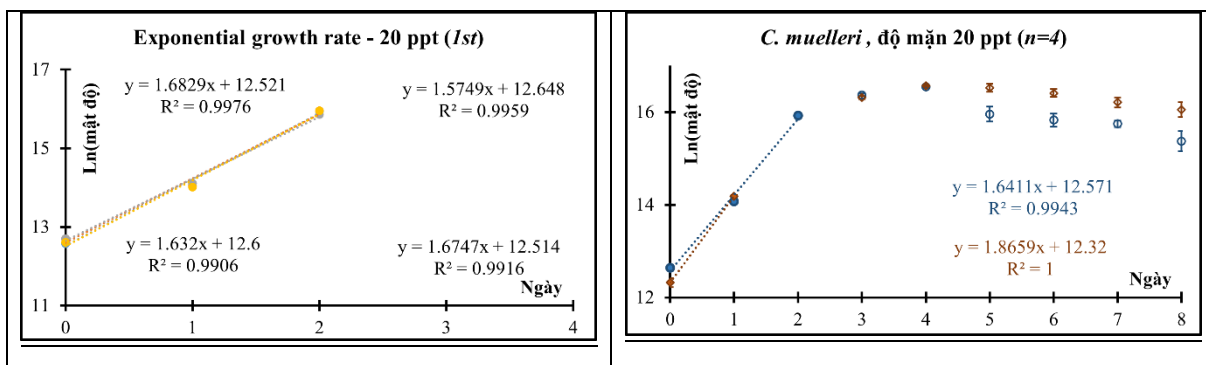
Hình 3.13 Hàm lượng các nhóm axit béo ở *T. weissflogii* trong các điều kiện độ khác nhau

Kết quả nhiều nghiên cứu đã chỉ ra rằng nhiệt độ là một trong những yếu tố có ảnh hưởng rõ rệt nhất lên thành phần sinh hóa vi tảo. Vi tảo phản ứng với các điều kiện nhiệt độ môi trường khác nhau thông qua kích thích một số các hormone và enzyme tham gia vào sinh tổng hợp lipid. Nhìn chung, mỗi loài vi tảo có những sự thay đổi về thành phần sinh hóa riêng trước các điều kiện nhiệt độ môi trường. Mặc dù vậy, có một số xu hướng quan trọng được nhiều nhà khoa học đồng thuận. Trong đó, nhiệt độ môi trường cao là nguyên nhân chính dẫn đến thay đổi độ nhớt nguyên sinh chất và hiệu quả sử dụng carbon, nitrogen giảm. Kết quả làm tăng cường quá trình sinh tổng hợp và tích lũy một số nhóm axit béo, nhất là axit béo no. Ngược lại, ở vi tảo có xu hướng tăng cường tích lũy tổng hợp các axit béo không no mạch dài (LC-PUFAs) trong các điều kiện giảm nhiệt độ môi trường nuôi cấy [102, 103].

3.2.4. Thí nghiệm 5: Ảnh hưởng của độ mặn khác nhau lên sinh trưởng quần thể và thành phần sinh hóa một số chủng vi tảo (TN 5)

❖ Ảnh hưởng của độ mặn khác nhau lên sinh trưởng quần thể và thành phần sinh hóa vi tảo *Chaetoceros muelleri*

Kết quả nghiên cứu từ hình 3.17, hình 3.18, và bảng 3.18 đã chỉ ra rằng tảo silic biển *C. muelleri* có khả năng sinh trưởng tốt trong phổ độ mặn từ 20-30 ppt. Quần thể tảo thích nghi nhanh với các điều kiện độ mặn môi trường nuôi cấy, và đạt đến cực đại vào ngày thứ 4 ở hầu hết các nghiệm thức thí nghiệm. Pha logarithm kéo dài từ ngày thứ 0 đến ngày thứ 2 ở tất cả ba nghiệm thức thí nghiệm. Sự khác biệt không lớn về sinh trưởng quần thể ở cả hai lần thí nghiệm được tìm thấy ở kết quả nghiên cứu này. Mặc dù vậy ghi nhận lần thí nghiệm thứ 2 cho kết quả sinh trưởng quần thể cao hơn một chút so với lần thí nghiệm thứ nhất.

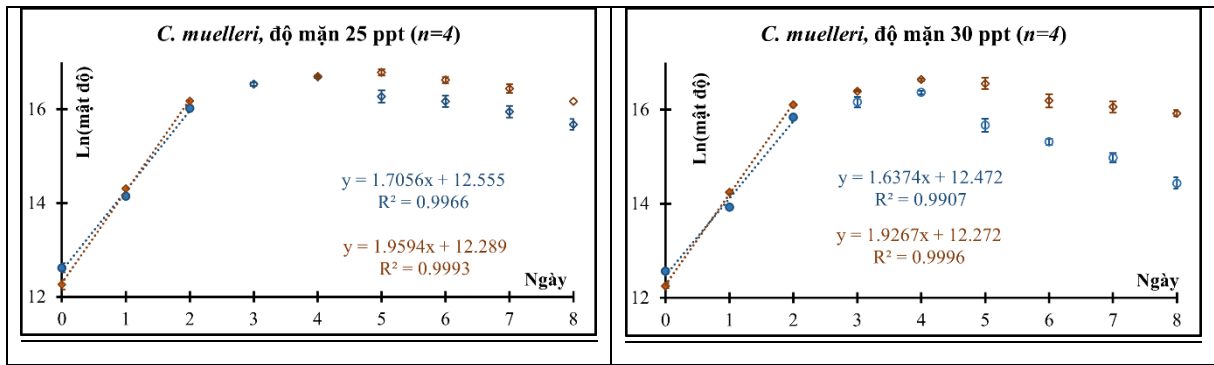


Hình 3.14. Sinh trưởng quần thể vi tảo *C. muelleri* trong điều kiện độ mặn 20 ppt

Ghi chú: đồ thị (a) biểu diễn tốc độ sinh trưởng quần thể ở pha logarithm trong 4 lần lặp ở NT-5.1 của lần thí nghiệm thứ nhất. Đồ thị (b) biểu diễn đường cong sinh trưởng quần thể, các dấu tròn và phương trình màu xanh lam biểu diễn kết quả nghiên cứu ở lần thí nghiệm thứ nhất, các dấu hình thoi và phương trình màu cam biểu diễn kết quả ở lần thí nghiệm thứ 2. Các dấu đậm, kín biểu thị kết quả sinh trưởng quần thể nằm trong pha logarithm. Các dấu hở biểu thị kết quả sinh trưởng quần thể nằm ngoài pha logarithm.

Kết quả nghiên cứu đồng thời cũng chỉ ra rằng độ mặn ảnh hưởng lớn đến sinh trưởng quần thể *C. muelleri* khi quan sát thông số mật độ cực đại. Thật vậy, kết quả tổng hợp từ bảng 3.18 đã cho thấy rằng MCDs thu được ở nghiệm thức thí nghiệm 25 ppt (NT-5.2) là cao nhất ở cả hai lần thí nghiệm với giá trị lần lượt đạt $17,70 \pm 0,33$ và $19,52 \pm 0,52 \times 10^6$ (tb/mL). Sự sai khác có ý nghĩa thống kê với mức ý nghĩa 0,05. Tuy nhiên, ở lần thí nghiệm thứ nhất, nghiệm thức NT-5.3 (độ mặn 30 ppt) có kết quả mật độ cực đại là thấp nhất đạt $12,82 \pm 0,50 \times 10^6$ (tb/mL). Trong khi đó, ở lần thí nghiệm thứ hai, MCDs của quần thể *C. muelleri* thấp nhất được ghi nhận ở NT-5.1 (độ mặn 20 ppt). Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với mức ý nghĩa 0,05.

Ở một chiều hướng khác, khi quan sát hai thông số sinh trưởng quần thể là EGRs và Max SGRs, kết quả nghiên cứu ở thí nghiệm 5 này lại chỉ ra rằng độ mặn dường như không có ảnh hưởng đến sinh trưởng quần thể *C. muelleri*. EGRs trong lần thí nghiệm thứ nhất và lần thứ 2 lần lượt dao động trong khoảng 1,64–1,71 và 1,79–1,88 (/ngày). Tương tự như vậy Max SGRs trong hai lần thí nghiệm này dao động trong khoảng (theo thứ tự) là 1,86-1,91 và 1,90-2,06 (/ngày). Kết quả phân tích ANOVA một yếu tố cho thấy không có sự khác biệt về mặt thống kê các giá trị này ở cả hai lần thí nghiệm (bảng 3.18).



Hình 3.15. Sinh trưởng quần thể vi tảo *C. muelleri* trong hai điều kiện độ mặn 25 ppt và 30 ppt

Ghi chú: các dấu tròn và phương trình màu xanh lam biểu diễn kết quả nghiên cứu ở lần thí nghiệm thứ nhất, các dấu hình thoi và phương trình màu cam biểu diễn kết quả ở lần thí nghiệm thứ hai. Các dấu đậm, kín biểu thị kết quả sinh trưởng quần thể nằm trong pha logarithm. Các dấu mờ, hở biểu thị kết quả sinh trưởng quần thể nằm ngoài pha logarithm

Tóm lại, kết quả nghiên cứu trong thí nghiệm này đã chỉ ra rằng độ mặn môi trường nuôi cấy ảnh hưởng rõ rệt lên sinh trưởng quần thể *C. muelleri* thông qua giá trị mật độ cực đại. Nghiệm thức thí nghiệm ở 25 ppt đưa đến kết quả MCDs cao hơn đáng kể so với hai nghiệm thức còn lại (20 và 30 ppt).

Bảng 3.18. Tổng hợp kết quả sinh trưởng quần thể vi tảo *C. muelleri* trong ba điều kiện độ mặn khác nhau (Min-Max, Mean±SD, n=4)

	20 ppt	25 ppt	30 ppt
Lần thí nghiệm thứ nhất			
MCDs ($\times 10^6$ tb/mL)	14,83-15,95	17,23-17,98	12,33-13,33
	15,38±0,48 ^b	17,70±0,33 ^c	12,82±0,50 ^a
EGRs (/ngày)	1,57-1,68	1,66-1,75	1,61-1,67
	1,64±0,05	1,71±0,04	1,64±0,03
Max SGRs (/ngày)	1,75-1,94	1,84-1,92	1,89-1,94
	1,86±0,09	1,88±0,04	1,91±0,02
Lần thí nghiệm thứ hai			
MCDs ($\times 10^6$ tb/mL)	15,65-16,45	18,75-19,88	16,48-17,45
	15,97±0,38 ^a	19,52±0,52 ^c	17,05±0,47 ^b
EGRs (/ngày)	1,79-1,92	1,88-2,00	1,88-1,96
	1,86±0,06	1,96±0,05	1,93±0,03
Max SGRs (/ngày)	1,80 -2,00	1,90-2,15	1,89-2,07
	1,90±0,08	2,06±0,11	1,99±0,08

Kết quả phân tích thành phần sinh hóa vi tảo *C. muelleri* trong các điều kiện khác nhau về độ mặn cho thấy nhiều điểm thú vị và một số xu hướng khá rõ ràng. Vi tảo *C. muelleri* có xu hướng tăng cường tổng hợp tích lũy lipid tổng số theo điều kiện độ mặn môi trường sống. Độ mặn càng cao, hàm lượng lipid tổng số nội bào càng lớn. Thật vậy, hàm lượng lipid tổng số trong vi tảo *C. muelleri* tăng từ 145,33 mg/g trong điều kiện độ mặn 20 ppt (NT-5.1), lên đến 156,30 mg/g ở độ mặn 25 ppt (NT-5.2) và 182,17 mg/g ở độ mặn 30 ppt.

Bảng 3.19. Thành phần sinh hóa vi tảo *C. muelleri* trong các nghiệm thức độ mặn

Thành phần	Độ mặn môi trường		
	20 ppt	25 ppt	30 ppt
<i>Axit béo (%TFA)</i>			
14:0	5,89	5,60	6,58
16:1 ω 7c	38,55	38,30	39,17
16:0	16,46	17,10	21,00
18:3 ω 6+18:5 ω 3	0,64	0,93	1,17
18:4 ω 3	0,09	0,85	0,80
18:2 ω 6	0,62	0,55	0,48
18:3 ω 3	2,14	1,64	1,30
18:1 ω 9c	0,00	0,00	0,00
18:1 ω 7c	1,31	1,18	1,04
18:0	1,30	1,15	1,07
20:4 ω 6 ARA	2,87	3,52	3,54
20:5 ω 3 EPA	13,44	13,23	10,80
22:6 ω 3 DHA	1,31	1,22	0,84
<i>Nhóm (% TFA)</i>			
Σ SFA	23,65	23,85	28,65
Σ MUFA	39,86	39,47	40,20
Σ PUFA	21,10	21,93	18,93
Σ LC-PUFA	15,38	15,38	12,80
<i>Lớp lipid (% lipid)</i>			
Wax ester	1,24	0,95	1,45
Triacylglycerol	4,76	10,24	29,15
Free fatty acid	9,71	2,99	6,76
Sterol	2,79	4,67	4,59
Polar lipid	81,52	81,15	58,05
Total lipid (mg/g)	145,33	156,30	182,17

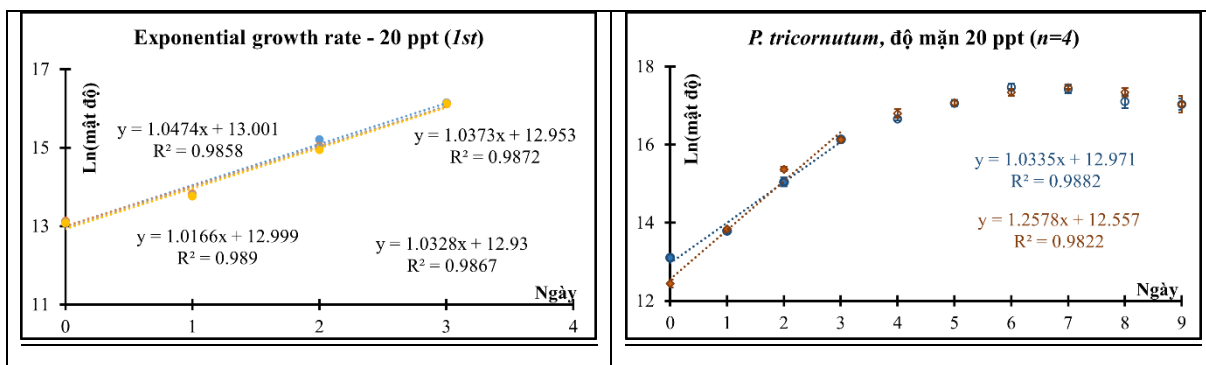
Xu hướng gia tăng tích lũy cùng với sự gia tăng độ mặn môi trường này cũng được tìm thấy ở triacylglycerol. Cụ thể, triacylglycerol tăng từ 4,75 ở 20 ppt (NT-5.1) lên đến 10,24 ở 25 ppt (NT-5.2) và 29,15 (%TL) ở 30 ppt (NT-5.3). Ngược lại, polar lipid có xu hướng giảm theo sự gia tăng của độ mặn môi trường sống. Hàm lượng lipid thu được trong các nghiệm thức NT-5.1, NT-5.2 và NT-5.3 theo thứ tự lần lượt là 81,52, 81,15, và 58,05 (%TL). Các lớp lipid còn lại, bao gồm wax ester, free fatty acid, và sterol khác nhau giữa các nghiệm thức thí nghiệm nhưng theo các qui luật không thật sự rõ ràng.

Thành phần các axit béo thu được trong ba nghiệm thức thí nghiệm tương đối phong phú và tương tự như ở các thí nghiệm trước. Kết quả nghiên cứu ở bảng 3.19 cũng chỉ ra rằng độ mặn có ảnh hưởng lớn tới thành phần các axit béo có trong vi tảo *C. muelleri*. Theo đó, xu hướng gia tăng tích lũy tổng hợp SFA, và MUFA khi độ mặn môi trường tăng lên. Ngược lại, vi tảo *C. muelleri* có xu hướng giảm tích lũy Lc-PUFAs với điều kiện gia tăng độ mặn môi trường. Điều này có thể thấy rất rõ khi quan sát hàm lượng hai loại axit béo quan trọng là EPA và DHA. Mặc dù vậy, ảnh hưởng của độ mặn lên tích lũy tổng hợp ARA lại không tuân theo qui luật này.

❖ Ảnh hưởng của độ mặn khác nhau lên sinh trưởng quần thể và thành phần sinh hóa vi tảo *Phaeodactylum tricornutum*

Nhìn chung, có sự khác biệt lớn về sinh trưởng quần thể *P. tricornutum* so với *C. muelleri* trong các điều kiện khác nhau về độ mặn môi trường. Chu kì sinh trưởng quần thể dường như dài hơn. Quần thể thích nghi và tăng sinh theo hàm số mũ trong khoảng thời gian 3 ngày từ ngày 0 đến ngày thứ 3 trong chu kì nuôi cấy. Mật độ cực đại ghi nhận được vào ngày thứ 6 và thứ 7 ở hầu hết các nghiệm thức thí nghiệm.

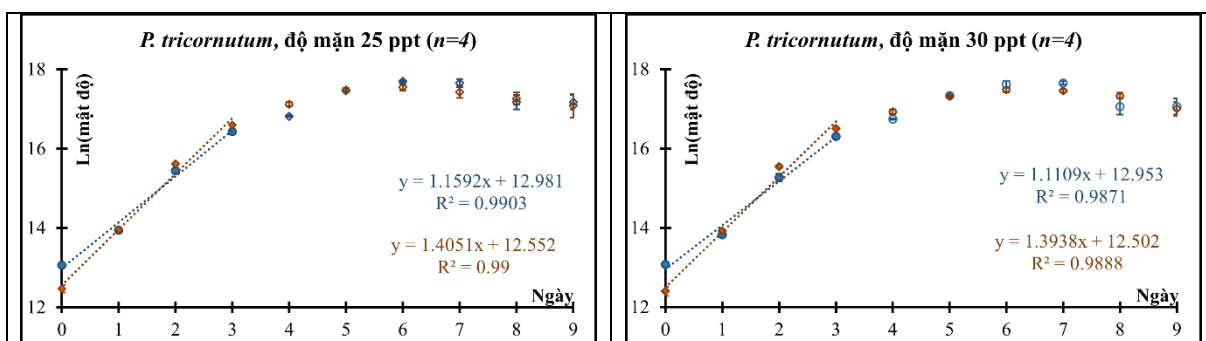
Quan sát kết quả mật độ cực đại (bảng 3.20) có thể thấy rằng độ mặn 25 ppt (NT-5.5) cho kết quả sinh trưởng quần thể là cao hơn một cách đáng kể so với hai nghiệm thức còn lại là NT-5.4 (độ mặn 20 ppt) và NT-5.6 (độ mặn 30 ppt). Cụ thể, ở lần thí nghiệm thứ nhất MCDs ở nghiệm thức NT-5.4 đạt $49,81 \pm 1,95 (\times 10^6 \text{ tb/mL})$ cao hơn đáng kể so với ở nghiệm thức NT-5.3 đạt $39,00 \pm 3,42 (\times 10^6 \text{ tb/mL})$ ($p < 0,05$). Ở lần thí nghiệm thứ 2, giá trị MCDS thu được ở NT-5.4 này cao hơn một cách có ý nghĩa thống kê so với hai nghiệm thức còn lại NT-5.3 và NT-5.6.



Hình 3.16. Sinh trưởng quần thể vi tảo *P. tricornutum* trong điều kiện độ mặn 20 ppt

Ghi chú: đồ thị (a) biểu diễn tốc độ sinh trưởng quần thể ở pha logarithm trong 4 lần lặp ở NT-5.4 của lần thí nghiệm thứ nhất. Đồ thị (b) biểu diễn đường cong sinh trưởng quần thể, các dấu tròn và phương trình màu xanh lam biểu diễn kết quả nghiên cứu ở lần thí nghiệm thứ nhất, các dấu hình thoi và phương trình màu cam biểu diễn kết quả ở lần thí nghiệm thứ hai. Các dấu đậm, kín biểu thị kết quả sinh trưởng quần thể nằm trong pha logarithm. Các dấu hở biểu thị kết quả sinh trưởng quần thể nằm ngoài pha logarithm.

Kết quả nghiên cứu đồng thời cũng chỉ ra rằng độ mặn 25 và 30 ppt cho kết quả sinh trưởng quần thể tốt hơn điều kiện độ mặn 20 ppt khi quan sát hai thông số còn lại là EGRs và Max SGRs. Cụ thể, trong lần thí nghiệm thứ nhất, EGRs cao nhất thu được ở hai nghiệm thức NT-5.5 và NT-5.6, với các giá trị lần lượt là $1,16 \pm 0,03$ và $1,11 \pm 0,02$ (/ngày). Trong khi đó, EGRs ghi nhận thấp hơn một cách có ý nghĩa thống kê ở nghiệm thức NT-5.4 đạt $1,03 \pm 0,01$ (/ngày).



Hình 3.17 Sinh trưởng quần thể vi tảo *P. tricornutum* trong hai điều kiện độ mặn 25 ppt và 30 ppt

Ghi chú: các dấu tròn và phương trình màu xanh lam biểu diễn kết quả nghiên cứu ở lần thí nghiệm thứ nhất, các dấu hình thoi và phương trình màu cam biểu diễn kết quả ở lần thí nghiệm thứ hai. Các dấu đậm, kín biểu thị kết quả sinh trưởng quần thể nằm trong pha logarithm. Các dấu mờ, hở biểu thị kết quả sinh trưởng quần thể nằm ngoài pha logarithm

Hoàn toàn tương tự như vậy ở lần thí nghiệm thứ hai, kết quả EGRs trong ba nghiệm thức NT-5.4, NT-5.5 và NT-5.6 lần lượt là $1,26 \pm 0,03$, $1,41 \pm 0,03$ và $1,39 \pm 0,03$ (/ngày). Xu hướng tương tự cũng được tìm thấy khi quan sát thông số Max SGRs ở cả hai lần thí nghiệm (bảng 3.20). Theo đó, độ mặn môi 25 và 30 ppt cho kết quả sinh trưởng thể tương đồng và cao hơn so với điều kiện 20 ppt.

Bảng 3.20. Tổng hợp kết quả sinh trưởng quần thể vi tảo *P. tricornutum* trong ba điều kiện độ mặn khác nhau (Min-Max, Mean $\pm$ SD, n=4)

	20 ppt	25 ppt	30 ppt
Lần thí nghiệm thứ nhất			
MCDs ($\times 10^6$ tb/mL)	34,50-42,50	48,25-52,50	46,75-48,75
	39,00 $\pm$ 3,42 ^a	49,81 $\pm$ 1,95 ^b	47,75 $\pm$ 0,91 ^b
EGRs (/ngày)	1,02-1,05	1,12-1,18	1,10-1,13
	1,03 $\pm$ 0,01 ^a	1,16 $\pm$ 0,03 ^c	1,11 $\pm$ 0,02 ^b
Max SGRs (/ngày)	1,18-1,39	1,40-1,57	1,34-1,55
	1,25 $\pm$ 0,10 ^a	1,50 $\pm$ 0,09 ^b	1,44 $\pm$ 0,09 ^b
Lần thí nghiệm thứ hai			
MCDs ($\times 10^6$ tb/mL)	37,25-40,25	41,25-45,50	38,75-41,25
	38,63 $\pm$ 1,25 ^a	43,44 $\pm$ 1,75 ^b	40,25 $\pm$ 1,22 ^a
EGRs (/ngày)	1,23-1,31	1,37-1,44	1,35-1,42
	1,26 $\pm$ 0,03 ^a	1,41 $\pm$ 0,03 ^b	1,39 $\pm$ 0,03 ^b
Max SGRs (/ngày)	1,48-1,58	1,63-1,69	1,61-1,67
	1,53 $\pm$ 0,05 ^a	1,66 $\pm$ 0,03 ^b	1,64 $\pm$ 0,03 ^b

Với kết quả nghiên cứu đã trình bày ở trên, nhóm nghiên cứu đã rút ra kết luận rằng độ mặn môi trường quyết định đến sinh trưởng quần thể *P. tricornutum*. Khoảng độ mặn tối ưu cho sinh trưởng quần thể ở khoảng 25-30 ppt, tốt nhất ở 25 ppt.

Không giống với các nghiệm thức thí nghiệm ở vi tảo *C. muelleri*, thành phần sinh hóa của *P. tricornutum* thay đổi khác nhau trong các điều kiện khác nhau về độ mặn. Đầu tiên là hàm lượng lipid tổng số. Lipid tổng số trong ba nghiệm thức thí nghiệm dao động trong khoảng từ 129,43-139,02 mg/g. Kết quả phân tích ở bảng 3.21 đã chỉ ra rằng, hàm lượng lipid tổng số ở vi tảo này giảm theo nhịp tăng độ mặn môi trường sống. Xu hướng này được tìm thấy trong một số lớp lipid bao gồm wax ester, triacylglycerol và free fatty acid. Ngược lại, hàm lượng polar lipid ở *P. tricornutum* có xu hướng tăng theo chiều tăng độ mặn môi trường sống. Sự khác biệt không lớn về hàm lượng sterol giữa ba nghiệm thức thí nghiệm.

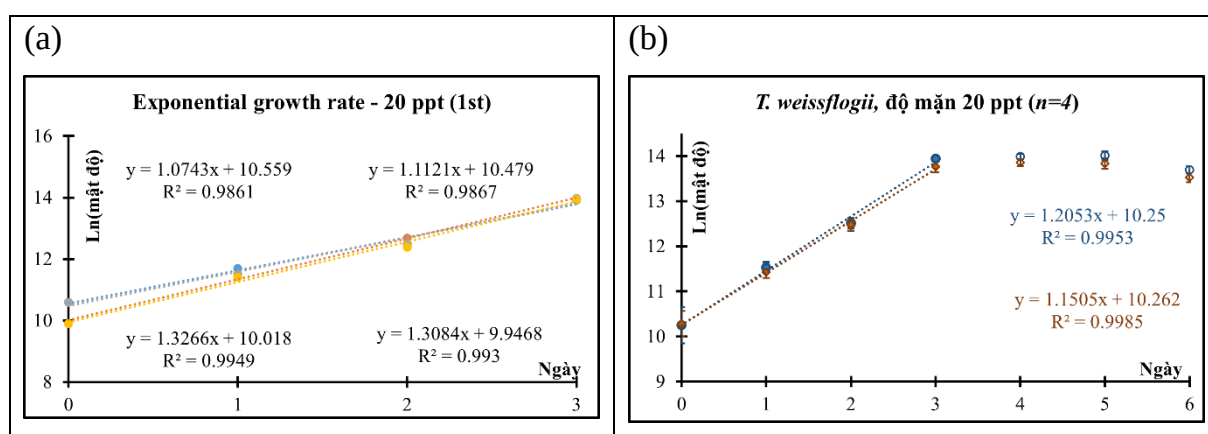
Kết quả phân tích ở bảng 3.21 cũng chỉ ra sự phong phú về thành phần các axit béo có trong vi tảo *P. tricornutum* ở thí nghiệm này. Một điểm rất dễ nhận thấy rằng thành phần các axit béo của *P. tricornutum* trong các nghiệm thức là khá tương đương đồng với nhau.

Bảng 3.21. Thành phần sinh hóa vi tảo *P. tricornutum* trong các điều kiện độ mặn

Thành phần	Độ mặn môi trường		
	20 ppt	25 ppt	30 ppt
Axit béo (%TFA)			
14:0	5,11	4,63	4,70
16:1 ω 7c	20,73	19,89	19,61
16:0	8,43	8,12	8,39
18:3 ω 6+18:5 ω 3	0,52	0,47	0,44
18:4 ω 3	0,64	0,56	0,58
18:2 ω 6	2,92	2,97	3,10
18:3 ω 3	1,42	1,54	1,57
18:1 ω 9c	0,00	0,00	0,00
18:1 ω 7c	1,11	0,97	0,96
18:0	0,21	0,20	0,22
20:4 ω 6 ARA	0,98	0,88	0,83
20:5 ω 3 EPA	29,94	30,39	30,30
22:6 ω 3 DHA	1,29	1,28	1,28
Nhóm (% TFA)			
Σ SFA	13,75	12,95	13,30
Σ MUFA	21,84	20,87	20,57
Σ PUFA	37,71	38,09	38,10
Σ LC-PUFA	31,75	32,14	32,02
Lớp lipid (% lipid)			
Wax ester	0,81	0,72	0,58
Triacylglycerol	1,70	1,47	0,02
Free fatty acid	5,35	4,12	2,85
Sterol	0,76	0,82	0,69
Polar lipid	91,37	92,87	95,87
Total lipid (mg/g)	139,02	131,83	129,43

❖ Ảnh hưởng của độ mặn khác nhau lên sinh trưởng và thành phần sinh hóa vi tảo *Thalassiosira weissflogii*

Về cơ bản, ảnh hưởng của độ mặn khác nhau lên sinh trưởng quần thể *T. weissflogii* trong nghiên cứu này có nhiều điểm giống với kết quả ở quần thể *C. muelleri*. Thật vậy, ở thông số mật độ cực đại, có sự khác biệt về mật thống kê giữa ba nghiệm thức thí nghiệm ở cả hai lần thí nghiệm. Theo đó, MCDs cao nhất thu được ở nghiệm thức thí nghiệm 25 ppt, đạt $1,45 \pm 0,06$ (lần thí nghiệm thứ nhất) và $1,35 \pm 0,11 \times 10^6$ (tb/mL) (lần thí nghiệm thứ hai). MCDs của hai nghiệm thức 20 ppt và 30 ppt trong lần thí nghiệm thứ nhất đạt $1,25 \pm 0,07$ và $1,23 \pm 0,03 \times 10^6$ (tb/mL). Tương tự như vậy, hai giá trị này ở lần thí nghiệm thứ hai là $1,06 \pm 0,09$ và $1,11 \pm 0,12 \times 10^6$ (tb/mL).

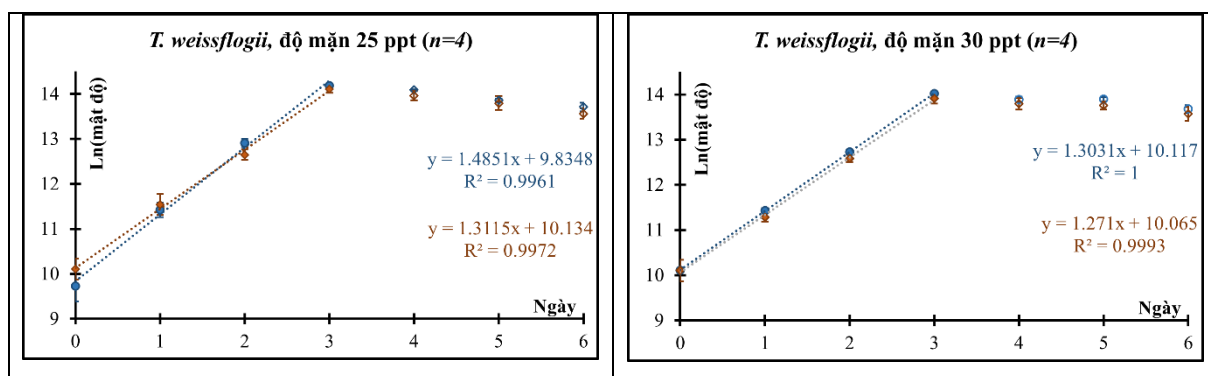


Hình 3.18. Sinh trưởng quần thể vi tảo *T. weissflogii* trong điều kiện độ mặn 20 ppt

Ghi chú: đồ thị (a) biểu diễn tốc độ sinh trưởng quần thể ở pha logarithm trong 4 lần lặp ở NT-5.7 của lần thí nghiệm thứ nhất. Đồ thị (b) biểu diễn đường cong sinh trưởng quần thể, các dấu tròn và phương trình màu xanh lam biểu diễn kết quả nghiên cứu ở lần thí nghiệm thứ nhất, các dấu hình thoi và phương trình màu cam biểu diễn kết quả ở lần thí nghiệm thứ hai. Các dấu đậm, kín biểu thị kết quả sinh trưởng quần thể nằm trong pha logarithm. Các dấu hở biểu thị kết quả sinh trưởng quần thể nằm ngoài pha logarithm.

Ở chiều ngược lại, không có sự sai khác về kết quả tốc độ sinh trưởng theo ngày cực đại giữa các nghiệm thức ở cả hai lần thí nghiệm ($p > 0,05$). Max SGRs dao động trong khoảng 1,46-1,60 (/ngày) trong lần thí nghiệm thứ nhất và khoảng 1,32-1,56 (/ngày) trong lần thí nghiệm thứ hai. Trong khi đó, kết quả thông số tốc độ sinh trưởng quần thể tại pha logarithm biểu thị sự không đồng nhất giữa hai lần thí nghiệm. Cụ thể, kết quả nghiên cứu ở lần thí nghiệm 1 chỉ ra độ mặn có ảnh hưởng rõ rệt lên sinh trưởng quần thể *T. weissflogii* thông qua giá trị EGRs ($p < 0,05$). EGRs cao nhất thu được ở

nghiệm thức 25 ppt (NT-5.8) đạt $1,43 \pm 0,02$ (/ngày). NT-5.9 (độ mặn 30 ppt) cho kết quả EGRs là thấp nhất $1,01 \pm 0,05$ (/ngày). EGRs đạt $1,21 \pm 0,13$ (/ngày) ở nghiệm thức thí nghiệm 20 ppt (NT-5.7). Tuy nhiên, ở lần thí nghiệm thứ 2, không tìm thấy sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức thí nghiệm ở thông số EGRs này. EGRs dao động trong khoảng 1,15-1,31 (/ngày) trong cả ba nghiệm thức.



Hình 3.19. Sinh trưởng quần thể vi tảo *T. weissflogii* trong hai điều kiện độ mặn 25 ppt và 30 ppt

Ghi chú: các dấu tròn và phương trình màu xanh lam biểu diễn kết quả nghiên cứu ở lần thí nghiệm thứ nhất, các dấu hình thoi và phương trình màu cam biểu diễn kết quả ở lần thí nghiệm thứ hai.

Bảng 3.22. Tổng hợp kết quả sinh trưởng quần thể vi tảo *T. weissflogii* trong ba điều kiện độ mặn khác nhau (Min-Max, Mean $\pm$ SD)

	20 ppt	25 ppt	30 ppt
Lần thí nghiệm thứ nhất			
MCDs ($\times 10^6$ tb/mL)	1,18-1,34	1,39-1,54	1,18-1,25
	$1,25 \pm 0,07^a$	$1,45 \pm 0,06^b$	$1,23 \pm 0,03^a$
EGRs (/ngày)	1,07-1,33	1,42-1,46	0,97-1,07
	$1,21 \pm 0,13^b$	$1,43 \pm 0,02^c$	$1,01 \pm 0,05^a$
Max SGRs (/ngày)	1,45-1,61	1,50-1,70	1,35-1,61
	$1,52 \pm 0,07$	$1,60 \pm 0,08$	$1,46 \pm 0,12$
Lần thí nghiệm thứ hai			
MCDs ($\times 10^6$ tb/mL)	0,96-1,16	1,24-1,50	0,98-1,24
	$1,06 \pm 0,09^a$	$1,35 \pm 0,11^b$	$1,11 \pm 0,12^a$
EGRs (/ngày)	1,00-1,29	1,26-1,39	1,19-1,35
	$1,15 \pm 0,12$	$1,31 \pm 0,06$	$1,27 \pm 0,07$
Max SGRs (/ngày)	1,27-1,39	1,39-1,79	1,29-1,50
	$1,32 \pm 0,05$	$1,56 \pm 0,18$	$1,41 \pm 0,11$

Trong kết quả phân tích thành phần sinh hóa *T. weissflogii* này, vì lỗi kỹ thuật trong quá trình phân tích mà thành phần các lớp lipid không được xác định một cách chính xác. Do đó, để đảm bảo tính chính xác kết quả nghiên cứu, hàm lượng các lớp lipid này được loại ra khỏi kết quả nghiên cứu.

Bảng 3.23. Thành phần sinh hóa *T. weissflogii* trong 3 nghiệm thức độ mặn

Thành phần	Độ mặn môi trường		
	20 ppt	25 ppt	30 ppt
Axit béo (%TFA)			
14:0	9,22	9,40	10,40
16:1 ω 7c	22,04	21,01	23,65
16:0	17,42	17,47	14,99
18:3 ω 6+18:5 ω 3	0,00	0,00	0,08
18:4 ω 3	0,37	0,37	0,35
18:2 ω 6	0,83	0,81	0,86
18:3 ω 3	0,22	0,24	0,36
18:1 ω 9c	0,00	0,00	0,00
18:1 ω 7c	0,00	0,00	0,00
18:0	0,25	0,36	0,16
20:4 ω 6 ARA	0,11	0,09	0,12
20:5 ω 3 EPA	25,03	24,74	25,93
22:6 ω 3 DHA	5,88	5,29	6,00
Nhóm (% TFA)			
Σ SFA	33,80	36,38	31,74
Σ MUFA	27,77	26,46	29,49
Σ PUFA	38,43	37,17	38,78
Σ LC-PUFA	32,26	31,36	33,43
Lớp lipid (% lipid)			
Wax ester	-	-	-
Triacylglycerol	-	-	-
Free fatty acid	-	-	-
Sterol	-	-	-
Polar lipid	-	-	-
Total lipid (mg/g)	46,7	59,8	53,0

Nhìn chung, thành phần sinh hóa của vi tảo *T. weissflogii* thay đổi không lớn trong các điều kiện độ mặn môi trường. Lipid tổng số dao động trong khoảng 46,7-59,8 mg/g ở cả ba nghiệm thức. Các axit béo không no đa nối đôi PUFAs chiếm ưu

thể trong thành phần các axit béo của vi tảo này, dao động trong khoảng từ 37,17-38,78%TFA. Cũng giống như kết quả phân tích ở nhiều thí nghiệm phía trên, vi tảo *T. weissflogii* có hàm lượng EPA và DHA rất cao. Những tác động của độ mặn lên thành phần sinh hóa vi tảo silic biển *T. weissflogii* không được thể hiện một cách rõ ràng trong nghiên cứu này.

Kết quả nghiên cứu ở thí nghiệm 5 đã chỉ ra rằng, ảnh hưởng của độ mặn môi trường lên sinh trưởng quần thể là rất khác nhau phụ thuộc vào từng chủng loài cụ thể. Ở vi tảo *C. muelleri*, ảnh hưởng của độ mặn ảnh hưởng lên sinh trưởng quần thể rõ nhất ở thông số mật độ cực đại. Độ mặn môi trường ở 25 ppt dường như là phù hợp trong nuôi thu sinh khối loài vi tảo này. Độ mặn tăng làm gia tăng quá trình tổng hợp và tích lũy lipid tổng số, triacylglycerol, SFAs, MUFAs. Ngược lại, độ mặn tăng làm giảm hàm lượng Lc-PUFAs, EPA, DHA, và polar lipid. Trong khi đó, độ mặn ảnh hưởng rõ rệt lên sinh trưởng quần thể vi tảo *P. tricornutum*, khoảng độ mặn 25-30 ppt cho kết quả sinh trưởng quần thể tốt hơn ở 20 ppt.

Việc tăng độ mặn môi trường dường như làm giảm hàm lượng lipid tổng số, wax ester, triacylglycerol và free fatty acid. Các thành phần sinh hóa khác thay đổi không đáng kể. Cuối cùng, sinh trưởng quần thể tảo *T. weissflogii* biểu hiện tốt nhất ở điều kiện độ mặn 25 ppt. Sự khác biệt không lớn về thành phần sinh hóa ở loài vi tảo này giữa các nghiệm thức khác nhau về độ mặn.

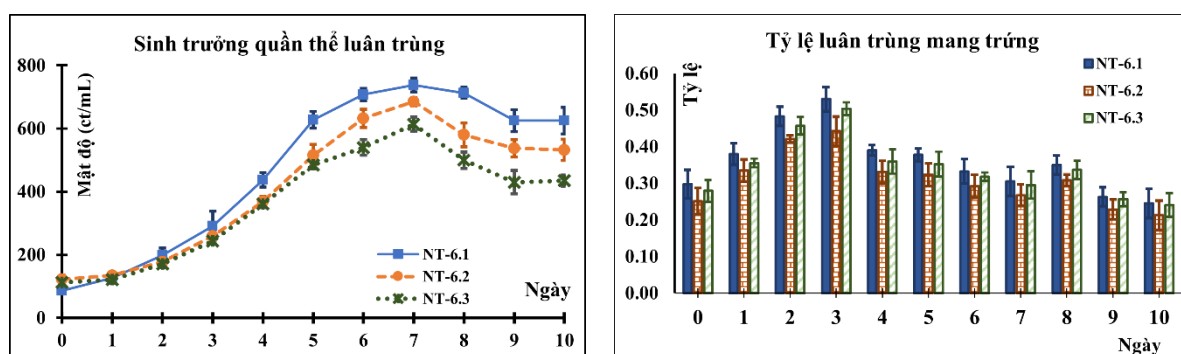
Về cơ bản, độ mặn có ảnh hưởng lớn đến sinh trưởng quần thể cũng như các quá trình sinh tổng hợp tích ở vi tảo. Cơ chế của những ảnh hưởng này phần lớn nằm ở những tác động của độ mặn làm thay đổi áp suất thẩm thấu, kết quả là ảnh hưởng đến các quá trình quang hợp, hô hấp và tích lũy glucose và các chất béo. Kết quả này có nhiều điểm tương đồng với kết quả của một số nghiên cứu đã được thực hiện trước đây. Đơn cử như kết quả nghiên cứu của Minggat Elizerbeth và cộng tác viên (2021) trên loài tảo khuê *C. muelleri*. Kết quả nghiên cứu của nhóm tác giả đã chỉ ra rằng độ mặn môi trường nước ở 25 ppt là tốt nhất cho sinh trưởng quần thể vi tảo này [84]. Tương tự như vậy, một nghiên cứu khác được thực hiện trên loài vi tảo *T. weissflogii* bởi tác giả Norma Garcia và ctv (2012). Theo đó, sinh trưởng quần thể và thành phần sinh hóa tế bào *T. weissflogii* là tốt nhất trong các điều kiện độ mặn 25 ppt [53].

3.3. Nghiên cứu ứng dụng một số chủng vi tảo trong nuôi cấy luân trùng ứng dụng trong sản xuất giống tôm

Nội dung nghiên cứu 3 được triển khai thực hiện nhằm mục tiêu tìm hiểu vai trò làm nguồn thức ăn gián tiếp của vi tảo trong sản xuất giống giống tôm he ở Việt Nam thông qua luân trùng *Brachionus plicatilis*. Trong nội dung nghiên cứu này, hai chủng vi tảo được đánh giá là mới trong nuôi thu sinh khối luân trùng ở Việt Nam là *Tisochrysis lutea* và *Nannochloropsis oceanica* được sử dụng làm vật liệu nghiên cứu. Sinh khối luân trùng sau đó được nghiên cứu ứng dụng làm nguồn thức ăn sống bổ sung vào quá trình sản xuất giống tôm he tại cơ sở.

3.3.1. Sinh trưởng quần thể *Brachionus plicatilis* trong các nghiệm thức thức ăn vi tảo khác nhau

Kết quả nghiên cứu ở hình 3.20a và bảng 2.24 đã chỉ ra rằng, quần thể luân trùng sinh trưởng tốt trong các điều kiện khác nhau về vi tảo. Sinh khối quần thể tăng chậm trong khoảng 2 ngày đầu và tăng nhanh vào ngày thứ 3 trong chu kỳ nuôi cấy. Sinh khối quần thể luân trùng đạt cực đại vào ngày thứ 7 ở hầu hết các nghiệm thức và có dấu hiệu giảm vào ngày thứ 8 trong chu kỳ nuôi cấy. Sự khác nhau không lớn giữa 3 nghiệm thức thí nghiệm trong khoảng ngày 0 đến ngày của chu kỳ nuôi cấy. Ngược lại, từ ngày thứ 2 trở đi, sự khác biệt giữa các nghiệm thức thí nghiệm được thể hiện một cách rõ ràng hơn.



Hình 3.20. Sinh trưởng quần thể *B. plicatilis* trong 3 nghiệm thức

Nhìn chung, nguồn thức ăn vi tảo *N. oceanica* là phù hợp nhất cho sinh trưởng quần thể luân trùng ở nghiên cứu này. Thật vậy, mật độ cực đại (MCDs) thu được ở nghiệm thức sử dụng thức ăn *N. oceanica* (NT-6.1) là cao nhất khoảng 738 ct/mL. Kế đến là nghiệm thức sử dụng kết hợp hai loài vi tảo (NT-6.3) đạt 685 ct/mL. Cuối cùng là nghiệm thức sử dụng thức ăn vi tảo *T. lutea* (NT-6.2) đạt 614 ct/mL. Sự khác biệt là có ý nghĩa về mặt thống kê ($p < 0,05$). Tương tự như vậy, quan sát kết quả tốc độ sinh trưởng theo ngày cực đại thu được ở NT-6.1 đạt cao nhất, 0,53 (/ngày), cao hơn có ý nghĩa thống kê nghiệm thức sử dụng thức ăn *T. lutea* NT-6.2 (đạt 0,37).

Tỷ lệ ấu trùng mang trứng có liên hệ chặt chẽ với khả năng tăng sinh khối của luân trùng. Kết quả nghiên cứu ở hình 2.20b đã thể hiện rõ luận điểm này. Tỷ lệ luân trùng mang trứng ở cả 3 nghiệm thức trong hai ngày đầu tiên là không cao, dao động trong khoảng 0,28-0,38 (số liệu không thể hiện). Tỷ lệ này tăng mạnh mẽ từ ngày nuôi thứ 2 đến ngày thứ 4 trong chu kỳ nuôi cấy, khoảng 0,42-0,53. Sự tăng mạnh tỷ lệ ấu trùng mang trứng này liên quan chặt chẽ với sinh khối quần thể trong ngày kế tiếp. Từ ngày thứ 6 trở đi, tỷ lệ luân trùng mang trứng giảm đi một cách đáng kể. So sánh giữa 3 nghiệm thức thí nghiệm, có thể thấy rằng nghiệm thức sử dụng thức ăn vi tảo *N. oceanica* luôn có tỷ lệ luân trùng mang trứng là cao nhất, kể đến là nghiệm thức sử dụng kết hợp hai loài vi tảo và cuối cùng là nghiệm thức sử dụng thức ăn vi tảo *T. lutea* (phụ lục 3.6.3).

Nghiên cứu ứng dụng các chủng vi tảo trong nuôi cấy luân trùng *B. plicatilis* là rất phong phú trên thế giới cũng như ở Việt Nam. Kết quả của nghiên cứu này có nhiều điểm tương đồng với nhiều công trình công bố trước đây. Đơn cử, nghiên cứu của Jean Hee Bae và Bae Jean Hee (2011) tiến hành nuôi cấy luân trùng *B. plicatilis* bằng 6 chủng vi tảo khác nhau (5 chủng thuộc *Nannochloropsis* spp. và 1 chủng *Chlorella vulgaris*). Kết quả nghiên cứu chỉ ra rằng sinh trưởng quần thể luân trùng cao nhất thu được ở các nghiệm thức sử dụng *Nannochloropsis oceanica* và *Nannochloropsis* sp. KMMCC-33). Mật độ cực đại của quần thể luân trùng thu được trong hai nghiệm thức sử dụng hai chủng vi tảo này theo thứ tự lần lượt đạt 272 và 301 ct/mL, cao hơn một cách có ý nghĩa thống kê so với các nghiệm thức còn lại. Tương tự như vậy, tốc độ sinh trưởng theo ngày (trung bình của 5 ngày nuôi cấy) ở hai nghiệm thức thí nghiệm này cũng cao hơn đáng kể so với các nghiệm thức còn lại, lần lượt đạt 0,66 và 0,68 (/ngày) [16].

Bảng 3.24. Kết quả sinh trưởng quần thể luân trùng trong các nghiệm thức thức ăn vi tảo (Min-Max, Mean $\pm$ SD, n=4)

Thông số	Nghiệm thức thí nghiệm		
	NT-6.1	NT-6.2	NT-6.3
MCDs (ct/mL)	700-760	580-630	670-700
	738 $\pm$ 18 ^c	614 $\pm$ 23 ^a	685 $\pm$ 13 ^b
Max SGRs (/ngày)	0,47-0,59	0,38-0,57	0,37-0,40
	0,53 $\pm$ 0,05 ^b	0,44 $\pm$ 0,08 ^a	0,38 $\pm$ 0,01 ^{ab}

Các chữ cái khác nhau thể hiện sự sai khác có ý nghĩa giữa các giá trị trong cùng một hàng

Một số công trình nghiên cứu khác trên thế giới cũng đồng thời chỉ ra rằng nguồn thức ăn vi tảo *Nannochloropsis* là phù hợp nhất trong nuôi thu sinh khối và giá trị dinh dưỡng luân trùng [22, 37, 129]. Ở trong nước, luận án tiến sĩ của Cái Ngọc Bảo Anh (2010) tiến hành nghiên cứu nuôi cấy luân trùng bằng một số loài vi tảo *N. oculata*, *Isochrysis galbana*, và *Tetraselmis chuii*. Kết quả nghiên cứu chỉ ra rằng vi tảo *Nannochloropsis* là rất phù hợp cho nuôi cấy luân trùng [1].

3.3.2. Nghiên cứu sử dụng thức ăn bổ sung luân trùng trong ương nuôi ấu trùng tôm thẻ chân trắng

❖ Kết quả tỷ lệ sống của ấu trùng qua từng giai đoạn

Về mặt thực hành thu thập dữ liệu, xác định tỷ lệ sống của ấu trùng trong từng giai đoạn phụ gặp nhiều khó khăn. Những đặc trưng rất riêng trong kỹ thuật ương nuôi cũng như tập tính hướng quang và phân bố theo chiều sâu cột nước của ấu trùng tôm he, và điều kiện sục khí nhẹ trong những giai đoạn đầu là nguyên nhân chính dẫn đến những khó khăn trong công tác thu mẫu này. Điểm thách thức là trên cả thế giới và ở Việt Nam, không có nhiều tài liệu hướng dẫn về vấn đề này.

Kết quả từ hình 2.21 đã chỉ ra rằng có sự sai khác lớn về tỷ lệ sống ở các giai đoạn giữa các nghiệm thức. Nhìn chung, tỷ lệ sống ấu trùng tôm thẻ chân trắng giảm theo chu kỳ ương nuôi. Những giai đoạn đầu (Z_1 và Z_2), sự khác nhau không lớn về tỷ lệ sống giữa các nghiệm thức. Kết quả tỷ lệ sống trong những giai đoạn đầu này biểu hiện tính logic trong bố trí thí nghiệm. Trong đó, việc bổ sung luân trùng được thực hiện sau khi ấu trùng đã chuyển sang hết giai đoạn Z_1 . Sự khác biệt được tìm thấy và tăng lên ở những giai đoạn phát triển về sau và thời điểm kết thúc thí nghiệm (PL_{12}).

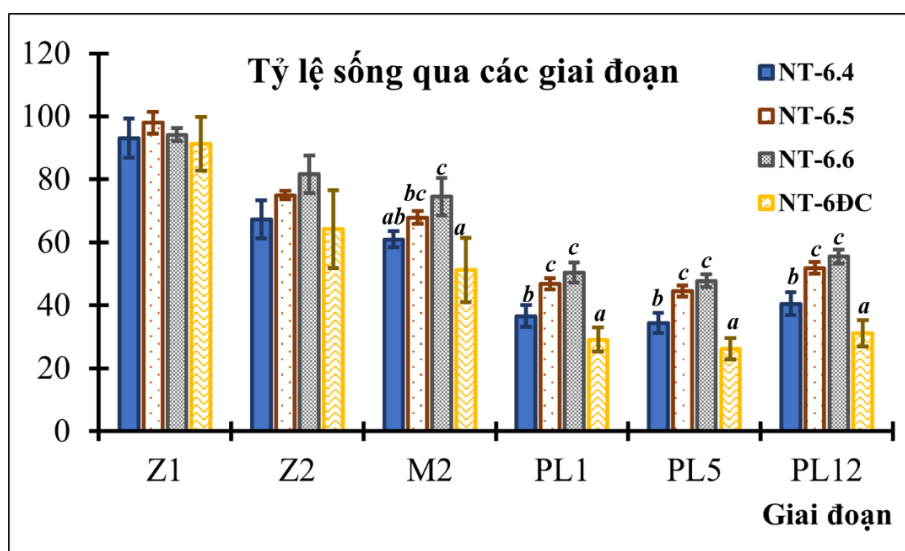
Cụ thể, tỷ lệ sống thu được ở giai đoạn Z_1 tương đối đồng nhất, dao động trong khoảng 91-98% ở tất cả các nghiệm thức thí nghiệm. Sang giai đoạn Z_2 , có sự khác biệt nhau về tỷ lệ sống đã dần được biểu hiện, trong đó nghiệm thức sử dụng thức ăn bổ sung luân trùng ở 75 ct/at/ngày (NT-6.5) và 100 ct/at/ngày (NT-6.6) có tỷ lệ sống cao hơn, lần lượt đạt $75,2 \pm 1,32$ và $81,6 \pm 5,9\%$. Kế đến là nghiệm thức sử dụng NT-6.4 (khẩu phần ăn luân trùng ở 50 ct/at/ngày) đạt khoảng $67,32 \pm 6,01\%$. Nghiệm thức đối chứng cho kết quả tỷ lệ sống đạt khoảng $64,2 \pm 12,27\%$. Sự sai khác giữa các nghiệm thức thí nghiệm không có ý nghĩa về mặt thống kê ($p < 0,05$) (Hình 3.21 và phụ lục 3.6.3).

Sự khác biệt về tỷ lệ sống giữa các nghiệm thức thí nghiệm được biểu hiện rõ ràng hơn khi ấu trùng chuyển qua các giai đoạn tiếp theo (M_2 , PL_1 và PL_{12}). Ở giai

đoạn M₂ tỷ lệ sống của ấu trùng tôm thu được cao nhất trong hai nghiệm thức NT-6.5 (khẩu phần 75 ct/at/ngày) và NT-6.6 (khẩu phần 100 ct/at/ngày). Cao hơn một cách đáng kể so với nghiệm thức đối chứng không bổ sung luân trùng vào khẩu phần ăn ấu trùng tôm ($p < 0,05$). Một xu hướng kết quả thể hiện rất rõ ràng khi quan sát kết quả tỷ lệ sống của ấu trùng tôm thẻ chân trắng trong các giai đoạn phát triển tiếp theo PL₁, PL₅ và PL₁₂. Theo đó, cả nghiệm thức NT-6.5 và NT-6.6 cho kết quả tỷ lệ sống ấu trùng tôm là cao nhất, kế đến là NT-6.4 (khẩu phần 50 ct/at/ngày) và thấp nhất là tỷ lệ sống ở nghiệm thức đối chứng.

Một điểm bất thường được phát hiện là tỷ lệ sống của ấu trùng trong giai đoạn PL₁₂ cao hơn trong giai đoạn PL₁ ở tất cả các nghiệm thức thí nghiệm. Nguyên nhân rất được tin tưởng là những sai số hệ thống xuất phát từ những trở ngại trong công tác thu thập dữ liệu đã trình bày ở trên. Quan điểm chung của nhóm nghiên cứu là đánh giá tỷ lệ sống của ấu trùng tập trung nhiều vào tỷ lệ sống ở thời điểm kết thúc thí nghiệm (PL₁₂), tại đó toàn bộ lượng ấu trùng được thu hoạch phục vụ công tác đánh giá.

Kết quả từ hình 3.21 và phụ lục 3.6.3 cho thấy việc bổ sung luân trùng trong khẩu phần ăn cải thiện một cách rõ rệt tỷ lệ sống của ấu trùng tôm. Cụ thể, hai nghiệm thức NT-6.5 (khẩu phần 75 ct/at/ngày) và NT-6.6 (khẩu phần 100 ct/at/ngày) cho kết quả tỷ lệ sống ấu trùng PL₁₂ là tương đồng nhau lần lượt đạt 51,86 và 55,46%. Các giá trị này cao hơn một cách có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) so với tỷ lệ sống thu được ở hai nghiệm thức còn lại NT-6.3 và NT-6ĐC. Kết quả này cho phép rút ra kết luận rằng khẩu phần thức ăn bổ sung 75-100 ct/at/ngày làm cải thiện rõ rệt kết quả tỷ lệ sống quá trình ương nuôi tôm thẻ chân trắng.



Hình 3.21. Tỷ lệ sống ấu trùng ở các nghiệm thức qua từng giai đoạn

❖ Chiều dài và CV ấu trùng

Kết quả về chiều dài ấu trùng trong các giai đoạn phát triển và CV (ở giai đoạn PL₁₂) được thể hiện chi tiết trong bảng 3.25. Tương tự như ở thông số tỷ lệ sống, chiều dài ấu trùng tôm thẻ chân trắng ở giai đoạn Z₂ tương đối đồng nhất, khoảng 1,7-1,8 mm ở tất cả các nghiệm thức. Kết quả này cũng phản ánh một cách logic trong bố trí thí nghiệm cho ăn bổ sung luân trùng. Khi ấu trùng chuyển sang giai đoạn M₂ sự khác biệt về kết quả chiều dài của ấu trùng tôm dần được thể hiện. Theo đó, các nghiệm thức có khẩu phần thức ăn luân trùng 75 (NT-6.5) và 100 ct/at/ngày (NT-6.6) cho kết quả chiều dài tốt hơn hai nghiệm thức còn lại. Mặc dù vậy, sự khác biệt này không có ý nghĩa về mặt thống kê với mức ý nghĩa 0,05. Xu hướng kết quả này thể hiện một cách rõ rệt khi ấu trùng chuyển sang giai đoạn PL₁. Các nghiệm thức NT-6.5 và NT-6.6 đưa đến kết quả chiều dài ấu trùng cao hơn rất đáng kể so với hai nghiệm thức còn lại ($p < 0,05$). Một điểm rất đáng lưu ý là thời gian bổ sung luân trùng trong khẩu phần ăn của ấu trùng tôm kéo dài từ giai đoạn Z₁-PL₁. Do đó, cùng với kết quả về tỷ lệ sống, chiều dài ấu trùng tôm trong giai đoạn PL₁ dường như phản ánh rõ ràng về hiệu quả bổ sung luân trùng trong ương nuôi ấu trùng tôm thẻ chân trắng.

Bảng 3.25 Chiều dài (mm) và CV PL₁₂ (%) ấu trùng tôm ở các nghiệm thức qua từng giai đoạn phát triển (n=3)

Ấu trùng	Nghiệm thức			
	NT-6.4	NT-6.5	NT-6.6	NT-6ĐC
Z ₂	1,74 ± 0,19	1,79 ± 0,11	1,81 ± 0,08	1,76 ± 0,08
M ₂	3,39 ± 0,20	3,53 ± 0,25	3,60 ± 0,13	3,30 ± 0,24
PL ₁	4,89 ± 0,53 ^a	5,15 ± 0,61 ^b	5,19 ± 0,67 ^b	4,82 ± 0,82 ^a
PL ₁₂	9,58 ± 1,09	8,97 ± 0,87	9,49 ± 0,69	9,16 ± 1,15
CV PL ₁₂	10,69 ± 4,38	9,67 ± 3,12	6,62 ± 2,87	11,35 ± 2,88

Các chữ cái khác nhau để chỉ sự sai khác có ý nghĩa về mặt thống kê (mức ý nghĩa 0,05) của các giá trị trong cùng một hàng

Mặc dù vậy, sự khác biệt về chiều dài ấu trùng và độ phân đàn (CV) ở giai đoạn PL₁₂ giữa các nghiệm thức là không đáng kể về mặt thống kê với các giá trị p lần lượt đạt 0,340 và 0,384. Có nhiều nguyên nhân có thể giải thích cho kết quả này, nhưng cơ bản có hai nguyên nhân chính đó là việc bổ sung luân trùng chỉ được kéo dài đến giai

đoạn PL1. Các giai đoạn về sau sự sinh trưởng và phát triển của ấu trùng phụ thuộc nhiều vào các nguồn thức ăn cũng như các điều kiện ương nuôi khác. Bên cạnh đó, tỷ lệ sống tương đối khác biệt giữa các nghiệm thức cũng phần nào giải thích cho kết quả chiều dài và CV ở giai đoạn PL₁₂ này.

❖ Thời gian phát triển ấu trùng

Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của các khẩu phần thức ăn bổ sung luân trùng lên phát triển của ấu trùng tôm thẻ chân trắng thể hiện cụ thể trong bảng 3.26. Về cơ bản, thời gian phát triển của ấu trùng trong nghiên cứu này là tương đối đồng nhất giữa các nghiệm thức và các đơn vị thí nghiệm trong cùng một nghiệm thức. Bên cạnh đó, khoảng thời gian này là tương đối dài so với tình trạng chung trong sản xuất tại cơ sở. Nguyên nhân được nghĩ tới nhiều nhất là nhiệt độ môi trường hơi thấp. Bên cạnh đó, thể tích các bể nuôi nhỏ là nguyên nhân dẫn đến biên độ dao động nhiệt độ tương đối cao, kết quả làm kéo dài thời gian phát triển của ấu trùng trong nghiên cứu này.

Kết quả nghiên cứu từ bảng 3.26 cho thấy ở những giai đoạn phát triển ban đầu (Z₂ và M₂), sự khác biệt về thời gian phát triển ấu trùng không lớn giữa các nghiệm thức. Nhưng khi ấu trùng tôm thẻ chân trắng chuyển sang giai đoạn PL₁, sự khác biệt có thể nhận thấy rõ ràng hơn. Các nghiệm thức đối chứng và NT-6.4 cho kết quả thời gian phát triển ấu trùng là dài hơn. Ngược lại, các nghiệm thức bổ sung luân trùng với mức 75 và 100 ct/at/ngày cho hiệu quả tốt hơn về thời gian phát triển. Bên cạnh đó, quan sát trong quá trình thí nghiệm thấy rằng ấu trùng trong các nghiệm thức NT-6.5 và NT-6.6 chuyển giai đoạn nhanh gọn hơn (kết quả định lượng không thể hiện). Nghĩa là khoảng thời gian từ khi bắt đầu chuyển giai đoạn đến khi chuyển xong hoàn toàn là ngắn hơn. Ngược lại, khoảng thời gian này ở hai nghiệm thức còn lại là dài hơn.

Kết quả phân tích sự phân bố chuẩn và tính đồng nhất phương sai các dữ liệu thời gian phát triển ấu trùng tôm qua các giai đoạn cho thấy dữ liệu thu thập chưa đáp ứng được cả hai yêu cầu kể trên. Do đó, các phân tích phương sai ANOVA một yếu tố không được thực hiện trong kết quả nghiên cứu này.

Bảng 3.26. Thời gian phát triển của (giờ) ấu trùng tôm thẻ chân trắng

Ấu trùng	Nghiệm thức			
	NT-6.4	NT-6.5	NT-6.6	NT-6ĐC
Z ₂	37,33±0,29	37,55±0,09	37,33±0,29	37,16±0,29
M ₂	144,5±0,29	144,0±0,00	144,67±0,00	146,28±0,19
PL ₁	218,50±0,33	217,50±0,17	216,83±0,17	222,75±0,30

Ghi chú: kết quả biểu hiện tổng thời gian phát triển của ấu trùng tính từ giai đoạn N₆ cho đến từng giai đoạn phụ

❖ **Khả năng chịu shock môi trường**

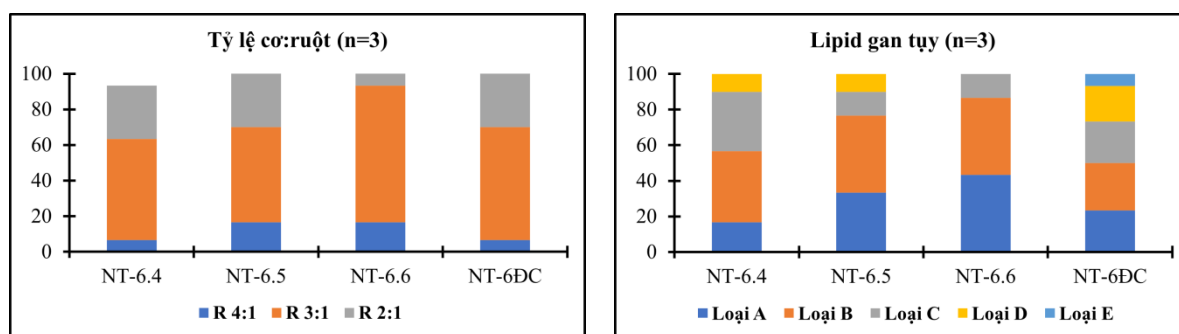
Kết quả kiểm tra sức khỏe ấu trùng PL₁₂ thông qua hai thông số khả năng chịu shock độ mặn và formalin được thể hiện cụ thể trong bảng 3.27. Nhìn chung, không có sự khác biệt đáng kể nào về khả năng chịu shock môi trường của ấu trùng giữa các nghiệm thức. Ấu trùng đạt tỷ lệ sống cao sau 30 phút trong các điều kiện shock formalin (100 ppm) và độ mặn (0 ppt). Các kết quả này hoàn toàn đáp ứng các yêu cầu tiêu chuẩn chất lượng tôm giống của cơ sở cũng như qui định pháp luật Việt Nam. Các điều kiện ương nuôi đồng nhất cho các nghiệm thức từ giai đoạn PL₁-PL₁₂ được tin là lý do chính giải thích cho kết quả nghiên cứu này.

Bảng 3.27 Khả năng chịu shock môi trường (%) của ấu trùng (n=3)

Ấu trùng	Nghiệm thức			
	NT-6.4	NT-6.5	NT-6.6	NT-6ĐC
Độ mặn	93,00±2,00	94,33±1,53	95,00±3,61	91,67±1,53
Formalin	100±0,00	100±0,00	100±0,00	100±0,00

❖ **Lipid gan tụy và tỷ lệ cơ:ruột**

Hai thông số phổ biến được sử dụng để đánh giá sức khỏe hậu ấu trùng PL₁₂ bao gồm tỷ lệ cơ:ruột và lipid gan tụy (giọt dầu). Về cơ bản, tỷ lệ cơ:ruột càng cao, sức khỏe ấu trùng được xem là càng tốt. Tương tự như vậy, phân loại A trong đánh giá lipid gan tụy để đánh giá lipid dự trữ cao trong tôm, hay nói cách khác sức khỏe ấu trùng tốt hơn. Ngược lại, phân loại E được sử dụng để đánh giá tình trạng lipid gan tụy kém của hậu ấu trùng. Trong nghiên cứu này, các nghiệm thức có khẩu phần thức ăn bổ sung luân trùng cao cho kết quả lipid gan tụy và tỷ lệ cơ:ruột tốt hơn.



Hình 3.22. Tình trạng sức khỏe ấu trùng trong các thí nghiệm (n=3)

Các số chất lượng môi trường nước ở thí nghiệm này được thể hiện cụ thể trong bảng 3.28. Nhìn chung, các thông số chất lượng này là tương đối phù hợp với quá trình ương nuôi ấu trùng tôm thẻ chân trắng, ngoại trừ yếu tố nhiệt độ hơi thấp hơn so với yêu cầu của ấu trùng.

Bảng 3.28 Thông số chất lượng môi trường nước

Thông số môi trường								
S	T (°C)	pH	DO	Kiểm	TAN	NH ₃	NO ₂	Vibrio*
(ppt)			(ppm)	mgCaCO ₃ /L	(ppm)	ppm	ppm	
25-29	28,6-31,9	7,8-8,4	4-8	120-150	0-2,0	0-0,26	0	10 ³ -10 ⁵

* tổng các vibrio cho kết quả khuẩn lạc xanh, vàng, trắng

Quan sát ấu trùng tôm thẻ chân trắng trong các nghiệm thức trong quá trình thu thập dữ liệu cũng cho thấy rằng nghiệm thức NT-6.5 (khẩu phần thức ăn bổ sung luân trùng 75 ct/at/ngày) và NT-6.6 (khẩu phần thức ăn bổ sung luân trùng 100 ct/at/ngày) đưa đến một số kết quả định tính (hình thái và tập tính vận động của ấu trùng) tốt hơn. Theo đó, đường phân của ấu trùng tôm trong hai nghiệm thức này rõ và liền mạch hơn ngay sau ngày đầu tiên bổ sung luân trùng. Mặc dù không có đánh giá định lượng về khối lượng và kích thước, nhưng quan sát trực quan thấy rằng ấu trùng tôm ở các nghiệm thức NT-6.5 và NT-6.6 dường như tròn và béo hơn. Sự khác biệt xuất hiện ngay sau khi bổ sung thức ăn luân trùng (giai đoạn Z₂) đến kết thúc quá trình thí nghiệm (PL₁₂). Đặc biệt là ở giai đoạn phụ PL₁ khi kết thúc giai đoạn bổ sung luân trùng. Ngoài ra, màu sắc của ấu trùng tôm trong hai nghiệm thức này cũng đậm và sáng màu hơn ở hai nghiệm thức còn lại (NT-6.4 và NT-6.ĐC). Cuối cùng là tập tính bơi lội và phản xạ của ấu trùng tôm thẻ chân trắng trong hai nghiệm thức này thể hiện mức độ phản xạ nhanh, bơi ngược dòng tốt hơn hai nghiệm thức NT-6.4 và NT-6.ĐC).

Kết quả từ nghiên cứu này đã chỉ ra rằng việc bổ sung luân trùng có những ảnh hưởng rõ rệt đến sinh trưởng, phát triển, và sức khỏe ấu trùng tôm. Việc bổ sung luân trùng với khẩu phần 75-100 ct/at/ngày cải thiện rõ rệt kết quả ương nuôi ấu trùng tôm thẻ chân trắng.

Luân trùng được biết đến là nguồn thức ăn sống quý giá trong ương nuôi nhiều đối tượng động vật thủy sản. Với kích thước nhỏ bé, khả năng tăng sinh nhanh chóng, giá trị dinh dưỡng (nhất là các axit béo không đa nối đôi mạch dài) luân trùng đã được ứng dụng phổ biến trong sản xuất giống nhiều loài giáp xác và cá biển [25, 48]. Trong sản xuất giống cá biển, luân trùng vừa là nguồn thức ăn trực tiếp vừa giữ vai trò là vật mang truyền tải các chất bổ dưỡng (nhất là các axit béo HUFAs, hay axit amin thiết yếu) từ bên ngoài vào cơ thể cá. Trong khi đó, thông tin về kết quả nghiên cứu ứng dụng luân trùng làm nguồn thức ăn sống trong ương nuôi ấu trùng tôm he nói chung và tôm thẻ chân trắng nói riêng chưa được tìm thấy trên cơ sở nguồn dữ liệu mở trên thế giới cũng như ở Việt Nam. Một vài kết quả nghiên cứu ứng dụng luân trùng làm vật chất mang, chuyển tải các sản phẩm probiotic vào cơ thể ấu trùng tôm đã được công bố [62].

Trong nghiên cứu này, định hướng tiếp cận là sử dụng luân trùng như một nguồn dinh dưỡng bổ sung, cung cấp một cách đa dạng và đầy đủ hơn các nhu cầu dinh dưỡng cho ấu trùng tôm he ở giai đoạn con non. Bên cạnh đó là làm phong phú hơn nguồn enzyme tiêu hóa cho ấu trùng tôm. Kết quả nghiên cứu bước đầu đã cho thấy sự hiệu quả của việc ứng dụng luân trùng trong cải thiện sinh trưởng, phát triển của ấu trùng tôm he, đặc biệt là ở tỷ lệ sống.

Nói tóm lại, kết quả nghiên cứu từ thí nghiệm 6 đã chỉ ra rằng, nguồn thức ăn vi tảo *N. oceanica* là phù hợp nhất trong ương nuôi luân trùng trong nghiên cứu này. Và nguồn thức ăn bổ sung luân trùng với khẩu phần ăn 75-100 ct/at/ngày cải thiện sinh trưởng, phát triển của ấu trùng tôm thẻ chân trắng.

3.4. Ảnh hưởng các khẩu phần thức ăn vi tảo khác nhau lên sinh trưởng, phát triển và sức khỏe ấu trùng tôm he.

Nhìn chung, nghiên cứu đã này chỉ ra những ảnh hưởng rõ rệt của các nguồn thức ăn vi tảo lên sự sinh trưởng, phát triển và sức khỏe hai đối tượng tôm he phổ biến ở Việt Nam hiện nay là tôm sú, *P. monodon*, và tôm thẻ chân trắng, *Penaeus vannamei*.

❖ Kết quả tỷ lệ sống của ấu trùng qua các giai đoạn

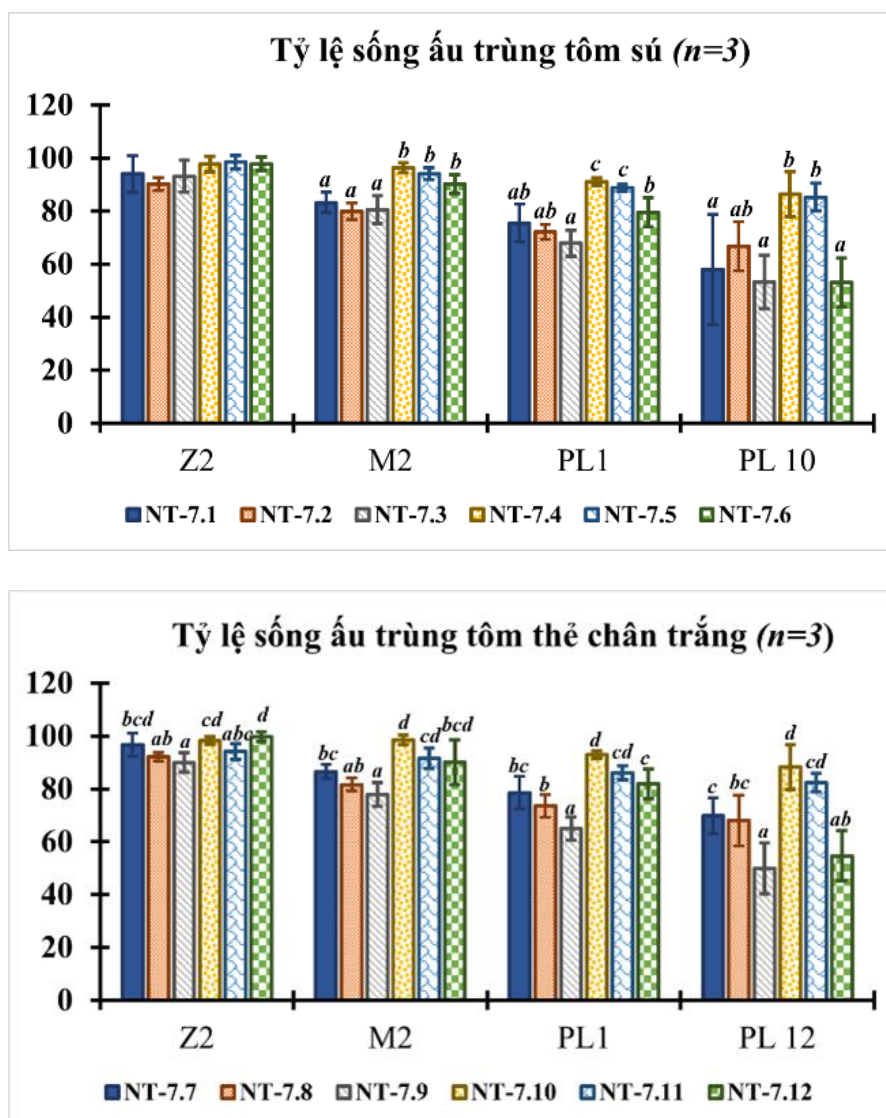
Về kết quả tỷ lệ sống, kết quả nghiên cứu từ hình 2.23 đã chỉ ra rằng tỷ lệ sống ấu trùng tôm sú và tôm thẻ chân trắng có xu hướng giảm dần qua từng giai đoạn phát triển. Ở mỗi một đối tượng tôm he trong từng giai đoạn phát triển cụ thể thì các khẩu phần thức ăn vi tảo khác nhau cũng đưa đến những tác động khác nhau lên tỷ lệ sống ấu trùng tôm.

Thật vậy, nghiên cứu trên đối tượng tôm sú, các khẩu phần thức ăn vi tảo khác nhau (NT-7.1 đến NT-7.6) dường như không làm thay đổi đáng kể tỷ lệ sống ấu trùng ở giai đoạn Z₂. Tỷ lệ sống của ấu trùng tôm sú ở giai đoạn này đạt được tương đối cao trong khoảng 89,9-99,7% ở cả sáu nghiệm thức thí nghiệm. Sự khác biệt về tỷ lệ sống giữa các nghiệm thức bắt đầu xuất hiện khi ấu trùng chuyển sang giai đoạn M₂. Ở giai đoạn này, kết quả về tỷ lệ sống ấu trùng tôm sú được chia thành hai nhóm rõ rệt. Trong đó, các nghiệm thức sử dụng kết hợp hai loài vi tảo (NT-7.4, NT-7.5 và NT-7.6) đưa đến kết quả tỷ lệ sống ấu trùng tốt hơn rõ rệt so với các nghiệm thức sử dụng đơn loài vi tảo trong khẩu phần thức ăn (NT-7.1, NT-7.2 và NT-7.3). Sự khác biệt là có ý nghĩa về mặt thống kê ($p < 0,05$) (Hình 3.23 và phụ lục 3.7.3).

Sự khác biệt về tỷ lệ sống giữa các nghiệm thức trở nên lớn hơn khi ấu trùng chuyển qua giai đoạn PL₁. Hai nghiệm thức sử dụng kết hợp đa loài vi tảo và có sự hiện diện của vi tảo *Thalassiosira weissflogii* là NT-7.4 (Tw+Cm) và NT-7.5 (Tw+Pt) đưa đến kết quả tỷ lệ sống ấu trùng rất cao, theo thứ tự lần lượt là 91,02 và 88,76%. Kế đến là nghiệm thức NT-7.6 (Cm+Pt) có tỷ lệ sống ấu trùng đạt khoảng 79,52%. Ngược lại, nghiệm thức sử dụng khẩu phần thức ăn đơn loài vi tảo *Phaeodactylum tricornutum* đưa cho tỷ lệ sống ấu trùng tôm sú là thấp nhất, khoảng 67,86%. Sự khác biệt là có ý nghĩa về mặt thống kê với mức ý nghĩa 0,05. Xu hướng kết quả này cũng được thể hiện tương tự tại thời điểm kết thúc thí nghiệm. Tỷ lệ sống của ấu trùng tôm sú ở hai nghiệm thức NT-7.4 và NT-7.5 cao hơn đáng kể so với các nghiệm thức còn lại, ngoại trừ duy nhất nghiệm thức sử dụng đơn loài *Chaetoceros muelleri* (Hình 3.23 và Phụ lục 3.7.3).

Không giống như ở đối tượng tôm sú, sự khác biệt về tỷ lệ sống của ấu trùng tôm thẻ chân trắng giữa các nghiệm thức xuất hiện ngay ở những giai đoạn đầu tiên trong quá trình phát triển (Z₂). Kết quả nghiên cứu từ hình 3.23 cũng chỉ ra rằng hai nghiệm thức NT-7.10 (Tw+Cm) và NT-7.12 (Cm+Pt) cho đưa đến kết quả tỷ lệ sống ấu trùng cao nhất, lần lượt đạt 98,34 và 99,77%. Ngược lại, tỷ lệ sống ấu trùng tôm ở hai nghiệm

thức sử dụng đơn loài vi tảo *C. muelleri* và *P. tricornutum* là thấp nhất, lần lượt đạt 92,13 và 89,94%. Mặc dù vậy, từ giai đoạn M₂ trở đi, xu hướng ảnh hưởng các khẩu phần thức ăn vi tảo lên tỷ lệ sống ấu trùng tôm thẻ chân trắng có nhiều điểm tương đồng với kết quả nghiên cứu trên đối tượng tôm sú. Cụ thể hai nghiệm thức đa loài vi tảo NT-7.10 (Tw+Cm) và NT-7.11 (Tw+Pt) cho kết quả tỷ lệ sống ấu trùng tôm thẻ chân trắng cao hơn các nghiệm thức còn lại. Ở chiều ngược lại, các nghiệm thức sử dụng đơn loài vi tảo, đặc biệt là *Phaeodactylum tricornutum*, biểu hiện những kết quả thấp hơn về tỷ lệ sống ấu trùng tôm thẻ chân trắng.



Hình 3.23. Tỷ lệ sống ấu trùng ở các nghiệm thức qua từng giai đoạn

Kết quả này cho phép rút ra kết luận rằng việc kết hợp đa loài vi tảo cải thiện rõ rệt tỷ lệ sống ấu trùng tôm he. Hai nghiệm thức phối trộn hai loài vi tảo *T. weissflogii* + *C. muelleri* và *T. weissflogii* + *P. tricornutum* cho kết quả tốt nhất về tỷ lệ sống ở cả hai đối tượng tôm he này.

❖ Chiều dài, CV, và khối lượng khô ấu trùng tôm

Trong thực tiễn sản xuất giống tôm sú, chỉ số phân đàn (CV) dường như ít được quan tâm, các đơn vị sản xuất và kinh doanh thường không xếp chỉ tiêu này vào tiêu chí đánh giá chất lượng tôm giống. Do vậy, thông số này không được trình bày trong kết quả luận án. Thay vào đó, khối lượng khô ấu trùng PL₁₀ được sử dụng để bổ sung vào nguồn cơ sở dữ liệu so sánh.

Kết quả nghiên cứu ở bảng 3.29 đã chỉ ra rằng, các nghiệm thức khác nhau về khẩu phần thức ăn vi tảo đưa đến một số kết quả khác nhau về chiều dài ấu trùng tôm. Trên đối tượng ấu trùng tôm sú ở giai đoạn Z₂, các nghiệm thức sử dụng thức ăn đa loài vi tảo và nghiệm thức sử dụng đơn loài *T. weissflogii* cho kết quả cao hơn hai nghiệm thức sử dụng đơn loài *C. muelleri* và *P. tricornutum* ($p < 0,05$). Trong khi đó, hai nghiệm thức sử dụng kết hợp đa loài vi tảo Tw+Cm và Tw+Pt lại cho kết quả vượt trội hơn các nghiệm thức còn lại trong thí nghiệm ấu trùng tôm thẻ chân trắng.

Bảng 3.29 Chiều dài (mm), khối lượng khô (g) và CV (%) ấu trùng tôm ở các nghiệm thức

Nghiệm thức thí nghiệm trên tôm sú						
	NT-7.1	NT-7.2	NT-7.3	NT-7.4	NT-7.5	NT-7.6
Z₂	2,16±0,03 ^b	2,06±0,04 ^a	2,00±0,07 ^a	2,26±0,03 ^b	2,23±0,05 ^b	2,17±0,08 ^b
M₂	4,16±0,06	4,08±0,28	3,91±0,16	4,29±0,06	4,21±0,28	4,05±0,17
PL₁	6,04±0,10 ^b	5,80±0,09 ^a	6,10±0,11 ^{bc}	6,29±0,10 ^d	5,94±0,09 ^{ab}	6,24±0,11 ^{cd}
PL₁₀	10,81±0,05	10,24±0,43	10,62±0,55	10,36±0,27	10,49±0,20	10,61±0,24
KLK	0,76±0,03	0,59±0,11	0,76±0,07	0,65±0,10	0,66±0,01	0,75±0,09
PL₁₀						
Nghiệm thức thí nghiệm trên tôm thẻ chân trắng						
	NT-7.7	NT-7.8	NT-7.9	NT-7.10	NT-7.11	NT-7.12
Z₂	1,85±0,03 ^{ab}	1,83±0,04 ^a	1,77±0,07 ^a	2,02±0,03 ^c	2,00±0,04 ^c	1,94±0,07 ^{bc}
M₂	3,77±0,05	3,70±0,24	3,56±0,14	3,88±0,05	3,81±0,24	3,67±0,14
PL₁	5,37±0,09 ^{cd}	5,07±0,08 ^a	5,33±0,09 ^{bc}	5,49±0,09 ^d	5,19±0,08 ^{ab}	5,45±0,09 ^{cd}
PL₁₂	10,14±0,15 ^c	10,14±0,15 ^b	10,14±0,15 ^a	10,14±0,15 ^e	10,14±0,15 ^d	10,14±0,15 ^c
CV	10,2±2,12	11,04 ±3,38	10,7±4,38	7,62±1,87	8,62±2,87	9,35±2,88
PL₁₂						

Các chữ cái khác nhau để chỉ sự sai khác có ý nghĩa về mặt thống kê (mức ý nghĩa 0,05) của các giá trị trong cùng một hàng

Cũng tương tự như ở kết quả tỷ lệ sống, sự khác biệt về chiều dài ấu trùng giữa các nghiệm thức trở lên rõ ràng hơn khi ấu trùng chuyển sang các giai đoạn phát triển tiếp theo, đặc biệt là giai đoạn PL₁. Cụ thể, nghiệm thức sử dụng kết hợp đa loài vi tảo *T. weissflogii* + *C. muelleri* (NT-7.4) đưa đến kết quả chiều dài ấu trùng tốt hơn hầu hết các nghiệm thức còn lại ($p < 0,05$).

Xu hướng này được thấy rõ hơn khi quan sát kết quả chiều dài ấu trùng trong thí nghiệm trên đối tượng tôm thẻ chân trắng. Kết quả phân tích ANOVA một yếu tố cho thấy nguồn khẩu phần thức ăn phối trộn hai loài vi tảo *T. weissflogii* và *C. muelleri* đưa đến kết quả sinh trưởng chiều dài ấu trùng tôm thẻ chân trắng tốt hơn các nghiệm thức còn lại.

❖ Thời gian phát triển của ấu trùng

Nhìn chung, thời gian phát triển của ấu trùng tôm sú dài hơn so với tôm thẻ chân trắng trong nghiên cứu này. Thời gian phát triển ấu trùng tôm giữa các nghiệm thức càng trở lên khác biệt theo chu kỳ ương nuôi. Kết quả kiểm định tính đồng nhất phương sai và phân bố chuẩn các dữ liệu thời gian phát triển ấu trùng cho thấy các dữ liệu thu thập chưa đáp ứng được yêu cầu để phân tích ANOVA (Phụ lục 3.7.3). Do đó, các kết quả phân tích thống kê không được trình bày trong báo cáo này.

Quan sát kết quả thời gian phát triển của ấu trùng qua từng giai đoạn cho thấy một số khác biệt so với hai thông số tỷ lệ sống và chiều dài ấu trùng. Kết quả nghiên cứu từ bảng 3.30 đã chỉ ra rằng, các nghiệm thức có sử dụng tảo *T. weissflogii* (NT-7.1, NT-7.4, NT-7.5 ở đối tượng tôm sú, và NT-7.7, NT-7.10, NT-7.11 ở đối tượng tôm thẻ chân trắng) đưa đến thời gian phát triển của ấu trùng tôm ngắn hơn các nghiệm thức còn lại.

Quan sát kết quả ở giai đoạn PL₁, các nghiệm thức có sử dụng thức ăn vi tảo *T. weissflogii* góp phần rút ngắn thời gian phát triển ấu trùng hơn 2 ngày ở đối tượng tôm sú và khoảng 1 ngày trên đối tượng tôm thẻ chân trắng. Với kết quả nghiên cứu thu được cho phép rút ra kết luận rằng, cá nghiệm thức sử dụng kết hợp hai loài vi tảo *T. weissflogii* + *C. muelleri* vẫn cho kết quả rất khả quan về thời gian phát triển ấu trùng ở cả hai đối tượng tôm he trong nghiên cứu.

Bảng 3.30. Thời gian phát triển (giờ) của ấu trùng tôm he (n=3)

Thí nghiệm thức thí nghiệm trên tôm sú						
	NT-7.1	NT-7.2	NT-7.3	NT-7.4	NT-7.5	NT-7.6
Z₂	29,11±0,10	30,28±0,25	29,83±0,58	29,19±0,27	29,00±0,00	30,22±0,10
M₂	142,06±0,10	213,39±0,42	180,2±15,03	145,22±0,10	145,11±0,10	189,94±8,07
PL₁	204,56±0,10	280,89±8,47	276,9±0,10	204,50±0,00	204,50±0,00	268,7±13,58
Thí nghiệm thức thí nghiệm trên tôm thẻ chân trắng						
	NT-7.7	NT-7.8	NT-7.9	NT-7.10	NT-7.11	NT-7.12
Z₂	35,00±0,00	35,33±0,14	35,72±0,69	32,67±0,29	33,17±0,29	34,11±0,09
M₂	136,17±0,29	137,22±0,38	143,17±0,29	134,17±0,29	134,33±0,58	135,33±0,58
PL₁	182,67±0,29	183,72±0,38	189,67±0,29	160,80±0,00	164,00±1,39	180,80±1,39

Ghi chú: số liệu biểu thị tổng thời gian phát triển của ấu tính từ giai đoạn N₆

❖ Khả năng chịu shock môi trường

Kết quả nghiên cứu đã cho thấy khả năng chống chịu shock môi trường (độ mặn và formalin) của hậu ấu trùng tôm sú kém hơn tôm thẻ chân trắng. Theo đó, 100% các hậu ấu trùng tôm thẻ chân trắng PL₁₂ sống sót sau 30 phút trong các điều kiện shock độ mặn môi trường và formalin 100 ppm. Ở tôm hậu ấu trùng tôm sú biểu hiện khả năng chịu shock kém hơn, đặc biệt là độ mặn môi trường.

Kết quả nghiên cứu ở bảng 3.31 cũng chỉ ra rằng các nghiệm thức thức ăn có sử dụng vi tảo *T. weissflogii* cho kết quả sức khỏe ấu trùng tốt hơn, thể hiện ở khả năng chống chịu lại sự thay đổi đột ngột độ mặn môi trường. Khả năng chịu shock formalin 100 ppm ở hậu ấu trùng tôm sú tương đối tốt và tương đối đồng nhất giữa các nghiệm thức thí nghiệm.

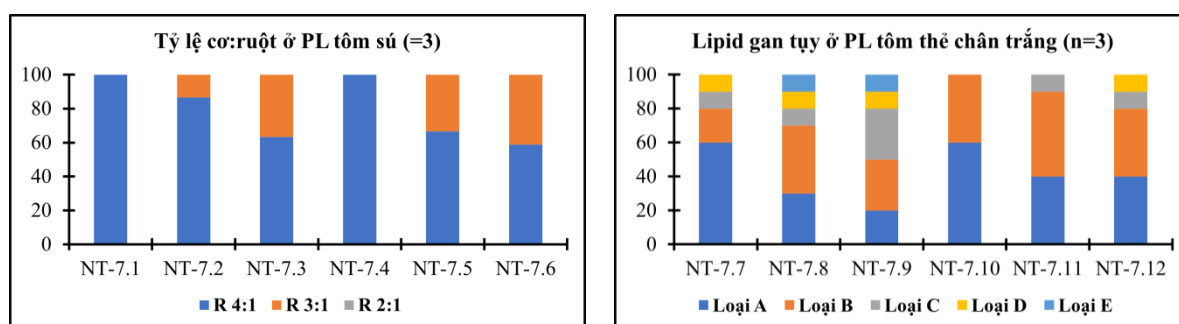
Bảng 3.31 Khả năng chịu shock môi trường (%) của ấu trùng tôm he (n=3)

Thí nghiệm thức thí nghiệm trên tôm sú						
	NT-7.1	NT-7.2	NT-7.3	NT-7.4	NT-7.5	NT-7.6
S %₀₀	72,3±14,36	20,67±4,73	18,67±3,21	79,00±6,56	85,67±3,21	53,67±10,9
Formalin	98,00±1,00	90,33±3,06	97,33±0,58	94,33±5,51	95,33±4,04	96,00±1,00
Thí nghiệm thức thí nghiệm trên tôm thẻ chân trắng						
	NT-7.7	NT-7.8	NT-7.9	NT-7.10	NT-7.11	NT-7.12
S %₀₀	100	100	100	100	100	100
Formalin	100	100	100	100	100	100

Cũng giống như ở thời gian phát triển của ấu trùng, các dữ liệu về khả năng chịu shock của hậu ấu trùng tôm sú không thỏa mãn đồng thời cả hai điều kiện phân phối chuẩn và đồng nhất phương sai. Do đó, phân tích ANOVA một yếu tố không được thực hiện trong kết quả nghiên cứu này.

❖ Lipid gan tụy và tỷ lệ cơ:ruột

Cũng như các thông số trình bày ở trên, các nghiệm thức kết hợp đa loài vi tảo, nhất là *T. weissflogii* + *C. muelleri* cho kết quả tốt nhất về sức khỏe ấu trùng, biểu hiện ở tình trạng lipid trong gan tụy và tỷ lệ cơ:ruột. Bên cạnh đó, ở các nghiệm thức thức ăn có sử dụng *T. weissflogii*, sức khỏe ấu trùng tôm he dường như tốt hơn các nghiệm thức còn lại (hình 3.22).



Hình 3.24. Tình trạng sức khỏe ấu trùng trong các thí nghiệm (n=3)

Các số chất lượng môi trường nước ở thí nghiệm này được thể hiện cụ thể trong bảng 3.32. Nhìn chung, sự khác biệt không đáng kể về thông số chất lượng môi trường nước giữa các nghiệm thức thí nghiệm. Trong thí nghiệm này, các thông số môi trường được kiểm tra và giám sát chặt chẽ, rất phù hợp với quá trình ương nuôi ấu trùng tôm he.

Bảng 3.32 Thông số chất lượng môi trường nước

Thông số môi trường nước								
S	T (°C)	pH	DO	Kiểm	TAN	NH ₃	NO ₂	Vibrio*
(ppt)			(ppm)	mgCaCO ₃ /L	(ppm)	ppm	ppm	
20-32	28-31	7,8-8,2	>5	160-180	0-1,0	0-0,1	0-0,1	10 ⁴ -10 ⁶

* tổng các vibrio cho kết quả khuẩn lạc xanh, vàng, trắng

Một số quan sát mang tính định tính trong quá trình triển khai thí nghiệm cũng cho thấy ở các nghiệm thức có khẩu phần thức ăn là hai loài vi tảo, nhất là các nghiệm thức NT-7.4 và NT-7.10 (sử dụng kết hợp *T. weissflogii* và *C. muelleri*), ấu trùng tôm he biểu hiện nhiều đặc điểm hình thái, tập tính vận động vượt trội hơn. Ấu trùng tôm sú

và tôm thẻ trong hai nghiệm thức thí nghiệm này có màu sắc tươi sáng, đường phân rõ và liền mạch hơn các nghiệm thức còn lại. Bên cạnh đó, ấu trùng tôm he trong hai nghiệm thức này cũng hướng quang mạnh hơn các nghiệm thức còn lại (giai đoạn $M_1 - PL_1$). Kết thúc thí nghiệm (PL_{10} đối với thí nghiệm ấu trùng tôm sú và PL_{12} đối với thí nghiệm trên ấu trùng tôm thẻ chân trắng), hậu ấu trùng tôm he trong hai nghiệm thức NT-7.4 và NT7.10 cũng biểu hiện khả năng phản xạ và bơi ngược dòng tốt hơn các nghiệm thức còn lại.

Nói tóm lại, kết quả nghiên cứu trong thí nghiệm 7 đã chỉ ra rằng các khẩu phần thức ăn vi tảo có ảnh hưởng rất lớn đến kết quả ương nuôi hai đối tượng tôm he. Việc kết hợp hai loài vi tảo *T. weissflogii* và *C. muelleri* làm nguồn thức ăn tự nhiên trong ương nuôi ấu trùng tôm he cho hiệu quả cao nhất.

Như đã trình bày ở nội dung trước, nghiên cứu ứng dụng vi tảo trong sản xuất giống tôm he tập trung vào tính phù hợp về kích thước cỡ, khả năng trôi nổi và đáp ứng các nhu cầu dinh dưỡng của ấu trùng. Ấu trùng tôm he ở các giai đoạn đầu (Z và M) thiên về tập tính ăn lọc, các thức ăn vi tảo có kích thước lớn hơn đường như phù hợp hơn cho tập tính bắt mồi này của ấu trùng tôm. Vi tảo silic biển *T. weissflogii* có kích thước tế bào lớn nhất trong 3 loài vi tảo trong nghiên cứu, khoảng ($720-900 \mu m^3$). Hay nói cách khác, xét ở khía cạnh kích thước tế bào, loài vi tảo này mang nhiều tiềm năng nhất. Đây có lẽ là điểm rất quan trọng, là cơ sở để giải thích cho hiện trạng loài vi tảo này là phổ biến nhất trong sản xuất giống tôm he ở Việt Nam và nhiều nước trên thế giới [75, 110].

Ấu trùng tôm he ở những giai đoạn đầu phát triển có đời sống thiên về phù du. Các nguồn thức ăn có khả năng trôi nổi tốt, phân bố đều theo chiều sâu cột nước là điều kiện tiên đề để ấu trùng tôm có thể gặp và bắt mồi. Thêm vào đó, điều kiện sục khí nhẹ trong bể ương ở những thời gian đầu trong chu kỳ ương nuôi dường như càng nâng cao tầm quan trọng tính trôi nổi của các nguồn thức ăn. Về mặt hình thái cấu tạo tế bào, trong khi các tế bào *T. weissflogii* và *P. tricornutum* có cấu tạo lớp vỏ tế bào trơn nhẵn, thì *C. muelleri* có các gai ở các góc tế bào [107]. Chính điều này làm cho khả năng trôi nổi của tế bào loài vi tảo này là tốt nhất trong số các chủng tảo nghiên cứu.

Một quan điểm lý thuyết rất quan trọng, đã được thừa nhận từ lâu bởi các nhà nuôi trồng thủy sản học là tiêu chí lựa chọn nguồn thức ăn trong sản xuất giống tôm he nói riêng và vật nuôi thủy sản nói chung là đáp ứng đầy đủ các nhu cầu năng lượng và dinh dưỡng cho ấu trùng sinh trưởng và phát triển. Mỗi một loài vi tảo có những đặc điểm riêng về thành phần sinh hóa. Hay nói cách khác, khả năng tìm kiếm một chủng, loài vi tảo có đầy đủ các giá trị dinh dưỡng cung cấp cho ấu trùng tôm là rất khó thực hiện. Hướng tiếp cận giản đơn và hiệu quả hơn là phối trộn hai hay nhiều loài vi tảo làm thức ăn cho ấu trùng tôm [3, 51, 71, 76]. Các luận điểm vừa trình bày có lẽ là những cơ sở khoa học rất rõ ràng để giải thích cho kết quả nghiên cứu nghiệm thức phối trộn hai loài vi tảo *T. weissflogii* + *C. muelleri* cho kết quả tốt nhất về sinh trưởng, phát triển của ấu trùng tôm he trong thí nghiệm 7 này.

Từ những kết hợp những kết quả đạt được trong thí nghiệm này và thí nghiệm 6 trên luân trùng, nhóm nghiên cứu đã phối hợp với Bộ phận Nghiên cứu và Phát triển Tập đoàn thủy sản Minh Phú xây dựng thành công qui trình kỹ thuật sản xuất giống tôm he với dựa trên nền tảng đa loài vi tảo và bổ sung luân trùng. Sau thời gian vận hành sản xuất, qui trình kỹ thuật đã tạo ra khoảng 800 triệu giống tôm thẻ chân trắng và khoảng 200 triệu giống tôm sú, tổng giá trị ước đạt khoảng 120 tỷ VNĐ. Kết quả ghi nhận từ qui mô sản xuất cho thấy tỷ lệ sống ấu trùng nâng từ 40-50% lên thành 75-85% , chu kỳ ương nuôi ấu trùng từ N_{5/6} đến PL₁₂ được rút ngắn từ 21 ngày xuống còn 18-19 ngày ương, ấu trùng khỏe mạnh, đồng đều về kích cỡ. Chi phí sản xuất được giảm bớt từ việc tiết kiệm tổng lượng Artemia sử dụng.

CHƯƠNG 4. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ XUẤT

KẾT LUẬN

4.1. Nghiên cứu khảo sát sinh trưởng và thành phần sinh hóa của 8 chủng vi tảo nhập nội từ CSIRO, kết quả cho thấy các chủng vi tảo này đều sinh trưởng và thích nghi tốt với điều kiện Việt Nam. Thành phần sinh hóa phong phú, phù hợp với mục đích nuôi trồng thủy sản. Nghiên cứu lựa chọn được 3 chủng vi tảo làm nguồn thức ăn trực tiếp cho ấu trùng tôm bao gồm *T. weissflogii*, *P. tricornutum*, và *C. muelleri*. Hai chủng làm nguồn thức ăn gián tiếp cho ương nuôi luân trùng phục vụ sản xuất giống tôm là *N. oceanica* và *T. lutea*.

4.2. Các điều kiện môi trường nuôi cấy khác nhau có những ảnh hưởng khác nhau tới sinh trưởng quần thể và thành phần sinh hóa từng loài tảo khuê cụ thể.

➤ Ba môi trường dinh dưỡng f, f/2 và AGP-C đều rất phù hợp cho nuôi cấy 3 loài vi tảo silic. Môi trường dinh dưỡng bổ sung f cho hiệu quả cao nhất trong nuôi cấy ở hầu hết các loài tảo trong nghiên cứu. Các loài vi tảo khác nhau có xu hướng khác nhau trong sinh tổng hợp và tích lũy các thành phần sinh hóa.

➤ Tương tác giữa cường độ chiếu sáng và chu kì quang lên sinh trưởng quần thể vi tảo là rất rõ ràng. Ở mỗi loài vi tảo khác nhau, các ảnh hưởng này cũng biểu hiện một số khác biệt. Trong nghiên cứu này, tương tác giữa cường độ chiếu sáng và chu kì quang lên sinh trưởng quần thể *T. weissflogii* là rõ ràng và lớn nhất. Kế đến là *C. muelleri* và cuối cùng là *P. tricornutum*. Trong khi cường độ chiếu sáng và chu kì quang tác động theo chiều đồng biến thì tương tác của hai yếu tố này lại nghịch biến với sinh trưởng các quần thể vi tảo nghiên cứu. Ảnh hưởng của các điều kiện chiếu sáng lên thành phần sinh hóa vi tảo là khác nhau, phụ thuộc vào từng loài cụ thể.

➤ Nhiệt độ ảnh hưởng rõ rệt tới sinh trưởng quần thể vi tảo và thành phần sinh hóa tế bào. Nhiệt độ ở mức 25-30°C cho hiệu quả cao nhất nuôi cấy các loài vi tảo trong nghiên cứu. Ảnh hưởng của nhiệt độ lên thành phần sinh hóa vi tảo khác nhau phụ thuộc vào loài và những ngưỡng nhiệt độ cụ thể.

➤ Độ mặn ảnh hưởng lớn tới sinh trưởng quần thể và thành phần sinh hóa tế bào vi tảo khuê trong nghiên cứu. Độ mặn ở mức 25 ppt cho hiệu quả cao nuôi cấy vi tảo. Mỗi loài vi tảo khác nhau có xu hướng thay đổi thành phần sinh hóa khác nhau trong các điều kiện nhiệt độ.

4.3. Hai loài vi tảo *N. oceanica* và *T. lutea* đều rất phù hợp để nuôi cấy luân trùng. Nuôi cấy luân trùng bằng nguồn thức ăn vi tảo *N. oceanica* cho kết quả tốt hơn về sinh trưởng quần thể. Việc ứng dụng luân trùng vào quá trình ương nuôi ấu trùng tôm thẻ chân trắng cho hiệu quả rõ rệt. Khẩu phần thức ăn luân trùng ở khoảng 75-100 ct/at/ngày cho hiệu quả cao nhất.

4.4. Các loài vi tảo *T. weissflogii*, *P. tricornutum*, và *C. muelleri* đều rất phù hợp làm nguồn thức ăn cho ấu trùng tôm. Việc phối trộn hai loài vi *T. weissflogii* và *C. muelleri* cho hiệu quả ương nuôi cao nhất. Giúp cải thiện hầu hết các thông số sinh trưởng, phát triển và chất lượng ấu trùng.

ĐỀ XUẤT

➤ Nghiên cứu này thuộc khuôn khổ của một chương trình nghiên cứu ứng dụng. Khả năng ứng dụng kết quả nghiên cứu vào sản xuất thực tiễn được xem như những tiêu chí hàng đầu. Do đó, một số nghiên cứu cơ bản quan trọng liên quan chưa có điều kiện triển khai thực hiện. Do vậy, kiến nghị đầu tiên được đưa ra là cần có thêm những nghiên cứu cơ bản, chuyên sâu trong lĩnh vực này như, nghiên cứu sinh học phân tử, tế bào vi tảo, phản ứng sinh lý nội bào, hay nghiên cứu phân lập và ứng dụng những chủng vi tảo có nguồn gốc bản địa vào sản xuất giống tôm he tại Việt Nam.

➤ Để có những hiểu biết một cách rõ hơn về cơ chế ảnh hưởng, tác động của các khẩu phần thức ăn vi tảo lên sinh trưởng, phát triển của ấu trùng tôm he, cần có thêm một số nghiên cứu đặc trưng khác nữa như nghiên cứu chọn lọc thức ăn của ấu trùng, cơ chế tiêu hóa, hấp thu ở với từng loại thức ăn vi tảo.

➤ Khía cạnh kỹ thuật, nên có thêm những nghiên cứu về công nghệ nuôi cấy vi tảo để cải thiện hơn nữa hiệu quả trong sản xuất, ví dụ như công nghệ nuôi cấy trên màng hay công nghệ nuôi cấy vi tảo đa giai đoạn.

➤ Cuối cùng là trong điều kiện có thể, nên tiến hành những phân tích chuyên sâu. Ví dụ như ở vi tảo là thành phần axit amin, hormone sinh trưởng thực vật. Đối với ấu trùng tôm là những phân tích về đáp ứng miễn dịch, cắt mô đường ruột và hệ enzyme tiêu hóa.

DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH ĐÃ CÔNG BỐ

1. **Mai Đức Thao***, Nguyễn Trần Thanh Tâm, Kim Jye Lee-Chang, Hoàng Tùng, và Phạm Quốc Hùng, Tương tác giữa chu kì quang và cường độ chiếu sáng lên sinh trưởng quần thể và thành phần sinh hóa tảo silic biển *Thalassiosira weissflogii* (Grunow) *g. Fryxell & Hasle, 1977*. Tạp chí Khoa học-Công nghệ thủy sản. 2024 (2).
2. **Thao Duc Mai**, Kim Jye Lee-Chang*, Ian D Jameson, Tung Hoang, Ngoc Bao Anh Cai, and Hung Quoc Pham, *Fatty acid profiles of selected microalgae used as live feeds for shrimp postlarvae in Vietnam*. Aquaculture Journal, 2021. 1(1): p. 26-38.
3. **Mai, T.D.**; Lee-Chang, K.J.; Jameson, I.D.; Cai, N.B.A.; Pham, H.Q.; and Hoang, T. *Cultivation and biochemical composition of the diatom Chaetoceros muelleri as a live-feed stock for shrimp larval culture in Vietnam*. Virtual International Conference on Marine Science and Aquaculture (vICOMSA), Borneo Marine Research Institute, Universiti Malaysia Sabah, Malaysia, 08-10 March 2022.

DANH MỤC TÀI LIỆU THAM KHẢO

TÀI LIỆU TIẾNG VIỆT

1. 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)*, in Khoa Nuôi trồng thủy sản. 2010, Đại học Nha Trang: Nha Trang. p. 132.
2. Nguyen Minh Quang and Weatherby Courtney, *Đổi mới sáng tạo từ mô hình nuôi tôm sinh thái ở ĐBSCL*. Vietnam Journal of Science and Technology, 2019. **3**: p. 43-45.
3. Nguyễn Trọng Nho, Tạ Khắc Thường, and Lục Minh Diệp, *Kỹ thuật nuôi giáp xác*. 2006, TP. Hồ Chí Minh: NXB Nông Nghiệp.
4. Tổng Cục Thủy sản, *Định hướng và giải pháp phát triển sản xuất tôm năm 2020 in Triển Khai Nhiệm Vụ Phát Triển Ngành Tôm Nước Lợ*, NT, Editor. 2020, Bộ NN&PT NT: Sóc Trăng, Việt Nam.
5. Trần Văn Nhiên, Hồ Hồng Nhung, Lê Lại Thị Minh, and Nguyễn Hữu Thanh, *Thực nghiệm ương ấu trùng tôm thẻ chân trắng (Litopenaeus vannamei Boone, 1931) bằng tảo (Thalassiosira sp.) cô đặc*. Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển, 2020. **19**(1): p. 59-64.

TÀI LIỆU TIẾNG ANH

6. Ahlgren Gunnel, *Temperature functions in biology and their application to algal growth constants*. Oikos, 1987: p. 177-190.
7. Al-Qasbi Maryam, Raut Nitin, Talebi Sahar, Al-Rajhi Sara, and Al-Barwani Tahir. *A review of effect of light on microalgae growth*. in *Proceedings of the world congress on engineering*. 2012.
8. Almutairi Adel W, El-Sayed Abo El-Khair B, and Reda Marwa M, *Evaluation of high salinity adaptation for lipid bio-accumulation in the green microalga Chlorella vulgaris*. Saudi Journal of Biological Sciences, 2021. **28**(7): p. 3981-3988.
9. Amini Khoeyi Zahra, Seyfabadi Jafar, and Ramezanpour Zohreh, *Effect of light intensity and photoperiod on biomass and fatty acid composition of the microalgae, Chlorella vulgaris*. Aquaculture International, 2012. **20**: p. 41-49.
10. Andersen Robert A, *Algal culturing techniques*. 2005: Elsevier.
11. Anger Klaus, *The Biology of decapod crustacean larvae*. Vol. 14. 2001: AA Balkema Publishers Lisse.
12. Anger Klaus, Harzsch Steffen, and Thiel Martin, *Developmental Biology and Larval Ecology: The Natural History of the Crustacea, Volume 7*. 2020: Oxford University Press.
13. Armbrust E Virginia, *The life of diatoms in the world's oceans*. Nature, 2009. **459**(7244): p. 185-192.
14. Arredondo-Vega Bertha O, Leal-Lorenzo Sylvia, and López-Ruiz José, *Effect of zeolitic products in the nutritive quality of the diatom Thalassiosira weissflogii*. Hidrobiológica, 2004. **14**(1): p. 69-74.
15. Babuskin Srinivasan, Radhakrishnan Kesavan, Babu Packirisamy Azhagu Saravana, Sivarajan Meenakshisundaram, and Sukumar Muthusamy, *Effect of photoperiod, light intensity and carbon sources on biomass and lipid*

- productivities of Isochrysis galbana*. Biotechnology letters, 2014. **36**: p. 1653-1660.
16. Bae Jean Hee and Hur Sung Bum, *Selection of suitable species of Chlorella, Nannochloris, and Nannochloropsis in high-and low-temperature seasons for mass culture of the rotifer Brachionus plicatilis*. Fisheries and aquatic sciences, 2011. **14**(4): p. 323-332.
 17. Baek Seung Ho, Jung Seung Won, and Shin Kyoungsoon, *Effects of temperature and salinity on growth of Thalassiosira pseudonana (Bacillariophyceae) isolated from ballast water*. Journal of Freshwater Ecology, 2011. **26**(4): p. 547-552.
 18. Baer Sascha, Heining Martin, Schwerna Philipp, Buchholz Rainer, and Hübner Holger, *Optimization of spectral light quality for growth and product formation in different microalgae using a continuous photobioreactor*. Algal research, 2016. **14**: p. 109-115.
 19. Banerjee Sanjoy, Hew Wei Ee, Khatoon Helena, Shariff Mohamed, and Yusoff Fatimah Md, *Growth and proximate composition of tropical marine Chaetoceros calcitrans and Nannochloropsis oculata cultured outdoors and under laboratory conditions*. African Journal of Biotechnology, 2011. **10**(8): p. 1375-1383.
 20. Barsanti Laura and Gualtieri Paolo, *Algae: Anatomy, biochemistry, and biotechnology*. 2022: CRC press.
 21. Becker E Wolfgang, *Microalgae: Biotechnology and Microbiology*. Vol. 10. 1994: Cambridge University Press.
 22. Begum Nilufa, Siddiky MM, and Ahmmed Shawon, *Comparison of growth performance of live feed microalgae and rotifer (Brachionus sp.) under different feeding medium in outdoor culture condition*. World J Biol Pharm Health Sci, 2021. **5**(2): p. 025-032.
 23. Benavides Ana M Silva, Torzillo Giuseppe, Kopecký Jiřka, and Masojídek Jiří, *Productivity and biochemical composition of Phaeodactylum tricornutum (Bacillariophyceae) cultures grown outdoors in tubular photobioreactors and open ponds*. Biomass and bioenergy, 2013. **54**: p. 115-122.
 24. Benemann John R, *Production of nitrogen fertilizer with nitrogen-fixing blue-green algae*. Enzyme and Microbial Technology, 1979. **1**(2): p. 83-90.
 25. Bennett William N and Boraas Martin E, *A demographic profile of the fastest growing metazoan: a strain of Brachionus calyciflorus (Rotifera)*. Oikos, 1989: p. 365-369.
 26. Bienfang PK and Harrison PJ, *Co-variation of sinking rate and cell quota among nutrient replete marine phytoplankton*. Mar. Ecol. Prog. Ser, 1984. **14**(1984): p. 297-300.
 27. Blanken Ward, Postma P Richard, de Winter Lenneke, Wijffels René H, and Janssen Marcel, *Predicting microalgae growth*. Algal research, 2016. **14**: p. 28-38.
 28. Boyd Claude E and Tucker Craig S, *Pond aquaculture water quality management*. 2012: Springer Science & Business Media.
 29. Brand Larry E, *Genetic variability in reproduction rates in marine phytoplankton populations*. Evolution, 1981: p. 1117-1127.
 30. Brennan Liam and Owende Philip, *Biofuels from microalgae—A review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products*. Renewable and sustainable energy reviews, 2010. **14**(2): p. 557-577.

31. Brown Malcolm R, *The amino-acid and sugar composition of 16 species of microalgae used in mariculture*. Journal of experimental marine biology and ecology, 1991. **145**(1): p. 79-99.
32. Brown Malcolm R, *Nutritional value and use of microalgae in aquaculture*. Avances en Nutrición Acuicola, 2002.
33. Brown MR, Jeffrey SW, Volkman JK, and Dunstan GA, *Nutritional properties of microalgae for mariculture*. Aquaculture, 1997. **151**(1-4): p. 315-331.
34. Buono Silvia, Colucci Antonella, Angelini Antonella, Langellotti Antonio Luca, Massa Marina, Martello Anna, Fogliano Vincenzo, and Dibenedetto Angela, *Productivity and biochemical composition of Tetrademus obliquus and Phaeodactylum tricornutum: effects of different cultivation approaches*. Journal of Applied Phycology, 2016. **28**: p. 3179-3192.
35. Capuzzo Judith M and Lancaster Bruce A. *The effects of dietary carbohydrate levels on protein utilization in the American lobster (Homarus americanus)*. in *Proceedings of the World Mariculture Society*. 1979. Wiley Online Library.
36. Capuzzo Judith M and Lancaster Bruce A, *Physiological effects of petroleum hydrocarbons on larval lobsters (Homarus americanus): Hydrocarbon accumulation and interference with lipid metabolism*. Physiological mechanisms of marine pollutant toxicity, 1982: p. 477-504.
37. Carić Marina, Sanko-Njire Jakica, and Skaramuca Boško, *Dietary effects of different feeds on the biochemical composition of the rotifer (Brachionus plicatilis Müller)*. Aquaculture, 1993. **110**(2): p. 141-150.
38. Chai Wai Siong, Chew Chee Hong, Munawaroh Heli Siti Halimatul, Ashokkumar Veeramuthu, Cheng Chin Kui, Park Young-Kwon, and Show Pau Loke, *Microalgae and ammonia: A review on inter-relationship*. Fuel, 2021. **303**: p. 121303.
39. Chang Ernest S, Sage Becky A, and O'Connor John D, *The qualitative and quantitative determinations of ecdysones in tissues of the crab, Pachygrapsus crassipes, following molt induction*. General and comparative endocrinology, 1976. **30**(1): p. 21-33.
40. Connolly Jessica A, Oliver Matthew J, Beaulieu Jeremy M, Knight Charles A, Tomanek Lars, and Moline Mark A, *Correlated Evolution of Genome Size and Cell Volume in Diatoms (bacillariophyceae) 1*. Journal of Phycology, 2008. **44**(1): p. 124-131.
41. Converti Attilio, Casazza Alessandro A, Ortiz Erika Y, Perego Patrizia, and Del Borghi Marco, *Effect of temperature and nitrogen concentration on the growth and lipid content of Nannochloropsis oculata and Chlorella vulgaris for biodiesel production*. Chemical Engineering and Processing: Process Intensification, 2009. **48**(6): p. 1146-1151.
42. Council National Research, Earth Division on, Studies Life, Fish Committee on the Nutrient Requirements of, and Shrimp, *Nutrient requirements of fish and shrimp*. 2011: National academies press.
43. Couto Cynthia, Hernández Carlos Prentice, Alves Sobrinho Rui Carlos M, Mendes Carlos Rafael Borges, Roselet Fabio, and Abreu Paulo Cesar, *Optimization of a low-cost fertilizer-based medium for large-scale cultivation of the coastal diatom Conticribra weissflogii using response surface methodology and its effects on biomass composition*. Journal of Applied Phycology, 2021. **33**: p. 2767-2781.

44. Cuellar-Bermudez Sara P, Aguilar-Hernandez Iris, Cardenas-Chavez Diana L, Ornelas-Soto Nancy, Romero-Ogawa Miguel A, and Parra-Saldivar Roberto, *Extraction and purification of high-value metabolites from microalgae: Essential lipids, astaxanthin and phycobiliproteins*. Microbial biotechnology, 2015. **8**(2): p. 190-209.
45. D'Alessandro Emmanuel B and Antoniosi Filho Nelson R, *Concepts and studies on lipid and pigments of microalgae: A review*. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 2016. **58**: p. 832-841.
46. Darvehei Pooya, Bahri Parisa A, and Moheimani Navid R, *Model development for the growth of microalgae: A review*. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 2018. **97**: p. 233-258.
47. De Moraes Laenne Barbara Silva, Santos Rudã Fernandes Brandão, Gonçalves Junior Genes Fernando, Mota Gécica Cavalcanti Pereira, Dantas Danielli Matias de Macêdo, de Souza Bezerra Ranilson, and Olivera Gálvez Alfredo, *Microalgae for feeding of penaeid shrimp larvae: An overview*. Aquaculture International, 2022. **30**(3): p. 1295-1313.
48. Dhert Philippe and Sorgeloos Patrick, *Live feeds in aquaculture*. Infofish International, 1995. **2**(95): p. 31-9.
49. Ebrahimi Esmat and Salarzadeh Alireza, *The effect of temperature and salinity on the growth of Skeletonema costatum and Chlorella capsulata in vitro*. International Journal of Life Sciences, 2016. **10**(1): p. 40-44.
50. Fakhri M, Arifin NB, Budianto B, Yuniarti A, and Hariati AM, *Effect of Salinity and Photoperiod on Growth of Microalgae Nannochloropsis sp. and Tetraselmis sp.* Nature Environment and Pollution Technology, 2015. **14**(3): p. 563.
51. Fogg Gordon Elliott and Thake Brenda, *Algal cultures and phytoplankton ecology*. 1987: Univ of Wisconsin Press.
52. Fu Weiqi, Guðmundsson Ólafur, Paglia Giuseppe, Herjólfsson Gísli, Andrésson Ólafur S, Palsson Bernhard Ø, and Brynjólfsson Sigurður, *Enhancement of carotenoid biosynthesis in the green microalga Dunaliella salina with light-emitting diodes and adaptive laboratory evolution*. Applied microbiology and biotechnology, 2013. **97**: p. 2395-2403.
53. García Norma, López-Elías José Antonio, Miranda Anselmo, Martínez-Porchas Marcel, Huerta Nolberta, and García Antonio, *Effect of salinity on growth and chemical composition of the diatom Thalassiosira weissflogii at three culture phases*. Latin American Journal of Aquatic Research, 2012. **40**(2): p. 435-440.
54. Gatamaneni Bhalamurugan Loganathan, Orsat Valérie, and Lefsrud Mark, *Factors affecting growth of various microalgal species*. Environmental Engineering Science, 2018. **35**(10): p. 1037-1048.
55. Goldman Joel C and McCarthy James J, *Steady state growth and ammonium uptake of a fast-growing marine diatom 1*. Limnology and oceanography, 1978. **23**(4): p. 695-703.
56. Gómez-Loredo Alma, Benavides Jorge, and Rito-Palomares Marco, *Growth kinetics and fucoxanthin production of Phaeodactylum tricornutum and Isochrysis galbana cultures at different light and agitation conditions*. Journal of Applied Phycology, 2016. **28**: p. 849-860.
57. Griffiths Melinda J, Garcin Clive, van Hille Robert P, and Harrison Susan TL, *Interference by pigment in the estimation of microalgal biomass concentration by optical density*. Journal of microbiological methods, 2011. **85**(2): p. 119-123.

58. Hallegraeff Gustaaf M, *Ocean climate change, phytoplankton community responses, and harmful algal blooms: A formidable predictive challenge 1*. Journal of phycology, 2010. **46**(2): p. 220-235.
59. Harwood John L, *Membrane lipids in algae*, in *Lipids in photosynthesis: structure, function and genetics*. 1998, Springer. p. 53-64.
60. Iba WA, Rice Michael A, and Wikfors Gary H, *Microalgae in eastern pacific white shrimp, Litopenaeus vannamei (Boone 1931) hatcheries: a review on roles and culture environments*. Asian Fisheries Science, 2014. **27**(3): p. 212-233.
61. Jamali Hadi, Ahmadifard Nasrollah, and Abdollahi Daruosh, *Evaluation of growth, survival and body composition of larval white shrimp (Litopenaeus vannamei) fed the combination of three types of algae*. International Aquatic Research, 2015. **7**: p. 115-122.
62. Jamali Hadi, Imani Ahmad, Abdollahi Daruosh, Roozbehfar Reza, and Isari Amin, *Use of probiotic Bacillus spp. in rotifer (Brachionus plicatilis) and Artemia (Artemia urmiana) enrichment: Effects on growth and survival of Pacific white shrimp, Litopenaeus vannamei, Larvae*. Probiotics and antimicrobial proteins, 2015. **7**: p. 118-125.
63. Jia Fei, Kacira Murat, and Ogden Kimberly L, *Multi-wavelength based optical density sensor for autonomous monitoring of microalgae*. Sensors, 2015. **15**(9): p. 22234-22248.
64. Juneja Ankita, Ceballos Ruben Michael, and Murthy Ganti S, *Effects of environmental factors and nutrient availability on the biochemical composition of algae for biofuels production: A review*. Energies, 2013. **6**(9): p. 4607-4638.
65. Kanazawa Akio and Koshio Shunsuke, *Lipid nutrition of the spiny lobster Panulirus japonicus (Decapoda, Palinuridae): a review*. Crustaceana, 1994. **67**(2): p. 226-232.
66. Kanazawa Akio, Teshima SI, and Ono Kazuo, *Relationship between essential fatty acid requirements of aquatic animals and the capacity for bioconversion of linolenic acid to highly unsaturated fatty acids*. Comparative Biochemistry and physiology. B, Comparative Biochemistry, 1979. **63**(3): p. 295-298.
67. Khojasteh Zahra, Davoodi Reza, Vaghei Reza Ghorbani, and Nooryazdan Hamidreza, *Survival, development and growth of whiteleg shrimp, Litopenaeus vannamei zoea fed with monoalgae (Chaetoceros and Tetraselmis) diets*. World Journal of Fish and Marine Sciences, 2013. **5**(5): p. 553-555.
68. Kiatmetha Pauline, Siangdang Wipawan, Bunnag Boosya, Senapin Saengchan, and Withyachumnarnkul Boonsirm, *Enhancement of survival and metamorphosis rates of Penaeus monodon larvae by feeding with the diatom Thalassiosira weissflogii*. Aquaculture International, 2011. **19**: p. 599-609.
69. Krichnavaruk Sontaya, Loataweesup Worapannee, Powtongsook Sorawit, and Pavasant Prasert, *Optimal growth conditions and the cultivation of Chaetoceros calcitrans in airlift photobioreactor*. Chemical Engineering Journal, 2005. **105**(3): p. 91-98.
70. Laing Ian and Utting Susan D, *The influence of salinity on the production of two commercially important unicellular marine algae*. Aquaculture, 1980. **21**(1): p. 79-86.
71. Lavens Patrick and Sorgeloos Patrick, *Manual on the production and use of live food for aquaculture*. 1996: Food and Agriculture Organization (FAO).

72. Laws Edward A, Bidigare Robert R, and Popp Brian N, *Effect of growth rate and CO₂ concentration on carbon isotopic fractionation by the marine diatom Phaeodactylum tricornutum*. Limnology and Oceanography, 1997. **42**(7): p. 1552-1560.
73. Lee Eunyoung, Jalalizadeh Mehregan, and Zhang Qiong, *Growth kinetic models for microalgae cultivation: A review*. Algal research, 2015. **12**: p. 497-512.
74. Liao I-Chiu, Su Huei-Meei, and Lin Jaw-Hwa, *Larval foods for Penaeid prawns*. CRC handbook of Mariculture, 1993. **1**: p. 29-59.
75. Luu Thi Tam, Nguyen Van Cong , Le Thi Thom, Nguyen Cam Ha, Nguyen Thi Minh Hang, Chau Van Cong, Do Thi Hoa Vien, and Dang Diem Hong, *Cultivation and biomass production of the diatom Thalassiosira weissflogii as a live feed for white-leg shrimp in hatcheries and commercial farms in Vietnam*. Journal of Applied Phycology, 2021. **33**: p. 1559-1577.
76. Ma Mingyang and Hu Qiang, *Microalgae as feed sources and feed additives for sustainable aquaculture: Prospects and challenges*. Reviews in Aquaculture, 2024. **16**(2): p. 818-835.
77. Mai Thao Duc, *Influences of ambient ammonium and phosphate concentrations on the expression of nutrient uptake genes in the marine diatom, Chaetoceros affinis*, in *Institute of Marine Biology*. 2013, National Taiwan Ocean University: Institute of Marine Biology. p. 12.
78. Markou Giorgos, Vandamme Dries, and Muylaert Koenraad, *Microalgal and cyanobacterial cultivation: The supply of nutrients*. Water research, 2014. **65**: p. 186-202.
79. Martínez-Córdova Luis R, Campaña-Torres Alfredo, Martínez-Porchas Marcel, López-Elías José A, and García-Sifuentes Celia O, *Effect of alternative mediums on production and proximate composition of the microalgae Chaetoceros muelleri as food in culture of the copepod Acartia sp*. Latin American Journal of Aquatic Research, 2012. **40**(1): p. 169-176.
80. Martínez-Fernández Erika, Acosta-Salmón Héctor, and Southgate Paul C, *The nutritional value of seven species of tropical microalgae for black-lip pearl oyster (Pinctada margaritifera, L.) larvae*. Aquaculture, 2006. **257**(1-4): p. 491-503.
81. Mata Teresa M, Martins Antonio A, and Caetano Nidia S, *Microalgae for biodiesel production and other applications: A review*. Renewable and sustainable energy reviews, 2010. **14**(1): p. 217-232.
82. McKinnon AD, Duggan S, Nichols PD, Rimmer MA, Semmens G, and Robino B, *The potential of tropical paracalanid copepods as live feeds in aquaculture*. Aquaculture, 2003. **223**(1-4): p. 89-106.
83. Miao Hongli, Sun Lina, Tian Qingzhen, Wang Shanshan, and Wang Jing, *Study on the effect of monochromatic light on the growth of the red tide diatom Skeletonema costatum*. Optics and Photonics Journal, 2012. **2**.
84. Minggat Elizerberth, Roseli Wardina, and Tanaka Yasuaki, *Nutrient absorption and biomass production by the marine diatom Chaetoceros muelleri: Effects of temperature, salinity, photoperiod, and light intensity*. Journal of Ecological Engineering, 2021. **22**(1): p. 231-240.
85. Mobin Saleh MA, Chowdhury Harun, and Alam Firoz, *Commercially important bioproducts from microalgae and their current applications—A review*. Energy Procedia, 2019. **160**: p. 752-760.

86. Mostafa Soha SM, *Microalgal biotechnology: Prospects and Applications*. Plant science, 2012. **12**: p. 276-314.
87. Mulderij G, Mooij WM, Smolders Alfons J P, and Van Donk E, *Allelopathic inhibition of phytoplankton by exudates from Stratiotes aloides*. Aquatic Botany, 2005. **82**(4): p. 284-296.
88. Napolitano Guillermo E, Ackman Robert G, and Ratnayake Walisundara MN, *Fatty acid composition of three cultured algal species (Isochrysis galbana, Chaetoceros gracilis and Chaetoceros calcitrans) used as food for bivalve larvae*. Journal of the World Aquaculture Society, 1990. **21**(2): p. 122-130.
89. Nuñez Maximiano, Lodeiros César, De Donato Marcos, and Graziani César, *Evaluation of microalgae diets for Litopenaeus vannamei larvae using a simple protocol*. Aquaculture International, 2002. **10**: p. 177-187.
90. Okauchi Masanori and Tokuda Masaharu. *Trophic value of the unicellular diatom Phaeodactylum tricornutum for larvae of Kuruma prawn, Penaeus japonicus*. in *Symposium on aquaculture and pathobiology of crustaceans and other species in conjunctions with the 32nd UJNR Aquaculture panel meeting*. 2003. Citeseer.
91. Paes Caroline RPS, Faria Gabrielle R, Tinoco Natália AB, Castro Dominique JFA, Barbarino Elisabete, and Lourenço Sergio O, *Growth, nutrient uptake and chemical composition of Chlorella sp. and Nannochloropsis oculata under nitrogen starvation*. Latin American Journal of Aquatic Research, 2016. **44**(2): p. 275-292.
92. Pancha Imran, Chokshi Kaumeel, George Basil, Ghosh Tonmoy, Paliwal Chetan, Maurya Rahulkumar, and Mishra Sandhya, *Nitrogen stress triggered biochemical and morphological changes in the microalgae Scenedesmus sp. CCNM 1077*. Bioresource technology, 2014. **156**: p. 146-154.
93. Patel Alok, Pruthi Vikas, and Pruthi Parul A, *Synchronized nutrient stress conditions trigger the diversion of CDP-DG pathway of phospholipids synthesis towards de novo TAG synthesis in oleaginous yeast escalating biodiesel production*. Energy, 2017. **139**: p. 962-974.
94. Patil Vishwanath, Källqvist Torsten, Olsen Elisabeth, Vogt Gjermund, and Gislerød Hans R, *Fatty acid composition of 12 microalgae for possible use in aquaculture feed*. Aquaculture International, 2007. **15**: p. 1-9.
95. Pérez Leticia, Salgueiro Jose Luis, González Jerónimo, Parralejo Ana Isabel, Maceiras Rocío, and Cancela Ángeles, *Scaled up from indoor to outdoor cultures of Chaetoceros gracilis and Skeletonema costatum microalgae for biomass and oil production*. Biochemical Engineering Journal, 2017. **127**: p. 180-187.
96. Pina Pablo, Voltolina Domenico, Nieves Mario, and Robles Mariana, *Survival, development and growth of the Pacific white shrimp Litopenaeus vannamei protozoa larvae, fed with monoalgal and mixed diets*. Aquaculture, 2006. **253**(1-4): p. 523-530.
97. Priyadarshani Indira and Rath Biswajit, *Commercial and industrial applications of micro algae—A review*. Journal of Algal Biomass Utilization, 2012. **3**(4): p. 89-100.
98. Procházková Gita, Brányiková Irena, Zachleder Vilém, and Brányik Tomáš, *Effect of nutrient supply status on biomass composition of eukaryotic green microalgae*. Journal of applied phycology, 2014. **26**: p. 1359-1377.

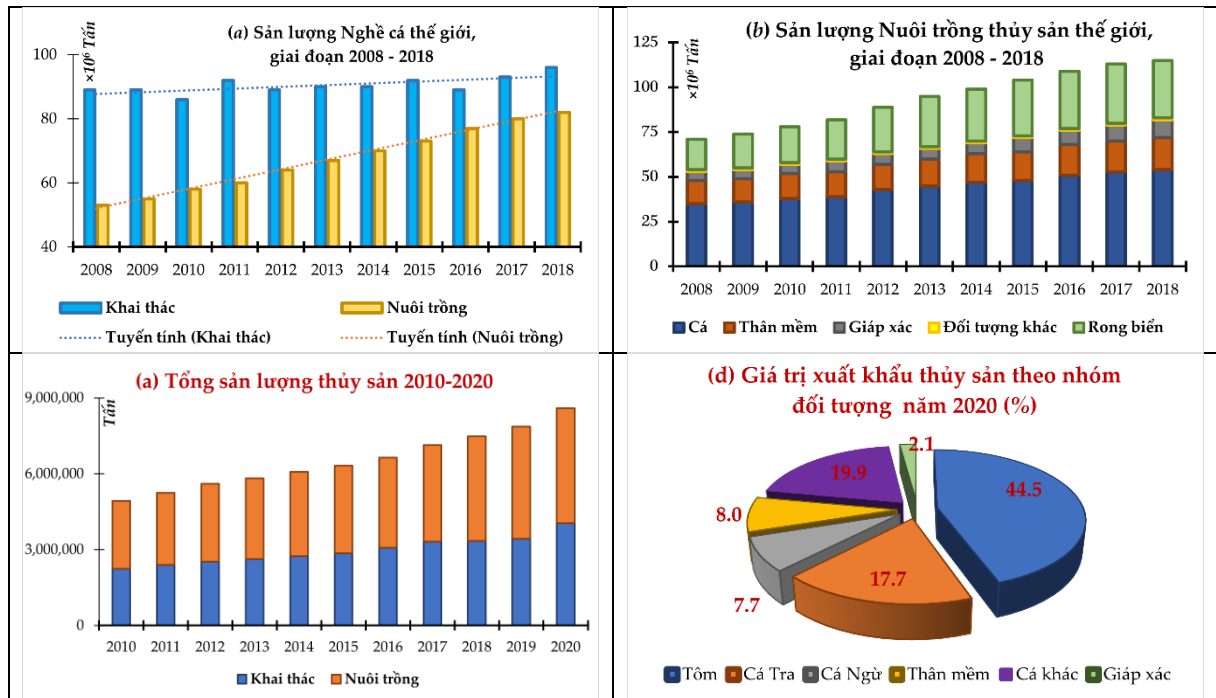
99. Pulz Otto, *Photobioreactors: production systems for phototrophic microorganisms*. Applied microbiology and biotechnology, 2001. **57**: p. 287-293.
100. Quach Thi Khanh Ngoc, Bui Bich Xuan, Sandorf Erlend Dancke, Truong Ngoc Phong, Luong Cong Trung, and Tang Thi Hien, *Willingness to adopt improved shrimp aquaculture practices in Vietnam*. Aquaculture Economics & Management, 2021. **25**(4): p. 430-449.
101. Ras Monique, Steyer Jean-Philippe, and Bernard Olivier, *Temperature effect on microalgae: A crucial factor for outdoor production*. Reviews in environmental science and bio/technology, 2013. **12**(2): p. 153-164.
102. Renaud Susan M, Thinh Luong-Van, Lambrinidis George, and Parry David L, *Effect of temperature on growth, chemical composition and fatty acid composition of tropical Australian microalgae grown in batch cultures*. Aquaculture, 2002. **211**(1-4): p. 195-214.
103. Renaud Susan M, Thinh Luong-Van, and Parry David L, *The gross chemical composition and fatty acid composition of 18 species of tropical Australian microalgae for possible use in mariculture*. Aquaculture, 1999. **170**(2): p. 147-159.
104. Richmond Amos, *Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology*. Vol. 577. 2004: Wiley Online Library.
105. Rodríguez Erika O, López-Elías José A, Aguirre-Hinojosa Eduardo, Constantino-Franco Francisco, Miranda-Baeza Anselmo, and Nieves-Soto Mario, *Evaluation of the nutritional quality of Chaetoceros muelleri Schütt (Chaetocerotales: chaetocerotaceae) and Isochrysis sp. (Isochrysidales: isochrysidaceae) grown outdoors for the larval development of Litopenaeus Vannamei (Boone, 1931) (Decapoda: Penaeidae)*. Archives of Biological Sciences, 2012. **64**(3): p. 963-970.
106. Roopnarain Aa, Gray VM, and Sym SD, *Phosphorus limitation and starvation effects on cell growth and lipid accumulation in Isochrysis galbana U4 for biodiesel production*. Bioresource technology, 2014. **156**: p. 408-411.
107. Round FE, *The Diatoms: Biology and Morphology of the Genera*. Vol. 747. 1990: Cambridge University Press.
108. Salas-Leiva Joan, Dupré Enrique, and Salas-Leiva Dayana, *Proximate composition analysis posterior to the cryopreservation of Chaetoceros calcitrans*. Revista MVZ Córdoba, 2016. **21**(1): p. 5258-5264.
109. Sandnes JM, Källqvist T, Wenner D, and Gislerød HR, *Combined influence of light and temperature on growth rates of Nannochloropsis oceanica: linking cellular responses to large-scale biomass production*. Journal of Applied Phycology, 2005. **17**: p. 515-525.
110. Sheen SS and Huang HT, *The effects of different protein sources on the survival of grass shrimp, Penaeus monodon (Fabricius, 1798) larvae from zoea to postlarva (Decapoda, Natantia)*. Crustaceana, 1998. **71**(8): p. 909-924.
111. Shekarabi Seyed Pezhman Hosseini, Mehrgan Mehdi Shamsaie, Razi Niloofar, and Sabzi Soheila, *Biochemical composition and fatty acid profile of the marine microalga Isochrysis galbana dried with different methods*. The Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences, 2019. **9**(3): p. 521.
112. Shiau Shi-Yen, *Nutrient requirements of penaeid shrimps*. Aquaculture, 1998. **164**(1-4): p. 77-93.

113. Shields Robin J and Lupatsch Ingrid, *Algae for aquaculture and animal feeds*. J Anim Sci, 2012. **21**(1): p. 23-37.
114. Singh Satendra P and Singh Priyanka, *Effect of temperature and light on the growth of algae species: A review*. Renewable and sustainable energy reviews, 2015. **50**: p. 431-444.
115. Stickney Robert R and Treece Granvil D, *History of aquaculture*. Aquaculture production systems, 2012: p. 15-50.
116. Strizh IG, Popova LG, and Balnokin Yu V, *Physiological aspects of adaptation of the marine microalga Tetraselmis (Platymonas) viridis to various medium salinity*. Russian Journal of Plant Physiology, 2004. **51**: p. 176-182.
117. Suárez Aleikar, Guevara Miguel, González Mayelys, Cortez Roraysi, and Arredondo-Vega Bertha, *Growth and biochemical composition of Thalassiosira pseudonana (Thalassiosirales: Thalassiosiraceae) cultivated in semicontinuous system at different culture media and irradiances*. Revista de Biología Tropical, 2013. **61**(3): p. 1003-1013.
118. Tang Yapeng, Wang Ruixuan, Tan Liqi, Guo Li, Duan Yafei, Yang Lishi, Jiang Shigui, Zhou Falin, Jiang Song, and Huang Jianhua, *Effects of live microalgae and algae powder on microbial community, survival, metamorphosis and digestive enzyme activity of Penaeus monodon larvae at different growth stages*. Aquaculture, 2020. **526**: p. 735344.
119. Thornton Daniel CO, *Effect of low pH on carbohydrate production by a marine planktonic diatom (Chaetoceros muelleri)*. International Journal of Ecology, 2009. **2009**(1): p. 105901.
120. Trivedi Jayati, Aila Mounika, Bangwal DP, Kaul Savita, and Garg MO, *Algae based biorefinery—how to make sense?* Renewable and Sustainable Energy Reviews, 2015. **47**: p. 295-307.
121. Varela Joao C, Pereira Hugo, Vila Marta, and León Rosa, *Production of carotenoids by microalgae: achievements and challenges*. Photosynthesis research, 2015. **125**: p. 423-436.
122. Wang Xin-Wei, Liang Jun-Rong, Luo Chun-Shan, Chen Chang-Ping, and Gao Ya-Hui, *Biomass, total lipid production, and fatty acid composition of the marine diatom Chaetoceros muelleri in response to different CO₂ levels*. Bioresource technology, 2014. **161**: p. 124-130.
123. Wei Jiankai, Zhang Xiaojun, Yu Yang, Huang Hao, Li Fuhua, and Xiang Jianhai, *Comparative transcriptomic characterization of the early development in Pacific white shrimp Litopenaeus vannamei*. PloS one, 2014. **9**(9): p. e106201.
124. Wiradana PA, Sani MD, Mawli RE, Ashshoffa FND, Widhiantara IG, and Mukti Akhmad Taufiq. *Monitoring the occurrence of Zoea Syndrome (ZS) in pacific white shrimp (Litopenaeus vannamei) larval from several hatcheries in East Java, Indonesia*. in IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. 2022. IOP Publishing.
125. Wouters R, Gomez L, Lavens Patrick, and Calderon J, *Feeding enriched Artemia biomass to Penaeus vannamei broodstock: Its effect on reproductive performance and larval quality*. 1999.
126. Yaakob Maizatul Azrina, Mohamed Radin Maya Saphira Radin, Al-Gheethi Adel, Aswathnarayana Gokare Ravishankar, and Ambati Ranga Rao, *Influence of nitrogen and phosphorus on microalgal growth, biomass, lipid, and fatty acid production: an overview*. Cells, 2021. **10**(2): p. 393.

127. Yang Fangfang, Xiang Wenzhou, Li Tao, and Long Lijuan, *Transcriptome analysis for phosphorus starvation-induced lipid accumulation in Scenedesmus sp.* Scientific reports, 2018. **8**(1): p. 16420.
128. Yang Ying and Weathers Pamela, *Red light and carbon dioxide differentially affect growth, lipid production, and quality in the microalga, Ettlia oleoabundans.* Applied microbiology and biotechnology, 2015. **99**: p. 489-499.
129. Yin Xu Wang, Min Wen Wu, Lin Hua Jian, and Chen Wei, *Population dynamics, protein content, and lipid composition of Brachionus plicatilis fed artificial macroalgal detritus and Nannochloropsis sp. diets.* Aquaculture, 2013. **380**: p. 62-69.
130. Zarrinmehr Mohammad Javad, Farhadian Omidvar, Heyrati Fatemeh Paykan, Keramat Javad, Koutra Eleni, Kornaros Michael, and Daneshvar Ehsan, *Effect of nitrogen concentration on the growth rate and biochemical composition of the microalga, Isochrysis galbana.* The Egyptian Journal of Aquatic Research, 2020. **46**(2): p. 153-158.
131. Zhang Runtao, Kong Zhouyan, Chen Sihan, Ran Zhaoshou, Ye Mengwei, Xu Jilin, Zhou Chengxu, Liao Kai, Cao Jiayi, and Yan Xiaojun, *The comparative study for physiological and biochemical mechanisms of Thalassiosira pseudonana and Chaetoceros calcitrans in response to different light intensities.* Algal research, 2017. **27**: p. 89-98.
132. Zhukova Natalia V and Aizdaicher Nina A, *Fatty acid composition of 15 species of marine microalgae.* Phytochemistry, 1995. **39**(2): p. 351-356.

PHỤ LỤC

Phụ lục 1. BỨC TRANH CHUNG VỀ NGHỀ CÁ TRÊN THẾ GIỚI VÀ Ở VIỆT NAM



Phụ lục 2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

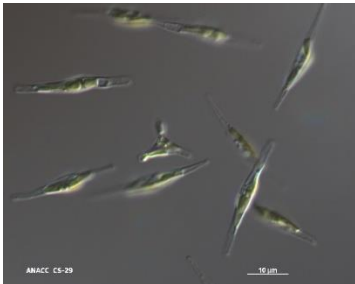
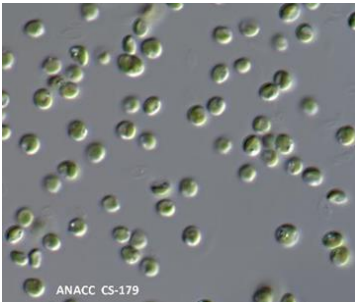
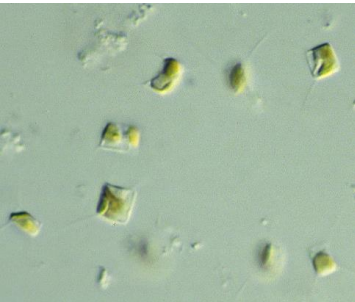
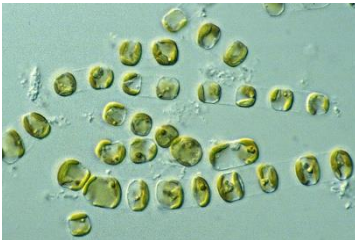
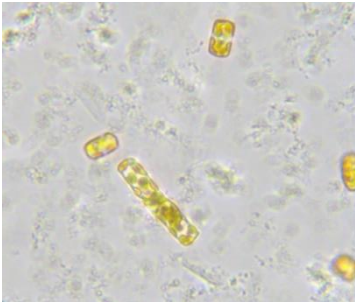
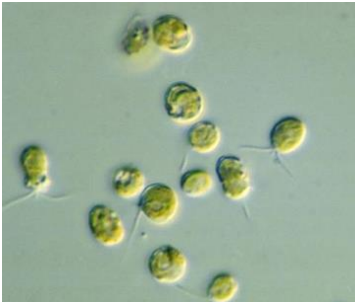
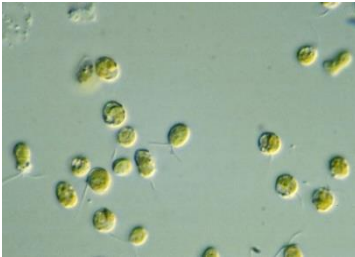
Phụ lục 2.1. Một số hình ảnh trong quá trình nhập nội giống vi tảo



Phụ lục 2.2. Chuẩn bị nước biển nhân tạo

STT	Hóa chất	Nồng độ (g/10L H ₂ O)
1	H ₃ BO ₃	0,12
2	CaCl ₂	11,10
3	MgCl ₂	19,04
4	MgSO ₄	24,08
5	KBr	2,02
6	KCl	7,46
7	NaHCO ₃	1,68
8	NaCl	233,75

Phụ lục 2.3 Hình ảnh các tế bào vi tảo trong nghiên cứu

 <i>Nitzschia closterium</i>	 <i>Phaeodactylum tricornutum</i>	 <i>Nannochloropsis oceanica</i>
 <i>Chaetoceros calcitrans</i>	 <i>Skeletonema pseudocostatum</i>	 <i>Thalassiosira pseudonana</i>
 <i>Thalassiosira weissflogii</i>	 <i>Isochrysis galbana</i>	 <i>Tisochrysis lutea</i>

Phụ lục 2.4. Một số hình ảnh bố trí thí nghiệm



Vệ sinh và chuẩn bị hệ thống



Tiền khảo sát xác định khẩu phần thức ăn *C. muelleri*



Tiền khảo sát khả năng sử dụng thức ăn ấu trùng tôm sú



Phân tích dữ liệu sinh trưởng quần thể tảo



Thu thập dữ liệu ấu trùng tôm



Triển khai thí nghiệm

PHỤ LỤC 3. PHỤ LỤC KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Sinh trưởng quần thể và thành phần sinh hóa một số chủng loài vi tảo tiên năng trong sản xuất giống tôm he (TN 1)

Phụ lục 3.1.1 Một số hình ảnh trong quá trình thí nghiệm 1



Thí nghiệm trên tảo N. oceanica



Thí nghiệm trên tảo T. lutea



Thí nghiệm trên tảo C. muelleri

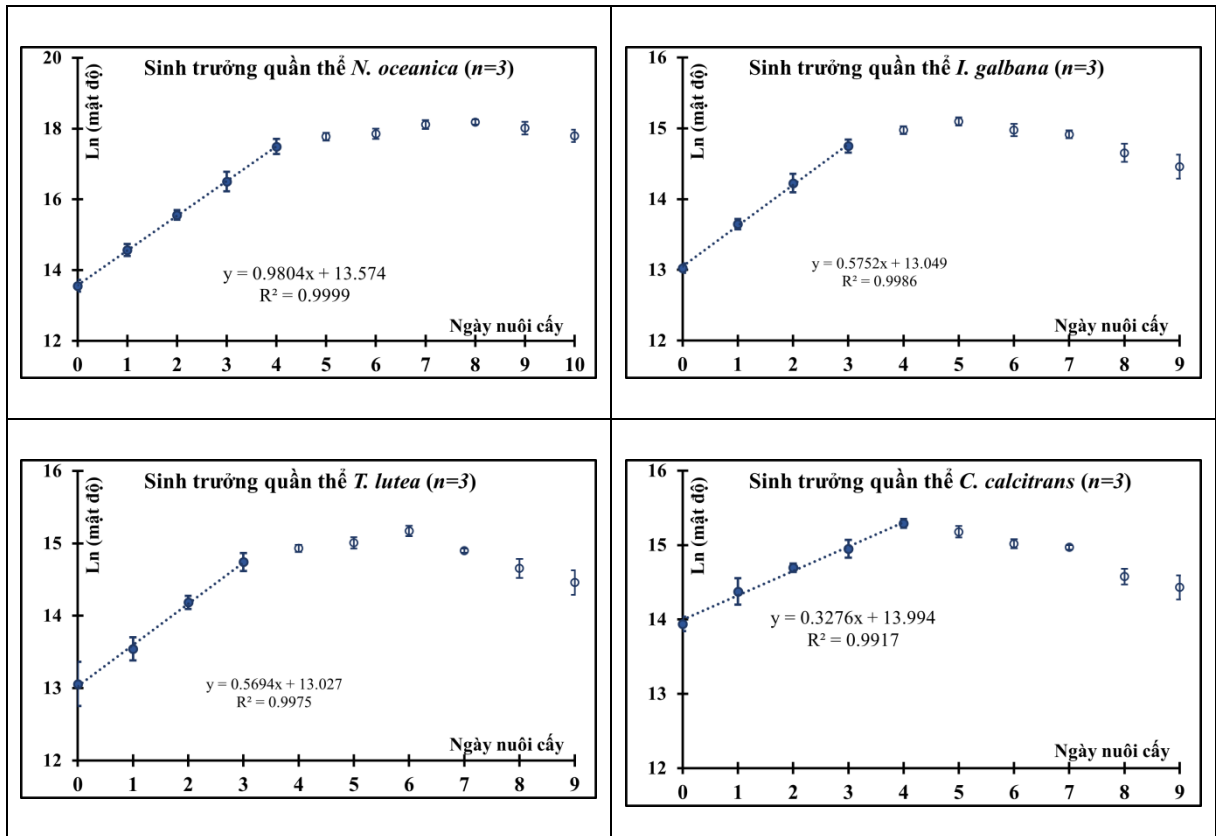


Thu thập dữ liệu sinh trưởng quần thể



Tảo giống P. tricornutum

Phụ lục 3.1.2. Đồ thị sinh trưởng quần thể của 4 chủng vi tảo trong thí nghiệm 1



Phụ lục 3.1.3. Phân tích thống kê ANOVA một yếu tố kết quả nghiên cứu trong thí nghiệm 1.

Descriptives									
		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
MCDs	C calcitrans	3	4370833.33	251499.669	145203.401	3746073.52	4995593.14	4105000	4605000
	C muelleri	3	8258333.33	345301.800	199360.087	7400556.11	9116110.56	7875000	8545000
	I galbana	3	3601666.67	202505.144	116916.399	3098616.00	4104717.33	3400000	3805000
	N oceanica	3	78916666.67	5625462.944	3247862.545	64942242.02	92891091.31	72500000	83000000
	P tricornutum	3	14366666.67	2043485.584	1179806.952	9290367.06	19442966.27	12500000	16550000
	T lutea	3	3884166.67	276815.974	159819.777	3196517.67	4571815.67	3700000	4202500
	T pseudonana	3	4114166.67	570998.759	329666.287	2695727.11	5532606.22	3487500	4605000
	T weissflogii	3	602500.00	40000.000	23094.011	503134.49	701865.51	562500	642500
	Total	24	14764375.00	25144709.62	5132642.358	4146695.32	25382054.68	562500	83000000
EGRs	C calcitrans	3	.33	.011	.007	.30	.36	0	0
	C muelleri	3	.71	.035	.020	.63	.80	1	1
	I galbana	3	.58	.037	.021	.48	.67	1	1
	N oceanica	3	.98	.075	.043	.79	1.17	1	1
	P tricornutum	3	.88	.071	.041	.70	1.05	1	1
	T lutea	3	.57	.146	.084	.21	.93	0	1
	T pseudonana	3	.81	.090	.052	.58	1.03	1	1
	T weissflogii	3	.72	.042	.024	.62	.83	1	1
	Total	24	.70	.205	.042	.61	.78	0	1
MaxSGRs	C calcitrans	3	.57	.045	.026	.46	.68	1	1
	C muelleri	3	.89	.132	.076	.56	1.22	1	1
	I galbana	3	.63	.064	.037	.47	.79	1	1
	N oceanica	3	1.24	.138	.080	.89	1.58	1	1
	P tricornutum	3	1.11	.059	.034	.97	1.26	1	1
	T lutea	3	.64	.167	.097	.23	1.06	0	1
	T pseudonana	3	1.06	.119	.069	.76	1.35	1	1
	T weissflogii	3	.95	.189	.109	.48	1.42	1	1
	Total	24	.89	.260	.053	.78	1.00	0	1

Test of Homogeneity of Variances

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
MCDs	9.476	7	16	.100
EGRs	3.080	7	16	.230
MaxSGRs	1.654	7	16	.191

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
MCDs	Between Groups	2.6E+13	2	1.3E+13	85.689	.000
	Within Groups	1.4E+12	9	1.5E+11		
	Total	2.7E+13	11			
EGRs	Between Groups	.033	2	.017	6.284	.020
	Within Groups	.024	9	.003		
	Total	.057	11			
SGRs	Between Groups	.216	2	.108	9.238	.007
	Within Groups	.105	9	.012		
	Total	.321	11			

MCDs

Duncan ^a	T.weissflogii	3	602500.0	8258333	1.44E+7	7.89E+7
	I.galbana	3	3601667			
	T.lutea	3	3884167			
	T.pseudonana	3	4114167			
	C.Calcitrans	3	4370833			
	C.muellerii	3				
	P.tricornutum	3				
	N.oceanica	3				
	Sig.		.067	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

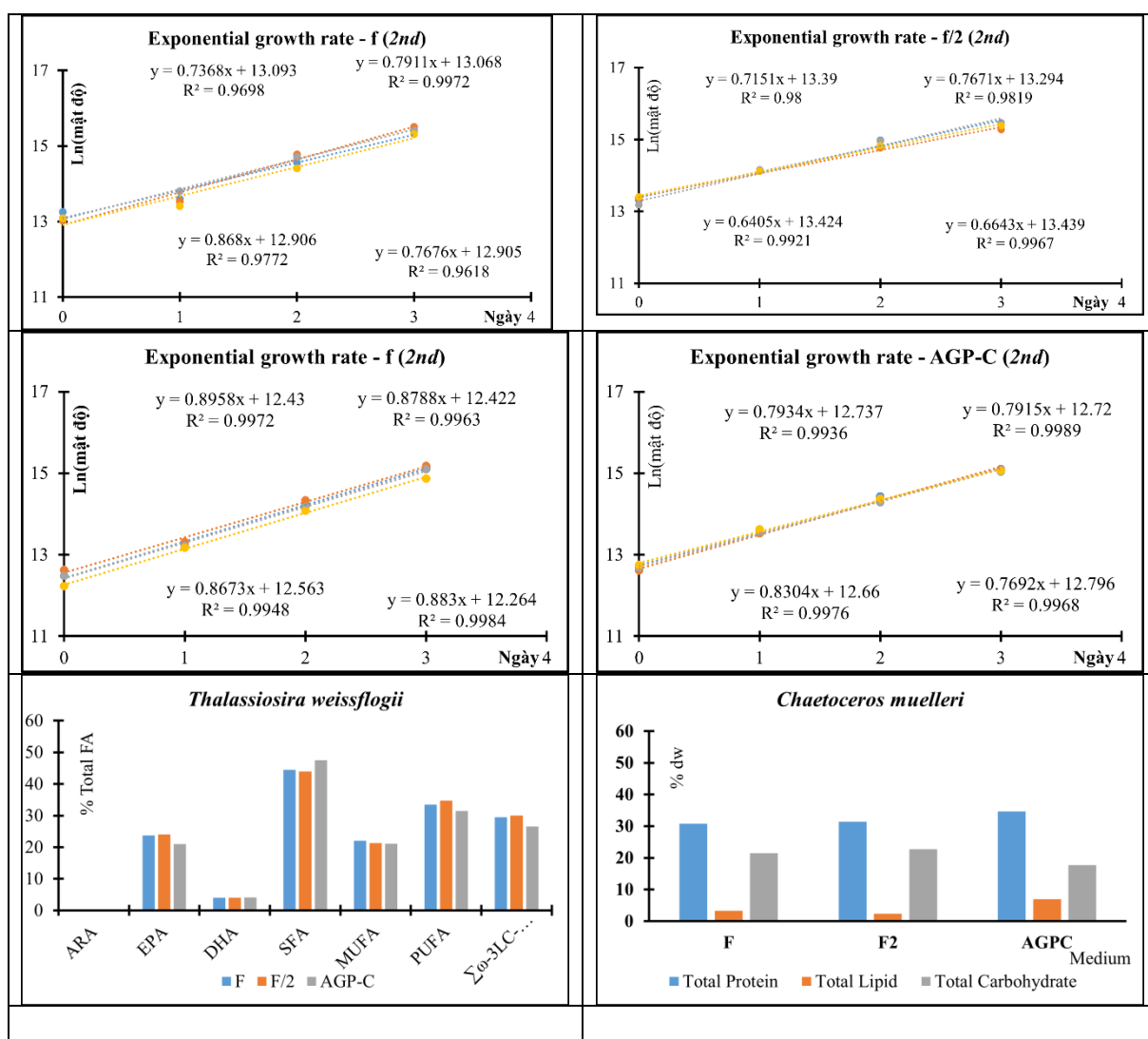
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

3.2. Ảnh hưởng của một số loại môi trường dinh dưỡng khác nhau lên sinh trưởng quần thể và thành phần sinh hóa vi tảo (TN 2)

Phụ lục 3.2.1. Một số hình ảnh trong quá trình thí nghiệm 2



Phụ lục 3.2.2. Một số hình ảnh kết quả kết quả nghiên cứu trong thí nghiệm 2



Phụ lục 3.2.3. Phân tích thống kê ANOVA một yếu tố trong thí nghiệm 2

❖ Sinh trưởng quần thể vi tảo *Chaetoceros muelleri* ở lần thí nghiệm thứ 1

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
MCDs	F	4	1.21E+7	475937.7	237968.8	1.13E+7	1.29E+7	1.14E+7	1.25E+7
	F/2	4	8542250	297059.6	148529.8	8069562	9014938	8256500	8907500
	AGP-C	4	9811875	374818.7	187409.4	9215455	1.04E+7	9285000	1.01E+7
	Total	12	1.02E+7	1577469	455376.0	9149099	1.12E+7	8256500	1.25E+7
EGRs	F	4	.8417	.06690	.03345	.7353	.9482	.76	.92
	F/2	4	.7206	.04598	.02299	.6474	.7938	.66	.76
	AGP-C	4	.7440	.03599	.01799	.6867	.8012	.70	.79
	Total	12	.7688	.07179	.02072	.7231	.8144	.66	.92
SGRs	F	4	1.2116	.10453	.05226	1.0452	1.3779	1.12	1.32
	F/2	4	.8846	.14853	.07427	.6482	1.1209	.73	1.08
	AGP-C	4	1.0768	.04573	.02287	1.0040	1.1496	1.02	1.13
	Total	12	1.0576	.17090	.04934	.9491	1.1662	.73	1.32

Test of Homogeneity of Variances

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
MCDs	.354	2	9	.711
EGRs	.235	2	9	.796
SGRs	1.698	2	9	.237

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
MCDs	Between Groups	2.6E+13	2	1.3E+13	85.689	.000
	Within Groups	1.4E+12	9	1.5E+11		
	Total	2.7E+13	11			
EGRs	Between Groups	.033	2	.017	6.284	.020
	Within Groups	.024	9	.003		
	Total	.057	11			
SGRs	Between Groups	.216	2	.108	9.238	.007
	Within Groups	.105	9	.012		
	Total	.321	11			

MCDs

		N	Subset for alpha = 0.05		
			1	2	3
Duncan ^a	F/2	4	8542250		
	AGP-C	4		9811875	
	F	4			1.21E+7
	Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

EGRs

		N	Subset for alpha = 0.05	
Medium			1	2
Duncan ^a	F/2	4	.7206	
	AGP-C	4	.7440	
	F	4		.8417
	Sig.		.536	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

SGRs

		N	Subset for alpha = 0.05	
Medium			1	2
Duncan ^a	F/2	4	.8846	
	AGP-C	4		1.0768
	F	4		1.2116
	Sig.		1.000	.112

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

❖ Sinh trưởng quần thể vi tảo *Chaetoceros muelleri* ở lần thí nghiệm thứ 2

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
MCDs	F	4	9946875	234052.8	117026.4	9574445	1.03E+7	9605000	1.01E+7
	F/2	4	7786875	313896.0	156948.0	7287396	8286354	7455000	8205000
	AGP-C	4	9924375	110987.5	55493.76	9747769	1.01E+7	9805000	1.00E+7
	Total	12	9219375	1079151	311524.1	8533715	9905035	7455000	1.01E+7
EGRs	F	4	.7909	.05602	.02801	.7017	.8800	.74	.87
	F/2	4	.6968	.05628	.02814	.6072	.7863	.64	.77
	AGP-C	4	.7344	.04069	.02034	.6697	.7992	.68	.77
	Total	12	.7407	.06167	.01780	.7015	.7799	.64	.87
SGRs	F	4	1.0270	.14392	.07196	.7980	1.2560	.92	1.24
	F/2	4	.8234	.11289	.05644	.6438	1.0031	.71	.97
	AGP-C	4	.8443	.06788	.03394	.7362	.9523	.78	.91
	Total	12	.8982	.13965	.04031	.8095	.9870	.71	1.24

Test of Homogeneity of Variances

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
MCDs	.882	2	9	.447
EGRs	.350	2	9	.714
SGRs	.742	2	9	.503

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
MCDs	Between Groups	1.2E+13	2	6.2E+12	111.514	.000
	Within Groups	5.0E+11	9	5.5E+10		
	Total	1.3E+13	11			
EGRs	Between Groups	.018	2	.009	3.382	.080
	Within Groups	.024	9	.003		
	Total	.042	11			
SGRs	Between Groups	.100	2	.050	3.954	.059
	Within Groups	.114	9	.013		
	Total	.215	11			

MCDs

		N	Subset for alpha = 0.05	
Medium			1	2
Duncan ^a	F/2	4	7786875	
	AGP-C	4		9924375
	F	4		9946875
	Sig.		1.000	.895

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

EGRs

		N	Subset for alpha = 0.05	
Medium			1	2
Duncan ^a	F/2	4	.6968	
	AGP-C	4	.7344	.7344
	F	4		.7909
	Sig.		.328	.156

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

SGRs

		N	Subset for alpha = 0.05	
Medium			1	2
Duncan ^a	F/2	4	.8234	
	AGP-C	4	.8443	
	F	4		1.0270
	Sig.		.800	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

❖ Sinh trưởng quần thể vi tảo *P. tricornutum* ở lần thí nghiệm thứ 1

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
MCDs	F	4	2.15E+7	2615806	1307903	1.74E+7	2.57E+7	1.85E+7	2.46E+7
	F/2	4	1.48E+7	1815667	907833.4	1.19E+7	1.77E+7	1.29E+7	1.65E+7
	AGP-C	4	1.82E+7	891582.2	445791.1	1.68E+7	1.96E+7	1.74E+7	1.93E+7
	Total	12	1.82E+7	3349934	967042.6	1.61E+7	2.03E+7	1.29E+7	2.46E+7
EGRs	F	4	.9478	.04809	.02405	.8712	1.0243	.90	1.01
	F/2	4	.7760	.01620	.00810	.7502	.8018	.76	.80
	AGP-C	4	.8630	.03610	.01805	.8055	.9204	.82	.90
	Total	12	.8623	.08014	.02314	.8113	.9132	.76	1.01
SGRs	F	4	1.0680	.06962	.03481	.9572	1.1788	.97	1.13
	F/2	4	.8984	.05039	.02520	.8182	.9786	.85	.97
	AGP-C	4	1.0031	.03312	.01656	.9504	1.0558	.98	1.05
	Total	12	.9898	.08740	.02523	.9343	1.0454	.85	1.13

Test of Homogeneity of Variances

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
MCDs	2.706	2	9	.120
EGRs	2.447	2	9	.142
SGRs	.709	2	9	.518

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
MCDs	Between Groups	9.1E+13	2	4.5E+13	12.435	.003
	Within Groups	3.3E+13	9	3.6E+12		
	Total	1.2E+14	11			
EGRs	Between Groups	.059	2	.030	22.822	.000
	Within Groups	.012	9	.001		
	Total	.071	11			
SGRs	Between Groups	.059	2	.029	10.359	.005
	Within Groups	.025	9	.003		
	Total	.084	11			

MCDs

		N	Subset for alpha = 0.05		
Medium			1	2	3
Duncan ^a	F/2	4	1.48E+7		
	AGP-C	4		1.82E+7	
	F	4			2.15E+7
	Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

EGRs

		N	Subset for alpha = 0.05		
Medium			1	2	3
Duncan ^a	F/2	4	.7760		
	AGP-C	4		.8630	
	F	4			.9478
	Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

SGRs

		N	Subset for alpha = 0.05	
Medium			1	2
Duncan ^a	F/2	4	.8984	
	AGP-C	4		1.0031
	F	4		1.0680
	Sig.		1.000	.118

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

❖ Sinh trưởng quần thể vi tảo *P. tricornutum* ở lần thí nghiệm thứ 2

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
MCDs	F	4	1.50E+7	1072658	536329.2	1.33E+7	1.67E+7	1.37E+7	1.61E+7
	F/2	4	1.02E+7	2210562	1105281	6731252	1.38E+7	8602500	1.35E+7
	AGP-C	4	1.52E+7	851181.9	425591.0	1.38E+7	1.65E+7	1.44E+7	1.63E+7
	Total	12	1.35E+7	2738808	790625.9	1.17E+7	1.52E+7	8602500	1.63E+7
EGRs	F	4	.8812	.01177	.00588	.8625	.8999	.87	.90
	F/2	4	.6935	.06105	.03053	.5963	.7906	.64	.76
	AGP-C	4	.7961	.02535	.01268	.7558	.8365	.77	.83
	Total	12	.7903	.08752	.02526	.7347	.8459	.64	.90
SGRs	F	4	.9722	.03627	.01814	.9145	1.0299	.94	1.02
	F/2	4	.7941	.03966	.01983	.7310	.8572	.75	.84
	AGP-C	4	.8850	.01434	.00717	.8621	.9078	.87	.90
	Total	12	.8837	.08130	.02347	.8321	.9354	.75	1.02

Test of Homogeneity of Variances

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
MCDs	.882	2	9	.447
EGRs	.350	2	9	.714
SGRs	.742	2	9	.503

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
MCDs	Between Groups	6.2E+13	2	3.1E+13	13.804	.002
	Within Groups	2.0E+13	9	2.3E+12		
	Total	8.3E+13	11			
EGRs	Between Groups	.071	2	.035	23.530	.000
	Within Groups	.014	9	.002		
	Total	.084	11			
SGRs	Between Groups	.063	2	.032	30.747	.000
	Within Groups	.009	9	.001		
	Total	.073	11			

MCDs

		N	Subset for alpha = 0.05	
Medium			1	2
Duncan ^a	F/2	4	1.02E+7	
	F	4		1.50E+7
	AGP-C	4		1.52E+7
	Sig.		1.000	.836

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

EGRs

		N	Subset for alpha = 0.05		
Medium			1	2	3
Duncan ^a	F/2	4	.6935		
	AGP-C	4		.7961	
	F	4			.8812
	Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

SGRs

		N	Subset for alpha = 0.05		
Medium			1	2	3
Duncan ^a	F/2	4	.7941		
	AGP-C	4		.8850	
	F	4			.9722
	Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

❖ Sinh trưởng quần thể vi tảo *T. weissflogii* ở lần thí nghiệm thứ 1

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
MCDs	F	4	673750.0	43612.88	21806.44	604352.2	743147.8	635000.0	735000.0
	F/2	4	401875.0	42591.81	21295.91	334101.9	469648.1	340000.0	437500.0
	AGP-C	4	515625.0	36077.17	18038.59	458218.2	573031.8	485000.0	555000.0
	Total	12	530416.7	122176.4	35269.30	452789.5	608043.9	340000.0	735000.0
EGRs	F	4	.9289	.03850	.01925	.8676	.9901	.89	.97
	F/2	4	.6975	.05269	.02634	.6136	.7813	.65	.75
	AGP-C	4	.7104	.05032	.02516	.6304	.7905	.68	.79
	Total	12	.7789	.11895	.03434	.7033	.8545	.65	.97
SGRs	F	4	1.2645	.06777	.03389	1.1566	1.3723	1.16	1.30
	F/2	4	.8948	.11142	.05571	.7175	1.0721	.75	1.01
	AGP-C	4	.9347	.10452	.05226	.7684	1.1010	.80	1.06
	Total	12	1.0313	.19380	.05595	.9082	1.1545	.75	1.30

Test of Homogeneity of Variances

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
MCDs	.000	2	9	1.000
EGRs	.543	2	9	.599
SGRs	.332	2	9	.726

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
MCDs	Between Groups	1.5E+11	2	7.5E+10	44.586	.000
	Within Groups	1.5E+10	9	1.67E+9		
	Total	1.6E+11	11			
EGRs	Between Groups	.135	2	.068	29.879	.000
	Within Groups	.020	9	.002		
	Total	.156	11			
SGRs	Between Groups	.329	2	.165	17.687	.001
	Within Groups	.084	9	.009		
	Total	.413	11			

MCDs

		N	Subset for alpha = 0.05		
Medium			1	2	3
Duncan ^a	F/2	4	401875.0	515625.0	673750.0
	AGP-C	4			
	F	4			
	Sig.			1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

EGRs

		N	Subset for alpha = 0.05	
Medium			1	2
Duncan ^a	F/2	4	.6975	
	AGP-C	4	.7104	
	F	4		.9289
	Sig.		.709	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

SGRs

		N	Subset for alpha = 0.05	
Medium			1	2
Duncan ^a	F/2	4	.8948	1.2645
	AGP-C	4	.9347	
	F	4		
	Sig.		.573	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

❖ Sinh trưởng quần thể vi tảo *T. weissflogii* ở lần thí nghiệm thứ 2

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
MCDs	F	4	1030625	61079.70	30539.85	933433.6	1127816	962500.0	1102500
	F/2	4	630000.0	35939.76	17969.88	572811.8	687188.2	602500.0	682500.0
	AGP-C	4	843750.0	62732.90	31366.45	743928.0	943572.0	785000.0	922500.0
	Total	12	834791.7	177957.0	51371.77	721723.2	947860.2	602500.0	1102500
EGRs	F	4	.9675	.05471	.02736	.8805	1.0546	.90	1.04
	F/2	4	.7637	.06393	.03196	.6619	.8654	.73	.86
	AGP-C	4	.8587	.03725	.01863	.7994	.9180	.82	.89
	Total	12	.8633	.09938	.02869	.8001	.9264	.73	1.04
SGRs	F	4	1.1647	.04779	.02389	1.0886	1.2407	1.12	1.23
	F/2	4	.9002	.06329	.03164	.7995	1.0009	.84	.98
	AGP-C	4	1.0194	.07121	.03561	.9061	1.1327	.92	1.08
	Total	12	1.0281	.12592	.03635	.9481	1.1081	.84	1.23

Test of Homogeneity of Variances

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
MCDs	1.293	2	9	.321
EGRs	.352	2	9	.713
SGRs	.306	2	9	.744

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
MCDs	Between Groups	3.2E+11	2	1.6E+11	53.833	.000
	Within Groups	2.7E+10	9	2.99E+9		
	Total	3.5E+11	11			
EGRs	Between Groups	.083	2	.042	14.744	.001
	Within Groups	.025	9	.003		
	Total	.109	11			
SGRs	Between Groups	.140	2	.070	18.528	.001
	Within Groups	.034	9	.004		
	Total	.174	11			

MCDs

		N	Subset for alpha = 0.05		
Medium			1	2	3
Duncan ^a	F/2	4	630000.0		
	AGP-C	4		843750.0	
	F	4			1030625
	Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

EGRs

		N	Subset for alpha = 0.05		
Medium			1	2	3
Duncan ^a	F/2	4	.7637		
	AGP-C	4		.8587	
	F	4			.9675
	Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

SGRs

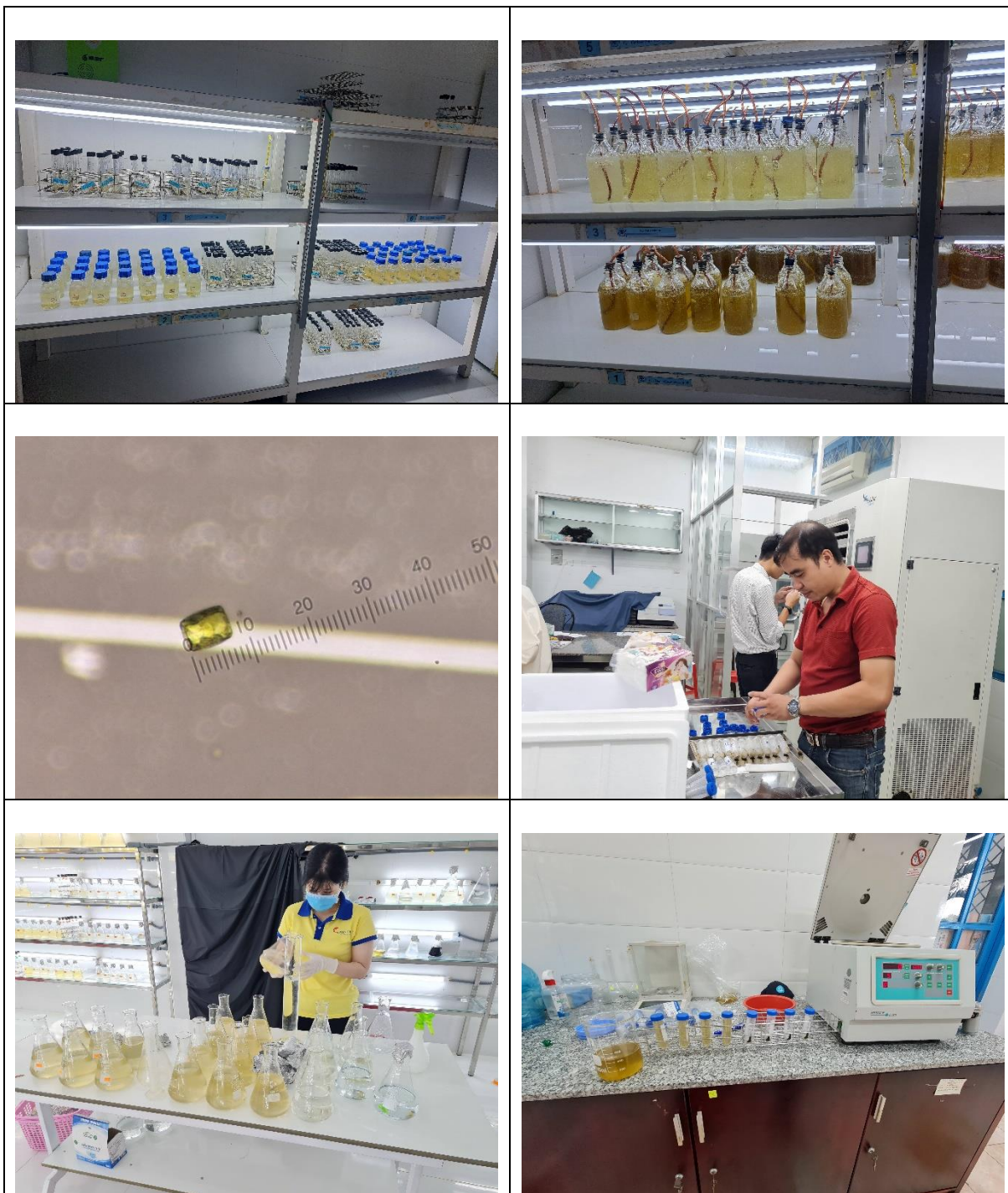
		N	Subset for alpha = 0.05		
Medium			1	2	3
Duncan ^a	F/2	4	.9002		
	AGP-C	4		1.0194	
	F	4			1.1647
	Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

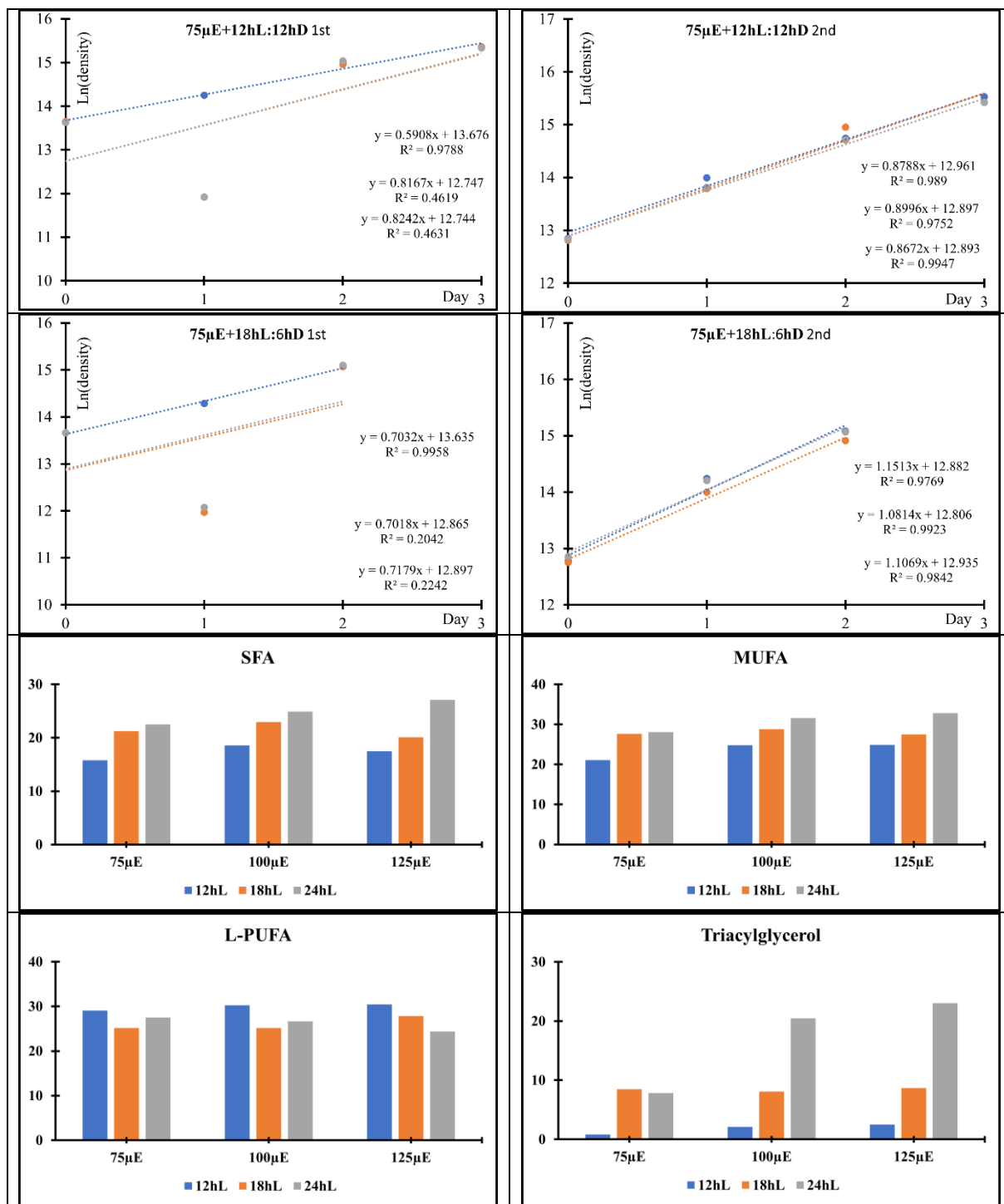
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

3.3. Tương tác giữa chu kì quang và cường độ chiếu sáng lên sinh trưởng quần thể và thành phần sinh hóa vi tảo (TN 3)

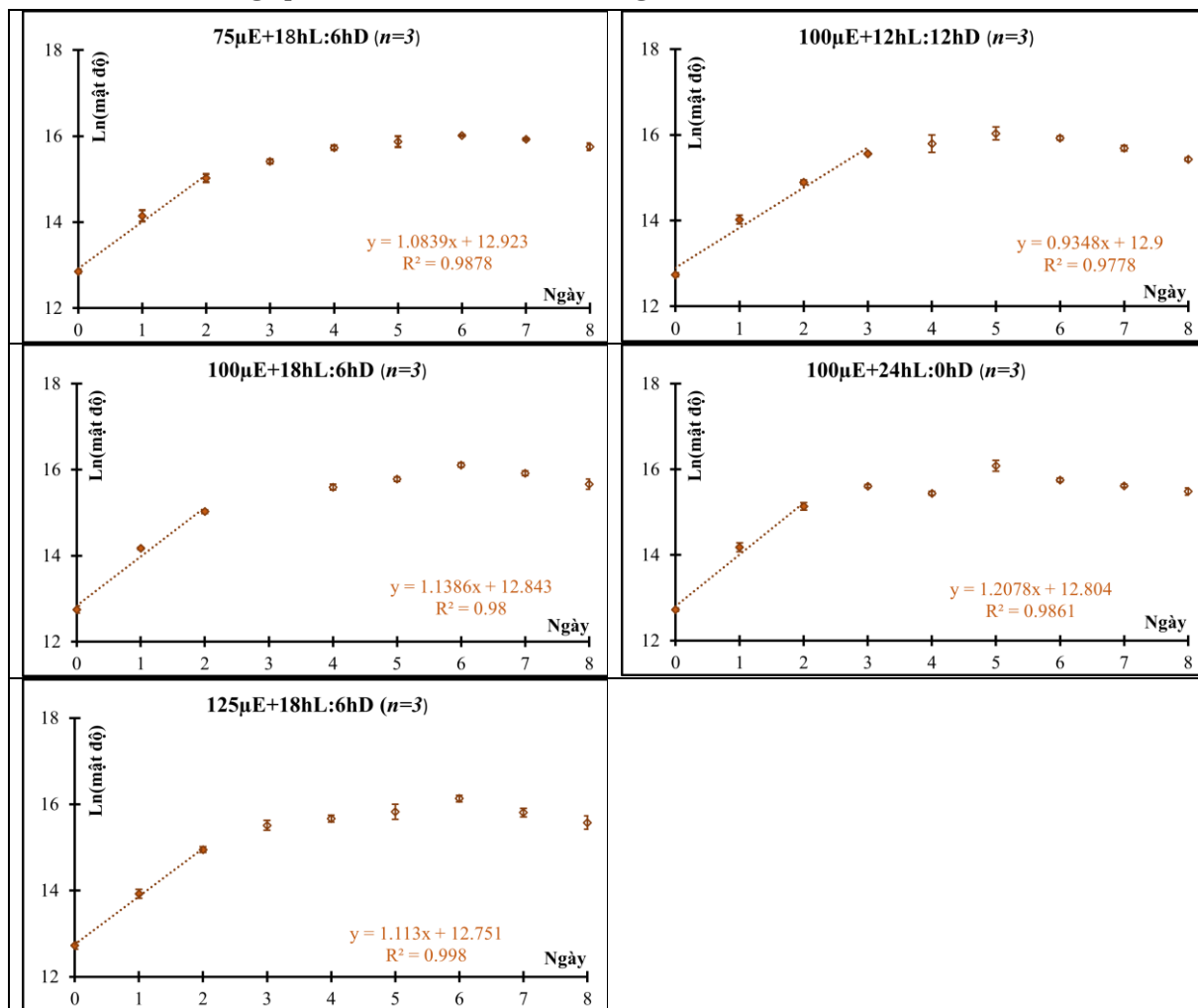
Phụ lục 3.3.1. Một số hình ảnh bố trí thí nghiệm 3



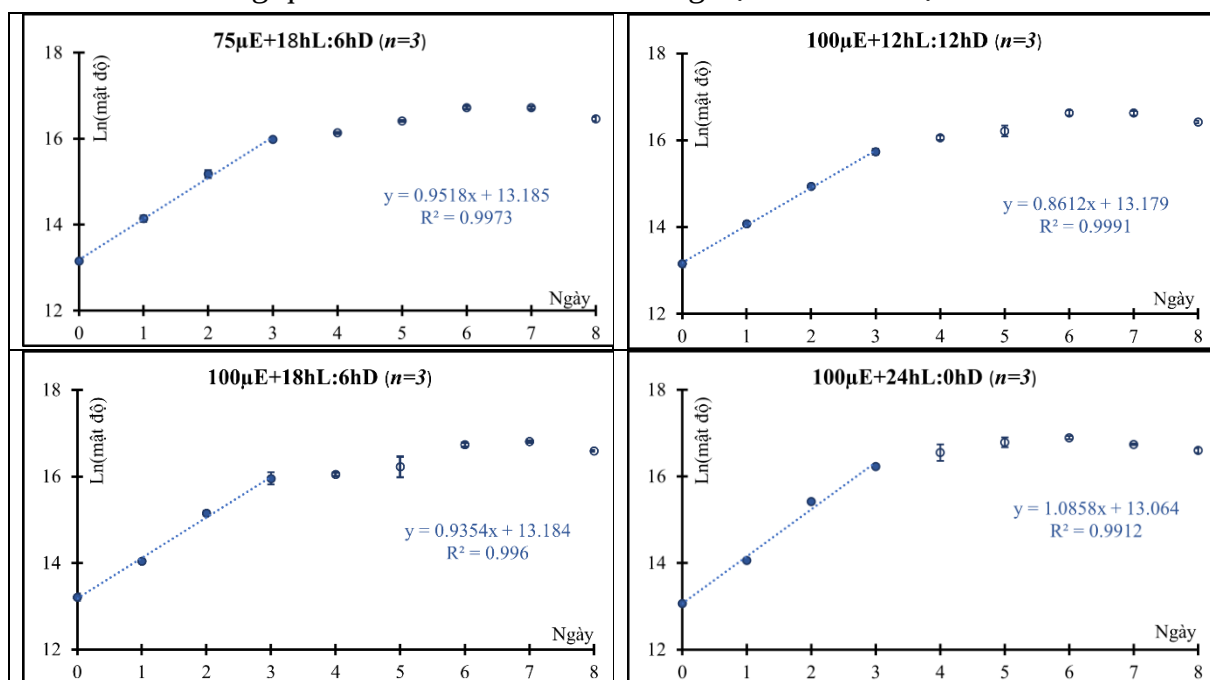
Phụ lục 3.3.2. Một số kết quả nghiên cứu trong thí nghiệm 3

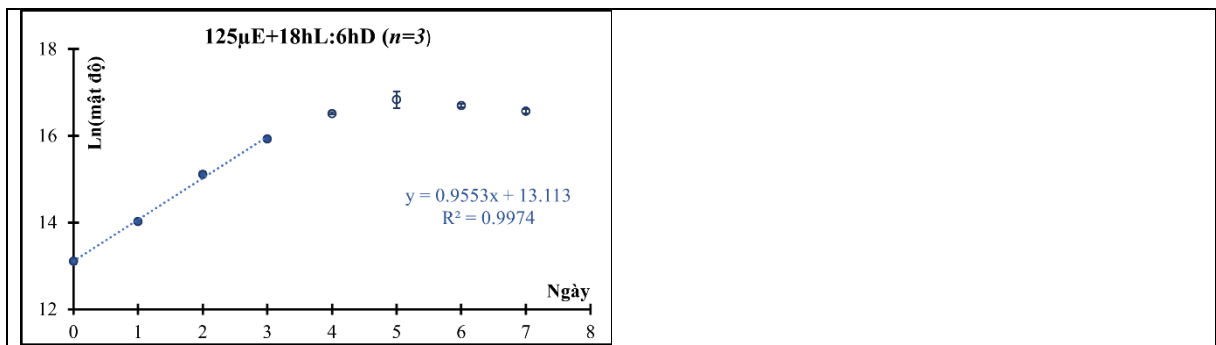


❖ Sinh trưởng quần thể *C. muelleri* ở 5 nghiệm thức còn lại

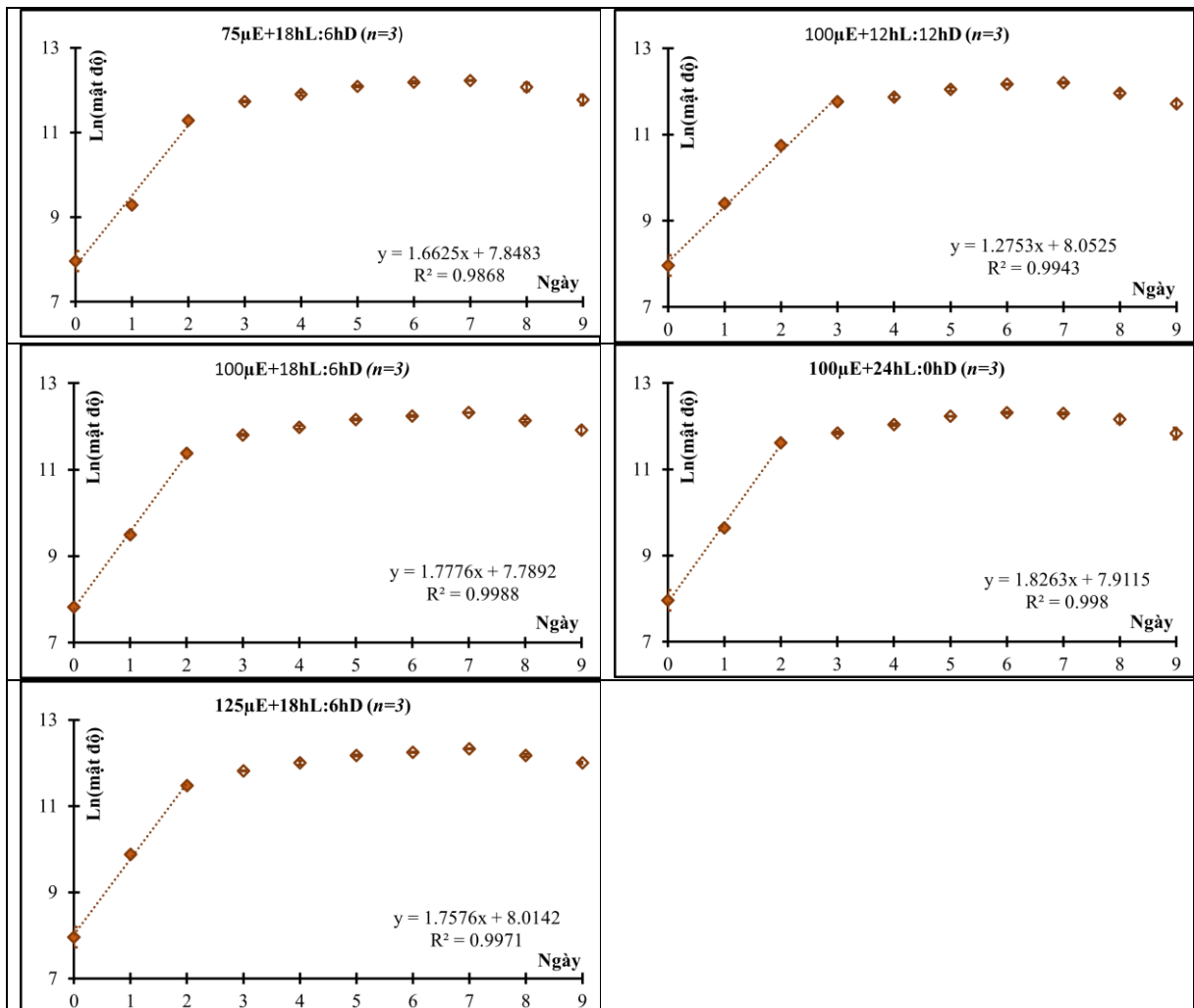


❖ Sinh trưởng quần thể *P. tricornutum* ở 5 nghiệm thức còn lại





❖ Sinh trưởng quần thể *T. weissflogii* ở 5 nghiệm thức còn lại



Phụ lục 3.3.3. Phân tích thống kê *Multiple Linear Regression with Interaction Terms* trong thí nghiệm 3.

(Ghi chú: trong phần phân tích thống kê này, một phép kiểm định phân phối chuẩn của sai số (*Normality of Residuals*) được bổ sung)

❖ Kết quả phân tích tương tác giữa cường độ ánh sáng và chu kì quang lên sinh trưởng quần thể loài *C. muelleri*

- Thông số mật độ cực đại (MCDs)

Descriptive Statistics

	Mean	Std. Deviation	N
MCDs_Cm	9611111.11	762061.139	27
CDAS	100.00	20.801	27
CKQ	18.00	4.992	27
Interaction	1800.00	632.303	27

Correlations

		MCDs_Cm	CDAS	CKQ	Interaction
Pearson Correlation	MCDs_Cm	1.000	.340	.388	.445
	CDAS	.340	1.000	.000	.592
	CKQ	.388	.000	1.000	.790
	Interaction	.445	.592	.790	1.000
Sig. (1-tailed)	MCDs_Cm	.	.042	.023	.010
	CDAS	.042	.	.500	.001
	CKQ	.023	.500	.	.000
	Interaction	.010	.001	.000	.
N	MCDs_Cm	27	27	27	27
	CDAS	27	27	27	27
	CKQ	27	27	27	27
	Interaction	27	27	27	27

Model Summary^b

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	.647 ^a	.418	.342	618009.212

a. Predictors: (Constant), Interaction, CDAS, CKQ

b. Dependent Variable: MCDs_Cm

ANOVA^a

Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	6.315E+12	3	2.105E+12	5.511	.005 ^b
	Residual	8.785E+12	23	3.819E+11		
	Total	1.510E+13	26			

a. Dependent Variable: MCDs_Cm

b. Predictors: (Constant), Interaction, CDAS, CKQ

Coefficients^a

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.	Correlations		
		B	Std. Error	Beta			Zero-order	Partial	Part
1	(Constant)	2050000.000	2264472.611		.905	.375			
	CDAS	64944.444	22187.210	1.773	2.927	.008	.340	.521	.466
	CKQ	350925.926	121388.474	2.299	2.891	.008	.388	.516	.460
	Interaction	-2916.667	1189.359	-2.420	-2.452	.022	.445	-.455	-.390

a. Dependent Variable: MCDs_Cm

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Standardized Residual	.165	27	.058	.940	27	.120

a. Lilliefors Significance Correction

- Thông số tốc độ tăng trưởng ở pha logarithm

Descriptive Statistics

	Mean	Std. Deviation	N
EGRs_Cm	1.0926	.13440	27
CDAS	100.00	20.801	27
CKQ	18.00	4.992	27
Interaction	1800.00	632.303	27

Correlations

		EGRs_Cm	CDAS	CKQ	Interaction
Pearson Correlation	EGRs_Cm	1.000	.077	.925	.743
	CDAS	.077	1.000	.000	.592
	CKQ	.925	.000	1.000	.790
	Interaction	.743	.592	.790	1.000
Sig. (1-tailed)	EGRs_Cm	.	.352	.000	.000
	CDAS	.352	.	.500	.001
	CKQ	.000	.500	.	.000
	Interaction	.000	.001	.000	.
N	EGRs_Cm	27	27	27	27
	CDAS	27	27	27	27
	CKQ	27	27	27	27
	Interaction	27	27	27	27

Model Summary^b

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	.949 ^a	.901	.889	.04486

a. Predictors: (Constant), Interaction, CDAS, CKQ

b. Dependent Variable: EGRs_Cm

ANOVA^a

Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	.423	3	.141	70.110	.000 ^b
	Residual	.046	23	.002		
	Total	.470	26			

a. Dependent Variable: EGRs_Cm

b. Predictors: (Constant), Interaction, CDAS, CKQ

Coefficients^a

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.	Correlations		
		B	Std. Error	Beta			Zero-order	Partial	Part
1	(Constant)	.118	.164		.715	.482			
	CDAS	.005	.002	.816	3.272	.003	.077	.564	.214
	CKQ	.051	.009	1.910	5.834	.000	.925	.772	.382
	Interaction	.000	.000	-1.248	-3.071	.005	.743	-.539	-.201

a. Dependent Variable: EGRs_Cm

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Standardized Residual	.076	27	.200 [*]	.962	27	.401

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

- Thông số tốc độ sinh trưởng theo ngày cực đại

Descriptive Statistics

	Mean	Std. Deviation	N
SGRs_Cm	1.3303	.15414	27
CDAS	100.00	20.801	27
CKQ	18.00	4.992	27
Interaction	1800.00	632.303	27

Correlations

		SGRs_Cm	CDAS	CKQ	Interaction
Pearson Correlation	SGRs_Cm	1.000	.663	.020	.368
	CDAS	.663	1.000	.000	.592
	CKQ	.020	.000	1.000	.790
	Interaction	.368	.592	.790	1.000
Sig. (1-tailed)	SGRs_Cm	.	.000	.461	.029
	CDAS	.000	.	.500	.001
	CKQ	.461	.500	.	.000
	Interaction	.029	.001	.000	.
N	SGRs_Cm	27	27	27	27
	CDAS	27	27	27	27
	CKQ	27	27	27	27
	Interaction	27	27	27	27

Model Summary^b

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	.709 ^a	.503	.439	.11549

a. Predictors: (Constant), Interaction, CDAS, CKQ

b. Dependent Variable: SGRs_Cm

ANOVA^a

Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	.311	3	.104	7.770	.001 ^b
	Residual	.307	23	.013		
	Total	.618	26			

a. Dependent Variable: SGRs_Cm

b. Predictors: (Constant), Interaction, CDAS, CKQ

Coefficients^a

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.	Correlations		
		B	Std. Error	Beta			Zero-order	Partial	Part
1	(Constant)	.145	.423		.342	.735			
	CDAS	.012	.004	1.585	2.832	.009	.663	.508	.416
	CKQ	.039	.023	1.248	1.699	.103	.020	.334	.250
	Interaction	.000	.000	-1.556	-1.706	.101	.368	-.335	-.251

a. Dependent Variable: SGRs_Cm

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Standardized Residual	.132	27	.200*	.932	27	.076

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

❖ Kết quả phân tích tương tác giữa cường độ ánh sáng và chu kì quang lên sinh trưởng quần thể loài *P. tricornutum*

- Thông số mật độ cực đại (MCDs)

Descriptive Statistics

	Mean	Std. Deviation	N
MCDs_Pt	19243518.52	2192191.043	27
CDAS	100.00	20.801	27
CKQ	18.00	4.992	27
Interaction	1800.00	632.303	27

Correlations

		MCDs_Pt	CDAS	CKQ	Interaction
Pearson Correlation	MCDs_Pt	1.000	.168	.516	.552
	CDAS	.168	1.000	.000	.592
	CKQ	.516	.000	1.000	.790
	Interaction	.552	.592	.790	1.000
Sig. (1-tailed)	MCDs_Pt	.	.201	.003	.001
	CDAS	.201	.	.500	.001
	CKQ	.003	.500	.	.000
	Interaction	.001	.001	.000	.
N	MCDs_Pt	27	27	27	27
	CDAS	27	27	27	27
	CKQ	27	27	27	27
	Interaction	27	27	27	27

Model Summary^b

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	.611 ^a	.373	.291	1845919.345

a. Predictors: (Constant), Interaction, CDAS, CKQ

b. Dependent Variable: MCDs_Pt

ANOVA^a

Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	4.658E+13	3	1.553E+13	4.556	.012 ^b
	Residual	7.837E+13	23	3.407E+12		
	Total	1.249E+14	26			

a. Dependent Variable: MCDs_Pt

b. Predictors: (Constant), Interaction, CDAS, CKQ

Coefficients^a

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.	Correlations		
		B	Std. Error	Beta			Zero-order	Partial	Part
1	(Constant)	24217129.63	6763707.911		3.580	.002			
	CDAS	-90527.778	66270.533	-.859	-1.366	.185	.168	-.274	-.226
	CKQ	-374768.519	362572.802	-.853	-1.034	.312	.516	-.211	-.171
	Interaction	6013.889	3552.473	1.735	1.693	.104	.552	.333	.280

a. Dependent Variable: MCDs_Pt

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Standardized Residual	.139	27	.195	.972	27	.658

a. Lilliefors Significance Correction

- Thông số tốc độ tăng trưởng ở pha logarithm

Descriptive Statistics

	Mean	Std. Deviation	N
EGRs_Pt	.9550	.08819	27
CDAS	100.00	20.801	27
CKQ	18.00	4.992	27
Interaction	1800.00	632.303	27

Correlations

		EGRs_Pt	CDAS	CKQ	Interaction
Pearson Correlation	EGRs_Pt	1.000	.324	.863	.855
	CDAS	.324	1.000	.000	.592
	CKQ	.863	.000	1.000	.790
	Interaction	.855	.592	.790	1.000
Sig. (1-tailed)	EGRs_Pt	.	.050	.000	.000
	CDAS	.050	.	.500	.001
	CKQ	.000	.500	.	.000
	Interaction	.000	.001	.000	.
N	EGRs_Pt	27	27	27	27
	CDAS	27	27	27	27
	CKQ	27	27	27	27
	Interaction	27	27	27	27

Model Summary^b

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	.928 ^a	.860	.842	.03503

a. Predictors: (Constant), Interaction, CDAS, CKQ

b. Dependent Variable: EGRs_Pt

ANOVA^a

Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	.174	3	.058	47.266	.000 ^b
	Residual	.028	23	.001		
	Total	.202	26			

a. Dependent Variable: EGRs_Pt

b. Predictors: (Constant), Interaction, CDAS, CKQ

Coefficients^a

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.	Correlations		
		B	Std. Error	Beta			Zero-order	Partial	Part
1	(Constant)	.376	.128		2.933	.007			
	CDAS	.003	.001	.718	2.419	.024	.324	.450	.188
	CKQ	.025	.007	1.388	3.563	.002	.863	.596	.278
	Interaction	-9.278E-005	.000	-.665	-1.376	.182	.855	-.276	-.107

a. Dependent Variable: EGRs_Pt

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Standardized Residual	.127	27	.200 [*]	.967	27	.530

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

- Thông số tốc độ sinh trưởng theo ngày cực đại

Descriptive Statistics

	Mean	Std. Deviation	N
SGRs_Pt	1.1335	.11636	27
CDAS	100.00	20.801	27
CKQ	18.00	4.992	27
Interaction	1800.00	632.303	27

Correlations

		SGRs_Pt	CDAS	CKQ	Interaction
Pearson Correlation	SGRs_Pt	1.000	.050	.522	.438
	CDAS	.050	1.000	.000	.592
	CKQ	.522	.000	1.000	.790
	Interaction	.438	.592	.790	1.000
Sig. (1-tailed)	SGRs_Pt	.	.401	.003	.011
	CDAS	.401	.	.500	.001
	CKQ	.003	.500	.	.000
	Interaction	.011	.001	.000	.
N	SGRs_Pt	27	27	27	27
	CDAS	27	27	27	27
	CKQ	27	27	27	27
	Interaction	27	27	27	27

Model Summary^b

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	.525 ^a	.276	.182	.10527

a. Predictors: (Constant), Interaction, CDAS, CKQ

b. Dependent Variable: SGRs_Pt

ANOVA^a

Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	.097	3	.032	2.922	.056 ^b
	Residual	.255	23	.011		
	Total	.352	26			

a. Dependent Variable: SGRs_Pt

b. Predictors: (Constant), Interaction, CDAS, CKQ

Coefficients^a

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.	Correlations		
		B	Std. Error	Beta			Zero-order	Partial	Part
1	(Constant)	.831	.386		2.154	.042			
	CDAS	.001	.004	.150	.221	.827	.050	.046	.039
	CKQ	.015	.021	.654	.738	.468	.522	.152	.131
	Interaction	-3.082E-005	.000	-.167	-.152	.880	.438	-.032	-.027

a. Dependent Variable: SGRs_Pt

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Standardized Residual	.123	27	.200 [*]	.962	27	.414

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

❖ Kết quả phân tích tương tác giữa cường độ ánh sáng và chu kì quang lên sinh trưởng quần thể loài *T. weissflogii*

- Thông số mật độ cực đại (MCDs)

Descriptive Statistics

	Mean	Std. Deviation	N
MCDs_Tw	209027.78	16065.272	27
CDAS	100.00	20.801	27
CKQ	18.00	4.992	27
Interaction	1800.00	632.303	27

Correlations

		MCDs_Tw	CDAS	CKQ	Interaction
Pearson Correlation	MCDs_Tw	1.000	-.054	.396	.182
	CDAS	-.054	1.000	.000	.592
	CKQ	.396	.000	1.000	.790
	Interaction	.182	.592	.790	1.000
Sig. (1-tailed)	MCDs_Tw	.	.395	.021	.181
	CDAS	.395	.	.500	.001
	CKQ	.021	.500	.	.000
	Interaction	.181	.001	.000	.
N	MCDs_Tw	27	27	27	27
	CDAS	27	27	27	27
	CKQ	27	27	27	27
	Interaction	27	27	27	27

Model Summary^b

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	.727 ^a	.529	.468	11722.981

a. Predictors: (Constant), Interaction, CDAS, CKQ

b. Dependent Variable: MCDs_Tw

ANOVA^a

Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	3549565972	3	1183188657	8.609	.001 ^b
	Residual	3160850694	23	137428291.1		
	Total	6710416667	26			

a. Dependent Variable: MCDs_Tw

b. Predictors: (Constant), Interaction, CDAS, CKQ

Coefficients^a

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.	Correlations		
		B	Std. Error	Beta			Zero-order	Partial	Part
1	(Constant)	17777.778	42954.651		.414	.683			
	CDAS	1683.333	420.868	2.180	4.000	.001	-.054	.640	.572
	CKQ	10856.481	2302.611	3.374	4.715	.000	.396	.701	.675
	Interaction	-95.833	22.561	-3.772	-4.248	.000	.182	-.663	-.608

a. Dependent Variable: MCDs_Tw

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Standardized Residual	.131	27	.200 [*]	.944	27	.156

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

- Thông số tốc độ tăng trưởng ở pha logarithm

Descriptive Statistics

	Mean	Std. Deviation	N
EGRs_Tw	1.6244	.24986	27
CDAS	100.00	20.801	27
CKQ	18.00	4.992	27
Interaction	1800.00	632.303	27

Correlations

		EGRs_Tw	CDAS	CKQ	Interaction
Pearson Correlation	EGRs_Tw	1.000	.243	.814	.744
	CDAS	.243	1.000	.000	.592
	CKQ	.814	.000	1.000	.790
	Interaction	.744	.592	.790	1.000
Sig. (1-tailed)	EGRs_Tw	.	.111	.000	.000
	CDAS	.111	.	.500	.001
	CKQ	.000	.500	.	.000
	Interaction	.000	.001	.000	.
N	EGRs_Tw	27	27	27	27
	CDAS	27	27	27	27
	CKQ	27	27	27	27
	Interaction	27	27	27	27

Model Summary^b

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	.890 ^a	.792	.765	.12105

a. Predictors: (Constant), Interaction, CDAS, CKQ

b. Dependent Variable: EGRs_Tw

ANOVA^a

Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	1.286	3	.429	29.255	.000 ^b
	Residual	.337	23	.015		
	Total	1.623	26			

a. Dependent Variable: EGRs_Tw

b. Predictors: (Constant), Interaction, CDAS, CKQ

Coefficients^a

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.	Correlations		
		B	Std. Error	Beta			Zero-order	Partial	Part
1	(Constant)	-.576	.444		-1.298	.207			
	CDAS	.015	.004	1.221	3.375	.003	.243	.576	.321
	CKQ	.106	.024	2.117	4.457	.000	.814	.681	.423
	Interaction	-.001	.000	-1.651	-2.801	.010	.744	-.504	-.266

a. Dependent Variable: EGRs_Tw

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Standardized Residual	.167	27	.051	.929	27	.066

a. Lilliefors Significance Correction

- Thông số tốc độ sinh trưởng theo ngày cực đại

Descriptive Statistics

	Mean	Std. Deviation	N
SGRs_Tw	1.8012	.23108	27
CDAS	100.00	20.801	27
CKQ	18.00	4.992	27
Interaction	1800.00	632.303	27

Correlations

		SGRs_Tw	CDAS	CKQ	Interaction
Pearson Correlation	SGRs_Tw	1.000	.743	-.067	.341
	CDAS	.743	1.000	.000	.592
	CKQ	-.067	.000	1.000	.790
	Interaction	.341	.592	.790	1.000
Sig. (1-tailed)	SGRs_Tw	.	.000	.370	.041
	CDAS	.000	.	.500	.001
	CKQ	.370	.500	.	.000
	Interaction	.041	.001	.000	.
N	SGRs_Tw	27	27	27	27
	CDAS	27	27	27	27
	CKQ	27	27	27	27
	Interaction	27	27	27	27

Model Summary^b

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	.800 ^a	.640	.594	.14732

a. Predictors: (Constant), Interaction, CDAS, CKQ

b. Dependent Variable: SGRs_Tw

ANOVA^a

Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	.889	3	.296	13.657	.000 ^b
	Residual	.499	23	.022		
	Total	1.388	26			

a. Dependent Variable: SGRs_Tw

b. Predictors: (Constant), Interaction, CDAS, CKQ

Coefficients^a

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.	Correlations		
		B	Std. Error	Beta			Zero-order	Partial	Part
1	(Constant)	-.152	.540		-.281	.781			
	CDAS	.020	.005	1.808	3.798	.001	.743	.621	.475
	CKQ	.063	.029	1.354	2.165	.041	-.067	.411	.271
	Interaction	-.001	.000	-1.799	-2.319	.030	.341	-.435	-.290

a. Dependent Variable: SGRs_Tw

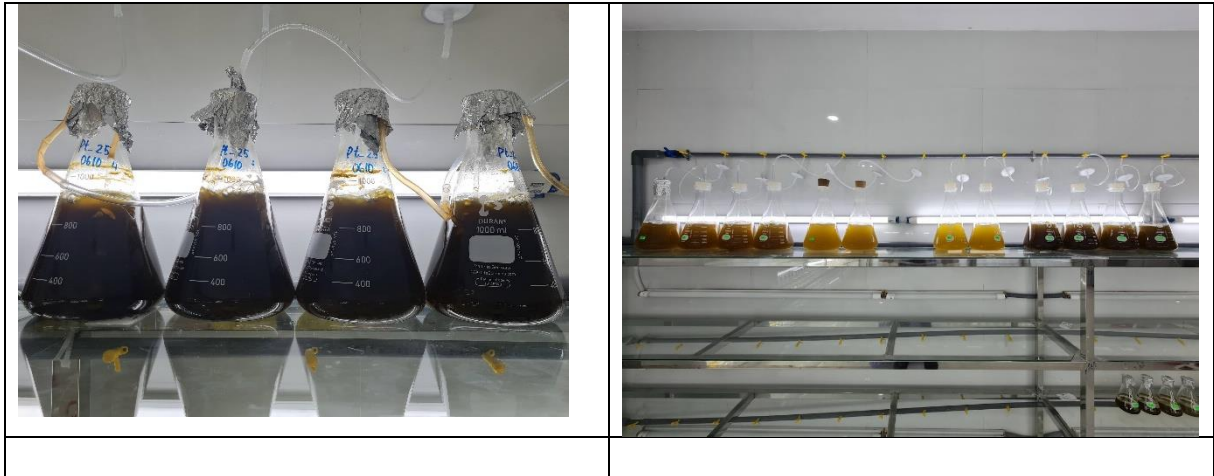
Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Standardized Residual	.141	27	.181	.977	27	.792

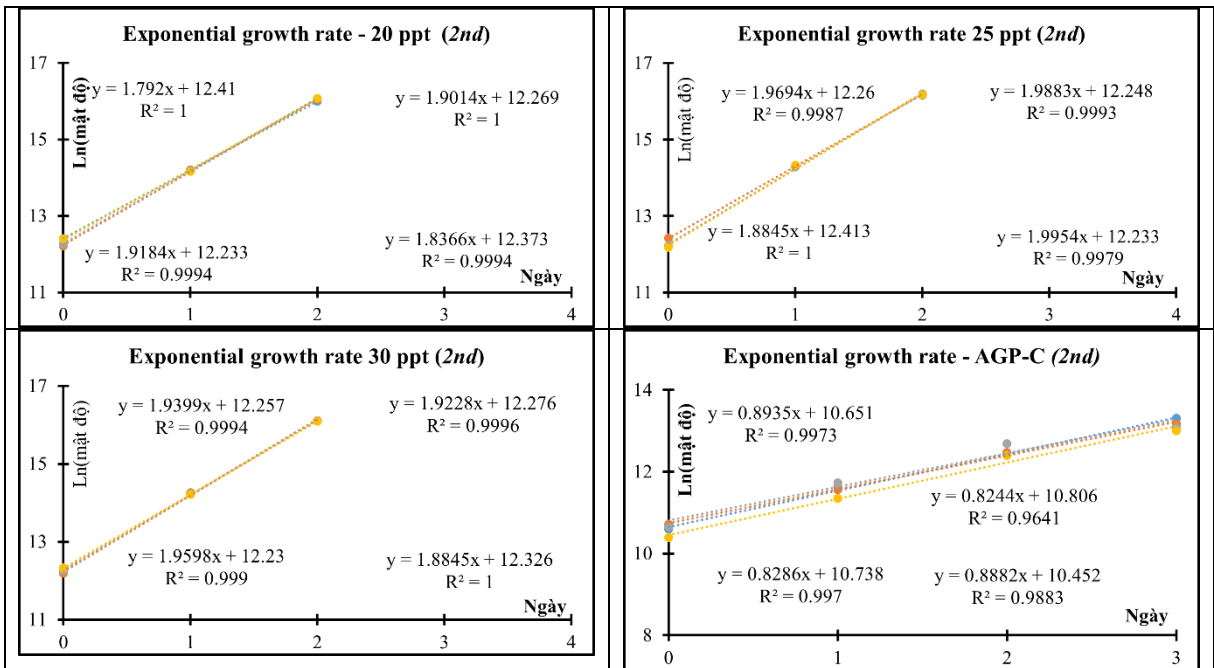
a. Lilliefors Significance Correction

3.5. Ảnh hưởng của độ mặn khác nhau lên sinh trưởng quần thể và thành phần sinh hóa một số chủng vi tảo (TN 5)

Phụ lục 3.5.1. Một số hình ảnh trong quá trình tiến hành thí nghiệm 5



Phụ lục 3.5.2. Một số hình ảnh kết quả nghiên cứu trong thí nghiệm 5



Phụ lục 3.5.3. Phân tích ANOVA một yếu tố trong thí nghiệm 5

❖ Sinh trưởng quần thể vi tảo *Chaetoceros muelleri* ở lần thí nghiệm 1

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
MCDs	20ppt	4	1.54E+7	478278.2	239139.1	1.46E+7	1.61E+7	1.48E+7	1.60E+7
	25ppt	4	1.77E+7	332916.4	166458.2	1.72E+7	1.82E+7	1.72E+7	1.80E+7
	30ppt	4	1.28E+7	504304.4	252152.2	1.20E+7	1.36E+7	1.23E+7	1.33E+7
	Total	12	1.53E+7	2120690	612190.4	1.40E+7	1.66E+7	1.23E+7	1.80E+7
EGRs	20ppt	4	1.6411	.04947	.02473	1.5624	1.7198	1.57	1.68
	25ppt	4	1.7057	.04139	.02070	1.6398	1.7715	1.66	1.75
	30ppt	4	1.6374	.02574	.01287	1.5965	1.6784	1.61	1.67
	Total	12	1.6614	.04885	.01410	1.6304	1.6924	1.57	1.75
SGRs	20ppt	4	1.8566	.08577	.04289	1.7201	1.9931	1.75	1.94
	25ppt	4	1.8771	.03631	.01816	1.8193	1.9349	1.84	1.92
	30ppt	4	1.9121	.01980	.00990	1.8806	1.9436	1.89	1.94
	Total	12	1.8820	.05520	.01593	1.8469	1.9170	1.75	1.94

Test of Homogeneity of Variances

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
MCDs	2.706	2	9	.120
EGRs	2.447	2	9	.142
SGRs	.709	2	9	.518

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
MCDs	Between Groups	4.8E+13	2	2.4E+13	120.445	.000
	Within Groups	1.8E+12	9	2.0E+11		
	Total	4.9E+13	11			
EGRs	Between Groups	.012	2	.006	3.662	.069
	Within Groups	.014	9	.002		
	Total	.026	11			
SGRs	Between Groups	.006	2	.003	1.044	.391
	Within Groups	.027	9	.003		
	Total	.034	11			

MCDs

		N	Subset for alpha = 0.05		
			1	2	3
Duncan ^a	30ppt	4	1.28E+7		
	20ppt	4		1.54E+7	
	25ppt	4			1.77E+7
	Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

EGRs

		N	Subset for alpha = 0.05	
			1	2
Duncan ^a	30ppt	4	1.6374	
	20ppt	4	1.6411	
	25ppt	4		1.7057
	Sig.		.899	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

SGRs

		N	Subset for alpha = 0.05
			1
Duncan ^a	20ppt	4	1.8566
	25ppt	4	1.8771
	30ppt	4	1.9121
	Sig.		.205

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

❖ Sinh trưởng quần thể vi tảo *Chaetoceros muelleri* ở lần thí nghiệm 2

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
MCDs	20ppt	4	1.60E+7	381540.2	190770.1	1.54E+7	1.66E+7	1.56E+7	1.64E+7
	25ppt	4	1.95E+7	520966.6	260483.3	1.87E+7	2.03E+7	1.88E+7	1.99E+7
	30ppt	4	1.70E+7	473022.2	236511.1	1.63E+7	1.78E+7	1.65E+7	1.74E+7
	Total	12	1.75E+7	1607104	463931.0	1.65E+7	1.85E+7	1.56E+7	1.99E+7
EGRs	20ppt	4	1.8621	.05853	.02927	1.7690	1.9552	1.79	1.92
	25ppt	4	1.9594	.05112	.02556	1.8780	2.0408	1.88	2.00
	30ppt	4	1.9268	.03197	.01598	1.8759	1.9776	1.88	1.96
	Total	12	1.9161	.06090	.01758	1.8774	1.9548	1.79	2.00
SGRs	20ppt	4	1.9040	.08391	.04195	1.7705	2.0375	1.80	2.00
	25ppt	4	2.0568	.10796	.05398	1.8850	2.2286	1.90	2.15
	30ppt	4	1.9911	.07515	.03758	1.8715	2.1107	1.89	2.07
	Total	12	1.9840	.10445	.03015	1.9176	2.0503	1.80	2.15

Test of Homogeneity of Variances

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
MCDs	.215	2	9	.811
EGRs	1.288	2	9	.322
SGRs	.252	2	9	.782

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
MCDs	Between Groups	2.6E+13	2	1.3E+13	62.012	.000
	Within Groups	1.9E+12	9	2.1E+11		
	Total	2.8E+13	11			
EGRs	Between Groups	.020	2	.010	4.167	.052
	Within Groups	.021	9	.002		
	Total	.041	11			
SGRs	Between Groups	.047	2	.023	2.895	.107
	Within Groups	.073	9	.008		
	Total	.120	11			

MCDs

		N	Subset for alpha = 0.05		
Salinities			1	2	3
Duncan ^a	20ppt	4	1.60E+7		
	30ppt	4		1.70E+7	
	25ppt	4			1.95E+7
	Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

EGRs

		N	Subset for alpha = 0.05	
Salinities			1	2
Duncan ^a	20ppt	4	1.8621	
	30ppt	4	1.9268	1.9268
	25ppt	4		1.9594
	Sig.		.092	.366

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

SGRs

		N	Subset for alpha = 0.05	
Salinities			1	2
Duncan ^a	20ppt	4	1.9040	
	30ppt	4	1.9911	1.9911
	25ppt	4		2.0568
	Sig.		.205	.329

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

❖ Sinh trưởng quần thể vi tảo *P. tricornutum* ở lần thí nghiệm 1

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
MCDs	20ppt	4	3.90E+7	3415650	1707825	3.36E+7	4.44E+7	3.45E+7	4.25E+7
	25ppt	4	4.98E+7	1951228	975614.1	4.67E+7	5.29E+7	4.82E+7	5.25E+7
	30ppt	4	4.78E+7	912870.9	456435.5	4.63E+7	4.92E+7	4.68E+7	4.88E+7
	Total	12	4.55E+7	5330506	1538785	4.21E+7	4.89E+7	3.45E+7	5.25E+7
EGRs	20ppt	4	1.0335	.01283	.00641	1.0131	1.0539	1.02	1.05
	25ppt	4	1.1592	.02521	.01261	1.1191	1.1993	1.12	1.18
	30ppt	4	1.1109	.01631	.00815	1.0849	1.1368	1.10	1.13
	Total	12	1.1012	.05669	.01636	1.0652	1.1372	1.02	1.18
SGRs	20ppt	4	1.2483	.09567	.04783	1.0961	1.4005	1.18	1.39
	25ppt	4	1.4962	.08961	.04481	1.3536	1.6388	1.40	1.57
	30ppt	4	1.4389	.08583	.04291	1.3024	1.5755	1.34	1.55
	Total	12	1.3945	.13765	.03974	1.3070	1.4820	1.18	1.57

Test of Homogeneity of Variances

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
MCDs	2.087	2	9	.180
EGRs	.984	2	9	.411
SGRs	.164	2	9	.851

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
MCDs	Between Groups	2.6E+14	2	1.3E+14	24.250	.000
	Within Groups	4.9E+13	9	5.4E+12		
	Total	3.1E+14	11			
EGRs	Between Groups	.032	2	.016	45.235	.000
	Within Groups	.003	9	.000		
	Total	.035	11			
SGRs	Between Groups	.135	2	.067	8.236	.009
	Within Groups	.074	9	.008		
	Total	.208	11			

MCDs

		N	Subset for alpha = 0.05	
Salinities			1	2
Duncan ^a	20ppt	4	3.90E+7	
	30ppt	4		4.78E+7
	25ppt	4		4.98E+7
	Sig.		1.000	.242

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

EGRs

		N	Subset for alpha = 0.05		
Salinities			1	2	3
Duncan ^a	20ppt	4	1.0335		
	30ppt	4		1.1109	
	25ppt	4			1.1592
	Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

SGRs

			Subset for alpha =	
Duncan ^a	20ppt	4	1.2483	
	30ppt	4		1.4389
	25ppt	4		1.4962
	Sig.		1.000	.394

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

❖ Sinh trưởng quần thể vi tảo *P. tricornutum* ở lần thí nghiệm 2

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
MCDs	20ppt	4	3.86E+7	1250000	625000.0	3.66E+7	4.06E+7	3.72E+7	4.02E+7
	25ppt	4	4.34E+7	1748511	874255.6	4.07E+7	4.62E+7	4.12E+7	4.55E+7
	30ppt	4	4.02E+7	1224745	612372.4	3.83E+7	4.22E+7	3.88E+7	4.12E+7
	Total	12	4.08E+7	2455185	708751.0	3.92E+7	4.23E+7	3.72E+7	4.55E+7
EGRs	20ppt	4	1.2578	.03477	.01738	1.2025	1.3131	1.23	1.31
	25ppt	4	1.4051	.02818	.01409	1.3602	1.4499	1.37	1.44
	30ppt	4	1.3938	.03091	.01546	1.3446	1.4430	1.35	1.42
	Total	12	1.3522	.07547	.02179	1.3043	1.4002	1.23	1.44
SGRs	20ppt	4	1.5309	.04558	.02279	1.4584	1.6034	1.48	1.58
	25ppt	4	1.6583	.02560	.01280	1.6176	1.6991	1.63	1.69
	30ppt	4	1.6368	.02511	.01255	1.5968	1.6767	1.61	1.67
	Total	12	1.6087	.06559	.01893	1.5670	1.6503	1.48	1.69

Test of Homogeneity of Variances

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
MCDs	.157	2	9	.857
EGRs	.048	2	9	.953
SGRs	2.551	2	9	.132

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
MCDs	Between Groups	4.8E+13	2	2.4E+13	11.752	.003
	Within Groups	1.8E+13	9	2.0E+12		
	Total	6.6E+13	11			
EGRs	Between Groups	.054	2	.027	27.261	.000
	Within Groups	.009	9	.001		
	Total	.063	11			
SGRs	Between Groups	.037	2	.019	16.603	.001
	Within Groups	.010	9	.001		
	Total	.047	11			

MCDs

		N	Subset for alpha = 0.05	
Salinities			1	2
Duncan ^a	20ppt	4	3.86E+7	4.34E+7
	30ppt	4	4.02E+7	
	25ppt	4		
	Sig.		.142	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

EGRs

		N	Subset for alpha = 0.05	
Salinities			1	2
Duncan ^a	20ppt	4	1.2578	
	30ppt	4		1.3938
	25ppt	4		1.4051
	Sig.		1.000	.624

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

SGRs

			Subset for alpha =	
Duncan ^a	20ppt	4	1.5309	
	30ppt	4		1.6368
	25ppt	4		1.6583
	Sig.		1.000	.386

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

❖ Sinh trưởng quần thể vi tảo *T. weissflogii* ở lần thí nghiệm 1

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
MCDs	20ppt	4	1252500	71821.54	35910.77	1138216	1366784	1180000	1340000
	25ppt	4	1450000	64807.41	32403.70	1346877	1553123	1390000	1540000
	30ppt	4	1225000	31091.26	15545.63	1175527	1274473	1180000	1250000
	Total	12	1309167	117354.0	33877.19	1234603	1383730	1180000	1540000
EGRs	20ppt	4	1.2054	.13063	.06531	.9975	1.4132	1.07	1.33
	25ppt	4	1.4332	.01978	.00989	1.4017	1.4646	1.42	1.46
	30ppt	4	1.0144	.04724	.02362	.9393	1.0896	.97	1.07
	Total	12	1.2177	.19322	.05578	1.0949	1.3404	.97	1.46
SGRs	20ppt	4	1.5191	.07402	.03701	1.4014	1.6369	1.45	1.61
	25ppt	4	1.6006	.08269	.04135	1.4690	1.7322	1.50	1.70
	30ppt	4	1.4565	.12346	.06173	1.2601	1.6530	1.35	1.61
	Total	12	1.5254	.10635	.03070	1.4579	1.5930	1.35	1.70

Test of Homogeneity of Variances

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
MCDs	.477	2	9	.635
EGRs	.754	2	9	.498
SGRs	2.800	2	9	.113

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
MCDs	Between Groups	1.2E+11	2	6.0E+10	17.508	.001
	Within Groups	3.1E+10	9	3.44E+9		
	Total	1.5E+11	11			
EGRs	Between Groups	.352	2	.176	26.791	.000
	Within Groups	.059	9	.007		
	Total	.411	11			
SGRs	Between Groups	.042	2	.021	2.272	.159
	Within Groups	.083	9	.009		
	Total	.124	11			

MCDs

Salinities	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
Duncan ^a 30ppt	4	1225000	1450000
20ppt	4	1252500	
25ppt	4		
Sig.		.524	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

EGRs

Salinities	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Duncan ^a 30ppt	4	1.0144	1.2054	1.4332
20ppt	4			
25ppt	4			
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

SGRs

Salinities	N	Subset for alpha = 0.05
		1
Duncan ^a 30ppt	4	1.4565
20ppt	4	1.5191
25ppt	4	1.6006
Sig.		.072

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

❖ Sinh trưởng quần thể vi tảo *T. weissflogii* ở lần thí nghiệm 2

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
MCDs	20ppt	4	1057500	93229.11	46614.55	909151.7	1205848	960000.0	1160000
	25ppt	4	1345000	114746.1	57373.05	1162413	1527587	1240000	1500000
	30ppt	4	1105000	124766.4	62383.22	906468.7	1303531	980000.0	1240000
	Total	12	1169167	165774.1	47854.87	1063839	1274495	960000.0	1500000
EGRs	20ppt	4	1.1505	.12076	.06038	.9584	1.3427	1.00	1.29
	25ppt	4	1.3115	.05776	.02888	1.2196	1.4034	1.26	1.39
	30ppt	4	1.2711	.07236	.03618	1.1559	1.3862	1.19	1.35
	Total	12	1.2444	.10684	.03084	1.1765	1.3122	1.00	1.39
SGRs	20ppt	4	1.3189	.04799	.02399	1.2426	1.3953	1.27	1.39
	25ppt	4	1.5562	.17609	.08804	1.2760	1.8364	1.39	1.79
	30ppt	4	1.4075	.10559	.05280	1.2395	1.5755	1.29	1.50
	Total	12	1.4275	.15027	.04338	1.3321	1.5230	1.27	1.79

Test of Homogeneity of Variances

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
MCDs	.477	2	9	.635
EGRs	.754	2	9	.498
SGRs	2.800	2	9	.113

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
MCDs	Between Groups	1.9E+11	2	9.5E+10	7.616	.012
	Within Groups	1.1E+11	9	1.2E+10		
	Total	3.0E+11	11			
EGRs	Between Groups	.056	2	.028	3.633	.070
	Within Groups	.069	9	.008		
	Total	.126	11			
SGRs	Between Groups	.115	2	.058	3.880	.061
	Within Groups	.133	9	.015		
	Total	.248	11			

MCDs

	Salinities	N	Subset for alpha = 0.05	
			1	2
Duncan ^a	20ppt	4	1057500	1345000
	30ppt	4	1105000	
	25ppt	4		
	Sig.		.562	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

EGRs

	Salinities	N	Subset for alpha = 0.05	
			1	2
Duncan ^a	20ppt	4	1.1505	1.2711
	30ppt	4	1.2711	
	25ppt	4		
	Sig.		.084	.531

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

SGRs

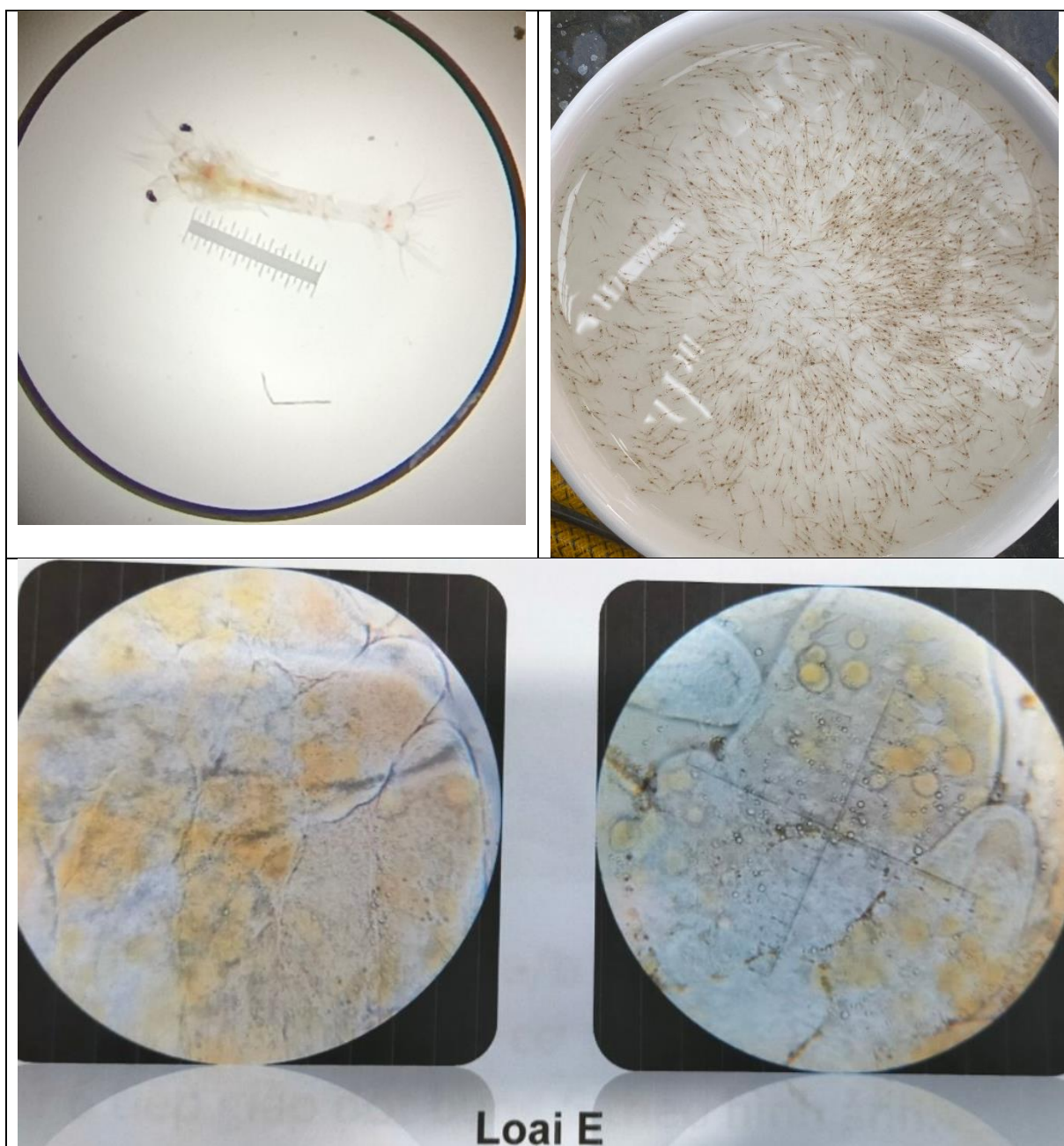
	Salinities	N	Subset for alpha = 0.05	
			1	2
Duncan ^a	20ppt	4	1.3189	1.4075
	30ppt	4	1.4075	
	25ppt	4		
	Sig.		.331	.118

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

3.6. Nghiên cứu ứng dụng một số chủng vi tảo trong nuôi cấy luân trùng ứng dụng trong sản xuất giống tôm (TN6)

Phụ lục 3.6.1. Một số hình ảnh trong quá trình thí nghiệm 6



Phụ lục 3.6.2. Phân tích ANOVA một yếu tố kết quả nghiên cứu về sinh trưởng quần thể luân trùng (MCDs, Max SGRs) và tỷ lệ luân trùng mang trứng trong thí nghiệm 6.1

Descriptives									
		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
MCDs	NT6.1	4	737.50	22.174	11.087	702.22	772.78	710	760
	NT6.2	4	613.75	22.867	11.434	577.36	650.14	580	630
	NT6.3	4	685.00	12.910	6.455	664.46	705.54	670	700
	Total	12	678.75	55.927	16.145	643.22	714.28	580	760
MaxSGRs	NT6.1	4	.5315	.05452	.02726	.4447	.6183	.48	.60
	NT6.2	4	.3864	.01406	.00703	.3640	.4088	.37	.41
	NT6.3	4	.4480	.08404	.04202	.3142	.5817	.38	.57
	Total	12	.4553	.08153	.02354	.4035	.5071	.37	.60
EggRatioD0	NT6.1	4	.2975	.03862	.01931	.2360	.3590	.24	.32
	NT6.2	4	.2511	.03711	.01855	.1921	.3102	.21	.28
	NT6.3	4	.2794	.03026	.01513	.2313	.3276	.24	.30
	Total	12	.2760	.03781	.01091	.2520	.3000	.21	.32
EggRatioD1	NT6.1	4	.3800	.02944	.01472	.3332	.4268	.35	.42
	NT6.2	4	.3353	.03011	.01506	.2874	.3832	.30	.37
	NT6.3	4	.3553	.01178	.00589	.3365	.3740	.34	.37
	Total	12	.3569	.02977	.00859	.3379	.3758	.30	.42
EggRatioD2	NT6.1	4	.4825	.02630	.01315	.4407	.5243	.46	.52
	NT6.2	4	.4208	.00995	.00498	.4049	.4366	.41	.43
	NT6.3	4	.4573	.02443	.01221	.4184	.4961	.44	.49
	Total	12	.4535	.03285	.00948	.4326	.4744	.41	.52
EggRatioD3	NT6.1	4	.5300	.03367	.01683	.4764	.5836	.49	.57
	NT6.2	4	.4427	.03930	.01965	.3802	.5053	.39	.48
	NT6.3	4	.5037	.01701	.00851	.4766	.5308	.48	.52
	Total	12	.4921	.04761	.01375	.4619	.5224	.39	.57
EggRatioD4	NT6.1	4	.3900	.01414	.00707	.3675	.4125	.38	.41
	NT6.2	4	.3308	.03046	.01523	.2823	.3792	.29	.36
	NT6.3	4	.3593	.03302	.01651	.3067	.4118	.31	.39
	Total	12	.3600	.03526	.01018	.3376	.3824	.29	.41
EggRatioD5	NT6.1	4	.3775	.01708	.00854	.3503	.4047	.36	.40
	NT6.2	4	.3239	.03088	.01544	.2748	.3731	.29	.36
	NT6.3	4	.3524	.03368	.01684	.2988	.4060	.31	.39
	Total	12	.3513	.03423	.00988	.3295	.3730	.29	.40
EggRatioD6	NT6.1	4	.3325	.03304	.01652	.2799	.3851	.30	.37
	NT6.2	4	.2921	.03141	.01571	.2421	.3421	.25	.32
	NT6.3	4	.3180	.01162	.00581	.2995	.3365	.30	.33
	Total	12	.3142	.03015	.00870	.2950	.3334	.25	.37
EggRatioD7	NT6.1	4	.3050	.04041	.02021	.2407	.3693	.25	.34
	NT6.2	4	.2671	.02905	.01452	.2208	.3133	.23	.29
	NT6.3	4	.2953	.03742	.01871	.2358	.3548	.25	.33
	Total	12	.2891	.03661	.01057	.2659	.3124	.23	.34
EggRatioD8	NT6.1	4	.3500	.02582	.01291	.3089	.3911	.32	.38
	NT6.2	4	.3080	.01561	.00780	.2832	.3328	.29	.33
	NT6.3	4	.3364	.02495	.01248	.2966	.3761	.31	.37
	Total	12	.3315	.02742	.00792	.3140	.3489	.29	.38
EggRatioD9	NT6.1	4	.2625	.02630	.01315	.2207	.3043	.24	.30
	NT6.2	4	.2284	.02699	.01349	.1854	.2713	.21	.26
	NT6.3	4	.2566	.01970	.00985	.2253	.2880	.24	.28
	Total	12	.2492	.02712	.00783	.2319	.2664	.21	.30
EggRatioD10	NT6.1	4	.2450	.04041	.02021	.1807	.3093	.21	.30
	NT6.2	4	.2125	.04055	.02028	.1479	.2770	.18	.26
	NT6.3	4	.2407	.03275	.01637	.1886	.2928	.21	.28
	Total	12	.2327	.03760	.01085	.2088	.2566	.18	.30

Test of Homogeneity of Variances

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
MCDs	.800	2	9	.479
MaxSGRs	3.562	2	9	.073
EggRatioD0	.262	2	9	.775
EggRatioD1	.633	2	9	.553
EggRatioD2	1.126	2	9	.366
EggRatioD3	.978	2	9	.413
EggRatioD4	1.072	2	9	.382
EggRatioD5	.771	2	9	.491
EggRatioD6	4.174	2	9	.052
EggRatioD7	.290	2	9	.755
EggRatioD8	.963	2	9	.418
EggRatioD9	.388	2	9	.689
EggRatioD10	.210	2	9	.814

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
MCDs	Between Groups	30862.500	2	15431.250	39.190	.000
	Within Groups	3543.750	9	393.750		
	Total	34406.250	11			
MaxSGRs	Between Groups	.042	2	.021	6.218	.020
	Within Groups	.031	9	.003		
	Total	.073	11			
EggRatioD0	Between Groups	.004	2	.002	1.733	.231
	Within Groups	.011	9	.001		
	Total	.016	11			
EggRatioD1	Between Groups	.004	2	.002	3.147	.092
	Within Groups	.006	9	.001		
	Total	.010	11			
EggRatioD2	Between Groups	.008	2	.004	8.330	.009
	Within Groups	.004	9	.000		
	Total	.012	11			
EggRatioD3	Between Groups	.016	2	.008	8.105	.010
	Within Groups	.009	9	.001		
	Total	.025	11			
EggRatioD4	Between Groups	.007	2	.004	4.751	.039
	Within Groups	.007	9	.001		
	Total	.014	11			
EggRatioD5	Between Groups	.006	2	.003	3.623	.070
	Within Groups	.007	9	.001		
	Total	.013	11			
EggRatioD6	Between Groups	.003	2	.002	2.274	.159
	Within Groups	.007	9	.001		
	Total	.010	11			
EggRatioD7	Between Groups	.003	2	.002	1.203	.344
	Within Groups	.012	9	.001		
	Total	.015	11			
EggRatioD8	Between Groups	.004	2	.002	3.593	.071
	Within Groups	.005	9	.001		
	Total	.008	11			
EggRatioD9	Between Groups	.003	2	.001	2.209	.166
	Within Groups	.005	9	.001		
	Total	.008	11			
EggRatioD10	Between Groups	.003	2	.001	.862	.454
	Within Groups	.013	9	.001		
	Total	.016	11			

MCDs

Duncan^a

Treatment	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
NT6.2	4	613.75		
NT6.3	4		685.00	
NT6.1	4			737.50
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

MaxSGRs

Duncan^a

Treatment	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
NT6.2	4	.3864	
NT6.3	4	.4480	.4480
NT6.1	4		.5315
Sig.		.170	.074

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

EggRatioD2

Duncan^a

Treatment	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
NT6.2	4	.4208	
NT6.3	4		.4573
NT6.1	4		.4825
Sig.		1.000	.132

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

EggRatioD3

Duncan^a

Treatment	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
NT6.2	4	.4427	
NT6.3	4		.5037
NT6.1	4		.5300
Sig.		1.000	.267

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

EggRatioD4

Duncan^a

Treatment	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
NT6.2	4	.3308	
NT6.3	4	.3593	.3593
NT6.1	4		.3900
Sig.		.172	.144

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

Phụ lục 3.6.3. Phân tích ANOVA một yếu tố kết quả nghiên cứu sinh trưởng và phát triển ấu trùng tôm trong thí nghiệm 6.2

❖ Phân tích ANOVA một yếu tố kết quả tỷ lệ sống của ấu trùng tôm qua các giai đoạn phát triển

Descriptives									
		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
SurvivalRateZ1	NT-6.4	3	93.0667	6.21396	3.58763	77.6303	108.5030	88.00	100.00
	NT-6.5	3	98.0000	3.46410	2.00000	89.3947	106.6053	94.00	100.00
	NT-6.6	3	94.1667	2.02073	1.16667	89.1469	99.1864	93.00	96.50
	NT-DC6	3	91.3333	8.50490	4.91031	70.2060	112.4607	83.00	100.00
	Total	12	94.1417	5.44267	1.57116	90.6836	97.5998	83.00	100.00
SurvivalRateZ2	NT-6.4	3	67.3200	6.00893	3.46926	52.3930	82.2470	61.00	72.96
	NT-6.5	3	75.0000	1.32288	.76376	71.7138	78.2862	74.00	76.50
	NT-6.6	3	81.6621	5.95967	3.44082	66.8575	96.4668	75.00	86.49
	NT-DC6	3	64.1669	12.27148	7.08494	33.6829	94.6510	50.00	71.50
	Total	12	72.0373	9.55729	2.75895	65.9649	78.1097	50.00	86.49
SurvivalRateM2	NT-6.4	3	60.9560	2.56628	1.48164	54.5810	67.3310	58.37	63.50
	NT-6.5	3	67.8421	2.05778	1.18806	62.7303	72.9539	65.50	69.36
	NT-6.6	3	74.4928	5.95083	3.43571	59.7101	89.2754	68.60	80.50
	NT-DC6	3	51.2085	10.21673	5.89863	25.8288	76.5883	40.00	60.00
	Total	12	63.6249	10.41320	3.00603	57.0086	70.2411	40.00	80.50
SurvivalRatePL1	NT-6.4	3	36.5656	3.43337	1.98226	28.0366	45.0946	34.18	40.50
	NT-6.5	3	46.8667	1.80370	1.04137	42.3860	51.3473	45.00	48.60
	NT-6.6	3	50.3632	3.19632	1.84539	42.4231	58.3033	48.00	54.00
	NT-DC6	3	29.1264	3.81638	2.20339	19.6460	38.6068	26.00	33.38
	Total	12	40.7305	9.17990	2.65001	34.8978	46.5631	26.00	54.00
SurvivalRatePL5	NT-6.4	3	34.3717	3.22737	1.86332	26.3544	42.3889	32.13	38.07
	NT-6.5	3	44.5233	1.71351	.98930	40.2667	48.7799	42.75	46.17
	NT-6.6	3	47.7354	2.02978	1.17189	42.6931	52.7776	46.08	50.00
	NT-DC6	3	26.2138	3.43474	1.98305	17.6814	34.7461	23.40	30.04
	Total	12	38.2110	9.17625	2.64895	32.3807	44.0413	23.40	50.00
SurvivalRatePL12	NT-6.4	3	40.4963	3.61465	2.08692	31.5170	49.4756	37.98	44.64
	NT-6.5	3	51.8661	1.91914	1.10801	47.0987	56.6335	49.88	53.71
	NT-6.6	3	55.4636	2.27335	1.31252	49.8163	61.1109	53.61	58.00
	NT-DC6	3	31.0917	4.18867	2.41833	20.6864	41.4969	27.40	35.65
	Total	12	44.7294	10.39717	3.00141	38.1234	51.3355	27.40	58.00

Test of Homogeneity of Variances

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
SurvivalRateZ1	1.415	3	8	.308
SurvivalRateZ2	4.498	3	8	.040
SurvivalRateM2	2.629	3	8	.122
SurvivalRatePL1	.964	3	8	.456
SurvivalRatePL5	1.158	3	8	.384
SurvivalRatePL12	1.122	3	8	.396

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
SurvivalRateZ1	Between Groups	71.789	3	23.930	.754	.551
	Within Groups	254.060	8	31.757		
	Total	325.849	11			
SurvivalRateZ2	Between Groups	556.832	3	185.611	3.315	.078
	Within Groups	447.928	8	55.991		
	Total	1004.760	11			
SurvivalRateM2	Between Groups	891.554	3	297.185	7.893	.009
	Within Groups	301.229	8	37.654		
	Total	1192.783	11			
SurvivalRatePL1	Between Groups	847.330	3	282.443	28.370	.000
	Within Groups	79.645	8	9.956		
	Total	926.976	11			
SurvivalRatePL5	Between Groups	867.700	3	289.233	39.527	.000
	Within Groups	58.539	8	7.317		
	Total	926.239	11			
SurvivalRatePL12	Between Groups	1110.190	3	370.063	37.511	.000
	Within Groups	78.924	8	9.865		
	Total	1189.113	11			

SurvivalRateM2

Duncan^a

Treatment	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
NT-DC6	3	51.2085		
NT-6.4	3	60.9560	60.9560	
NT-6.5	3		67.8421	67.8421
NT-6.6	3			74.4928
Sig.		.088	.207	.221

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

SurvivalRatePL1

Duncan^a

Treatment	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
NT-DC6	3	29.1264		
NT-6.4	3		36.5656	
NT-6.5	3			46.8667
NT-6.6	3			50.3632
Sig.		1.000	1.000	.212

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

SurvivalRatePL5Duncan^a

Treatment	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
NT-DC6	3	26.2138		
NT-6.4	3		34.3717	
NT-6.5	3			44.5233
NT-6.6	3			47.7354
Sig.		1.000	1.000	.184

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

SurvivalRatePL12Duncan^a

Treatment	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
NT-DC6	3	31.0917		
NT-6.4	3		40.4963	
NT-6.5	3			51.8661
NT-6.6	3			55.4636
Sig.		1.000	1.000	.198

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

❖ Phân tích ANOVA một yếu tố kết quả chiều dài và CV của ấu trùng tôm qua các giai đoạn phát triển

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
LengthZ2	NT-6.4	3	1.7467	.05774	.03333	1.6032	1.8901	1.68	1.78
	NT-6.5	3	1.7933	.03512	.02028	1.7061	1.8806	1.76	1.83
	NT-6.6	3	1.8133	.02517	.01453	1.7508	1.8758	1.79	1.84
	NT-DC6	3	1.7667	.01528	.00882	1.7287	1.8046	1.75	1.78
	Total	12	1.7800	.04112	.01187	1.7539	1.8061	1.68	1.84
LengthM2	NT-6.4	3	3.3923	.13993	.08079	3.0447	3.7399	3.25	3.53
	NT-6.5	3	3.5333	.23382	.13499	2.9525	4.1142	3.30	3.76
	NT-6.6	3	3.6018	.04761	.02749	3.4835	3.7201	3.55	3.64
	NT-DC6	3	3.3039	.14606	.08433	2.9411	3.6667	3.14	3.41
	Total	12	3.4578	.18063	.05214	3.3431	3.5726	3.14	3.76
LengthPL1	NT-6.4	3	4.8900	.07550	.04359	4.7025	5.0775	4.82	4.97
	NT-6.5	3	5.1467	.09238	.05333	4.9172	5.3761	5.04	5.20
	NT-6.6	3	5.1900	.08660	.05000	4.9749	5.4051	5.14	5.29
	NT-DC6	3	4.8233	.14012	.08090	4.4753	5.1714	4.71	4.98
	Total	12	5.0125	.18675	.05391	4.8938	5.1312	4.71	5.29
LengthPL12	NT-6.4	3	9.5800	.45738	.26407	8.4438	10.7162	9.06	9.92
	NT-6.5	3	8.9667	.11372	.06566	8.6842	9.2492	8.84	9.06
	NT-6.6	3	9.4933	.32393	.18702	8.6886	10.2980	9.12	9.70
	NT-DC6	3	9.1600	.65818	.38000	7.5250	10.7950	8.42	9.68
	Total	12	9.3000	.45327	.13085	9.0120	9.5880	8.42	9.92
CVPL12	NT-6.4	3	10.6915	4.38159	2.52971	-1.930	21.5760	7.02	15.54
	NT-6.5	3	9.6735	3.12473	1.80406	1.9113	17.4358	6.59	12.83
	NT-6.6	3	6.6203	2.87103	1.65759	-.5117	13.7523	4.26	9.82
	NT-DC6	3	11.3530	2.87865	1.66199	4.2020	18.5039	8.04	13.28
	Total	12	9.5846	3.44338	.99402	7.3967	11.7724	4.26	15.54

Test of Homogeneity of Variances

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
LengthZ2	2.721	3	8	.115
LengthM2	1.133	3	8	.392
LengthPL1	.873	3	8	.494
LengthPL12	3.178	3	8	.085
CVPL12	.393	3	8	.761

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
LengthZ2	Between Groups	.008	3	.003	1.898	.208
	Within Groups	.011	8	.001		
	Total	.019	11			
LengthM2	Between Groups	.163	3	.054	2.224	.163
	Within Groups	.196	8	.024		
	Total	.359	11			
LengthPL1	Between Groups	.301	3	.100	9.698	.005
	Within Groups	.083	8	.010		
	Total	.384	11			
LengthPL12	Between Groups	.739	3	.246	1.297	.340
	Within Groups	1.521	8	.190		
	Total	2.260	11			
CVPL12	Between Groups	39.442	3	13.147	1.156	.384
	Within Groups	90.983	8	11.373		
	Total	130.425	11			

LengthPL1

Duncan^a

Treatment	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
NT-DC6	3	4.8233	5.1467 5.1900
NT-6.4	3	4.8900	
NT-6.5	3		
NT-6.6	3		
Sig.		.445	.616

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Salinity.Stress.test	Between Groups	32.115	3	10.705	1.271	.348
	Within Groups	67.392	8	8.424		
	Total	99.508	11			
Formol.Stress.test	Between Groups	.000	3	.000	.	.
	Within Groups	.000	8	.000		
	Total	.000	11			

3.7. Ảnh hưởng các khẩu phần thức ăn vi tảo khác nhau lên sinh trưởng, phát triển và sức khỏe ấu trùng tôm he (TN 7)

Phụ lục 3.7.1. Một số hình ảnh trong quá trình thí nghiệm



Phụ lục 3.7.2. Một số hình ảnh kết quả nghiên cứu

Phụ lục 3.7.3. Phân tích ANOVA một yếu tố thí nghiệm 7

❖ Phân tích ANOVA kết quả tỷ lệ sống ấu trùng tôm sú qua các giai đoạn

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
TLS_Su_Z2	NT-7.1 (Tw)	3	94.0000	6.84124	3.94979	77.0054	110.9946	86.55	100.00
	NT-7.2 (Cm)	3	90.1900	2.42988	1.40289	84.1539	96.2261	87.62	92.45
	NT7.3 (Pt)	3	93.1500	5.99646	3.46206	78.2540	108.0460	88.85	100.00
	NT-7.4 (Tw+Cm)	3	97.6833	2.88632	1.66642	90.5133	104.8533	94.45	100.00
	NT-7.5 (Tw+Pt)	3	98.5200	2.56344	1.48000	92.1521	104.8879	95.56	100.00
	NT-7.6 (Cm+Pt)	3	97.8333	2.56580	1.48137	91.4595	104.2071	95.00	100.00
	Total	18	95.2294	4.75817	1.12151	92.8633	97.5956	86.55	100.00
TLS_Su_M2	NT-7.1 (Tw)	3	83.1933	3.86415	2.23097	73.5943	92.7924	78.85	86.25
	NT-7.2 (Cm)	3	79.9500	3.15872	1.82369	72.1033	87.7967	76.50	82.70
	NT7.3 (Pt)	3	80.5167	5.21664	3.01183	67.5578	93.4755	76.65	86.45
	NT-7.4 (Tw+Cm)	3	96.3333	1.89297	1.09291	91.6309	101.0357	95.00	98.50
	NT-7.5 (Tw+Pt)	3	94.1133	2.17489	1.25567	88.7106	99.5161	92.34	96.54
	NT-7.6 (Cm+Pt)	3	90.1833	3.54342	2.04580	81.3810	98.9857	86.45	93.50
	Total	18	87.3817	7.29857	1.72029	83.7522	91.0112	76.50	98.50
TLS_Su_PL1	NT-7.1 (Tw)	3	75.4533	7.10718	4.10333	57.7981	93.1086	68.45	82.66
	NT-7.2 (Cm)	3	72.0867	2.84700	1.64372	65.0143	79.1590	68.93	74.46
	NT7.3 (Pt)	3	67.8633	4.95974	2.86351	55.5427	80.1840	62.60	72.45
	NT-7.4 (Tw+Cm)	3	91.0167	1.39851	.80743	87.5426	94.4908	89.95	92.60
	NT-7.5 (Tw+Pt)	3	88.7600	1.36865	.79019	85.3601	92.1599	87.54	90.24
	NT-7.6 (Cm+Pt)	3	79.5167	5.49598	3.17311	65.8639	93.1694	74.60	85.45
	Total	18	79.1161	9.41597	2.21937	74.4337	83.7986	62.60	92.60
TLS_Su_PL10	NT-7.1 (Tw)	3	57.9944	20.69457	11.94801	6.5863	109.4026	35.11	75.40
	NT-7.2 (Cm)	3	66.7350	9.29490	5.36641	43.6452	89.8248	57.26	75.83
	NT7.3 (Pt)	3	53.2413	10.07903	5.81913	28.2036	78.2790	44.25	64.14
	NT-7.4 (Tw+Cm)	3	86.3468	8.53280	4.92641	65.1502	107.5435	79.73	95.98
	NT-7.5 (Tw+Pt)	3	85.2236	5.21301	3.00973	72.2738	98.1734	80.88	91.01
	NT-7.6 (Cm+Pt)	3	53.0310	9.25446	5.34307	30.0416	76.0204	43.95	62.45
	Total	18	67.0954	17.35377	4.09032	58.4655	75.7252	35.11	95.98

Test of Homogeneity of Variances

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
TLS_Su_Z2	2.031	5	12	.146
TLS_Su_M2	1.192	5	12	.369
TLS_Su_PL1	1.473	5	12	.269
TLS_Su_PL10	1.637	5	12	.224

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
TLS_Su_Z2	Between Groups	164.584	5	32.917	1.793	.189
	Within Groups	220.299	12	18.358		
	Total	384.883	17			
TLS_Su_M2	Between Groups	759.591	5	151.918	12.488	.000
	Within Groups	145.984	12	12.165		
	Total	905.575	17			
TLS_Su_PL1	Between Groups	1272.727	5	254.545	13.026	.000
	Within Groups	234.503	12	19.542		
	Total	1507.230	17			
TLS_Su_PL10	Between Groups	3515.854	5	703.171	5.261	.009
	Within Groups	1603.753	12	133.646		
	Total	5119.606	17			

TLS_Su_M2

Duncan^a

Treatments	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
NT-7.2 (Cm)	3	79.9500	90.1833
NT7.3 (Pt)	3	80.5167	
NT-7.1 (Tw)	3	83.1933	
NT-7.6 (Cm+Pt)	3		
NT-7.5 (Tw+Pt)	3		
NT-7.4 (Tw+Cm)	3		
Sig.		.300	.062

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

TLS_Su_PL1

Duncan^a

Treatments	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
NT7.3 (Pt)	3	67.8633	72.0867	88.7600
NT-7.2 (Cm)	3	72.0867		
NT-7.1 (Tw)	3	75.4533		
NT-7.6 (Cm+Pt)	3			
NT-7.5 (Tw+Pt)	3			
NT-7.4 (Tw+Cm)	3			
Sig.		.068	.073	.544

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

TLS_Su_PL10

Duncan^a

Treatments	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
NT-7.6 (Cm+Pt)	3	53.0310	
NT7.3 (Pt)	3	53.2413	
NT-7.1 (Tw)	3	57.9944	
NT-7.2 (Cm)	3	66.7350	66.7350
NT-7.5 (Tw+Pt)	3		85.2236
NT-7.4 (Tw+Cm)	3		86.3468
Sig.		.203	.071

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

❖ Phân tích ANOVA kết quả tỷ lệ sống ấu trùng tôm thẻ chân trắng qua các giai đoạn

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
TLS_The_Z2	NT-7.7 (Tw)	3	96.6533	4.41728	2.55032	85.6802	107.6265	91.65	100.00
	NT-7.8 (Cm)	3	92.1290	1.63501	.94397	88.0674	96.1906	90.25	93.22
	NT7.9 (Pt)	3	89.9445	3.62596	2.09345	80.9371	98.9519	87.02	94.00
	NT-7.10 (Tw+Cm)	3	98.3445	1.45255	.83863	94.7362	101.9528	97.28	100.00
	NT-7.11 (Tw+Pt)	3	94.1089	2.92901	1.69107	86.8329	101.3850	90.73	95.80
	NT-7.12 (Cm+Pt)	3	99.7683	1.81363	1.04710	95.2630	104.2736	97.85	101.46
	Total	18	95.1581	4.28352	1.00964	93.0280	97.2882	87.02	101.46
TLS_The_M2	NT-7.7 (Tw)	3	86.5225	2.59619	1.49891	80.0732	92.9718	83.72	88.84
	NT-7.8 (Cm)	3	81.5818	2.41531	1.39448	75.5819	87.5818	78.80	83.07
	NT7.9 (Pt)	3	77.9322	4.52257	2.61111	66.6975	89.1668	74.45	83.04
	NT-7.10 (Tw+Cm)	3	98.4733	2.92900	1.69106	91.1973	105.7494	95.60	101.46
	NT-7.11 (Tw+Pt)	3	91.5701	3.93629	2.27262	81.7918	101.3484	87.41	95.24
	NT-7.12 (Cm+Pt)	3	90.0410	8.39664	4.84780	69.1826	110.8994	80.50	96.31
	Total	18	87.6868	7.92413	1.86773	83.7462	91.6274	74.45	101.46
TLS_The_PL1	NT-7.7 (Tw)	3	78.5503	6.13498	3.54203	63.3101	93.7904	73.00	85.14
	NT-7.8 (Cm)	3	73.4826	4.22381	2.43862	62.9901	83.9751	68.70	76.69
	NT7.9 (Pt)	3	64.8992	4.44530	2.56650	53.8565	75.9420	59.98	68.62
	NT-7.10 (Tw+Cm)	3	92.9972	.30507	.17613	92.2393	93.7550	92.65	93.22
	NT-7.11 (Tw+Pt)	3	86.0561	2.64725	1.52839	79.4800	92.6323	83.46	88.75
	NT-7.12 (Cm+Pt)	3	81.9022	5.66086	3.26830	67.8398	95.9645	76.84	88.01
	Total	18	79.6479	9.91742	2.33756	74.7161	84.5797	59.98	93.22
TLS_The_PL12	NT-7.7 (Tw)	3	69.8461	6.78908	3.91968	52.9811	86.7111	65.38	77.66
	NT-7.8 (Cm)	3	67.9704	9.61849	5.55324	44.0768	91.8640	58.97	78.11
	NT7.9 (Pt)	3	49.8385	9.57562	5.52848	26.0514	73.6257	41.08	60.06
	NT-7.10 (Tw+Cm)	3	88.1872	7.52405	4.34401	69.4965	106.8780	82.12	96.61
	NT-7.11 (Tw+Pt)	3	82.4137	3.47431	2.00589	73.7830	91.0443	79.11	86.04
	NT-7.12 (Cm+Pt)	3	54.6219	9.53210	5.50336	30.9429	78.3010	45.27	64.33
	Total	18	68.8130	15.62480	3.68280	61.0430	76.5830	41.08	96.61

Test of Homogeneity of Variances

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
TLS_The_Z2	2.066	5	12	.141
TLS_The_M2	2.516	5	12	.088
TLS_The_PL1	1.805	5	12	.186
TLS_The_PL12	.541	5	12	.742

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
TLS_The_Z2	Between Groups	213.302	5	42.660	5.191	.009
	Within Groups	98.623	12	8.219		
	Total	311.925	17			
TLS_The_M2	Between Groups	812.251	5	162.450	7.638	.002
	Within Groups	255.209	12	21.267		
	Total	1067.461	17			
TLS_The_PL1	Between Groups	1443.267	5	288.653	15.141	.000
	Within Groups	228.771	12	19.064		
	Total	1672.038	17			
TLS_The_PL12	Between Groups	3370.600	5	674.120	10.375	.000
	Within Groups	779.685	12	64.974		
	Total	4150.284	17			

TLS_The_Z2

Duncan^a

Treatment	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
NT7.9 (Pt)	3	89.9445			
NT-7.8 (Cm)	3	92.1290	92.1290		
NT-7.11 (Tw+Pt)	3	94.1089	94.1089	94.1089	
NT-7.7 (Tw)	3		96.6533	96.6533	96.6533
NT-7.10 (Tw+Cm)	3			98.3445	98.3445
NT-7.12 (Cm+Pt)	3				99.7683
Sig.		.116	.090	.110	.229

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

TLS_The_M2

Duncan^a

Treatment	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
NT7.9 (Pt)	3	77.9322			
NT-7.8 (Cm)	3	81.5818	81.5818		
NT-7.7 (Tw)	3		86.5225	86.5225	
NT-7.12 (Cm+Pt)	3		90.0410	90.0410	90.0410
NT-7.11 (Tw+Pt)	3			91.5701	91.5701
NT-7.10 (Tw+Cm)	3				98.4733
Sig.		.352	.053	.226	.054

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

TLS_The_PL1

Duncan^a

Treatment	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
NT7.9 (Pt)	3	64.8992			
NT-7.8 (Cm)	3		73.4826		
NT-7.7 (Tw)	3		78.5503	78.5503	
NT-7.12 (Cm+Pt)	3			81.9022	
NT-7.11 (Tw+Pt)	3			86.0561	86.0561
NT-7.10 (Tw+Cm)	3				92.9972
Sig.		1.000	.181	.067	.075

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

TLS_The_PL12

Duncan^a

Treatment	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
NT7.9 (Pt)	3	49.8385			
NT-7.12 (Cm+Pt)	3	54.6219	54.6219		
NT-7.8 (Cm)	3		67.9704	67.9704	
NT-7.7 (Tw)	3			69.8461	
NT-7.11 (Tw+Pt)	3			82.4137	82.4137
NT-7.10 (Tw+Cm)	3				88.1872
Sig.		.481	.065	.058	.398

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

❖ Phân tích ANOVA kết quả chiều dài và Khối lượng khô ấu trùng tôm sú

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
CD_Su_Z2	NT-7.1 (Tw)	3	2.1584	.03092	.01785	2.0816	2.2352	2.13	2.19
	NT-7.2 (Cm)	3	2.0583	.04135	.02387	1.9555	2.1610	2.02	2.10
	NT7.3 (Pt)	3	1.9992	.07085	.04090	1.8232	2.1752	1.92	2.04
	NT-7.4 (Tw+Cm)	3	2.2584	.03092	.01785	2.1816	2.3352	2.23	2.29
	NT-7.5 (Tw+Pt)	3	2.2347	.04541	.02622	2.1218	2.3475	2.19	2.28
	NT-7.6 (Cm+Pt)	3	2.1698	.07781	.04492	1.9765	2.3631	2.08	2.22
	Total	18	2.1465	.10429	.02458	2.0946	2.1983	1.92	2.29
CD_Su_M2	NT-7.1 (Tw)	3	4.1636	.05625	.03247	4.0238	4.3033	4.10	4.21
	NT-7.2 (Cm)	3	4.0789	.27512	.15884	3.3955	4.7624	3.80	4.35
	NT7.3 (Pt)	3	3.9130	.16465	.09506	3.5040	4.3221	3.75	4.07
	NT-7.4 (Tw+Cm)	3	4.2936	.05625	.03247	4.1538	4.4333	4.23	4.34
	NT-7.5 (Tw+Pt)	3	4.2127	.27622	.15948	3.5265	4.8989	3.93	4.49
	NT-7.6 (Cm+Pt)	3	4.0461	.16531	.09544	3.6355	4.4568	3.88	4.21
	Total	18	4.1180	.20251	.04773	4.0173	4.2187	3.75	4.49
CD_Su_PL1	NT-7.1 (Tw)	3	6.0437	.10301	.05947	5.7879	6.2996	5.98	6.16
	NT-7.2 (Cm)	3	5.7958	.08945	.05164	5.5736	6.0180	5.71	5.89
	NT7.3 (Pt)	3	6.0999	.10944	.06319	5.8280	6.3718	5.97	6.16
	NT-7.4 (Tw+Cm)	3	6.2937	.10301	.05947	6.0379	6.5496	6.23	6.41
	NT-7.5 (Tw+Pt)	3	5.9369	.08980	.05185	5.7138	6.1600	5.85	6.03
	NT-7.6 (Cm+Pt)	3	6.2422	.10988	.06344	5.9692	6.5152	6.12	6.31
	Total	18	6.0687	.19482	.04592	5.9718	6.1656	5.71	6.41
CD_Su_PL10	NT-7.1 (Tw)	3	10.8111	.05092	.02940	10.6846	10.9376	10.77	10.87
	NT-7.2 (Cm)	3	10.2444	.42828	.24727	9.1805	11.3084	9.75	10.50
	NT7.3 (Pt)	3	10.6222	.55135	.31832	9.2526	11.9918	10.05	11.15
	NT-7.4 (Tw+Cm)	3	10.3611	.26736	.15436	9.6970	11.0253	10.08	10.62
	NT-7.5 (Tw+Pt)	3	10.4944	.20092	.11600	9.9953	10.9936	10.28	10.68
	NT-7.6 (Cm+Pt)	3	10.6056	.24056	.13889	10.0080	11.2031	10.47	10.88
	Total	18	10.5231	.33714	.07947	10.3555	10.6908	9.75	11.15
KLK_Su_PL10	NT-7.1 (Tw)	3	.7625	.02558	.01477	.6990	.8260	.74	.79
	NT-7.2 (Cm)	3	.5906	.10680	.06166	.3253	.8559	.48	.69
	NT7.3 (Pt)	3	.7563	.07064	.04078	.5808	.9317	.71	.84
	NT-7.4 (Tw+Cm)	3	.6469	.10015	.05782	.3981	.8957	.53	.71
	NT-7.5 (Tw+Pt)	3	.6646	.00902	.00521	.6422	.6870	.66	.68
	NT-7.6 (Cm+Pt)	3	.7510	.08983	.05186	.5279	.9742	.65	.82
	Total	18	.6953	.09306	.02193	.6490	.7416	.48	.84

Test of Homogeneity of Variances

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
CD_Su_Z2	1.733	5	12	.202
CD_Su_M2	1.114	5	12	.403
CD_Su_PL1	.192	5	12	.960
CD_Su_PL10	1.994	5	12	.152
KLK_Su_PL10	2.672	5	12	.076

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
CD_Su_Z2	Between Groups	.151	5	.030	10.840	.000
	Within Groups	.034	12	.003		
	Total	.185	17			
CD_Su_M2	Between Groups	.272	5	.054	1.532	.252
	Within Groups	.426	12	.035		
	Total	.697	17			
CD_Su_PL1	Between Groups	.523	5	.105	10.223	.001
	Within Groups	.123	12	.010		
	Total	.645	17			
CD_Su_PL10	Between Groups	.613	5	.123	1.115	.403
	Within Groups	1.319	12	.110		
	Total	1.932	17			
KLK_Su_PL10	Between Groups	.077	5	.015	2.614	.080
	Within Groups	.070	12	.006		
	Total	.147	17			

CD_Su_Z2

Duncan^a

Treatments	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
NT7.3 (Pt)	3	1.9992	2.1584
NT-7.2 (Cm)	3	2.0583	
NT-7.1 (Tw)	3		
NT-7.6 (Cm+Pt)	3		
NT-7.5 (Tw+Pt)	3		
NT-7.4 (Tw+Cm)	3		
Sig.		.196	.052

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

CD_Su_PL1

Duncan^a

Treatments	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
NT-7.2 (Cm)	3	5.7958	5.9369	6.0999	6.2422
NT-7.5 (Tw+Pt)	3	5.9369			
NT-7.1 (Tw)	3				
NT7.3 (Pt)	3				
NT-7.6 (Cm+Pt)	3			6.2422	6.2422
NT-7.4 (Tw+Cm)	3				6.2937
Sig.		.113	.084	.110	.544

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

❖ Phân tích ANOVA kết quả chiều dài và CV ấu trùng tôm thẻ chân trắng

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
CD_The_Z2	NT-7.7 (Tw)	3	1.8500	.02671	.01542	1.7836	1.9164	1.82	1.88
	NT-7.8 (Cm)	3	1.8295	.03923	.02265	1.7320	1.9269	1.79	1.87
	NT7.9 (Pt)	3	1.7735	.06722	.03881	1.6065	1.9404	1.70	1.82
	NT-7.10 (Tw+Cm)	3	2.0194	.02933	.01694	1.9465	2.0922	1.99	2.05
	NT-7.11 (Tw+Pt)	3	1.9968	.04309	.02488	1.8898	2.1039	1.95	2.04
	NT-7.12 (Cm+Pt)	3	1.9353	.07382	.04262	1.7519	2.1187	1.85	1.98
	Total	18	1.9007	.10144	.02391	1.8503	1.9512	1.70	2.05
CD_The_M2	NT-7.7 (Tw)	3	3.7678	.04809	.02776	3.6484	3.8873	3.71	3.81
	NT-7.8 (Cm)	3	3.6987	.23615	.13634	3.1120	4.2853	3.46	3.93
	NT7.9 (Pt)	3	3.5563	.14133	.08160	3.2052	3.9073	3.41	3.70
	NT-7.10 (Tw+Cm)	3	3.8829	.04828	.02787	3.7630	4.0028	3.83	3.92
	NT-7.11 (Tw+Pt)	3	3.8135	.23710	.13689	3.2245	4.4024	3.57	4.05
	NT-7.12 (Cm+Pt)	3	3.6705	.14190	.08192	3.3180	4.0230	3.53	3.81
	Total	18	3.7316	.17369	.04094	3.6452	3.8180	3.41	4.05
CD_The_PL1	NT-7.7 (Tw)	3	5.3719	.08747	.05050	5.1546	5.5892	5.32	5.47
	NT-7.8 (Cm)	3	5.0689	.07625	.04402	4.8795	5.2583	5.00	5.15
	NT7.9 (Pt)	3	5.3281	.09330	.05387	5.0964	5.5599	5.22	5.38
	NT-7.10 (Tw+Cm)	3	5.4934	.08782	.05070	5.2752	5.7115	5.44	5.59
	NT-7.11 (Tw+Pt)	3	5.1892	.07656	.04420	4.9990	5.3794	5.12	5.27
	NT-7.12 (Cm+Pt)	3	5.4494	.09367	.05408	5.2167	5.6821	5.34	5.50
	Total	18	5.3168	.16770	.03953	5.2334	5.4002	5.00	5.59
CD_The_PL12	NT-7.7 (Tw)	3	10.1391	.14676	.08473	9.7746	10.5037	9.99	10.28
	NT-7.8 (Cm)	3	9.7183	.32717	.18889	8.9055	10.5310	9.34	9.93
	NT7.9 (Pt)	3	9.1863	.11486	.06632	8.9010	9.4717	9.06	9.28
	NT-7.10 (Tw+Cm)	3	11.2797	.14735	.08507	10.9137	11.6457	11.13	11.42
	NT-7.11 (Tw+Pt)	3	10.8571	.32848	.18965	10.0411	11.6731	10.48	11.07
	NT-7.12 (Cm+Pt)	3	10.3231	.11532	.06658	10.0366	10.6096	10.19	10.42
	Total	18	10.2506	.73370	.17293	9.8857	10.6155	9.06	11.42
CV_The_PL12	NT-7.7 (Tw)	3	10.2267	2.12284	1.22562	4.9532	15.5001	8.17	12.41
	NT-7.8 (Cm)	3	11.0433	3.38370	1.95358	2.6378	19.4489	8.12	14.75
	NT7.9 (Pt)	3	10.7200	4.38220	2.53007	-1.660	21.6060	6.20	14.95
	NT-7.10 (Tw+Cm)	3	7.6200	1.86973	1.07949	2.9753	12.2647	5.95	9.64
	NT-7.11 (Tw+Pt)	3	8.6200	2.87188	1.65808	1.4859	15.7541	5.81	11.55
	NT-7.12 (Cm+Pt)	3	9.3467	2.88488	1.66559	2.1802	16.5131	6.84	12.50
	Total	18	9.5961	2.83338	.66783	8.1871	11.0051	5.81	14.95

Test of Homogeneity of Variances

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
CD_The_Z2	1.833	5	12	.181
CD_The_M2	1.116	5	12	.402
CD_The_PL1	.192	5	12	.960
CD_The_PL12	2.914	5	12	.060
CV_The_PL12	.498	5	12	.772

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
CD_The_Z2	Between Groups	.145	5	.029	11.654	.000
	Within Groups	.030	12	.002		
	Total	.175	17			
CD_The_M2	Between Groups	.199	5	.040	1.527	.253
	Within Groups	.313	12	.026		
	Total	.513	17			
CD_The_PL1	Between Groups	.389	5	.078	10.487	.000
	Within Groups	.089	12	.007		
	Total	.478	17			
CD_The_PL12	Between Groups	8.582	5	1.716	36.174	.000
	Within Groups	.569	12	.047		
	Total	9.151	17			
CV_The_PL12	Between Groups	26.026	5	5.205	.566	.725
	Within Groups	110.451	12	9.204		
	Total	136.477	17			

CD_The_Z2

Duncan^a

Treatment	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
NT7.9 (Pt)	3	1.7735		
NT-7.8 (Cm)	3	1.8295		
NT-7.7 (Tw)	3	1.8500	1.8500	
NT-7.12 (Cm+Pt)	3		1.9353	1.9353
NT-7.11 (Tw+Pt)	3			1.9968
NT-7.10 (Tw+Cm)	3			2.0194
Sig.		.098	.058	.072

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

CD_The_PL1

Duncan^a

Treatment	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
NT-7.8 (Cm)	3	5.0689			
NT-7.11 (Tw+Pt)	3	5.1892	5.1892		
NT7.9 (Pt)	3		5.3281	5.3281	
NT-7.7 (Tw)	3			5.3719	5.3719
NT-7.12 (Cm+Pt)	3			5.4494	5.4494
NT-7.10 (Tw+Cm)	3				5.4934
Sig.		.113	.072	.126	.126

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

CD_The_PL12

Duncan^a

Treatment	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
NT7.9 (Pt)	3	9.1863				
NT-7.8 (Cm)	3		9.7183			
NT-7.7 (Tw)	3			10.1391		
NT-7.12 (Cm+Pt)	3			10.3231		
NT-7.11 (Tw+Pt)	3				10.8571	
NT-7.10 (Tw+Cm)	3					11.2797
Sig.		1.000	1.000	.321	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

❖ Kết quả kiểm định tính đồng nhất phương sai và phân phối chuẩn dữ liệu thời gian phát triển ấu trùng tôm sú

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
DevelopTime_Su_Z2	NT-7.1 (Tw)	3	29.1111	.09623	.05556	28.8721	29.3501	29.00	29.17
	NT-7.2 (Cm)	3	30.2778	.25459	.14699	29.6453	30.9102	30.00	30.50
	NT7.3 (Pt)	3	29.8333	.57735	.33333	28.3991	31.2676	29.17	30.17
	NT-7.4 (Tw+Cm)	3	29.1944	.26788	.15466	28.5290	29.8599	29.00	29.50
	NT-7.5 (Tw+Pt)	3	29.0000	.00000	.00000	29.0000	29.0000	29.00	29.00
	NT-7.6 (Cm+Pt)	3	30.2222	.09623	.05556	29.9832	30.4613	30.17	30.33
	Total	18	29.6065	.59258	.13967	29.3118	29.9012	29.00	30.50
DevelopTime_Su_M2	NT-7.1 (Tw)	3	142.0556	.09623	.05556	141.8165	142.2946	142.00	142.17
	NT-7.2 (Cm)	3	213.3889	.41944	.24216	212.3470	214.4308	213.00	213.83
	NT7.3 (Pt)	3	180.2500	15.03491	8.68041	142.9012	217.5988	166.83	196.50
	NT-7.4 (Tw+Cm)	3	145.2222	.09623	.05556	144.9832	145.4613	145.17	145.33
	NT-7.5 (Tw+Pt)	3	145.1111	.09623	.05556	144.8721	145.3501	145.00	145.17
	NT-7.6 (Cm+Pt)	3	189.9444	8.06972	4.65905	169.8982	209.9907	181.33	197.33
	Total	18	169.3287	28.46444	6.70913	155.1737	183.4837	142.00	213.83
DevelopTime_Su_PL1	NT-7.1 (Tw)	3	204.5556	.09623	.05556	204.3165	204.7946	204.50	204.67
	NT-7.2 (Cm)	3	280.8889	8.46780	4.88889	259.8537	301.9241	276.00	290.67
	NT7.3 (Pt)	3	276.9444	.09623	.05556	276.7054	277.1835	276.83	277.00
	NT-7.4 (Tw+Cm)	3	204.5000	.00000	.00000	204.5000	204.5000	204.50	204.50
	NT-7.5 (Tw+Pt)	3	204.5000	.00000	.00000	204.5000	204.5000	204.50	204.50
	NT-7.6 (Cm+Pt)	3	268.6667	13.57694	7.83865	234.9397	302.3937	253.00	277.00
	Total	18	240.0093	37.11528	8.74816	221.5523	258.4663	204.50	290.67

Test of Homogeneity of Variances

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
DevelopTime_Su_Z2	7.187	5	12	.003
DevelopTime_Su_M2	5.571	5	12	.007
DevelopTime_Su_PL1	12.906	5	12	.000

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
DevelopTime_Su_Z2	.271	18	.001	.803	18	.002
DevelopTime_Su_M2	.300	18	.000	.810	18	.002
DevelopTime_Su_PL1	.330	18	.000	.713	18	.000

a. Lilliefors Significance Correction

❖ Kết quả kiểm định tính đồng nhất phương sai và phân phối chuẩn dữ liệu thời gian phát triển ấu trùng tôm thẻ chân trắng

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
DevelopTime_The_Z2	NT-7.7 (Tw)	3	35.0000	.00000	.00000	35.0000	35.0000	35.00	35.00
	NT-7.8 (Cm)	3	35.3333	.14434	.08333	34.9748	35.6919	35.17	35.42
	NT7.9 (Pt)	3	35.7222	.69389	.40062	33.9985	37.4459	35.17	36.50
	NT-7.10 (Tw+Cm)	3	32.6667	.28868	.16667	31.9496	33.3838	32.50	33.00
	NT-7.11 (Tw+Pt)	3	33.1667	.28868	.16667	32.4496	33.8838	33.00	33.50
	NT-7.12 (Cm+Pt)	3	34.1067	.09238	.05333	33.8772	34.3361	34.00	34.16
	Total	18	34.3326	1.18932	.28033	33.7412	34.9240	32.50	36.50
DevelopTime_The_M2	NT-7.7 (Tw)	3	136.1667	.28868	.16667	135.4496	136.8838	136.00	136.50
	NT-7.8 (Cm)	3	137.2222	.38490	.22222	136.2661	138.1784	137.00	137.67
	NT7.9 (Pt)	3	143.1667	.28868	.16667	142.4496	143.8838	143.00	143.50
	NT-7.10 (Tw+Cm)	3	134.1667	.28868	.16667	133.4496	134.8838	134.00	134.50
	NT-7.11 (Tw+Pt)	3	134.3333	.57735	.33333	132.8991	135.7676	134.00	135.00
	NT-7.12 (Cm+Pt)	3	135.3333	.57735	.33333	133.8991	136.7676	135.00	136.00
	Total	18	136.7315	3.17061	.74732	135.1548	138.3082	134.00	143.50
DevelopTime_The_PL1	NT-7.7 (Tw)	3	182.6667	.28868	.16667	181.9496	183.3838	182.50	183.00
	NT-7.8 (Cm)	3	183.7222	.38490	.22222	182.7661	184.6784	183.50	184.17
	NT7.9 (Pt)	3	189.6667	.28868	.16667	188.9496	190.3838	189.50	190.00
	NT-7.10 (Tw+Cm)	3	160.8000	.00000	.00000	160.8000	160.8000	160.80	160.80
	NT-7.11 (Tw+Pt)	3	164.0000	1.38564	.80000	160.5579	167.4421	163.20	165.60
	NT-7.12 (Cm+Pt)	3	180.8000	1.38564	.80000	177.3579	184.2421	180.00	182.40
	Total	18	176.9426	11.00567	2.59406	171.4696	182.4156	160.80	190.00

Test of Homogeneity of Variances

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
DevelopTime_The_Z2	5.994	5	12	.005
DevelopTime_The_M2	1.809	5	12	.186
DevelopTime_The_PL1	8.464	5	12	.001

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
DevelopTime_The_Z2	.213	18	.031	.926	18	.167
DevelopTime_The_M2	.244	18	.006	.763	18	.000
DevelopTime_The_PL1	.276	18	.001	.813	18	.002

a. Lilliefors Significance Correction

