

NGHIÊN CỨU SỬ DỤNG VI KHUẨN QUANG HỢP TÍA LÀM THỨC ĂN TƯƠI SỐNG TRONG SẢN XUẤT GIỐNG HẢI SẢN

Đỗ Thị Tố Uyên, Hoàng Thị Yến, Đỗ Thị Liên, Trần Văn Nhị

Viện Công nghệ sinh học, Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam

TÓM TẮT

Nhằm có thêm nguồn thức ăn tươi sống trong sản xuất con giống động vật biển kinh tế, chúng tôi đã xác định thành phần dinh dưỡng của một số chủng vi khuẩn quang hợp tía (VKQHT) tìm được ở Việt Nam và thử nghiệm sử dụng chúng làm thức ăn tươi sống trong nuôi giống một số loài động vật biển hai mảnh vỏ. Sinh khối các chủng VKQHT lựa chọn có hàm lượng amino acid (đặc biệt là một số amino acid không thay thế như phenylalanine, isoleucine, leucine, lysine) cao hơn so với tảo *Chlorella* sp. và gần với tảo *Nanochloropsis* sp.. Ở VKQHT, hàm lượng lipid tổng số lại thấp hơn so với hai loài tảo trên. Tuy tổng các acid béo không no một nối đôi của VKQHT cao hơn nhiều so với vi tảo nhưng lại không phát hiện được acid béo không no đa nối đôi như: Eicosapentaenoic acid (EPA); Docosahexaenoic acid (DHA). Sinh khối một số chủng VKQHT đã được thử nghiệm làm thức ăn tươi sống để nuôi luân trùng và con giống động vật hai mảnh vỏ. Luân trùng *Brachionus plicatilis* sau 9 ngày nuôi bằng hỗn hợp sinh khối VKQHT có sự gia tăng mật độ từ 28 ± 3 đến 83 ± 5 cá thể/ml, tương đương với khi nuôi bằng hỗn hợp vi tảo (từ 27 ± 4 đến 85 ± 4 cá thể/ml). Đối với ngao giống, tỷ lệ sống sót của ấu trùng ngao (đến 8 ngày tuổi) nuôi bằng sinh khối VKQHT đạt trung bình khoảng $34,2 \pm 4,6 \%$, gần bằng khi nuôi bằng vi tảo (đạt khoảng $35,1 \pm 2,1\%$). Tỷ lệ sống sót của ngao cám được nuôi bằng VKQHT và tảo xấp xỉ như nhau ($47,9 \pm 9,5$ và $48,6 \pm 10,5$). Tốc độ biến thái, mức gia tăng kích thước và tỷ lệ sống sót đến giai đoạn bám đáy của hầu giống tương tự nhau khi nuôi bằng hai loại thức ăn là VKQHT và vi tảo ($65,3 \pm 6,5\%$ và $66,9 \pm 4,5\%$, tương ứng). Đối với tu hải giống, tốc độ biến thái và kích thước của ấu trùng tu hải từ giai đoạn dính vỏ thẳng đến giai đoạn dính vỏ lõi khi được nuôi bằng VKQHT cũng tương đương so với khi nuôi bằng vi tảo. Mức độ sống sót của tu hải (25 ngày tuổi) xấp xỉ như nhau ở hai công thức cho ăn sinh khối VKQHT và bằng vi tảo ($80,3 \pm 6,5\%$ và $78,1 \pm 5,7\%$, tương ứng). Từ các kết quả thu được cho thấy, hoàn toàn có thể sử dụng sinh khối các chủng VKQHT đã lựa chọn để bổ sung hoặc thay thế khi sinh khối vi tảo không đáp ứng được nhu cầu thức ăn tươi sống trong mùa vụ sản xuất con giống hải sản.

Từ khóa: Ấu trùng hai mảnh vỏ, luân trùng, nuôi trồng thủy sản, thức ăn tươi sống, vi khuẩn quang hợp tía

MỞ ĐẦU

Trên thế giới trong một thập kỷ qua, trên ngành thủy sản được xem là một trong những ngành có bước phát triển nhanh chóng. Ở Việt Nam, nuôi trồng thủy sản hiện đang trở thành một nghề sản xuất có hiệu quả cao. Theo thống kê của Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn, nước ta phấn đấu đến năm 2010 sản lượng nuôi trồng đạt 2 triệu tấn, giữ diện tích nuôi trồng từ 1,2 đến 1,4 triệu ha. Năm 2008, diện tích nuôi trồng mở rộng lớn hơn 1 triệu ha, sản lượng nuôi trồng đạt 2,4 triệu tấn, góp phần đưa kim ngạch xuất khẩu thủy sản đạt 4,5 tỷ USD.

Nuôi trồng thủy sản phát triển, nhu cầu về con giống trong nuôi trồng thủy sản ở nước ta ngày càng gia tăng. Trong sản xuất giống, thức ăn và kỹ thuật nuôi khi ương ấu trùng mang tính quyết định năng suất và chất lượng con giống. Từ lâu, vi tảo và một số động vật phù du như rotifer, artemia... đã

được sử dụng làm nguồn thức ăn tươi sống cho con giống của nhiều thủy động vật nuôi. Các loài vi tảo như *Nannochloropsis* sp., *Chlorella* sp., *Chaetoceros calcitrans*... thường được sử dụng trực tiếp làm thức ăn tươi sống cho các loài nhuyễn thể hai mảnh vỏ (ở tất cả các giai đoạn phát triển) và cho giai đoạn ương giống các loài cá, giáp xác và bào ngư. Ngoài ra, vi tảo còn có thể làm nguồn thức ăn gián tiếp thông qua các động vật phù du (Lavens, Sorgeloos, 1996). Tuy vậy, do biến động của nhiều điều kiện tự nhiên, sinh khối của các loại tảo này thường cho năng suất không ổn định. Để đáp ứng nhu cầu thức ăn ngày càng cao, người ta vẫn tiếp tục tìm kiếm, lựa chọn thêm các đối tượng mới để sử dụng làm thức ăn tươi sống trong sản xuất giống thủy sản.

Một số nước trên thế giới như Nhật Bản, Trung Quốc và Malaysia đã thành công trong việc sử dụng sinh khối một số loài vi khuẩn quang hợp tía

(VKQHT) làm nguồn thức ăn tươi sống trực tiếp hoặc gián tiếp để nuôi ấu trùng một số loài thủy động vật (Kobayashi, Kobayashi, 1995; Sasikala, Ramana, 1995; Xu *et al.*, 1992; Azad *et al.*, 2002). Trong những năm gần đây, ở Việt Nam, đối tượng này đã được tìm kiếm, thu thập, tuyển chọn và nghiên cứu chúng để ứng dụng trong một số lĩnh vực như: công nghệ môi trường (Đỗ Thị Tô Uyên *et al.*, 2003), xử lý ao nuôi thủy sản (Võ Thị Hạnh *et al.*, 2004), thu nhận hoạt chất sinh học (Đỗ Thị Tô Uyên *et al.*, 2005; 2006). Tuy nhiên, việc nghiên cứu ứng dụng đối tượng này làm thức ăn trong nuôi trồng thủy sản còn chưa được quan tâm.

Trong các thông báo trước đây (Hoàng Thị Yến *et al.*, 2006; 2007; 2008), chúng tôi đã trình bày kết quả tuyển chọn, nghiên cứu đặc điểm sinh học của cả 4 chủng VKQHT nước mặn nhằm ứng dụng trong nuôi trồng thủy sản. Trong công trình này chúng tôi trình bày các kết quả thử nghiệm sử dụng sinh khối VKQHT làm thức ăn tươi sống để nuôi động vật phù du hoặc trực tiếp nuôi ấu trùng một số loài thủy động vật biển hai mảnh vỏ có giá trị kinh tế cao.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Các chủng VKQHT được lấy từ tập đoàn giống Viện Công nghệ sinh học. Chủng tảo *Nannochloropsis* sp. nhận được từ TS. Nguyễn Hữu Đại (Viện Hải dương học Nha Trang). Chủng tảo *Chlorella* sp. nhận được từ GS. TSKH. Dương Đức Tiến (Đại học Quốc gia Hà Nội). Hai loài tảo này được nuôi trên môi trường f2 của Guillard (Duerr *et al.*, 1998). Luân trùng *Brachionus plicatilis* (kiểu s) nhận được từ Trung tâm Quốc gia Giống hải sản miền Bắc (Cát Bà, Hải Phòng). Thành phần và hàm lượng các amino acid trong tế bào VKQHT được xác định dựa theo phương pháp đã mô tả trước đây của Phan Văn Chi và đồng tác giả (1998) trên hệ HP-AminoQuant Series II (Cộng hòa Liên bang Đức). Hàm lượng lipid tổng số, acid béo no và không no được xác định theo phương pháp sắc ký khối phổ trên máy sắc ký HP-6890 (Cộng hòa Liên bang Đức), ghép nối với Mass Selective Detector Aligent 5973 với cột HP-5MS và khí mang He (được tiến hành tại Phòng Hóa - Sinh biển, Viện Hóa học các hợp chất thiên nhiên, Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam).

Phương pháp nuôi luân trùng

Trong phòng thí nghiệm: luân trùng được nuôi

trong bình thủy tinh thể tích 500 ml chứa 400 ml nước biển (độ mặn 25‰). Các bình này được sục khí liên tục và duy trì nhiệt độ trong khoảng 25 - 27°C, pH 7,5 - 8,0. Luân trùng được thả với mật độ 20 con/ml và mỗi ngày cho ăn 3 lần. Thức ăn là tảo hoặc VKQHT. Từ những thí nghiệm thăm dò đã xác định được lượng thức ăn cần thiết cho đối tượng nuôi như sau: mỗi lần 13 ml dịch vi tảo có với mật độ 10^7 tế bào/ml (tương ứng với khoảng 16.000 tế bào tảo/cá thể/lần hoặc 1,3 ml dịch VKQHT có mật độ 10^9 tế bào/ml (tương ứng với 160.000 tế bào/cá thể/lần). Cách 1 ngày thay nước một lần để giảm ô nhiễm môi trường nuôi (do thức ăn thừa và chất thải từ động vật nuôi gây ra). Thí nghiệm được tiến hành trong hai đợt vào tháng 8/2007, mỗi đợt lặp lại ba lần.

Tại trại giống thủy sản: luân trùng được nuôi trong bể thủy tinh có thể tích 60 l (chứa 50 l nước biển có độ mặn 25‰) với mật độ khoảng 20 con/ml. Các bình này được sục khí liên tục, pH 7,5 - 8,0. Cách thay nước và cho ăn giống như đã mô tả ở quy mô trong phòng thí nghiệm. Thí nghiệm này được tiến hành trong hai đợt vào tháng 9/2007, mỗi đợt lặp lại 2 lần.

Phương pháp nuôi ngao giống

Đôi với ấu trùng ngao (3 ngày tuổi)

Hệ nuôi là hai khay có kích thước 30 × 50 × 40 cm chứa 50 l nước biển, độ mặn 20 - 25‰. Nước biển trong hệ được cấp từ một hệ thống lọc sinh học để ổn định về chất lượng nước nuôi và được thổi khí liên tục. Các đường nước thoát ra khỏi hệ nuôi được chắn bằng lưới nylon (kích thước mắt lưới 40 µm) để ngăn cản ấu trùng ngao không trôi theo nước ra ngoài, mật độ ban đầu khoảng 5 ấu trùng/ml và mỗi ngày cho ăn 3 lần. Sử dụng thức ăn là 500 ml dịch tảo có mật độ 10^7 tế bào/ml (tương ứng với khoảng 20.000 tế bào tảo/cá thể/lần) hoặc 50 ml VKQHT có mật độ 10^9 tế bào/ml (tương ứng với 200.000 tế bào/cá thể/lần). Khi cấp thức ăn, dòng nước biển chảy qua sẽ tạm ngừng lại khoảng 1h để tránh thức ăn bị trôi ra ngoài. Thí nghiệm này được tiến hành trong ba đợt, vào tháng 6, 7 và 8/2006, mỗi đợt lặp lại ba lần.

Đôi với ngao cám (10 ngày tuổi)

Hệ nuôi được bố trí như khi nuôi ấu trùng nhưng bổ sung một lớp cát 2 cm ở đáy. Thí nghiệm này cũng được tiến hành trong ba đợt, mỗi đợt lặp lại ba

lần vào tháng 6, 7 và 8 năm 2006.

Thí nghiệm nuôi ấu trùng ngao và ngao cám được tiến hành tại Trại Giồng thủy sản Cừ Dung (Giao Xuân, Giao Thủy, Nam Định).

Phương pháp nuôi hàu giống

Thí nghiệm tiến hành như sau: sử dụng hai bể composite với thể tích nước là 1 m^3 để nuôi hàu với mật độ khoảng 3 con/ml, cho ăn 3 lần/ngày. Mỗi lần cho ăn khoảng 3,9 l dịch vi tảo có mật độ 10^7 tế bào/ml (tương ứng với khoảng 13.000 tế bào/cá thể/lần), hoặc 0,39 l dịch VKQHT có mật độ 10^9 tế bào/ml (tương ứng với 130.000 tế bào/cá thể/lần). Nước trong bể ương được sục khí liên tục, thay 1/2 bể mỗi ngày và sau 2 ngày thì thay 100%. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần trong tháng 9/2007.

Phương pháp nuôi tu hải giống

Đối với ấu trùng tu hải: chúng tôi bắt đầu nuôi tu hải từ ngày thứ hai sau khi đẻ bằng hỗn hợp sinh khối vi tảo *Nanochloropsis* sp. và *Chlorella* sp. (tương ứng khoảng 13.000 tế bào/cá thể/lần) hoặc hỗn hợp sinh khối VKQHT (tương ứng khoảng 130.000 tế bào/cá thể/lần), cho ăn ba lần/ngày.

Đối với tu hải giống 25 ngày tuổi: sử dụng 2 khay (kích thước $30 \times 30 \times 20$ cm) có đáy phụ được gắn vào đáy thùng (khoảng 1/3 từ đáy). Phía trên đáy phụ rải đều một lớp cát mịn. Từ đáy thùng nước đi ra theo hệ thống chảy tràn. Mỗi thùng nuôi khoảng 100 con tu hải giống, cho ăn 3 lần/ngày bằng dịch nuôi hỗn hợp VKQHT hoặc dịch nuôi hỗn hợp hai loài vi tảo (lượng cho ăn gấp khoảng 10 lần so với giai đoạn ấu trùng). Trong thời gian cho tu hải giống ăn thì ngừng cấp nước khoảng 1 h.

Thí nghiệm nuôi tu hải giống được tiến hành làm 3 đợt vào tháng 6 năm 2007 tại Trại Giồng thủy sản (Cát Bà, Hải Phòng) thuộc Viện Nghiên cứu nuôi trồng thủy sản I.

Phương pháp xác định mật độ luân trùng, ấu trùng ngao, hàu

Sử dụng micropipet, lấy 3 mẫu/bể (mỗi mẫu 50 μl) ở các vị trí khác nhau.

Đối với luân trùng: mẫu được cố định và nhuộm bằng lugol sau đó đếm trên kính lúp những cá thể bắt

màu lugol (những cá thể chết không bắt màu lugol).

Đối với ấu trùng ngao, hàu cũng lấy mẫu tương tự như đối với luân trùng nhưng không cần nhuộm màu, sau đó đếm trên kính hiển vi quang học.

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Thành phần dinh dưỡng của VKQHT

Trong các nghiên cứu trước đây (Hoàng Thị Yến *et al.*, 2006; 2007; 2008), dựa vào khả năng làm thức ăn tươi sống để duy trì số lượng artemia sau khi ấp nở, chúng tôi đã lựa chọn được 4 chủng VKQHT có ký hiệu là NDT6, 86, CB5 và TH3, phân lập ở các vùng ven biển Bắc Việt Nam, thuộc hai chi *Rhodobacter* và *Rhodovulum*. Theo nhiều tài liệu, tế bào VKQHT thường có hàm lượng protein cao (60 - 70% trọng lượng khô), hàm lượng các amino acid không thay thế của chúng có thể tương đương với đậu tương, thịt và trứng gà (Kobayashi, Kobayashi, 1995; Sasikala, Ramana, 1995), Chúng tôi đã xác định giá trị dinh dưỡng của 4 chủng VKQHT lựa chọn và so sánh với một số loài vi tảo thường được sử dụng làm thức ăn trong nuôi trồng thủy sản (Bảng 1).

Từ bảng 1 cho thấy, sinh khối của cả bốn chủng VKQHT lựa chọn chứa thành phần và hàm lượng các amino acid tương đối cao. Đặc biệt, hàm lượng một số amino acid không thay thế như: phenylalanine, isoleucine, leucine, lysine của VKQHT cao hơn so với tảo *Chlorella* sp. và gần bằng tảo *Nanochloropsis* sp. - là hai loài vi tảo được sử dụng phổ biến làm thức ăn tươi sống trong nuôi trồng thủy sản ở Việt Nam. Tuy nhiên, hàm lượng lipid tổng số ở VKQHT lại thấp hơn so với hai loài tảo nêu trên. Mặc dù % tổng các acid béo không no một nối đôi của VKQHT cao hơn nhiều so với vi tảo nhưng lại không phát hiện được acid béo không no đa nối đôi như: Eicosapentaenoic acid (EPA); Docosahexaenoic acid (DHA). Kết quả này cũng phù hợp với phân tích của một số tác giả khác (Azad *et al.*, 2002; Ponsano *et al.*, 2003; Ngô Thị Hoài Thu *et al.*, 2008). Như vậy, VKQHT có thể đáp ứng được nhu cầu về protein nhưng không đáp ứng được nhu cầu về DHA và EPA - là những acid béo rất cần thiết trong quá trình phát triển của ấu trùng của một số thủy động vật nuôi, có thể coi VKQHT như một nguồn thức ăn bổ sung.

Bảng 1. Thành phần và hàm lượng các amino acid và hàm lượng lipid trong sinh khối một số chủng VKQHT và vi tảo.

Thành phần	VKQHT (chủng)				Tảo	
	NDT6	86	CB5	TH3	<i>Chlorella</i> sp.	<i>Nanochlo-roopsis</i> sp.
Amino acids (% g khô)						
Aspartic acid	4,29	5,05	4,95	2,66	4,74	8,4
Glutamic acid	7,32	6,80	3,59	5,30	4,62	6,48
Serine acid	1,77	1,69	2,08	1,41	2,12	3,31
Histidine acid	1,20	1,19	1,61	0,75	1,06	0,61
Glycine	3,22	3,02	2,77	1,96	2,28	5,11
Threonine	2,21	2,26	2,50	1,80	2,28	5,28
Alanine	4,01	3,81	4,12	3,22	2,98	1,54
Arginine	2,78	2,59	2,95	1,96	3,24	3,57
Tysosine	1,95	1,92	2,61	2,20	0,96	1,06
Cysteine + Cystine	0,30	0,37	0,77	0,50	-	-
Valine	2,25	2,42	2,47	3,15	3,02	6,90
Methionine	1,40	1,14	0,93	1,18	0,27	2,64
Phenylalanine	1,86	1,90	2,36	2,98	2,65	1,92
Isoleucine	1,71	1,98	1,66	1,99	2,44	1,47
Leucine	3,56	3,56	4,02	4,59	2,44	5,57
Lysine	5,65	5,67	3,85	4,43	2,71	4,07
Proline	0,93	0,98	1,80	1,64	2,12	4,2
Amino acids tổng số	46,41	46,35	45,04	41,72	37,65	62,13
Lipid tổng số (% g khô)						
Tổng các acid béo no (% acid béo)	18,31	24,71	17,63	17,24	24,0	31,4
Tổng các acid béo không no một nối đôi (% acid béo)	81,38	72,73	80,54	81,69	32,99	15,9
Tổng các acid béo không no đa nối đôi (% acid béo)	kphđ	kphđ	kphđ	kphđ	43,01	52,1

Sử dụng sinh khối VKQHT làm thức ăn cho luân trùng

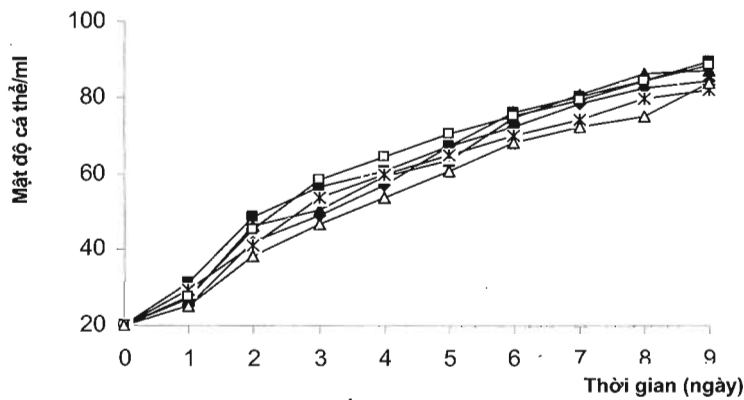
Luân trùng là nguồn thức ăn tươi sống quan trọng cho ấu trùng nhiều thủy động vật vì kích thước của chúng nhỏ phù hợp với miệng vật nuôi, giàu dinh dưỡng, dễ hấp thụ qua biểu mô ruột của ấu trùng. Một số loài luân trùng còn có khả năng sinh sản nhanh, bơi chậm, sống lơ lửng trong nước và

thích nghi rất tốt với biến động môi trường (Lavens, Sorgeloos, 1996).

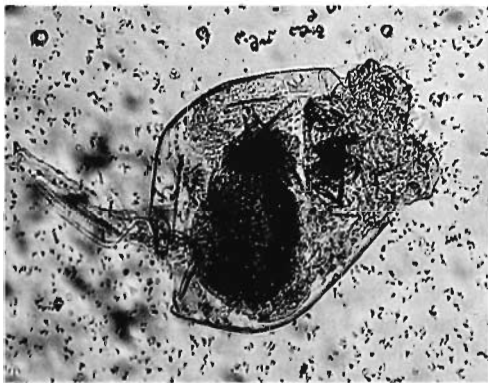
Thức ăn của luân trùng là vi tảo, vi khuẩn, nấm men hoặc thức ăn tổng hợp (Lavens, Sorgeloos, 1996). Trong thí nghiệm này, chúng tôi sử dụng 4 chủng VKQHT (NDT6, 86, CB5 và TH3) để nuôi luân trùng *B. plicatilis*. Luân trùng được nuôi như đã mô tả trong phần phương pháp.

Kết quả theo dõi sự gia tăng mật độ của *B. plicatilis* trong 9 ngày nuôi bằng sinh khối các

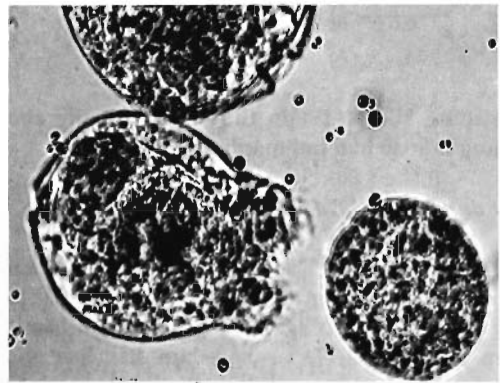
chủng VKQHT hoặc bằng vi tảo được trình bày ở hình 1.



Hình 1. Biến động mật độ luân trùng khi nuôi bằng 4 chủng VKQHT: chủng NDT6: (■); chủng 86: (▲); chủng CB5: (◆); chủng TH3: (✕); hoặc tảo *Nannochloropsis* sp (□); và tảo *Chlorella* sp (Δ).



A



B

Hình 2 . Luân trùng được nuôi bằng các nguồn thức ăn khác nhau. A. VKQHT; B. Vi tảo.

Luân trùng được nuôi bằng sinh khối của 4 chủng VKQHT có tốc độ sinh sản tương đương với khi nuôi bằng hai loài vi tảo *Nannochloropsis* sp. và *Chlorella* sp. (Hình 1). Như vậy, có thể thấy rằng VKQHT đã được luân trùng sử dụng như một nguồn thức ăn tươi sống như vi tảo. Điều này còn được thể hiện ở hình ảnh bộ máy tiêu hóa của luân trùng khi sử dụng các nguồn thức ăn khác nhau (Hình 2).

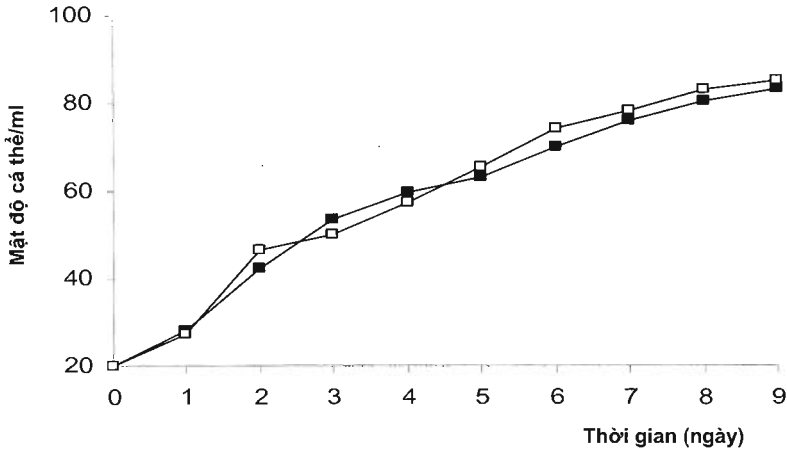
Thí nghiệm nuôi luân trùng còn được tiến hành

tại Trại Giống thủy sản Cửu Dung, Giao Xuân, Giao Thủy, Nam Định. Thức ăn sử dụng là sinh khối hỗn hợp bốn chủng VKQHT đã lựa chọn. Đối chứng là bể được cho ăn bằng sinh khối hỗn hợp hai loài vi tảo *Nannochloropsis* sp. và *Chlorella* sp. Số lượng luân trùng được xác định hàng ngày, kết quả được trình bày ở hình 3.

Sự gia tăng mật độ của *B. plicatilis* sau 9 ngày nuôi bằng hỗn hợp sinh khối của VKQHT (từ 28 ± 3 đến 83 ± 5 cá thể/ml) tương đương với khi nuôi bằng

hỗn hợp vi tảo (từ 27 ± 4 đến 85 ± 4 cá thể/ml). Như vậy, ở quy mô lớn có thể sử dụng hỗn hợp sinh khối

VKQHT làm thức ăn tươi sống cho luân trùng *B. plicatilis* thay thế cho vi tảo khi có nhu cầu.



Hình 3. Biến động mật độ luân trùng khi nuôi bằng hỗn hợp bốn chủng VKQHT (■) và hỗn hợp hai loài vi tảo *Nannochloropsis* sp. và *Chlorella* sp. (□).

Sử dụng VKQHT làm thức ăn tươi sống cho ấu trùng một số loài hai mảnh vỏ

Sử dụng VKQHT để nuôi ngao giống

Ngao giống ở cả hai giai đoạn ấu trùng và ngao cám được nuôi như đã mô tả ở phần phương pháp. Tỷ lệ sống sót của ngao giống được nuôi bằng hỗn hợp dịch VKQHT và hỗn hợp hai loài vi tảo *Nannochloropsis* sp. và *Chlorella* sp. được trình bày ở bảng 2.

Sử dụng VKQHT trong sản xuất hàu giống

Hàu là một loài thuộc ngành động vật thân mềm (mollusca), lớp hai mảnh vỏ (bivalvia), bộ cơ lệt (anisomyaria), họ hàu (*ostreidae*), gồm có hai giống *Crasostrea* và *Ostrea*. Hàu đẻ trứng, thụ tinh ngoài trong môi trường nước. Thức ăn chủ yếu của ấu trùng hàu là các loài vi tảo biển như: *Nannochloropsis oculata*, *Chaetoceros calcitrans*, *Chlorella* sp..... Trong thí nghiệm này, chúng tôi bắt đầu nuôi hàu từ giai đoạn ấu trùng đỉnh vỏ

thẳng (ngày thứ hai sau đẻ) đến hậu ấu trùng đỉnh vỏ lõi và chuyển sang giai đoạn sống bám cố định (ngày thứ 23 - 25 sau đẻ) bằng hỗn hợp sinh khối VKQHT hoặc hỗn hợp sinh khối vi tảo *Nannochloropsis* sp. và *Chlorella* sp. Thí nghiệm được tiến hành như đã nêu ở phần phương pháp. Tỷ lệ sống sót của hàu so với thời điểm ban đầu và kích thước của hàu giống được xác định. Kết quả được trình bày ở bảng 3.

Từ giai đoạn ấu trùng đỉnh vỏ thẳng đến giai đoạn sống bám cố định, tốc độ biến thái, tỷ lệ sống sót của hàu giống tương tự nhau khi nuôi bằng hai loại thức ăn là VKQHT và vi tảo ($65,3 \pm 6,5\%$ và $66,9 \pm 4,5\%$, tương ứng). Mức gia tăng kích thước và chúng cũng tương đương với nhau (khoảng $253,6 \pm 1,7$ và $258,5 \pm 3,4 \mu\text{m}$, tương ứng) (Bảng 3). Hình ảnh các loại thức ăn tích tụ trong hệ tiêu hóa của hàu giống khi sử dụng sinh khối vi tảo và VKQHT được trình bày ở hình 5.

Như vậy, có thể sử dụng VKQHT thay thế vi tảo với vai trò làm thức ăn tươi sống khi sinh khối của tảo không đáp ứng đủ.

Bảng 2. Tỷ lệ sống sót của ấu trùng ngao và ngao cám (%) theo thời gian khi được nuôi bằng nguồn thức ăn khác nhau.

Đợt thí nghiệm	Nguồn thức ăn	% sống sót của ngao theo thời gian (ngày tuổi)					
		Giai đoạn ấu trùng				Giai đoạn ngao cám	
		4	6	8	12	24	36
6/2006	Vi tảo	100	41,5 ± 4,7	34,5 ± 2,5	100	85,4 ± 6,5	41,6 ± 3,1
	VKQHT	100	40,4 ± 3,2	29,1 ± 4,6	100	82,7 ± 3,1	40,8 ± 4,5
7/2006	Vi tảo	100	47,2 ± 6,5	37,5 ± 3,5	100	80,3 ± 3,7	43,5 ± 2,6
	VKQHT	100	40,2 ± 3,1	35,2 ± 4,2	100	85,8 ± 7,5	44,3 ± 3,8
8/2006	Vi tảo	100	41,3 ± 2,5	33,4 ± 3,9	100	80,4 ± 3,0	60,8 ± 1,5
	VKQHT	100	45,1 ± 5,1	38,2 ± 4,1	100	77,7 ± 4,1	58,7 ± 3,7

Bảng 3. Biến động tỷ lệ sống sót của hàu giống theo thời gian khi sử dụng nguồn thức ăn khác nhau.

Ngày tuổi	% sống sót của hàu theo thời gian		Kích thước (µm)	
	Nuôi bằng VKQHT	Nuôi bằng vi tảo	Nuôi bằng VKQHT	Nuôi bằng vi tảo
2	100	100	20,2 ± 3,5	19,7 ± 3,6
3	98,0 ± 5,7	97,8 ± 4,5	48,5 ± 4,6	48,9 ± 8,5
5	97,2 ± 3,1	97,3 ± 6,2	65,5 ± 4,2	66,7 ± 3,5
8	95,4 ± 7,5	96,0 ± 7,5	99,5 ± 10,1	103,7 ± 4,7
10	87,8 ± 3,9	87,7 ± 3,9	137,5 ± 6,1	142,5 ± 10,4
12	78,4 ± 8,2	79,0 ± 6,8	160,2 ± 7,5	165,1 ± 10,8
14	71,4 ± 4,8	72,6 ± 4,5	199,0 ± 8,0	206,2 ± 11,0
20	68,3 ± 5,7	69,2 ± 5,6	211,2 ± 10,0	219,2 ± 2,8
26	65,3 ± 6,5	66,9 ± 4,5	254,5 ± 10,1	258,1 ± 14,0

Sử dụng sinh khối VKQHT để nuôi tu hài giống

Tu hài thuộc ngành động vật thân mềm (mollusca), lớp hai mảnh vỏ (bivalvia), bộ biển mang (eulamellibranchia), họ vọt (mactridac), loài *Lutraria rhynchaena*.

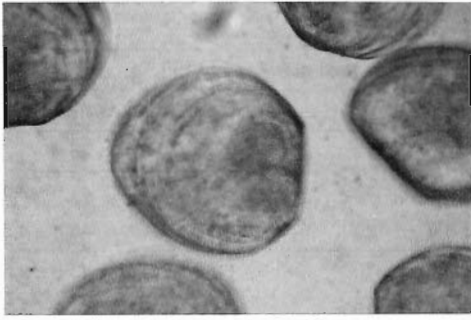
Đối với ấu trùng tu hài: đây là giai đoạn ấu trùng dạng bơi lội tự do, chỉ tiêu quan trọng trong giai đoạn này là khả năng biến thái. Chúng tôi đã thử nghiệm sử dụng sinh khối của hỗn hợp bốn chủng VKQHT hoặc hỗn hợp vi tảo làm thức ăn cho chúng. Kết quả quan sát trên kính hiển vi cho thấy, kích thước của tu hài khi nuôi bằng sinh khối VKQHT tương đương với khi nuôi bằng vi tảo. Sau 6 - 7 ngày đã quan sát được sự biến thái của ấu trùng từ giai đoạn định vỏ thẳng (ấu trùng hình chữ D) sang giai

đoạn định vỏ lồi ở cả hai công thức thí nghiệm sử dụng thức ăn vi tảo và VKQHT (Hình 6).

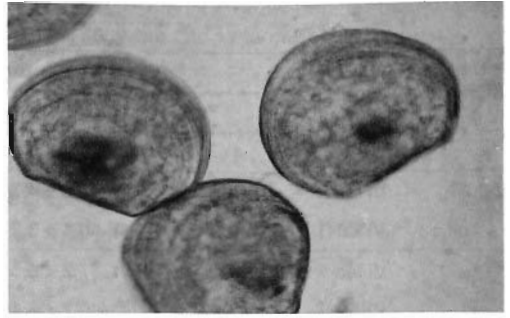
Đối với tu hài giống (25 ngày tuổi)

Thí nghiệm được tiến hành như đã nêu ở phần phương pháp. Kết quả xác định mức độ sống sót của tu hài theo thời gian được nuôi bằng VKQHT và so sánh với vi tảo được trình bày ở bảng 4.

Mức độ sống sót của tu hài (25 ngày tuổi) cũng xấp xỉ như nhau ở hai công thức cho ăn bằng VKQHT và vi tảo (Bảng 4). Như vậy, VKQHT có triển vọng làm thức ăn tươi sống cho tu hài ở giai đoạn con giống cấp 1 vì ở giai đoạn này tu hài cần một lượng thức ăn lớn, trong khi đó trong nhiều hoàn cảnh vi tảo lại không đáp ứng đủ.

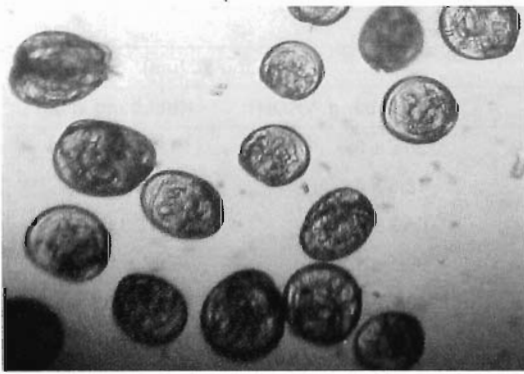


A

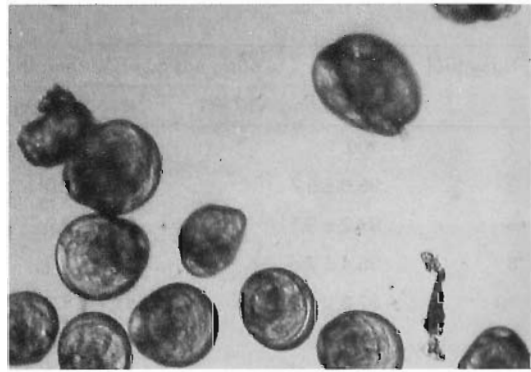


B

Hình 4. Ngao cám được nuôi bằng hỗn hợp sinh khối vi tảo *Chlorella* sp. và *Nannochloropsis* sp. (A) và hỗn hợp sinh khối VKQHT (B).

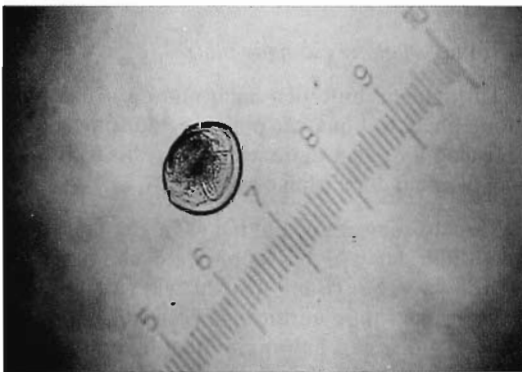


A

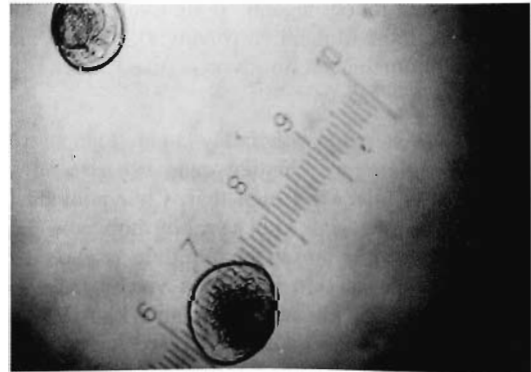


B

Hình 5. Hàu giống (20 ngày tuổi) được nuôi bằng hỗn hợp sinh khối vi tảo *Chlorella* sp. và *Nannochloropsis* sp. (A); hoặc hỗn hợp sinh khối VKQHT (B).



A



B

Hình 6. Ấu trùng tu hài (7 ngày tuổi) được nuôi bằng hỗn hợp sinh khối vi tảo *Chlorella* sp. và *Nannochloropsis* sp. (A) hoặc hỗn hợp sinh khối VKQHT (B).

Bảng 4. Biến động tỷ lệ sống sót của tu hài (25 ngày tuổi) theo thời gian khi sử dụng các nguồn thức ăn khác nhau.

Ngày nuôi	Mức độ sống sót của tu hài (%) khi cho ăn bằng	
	VKQHT	Vi tảo
1	100	100
3	92,3 ± 2,1	92,5 ± 2,5
5	92,1 ± 1,5	92,0 ± 4,1
7	90,5 ± 2,5	86,9 ± 4,7
9	87,1 ± 3,2	84,7 ± 3,5
11	85,2 ± 4,9	82,4 ± 3,1
13	83,3 ± 2,7	80,8 ± 4,6
15	81,2 ± 3,1	78,8 ± 3,3
17	80,3 ± 6,5	78,1 ± 5,7

KẾT LUẬN

Hàm lượng các amino acid, trong đó có một số amino acid không thay thế như phenylalanine, isoleucine, leucine, lysine trong tế bào của các chủng VKQHT (NDT6, 86, CB, TH3) cao hơn so với tảo *Chlorella* sp. và gần bằng tảo *Nanochloropsis* sp. Hàm lượng lipid tổng số ở VKQHT thấp hơn so với hai loài tảo trên. Tổng các acid béo không no một nối đôi của VKQHT cao hơn nhiều so với vi tảo, không phát hiện được acid béo không no đa nối đôi như: Eicosapentaenoic acid (EPA); Docosahexaenoic acid (DHA).

Mức độ gia tăng mật độ của luân trùng *Brachionus plicatilis* sau 9 ngày nuôi bằng hỗn hợp VKQHT từ 28 ± 3 đến 83 ± 5 cá thể/ml tương đương với khi nuôi bằng hỗn hợp vi tảo (từ 27 ± 4 đến 85 ± 4 cá thể/ml).

Tỷ lệ sống sót của ấu trùng ngao (đến 8 ngày tuổi) nuôi bằng sinh khối VKQHT đạt trung bình khoảng 34,2 ± 4,6%, gần bằng khi nuôi bằng vi tảo (đạt khoảng 35,1 ± 2,1%). Tỷ lệ sống sót của ngao cám được nuôi bằng VKQHT và tảo xấp xỉ như nhau (47,9 ± 9,5 và 48,6 ± 10,5)

Tốc độ biến thái, mức gia tăng kích thước và tỷ lệ sống sót đến giai đoạn bóm dấy của hàu giống tương tự nhau khi nuôi bằng hai loại thức ăn là VKQHT và vi tảo (65,3 ± 6,5% và 66,9 ± 4,5%, tương ứng).

Tốc độ biến thái và kích thước của ấu trùng tu hài từ giai đoạn dinh vỏ thẳng đến giai đoạn dinh vỏ lõi khi được nuôi bằng VKQHT cũng tương đương

so với khi nuôi bằng vi tảo. Mức độ sống sót của tu hài (25 ngày tuổi) xấp xỉ như nhau ở hai công thức cho ăn sinh khối VKQHT và bằng vi tảo (80,3 ± 6,5% và 78,1 ± 5,7%, tương ứng).

Lời cảm ơn: Công trình được thực hiện với sự tài trợ kinh phí của Đề tài cấp cơ sở năm 2007.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Azad SA, Chong VC, Vikineswary S (2002) Phototrophic bacteria as feed supplement for rearing *Penaeus monodon* larvae. *World Aquacult Soc* 33(2) : 158-168.

Duerr EO, Molnar A, Sato V (1998) Cultured microalgae as aquaculture feeds. *J Mar Biotechnol* 6(2): 65-70.

Lavens P, Sorgeloos P (1996) *Manual of the production and use of live food for aquaculture*. Ghent, Belgium, Rom FAO. 295 P.

Kobayashi M, Kobayashi M (1995) Waste remediation and treatment using anoxygenic phototrophic bacteria. In: *Anoxygenic phototrophic bacteria*. Robert E Blankenship (Eds). Kluwer Academic Publishers: 1269-1282.

Ponsano EHG, Lacava PM, Pinto MF (2003) Chemical composition of *Rhodocyclus gelatinosus* biomass produce in poultry slaughterhouse wastewater. *Braz Arch Biol Tech* 46(2): 143-147.

Sasikala C, Ramana CV (1995) Biotechnological potentials of photosynthetic bacteria I: Production of single cellprotein, vitamins, ubiquinone, hormones, and enzymes and use in waste treatment. *Adv Appl Microbiol* 41: 173-225.

Xu B, Ding M, Mao J, Xu H (1992) The food value of

Rhodopseudomonas sphaeroides for *Brachionus plicatilis*. *Transac of Oceanol Limnol*: 19-22 (Chines).

Đỗ Thị Tô Uyên, Văn Thị Như Ngọc, Trần Văn Nhị (2003) Xử lý và tái sử dụng nước thải chế biến tinh bột gạo bằng vi khuẩn quang hợp. *Báo cáo khoa học, Hội nghị Công nghệ sinh học toàn quốc 12/2004*: 416-420.

Đỗ Thị Tô Uyên, Trần Văn Nhị (2005) Nghiên cứu quy trình tách chiết ubiquinone từ sinh khối vi khuẩn quang hợp tía. *Báo cáo Hội nghị Khoa học toàn quốc: Những Vấn đề Cơ bản trong Khoa học sự sống, định hướng y dược học, Đại học Y Hà Nội, 10/2005*: 846-849.

Đỗ Thị Tô Uyên, Trần Văn Nhị (2006) Nghiên cứu sự tổng hợp và ngoại tiết 5-aminolevulinic acid ở một chủng vi khuẩn quang hợp tía phân lập ở Việt Nam. *Tạp chí Công nghệ Sinh học* 4(1): 73-80.

Phan Văn Chi, Nguyễn Bích Nhị, Nguyễn Thị Tỵ (1998) Xác định thành phần axit amin bằng phương pháp dẫn xuất hóa với O-phthaladialdehyd (OPA) và 9-fluorenylmethyl chloformat (FMOC) trên hệ HP-AminoQuant Series II. *Kỷ yếu Viện Công nghệ Sinh học 1997*: 454-461.

Ngô Thị Hoài Thu, Lưu Thị Tâm, Đặng Diễm Hồng (2008) Một số đặc điểm sinh học của hai loài vi tảo biển

Isochrysis galabana và *Nannochloropsis oculata* phân lập tại Việt Nam. *Tạp chí Hóa học* 46(5A): 98-104.

Võ Thị Hạnh, Lê Thị Bích Phượng, Lê Tấn Hưng, Trương Thị Hồng Vân, Trần Thạch Phong (2004) Nghiên cứu sản xuất chế phẩm VEM dùng trong nuôi trồng thủy sản. *Hội thảo Toàn quốc về nghiên cứu và ứng dụng khoa học và công nghệ trong nuôi trồng thủy sản. Vũng Tàu 12/2004*. Nhà xuất bản Nông nghiệp: 911-917.

Hoàng Thị Yến, Đỗ Thị Tô Uyên, Trần Văn Nhị (2006) Đặc điểm sinh học của một số chủng vi khuẩn quang hợp tía sử dụng làm thức ăn tươi sống trong nuôi trồng thủy sản. *Tạp chí Công nghệ Sinh học* 4(4): 471-479.

Hoàng Thị Yến, Đỗ Thị Tô Uyên, Trần Văn Nhị (2007) Đặc điểm phân loại của hai chủng vi khuẩn quang hợp tía phân lập ở vùng biển Việt Nam có khả năng sử dụng làm thức ăn tươi sống trong nuôi trồng thủy sản. *Báo cáo Hội nghị Khoa học toàn quốc: Những Vấn đề Cơ bản trong Khoa học sự sống, Quy nhơn 7/2007*.

Hoàng Thị Yến, Đỗ Thị Tô Uyên, Trần Văn Nhị (2008) Đặc điểm sinh học của hai chủng vi khuẩn quang hợp tía thuộc chi *Rhodobacter* phân lập từ vùng ven biển Việt Nam. *Tạp chí Công nghệ Sinh học* 6(1): 111-117.

STUDY ON PHOTOSYNTHETIC BACTERIA AS LIVING FEED IN AQUACULTURE BREEDING

Do Thi To Uyen*, Hoang Thi Yen, Do Thi Lien, Tran Van Nhi

Institute of Biotechnology, Vietnam Academy of Science and Technology

SUMMARY

For diversity of living feed sources in aquaculture breeding, we estimated nutritional values of several photosynthetic bacteria strains (PSB). The biomass of four chosen PSB strains contained amounts of amino acids (including essential amino acids like: phenylalanine, isoleucine, leucine, lysine), total lipids and monounsaturated fatty acids higher than in *Chlorella* sp. and *Nannochloropsis* sp., but polyunsaturated fatty acids (such as EPA, DHA) were not found in among of them. We used them as living feed for rotifer *Brachionus plicatilis* and bivalves. For *B. plicatilis*, the density increased similarly when fed on PSB and microalgae after 9 days (from 28 ± 3 and 27 ± 4 individuals/ml to 83 ± 5 and 85 ± 4 individuals /ml, respectively). The survival ratio of *Meretrix meretrix* fed on PSB were also comparable to those fed by microalgae (in two stages of age: from 0 - 8 days and from 8 - 12 days). *Crassostrea* sp., had the same size and paedomorphosis time from straight-hinged to advanced umbone stage when fed on PSB and microgal, the survival ratio was $65.3 \pm 6.5\%$ and $66.9 \pm 4.5\%$, respectively. For *Lutraria* sp., from straight-hinge to very early umbone stage, paedomorphosis time and size were similar when fed on PSB and microgal. These feeds were experimented on *Lutraria* sp 25 days of age, their survival ratios were approximate value. From obtained results, we suggest that biomass of chosen PSB strains can be used as living feed to supplement or replace biomass of microalgae in aquaculture breeding.

Keywords: Aquaculture, bivalve, *Brachionus plicatilis*, living feed, phototrophic bacteria

* Author for correspondence: Tel: 84-4-37564295; E-mail: dothitouyen@yahoo.com