

**UTILIZATION OF *Schizochytrium mangrovei* PQ6 AS FEED FOR ROTIFER  
*Brachionus plicatilis* IN REARING BLACK SLEEPER'S LARVAE  
(*Bostrichthys sinensis*, Lacepede, 1881)**

**Pham Thanh Cong<sup>1</sup>, Hoang Thi Lan Anh<sup>2</sup>, Dang Diem Hong<sup>2,3,4,\*</sup>**

<sup>1</sup>Research Institute for Marine Fisheries, Ministry of Agriculture and Rural Development, Vietnam

<sup>2</sup>Institute of Biotechnology, VAST, Vietnam

<sup>3</sup>Graduate University of Science and Technology, VAST, Vietnam

<sup>4</sup>Thuyloi University, Ha Noi, Vietnam

Received 25 February 2019, accepted 4 May 2019

**ABSTRACT**

*Schizochytrium mangrovei* PQ6 contains many important polyunsaturated fatty acids, such as docosahexaenoic acid (DHA, C22: 6 $\omega$ -3), eicosahexaenoic acid (EPA, C20: 5 $\omega$ -3) and docosapentaenoic acid (DPA, C22: 5 $\omega$ -6). These fatty acids are essential for survival and growth of many marine fish larvae. In this paper, fresh biomass of *S. mangrovei* PQ6 was used for culturing rotifer *Brachionus plicatilis*. In the first formula (L1), rotifers were fed on baker's yeast; in second formula (L2), rotifers were fed on mixed two microalgae, *Nannochloropsis oculata* and *Chaetoceros gracilis*; in the third formula (L3), rotifers were fed on *S. mangrovei* PQ6 biomass. The results indicated that *S. mangrovei* PQ6 biomass can replace baker's yeast and autotrophic microalgae in feeding rotifers. Total lipid, total fatty acid and polyunsaturated fatty acid contents of rotifers fed on formula 3 (*S. mangrovei* PQ6) were higher than those within others. High polyunsaturated fatty acid (C  $\geq$  20) in omega-3 and 6 groups; DHA and DPA contents of rotifers fed on *S. mangrovei* PQ6 were the highest, accounting for 39.81% of total fatty acid; 41.95% and 8.24% polyunsaturated fatty acids, corresponding to 20.52; 12.15 and 2.4 mg/g of dried weight, respectively.

The survival rate of black sleeper's larvae was highest when they were fed on rotifers grown on L3 formula (51.20  $\pm$  0.89%), followed by L2 formula (48.70  $\pm$  2.67%) and the lowest with L1 formula (43.44  $\pm$  1.54%) ( $P < 0.05$ ). However, among three formulas, no significant difference was found in the growth of black sleeper's larvae ( $P > 0.05$ ). These results suggest that biomass of *S. mangrovei* PQ6 can replace traditional feed like autotrophic microalgae or baker's yeast for biomass culture of the *Brachionus plicatilis* rotifer for rearing black sleeper's larvae to enhance seed quality to meet demands of market.

**Keywords:** *Bostrichthys sinensis*, *Schizochytrium mangrovei* PQ6, black sleeper's larvae, heterotrophic microalgae, rotifer, survival rate.

*Citation:* Pham Thanh Cong, Hoang Thi Lan Anh, Dang Diem Hong, 2019. Utilization of *Schizochytrium mangrovei* PQ6 as feed for rotifer *Brachionus plicatilis* in rearing black sleeper's larvae (*Bostrichthys sinensis*, Lacepede, 1881). *Tap chi Sinh hoc*, 41(2): 79–88. <https://doi.org/10.15625/0866-7160/v41n2.13646>.

\*Corresponding author email: ddhong60vn@yahoo.com; ddhong@ibt.ac.vn

©2019 Vietnam Academy of Science and Technology (VAST)

## SỬ DỤNG SINH KHỐI *Schizochytrium mangrovei* PQ6 LÀM THỨC ĂN CHO LUÂN TRÙNG TRONG ƯƠNG NUÔI ẤU TRÙNG CÁ BỔNG BỚP (*Bostrichthys sinensis*, Lacepede, 1881)

Phạm Thành Công<sup>1</sup>, Hoàng Thị Lan Anh<sup>2</sup>, Đặng Diễm Hồng<sup>2,3,4,\*</sup>

<sup>1</sup>Viện Nghiên cứu Hải sản, Bộ Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn, Việt Nam

<sup>2</sup>Viện Công nghệ sinh học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, Việt Nam

<sup>3</sup>Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, Việt Nam

<sup>4</sup>Trường Đại học Thủy lợi, Hà Nội, Việt Nam

Ngày nhận bài 25-2-2019, ngày chấp nhận 4-5-2019

### TÓM TẮT

Sinh khối *Schizochytrium mangrovei* PQ6 có chứa nhiều loại axit béo không bão hòa đa nối đôi quan trọng như axit docosahexaenoic (DHA, C22: 6 $\omega$ -3), eicosahexaenoic (EPA, C20: 5 $\omega$ -3) và docosapentaenoic (DPA, C22: 5 $\omega$ -6). Đây là các axit béo cần thiết cho sự sống sót và sinh trưởng của nhiều loại ấu trùng cá biển. Trong bài báo này, sinh khối tươi *S. mangrovei* PQ6 đã được thử nghiệm sử dụng với các công thức khác nhau để nuôi luân trùng *Brachionus plicatilis*. Trong công thức 1, luân trùng được cho ăn men bánh mì (L1); công thức 2, luân trùng được cho ăn hỗn hợp hai loài *Nannochloropsis oculata*, *Chaetoceros gracilis* (L2); công thức 3, luân trùng được cho ăn sinh khối tươi *S. mangrovei* PQ6 (L3). Kết quả thu được cho thấy sinh khối *S. mangrovei* PQ6 có thể thay thế men bánh mì và vi tảo quang tự dưỡng để nuôi luân trùng. Hàm lượng lipid, axit béo tổng số và các axit béo không bão hòa đa nối đôi trong lô luân trùng được ăn *S. mangrovei* PQ6 cao hơn so với các công thức còn lại. Hàm lượng các axit béo không bão hòa đa nối đôi mạch dài, nhóm omega-3 và 6 ( $C \geq 20$ ); DHA và DPA trong lô luân trùng ăn *S. mangrovei* PQ6 đạt cao nhất chiếm tới 39,81% so với axit béo tổng số; 41,95% và 8,24% so với tổng các axit béo không bão hòa đa nối đôi, tương đương 20,52; 12,15 và 2,4 mg/g khối lượng khô, tương ứng. Tỷ lệ sống sót của ấu trùng cá bông bớp đạt cao nhất khi ấu trùng cá được ăn thức ăn là luân trùng ở L3 ( $51,20 \pm 0,89\%$ ), sau đó đến L2 ( $48,70 \pm 2,67\%$ ); thấp nhất ở L1 ( $43,44 \pm 1,54\%$ ) ( $P < 0,05$ ). Tuy nhiên, sinh trưởng của ấu trùng cá bông bớp không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các công thức ( $P > 0,05$ ). Kết quả thu được đã cho thấy sinh khối từ *S. mangrovei* PQ6 có thể thay thế các thức ăn truyền thống như vi tảo quang tự dưỡng, nấm men bánh mì trong nuôi luân trùng *B. plicatilis* sử dụng trong ương nuôi ấu trùng cá bông bớp để nâng cao chất lượng con giống đáp ứng nhu cầu của thị trường.

**Từ khóa:** *Bostrichthys sinensis*, *Schizochytrium mangrovei* PQ6, ấu trùng cá bông bớp, luân trùng, thức ăn, tỷ lệ sống, vi tảo biển dị dưỡng.

\*Địa chỉ liên hệ email: ddhong60vn@yahoo.com; ddhong@ibt.ac.vn

### MỞ ĐẦU

Ngành nuôi trồng thủy sản đang tăng trưởng nhanh gấp ba lần so với ngành chăn nuôi các loài động vật trên cạn nhằm bù lại những tổn thất hoặc những khó khăn mà nghề

cá tự nhiên phải đối mặt trong suốt 30 năm qua (FAO, 2014). Trong năm 2014, tổng sản lượng nuôi trồng cá và giáp xác trên toàn thế giới vào khoảng 73,8 triệu tấn với mức doanh thu 160,2 tỷ đô (FAO, 2016). Thị trường thủy sản đã tăng trưởng theo cấp số nhân trong

thập kỷ qua và dự kiến sự tăng trưởng này vẫn sẽ còn tiếp tục. Bột cá và dầu cá được sử dụng phổ biến làm thức ăn cho cá do hàm lượng protein và các axit béo không bão hòa mạch dài omega-3 (LC-PUFAs, long chain polyunsaturated fatty acids) cao. Tuy nhiên, FAO cho rằng sự phụ thuộc vào bột cá và dầu cá đang làm suy yếu đa dạng sinh học biển, và an ninh lương thực của con người (FAO, 2012). Hiện nay, do sự phát triển không bền vững, chi phí sản xuất cao cũng như khả năng nguồn thức ăn này bị ô nhiễm dioxin hoặc polychlorinated biphenyls (Zhou et al., 2007) cần phải tìm được các nguồn thay thế.

Các động vật thủy sản cũng không tự tổng hợp được các axit béo không bão hòa đa nối đôi (polyunsaturated fatty acids, PUFAs) trong đó có axit docosahexaenoic, DHA (C22: 6 $\omega$ -3), axit eicosapentaenoic, EPA (C20: 5 $\omega$ -3) mà thường nhận được chúng thông qua các loại thức ăn như động, thực vật phù du (Hemaiswarya et al., 2011). Vi tảo có thể thay thế hoặc làm giảm sự phụ thuộc của nuôi trồng thủy sản vào các nguyên liệu thô thông thường. Việc sử dụng vi tảo còn có những tác dụng trực tiếp có lợi đáng kể như tăng tốc độ tăng trưởng của các loài thủy sản do tăng triglyceride và tích lũy protein trong cơ, cải thiện khả năng kháng bệnh, giảm lượng nitơ thải vào môi trường, tăng hàm lượng axit béo omega-3, hoạt động sinh lý và chất lượng thịt (Becker, 2004; Shah et al., 2018). Ngoài ra, vi tảo còn có nhiều lợi thế khác như có thể sinh trưởng ở các môi trường khác nhau, sản lượng sinh khối cao, sinh trưởng nhanh với nhu cầu dinh dưỡng đơn giản, có thể tích lũy cao các chất chuyên hóa có ích và không phụ thuộc vào nguồn tự nhiên như bột cá (Hemaiswarya et al., 2011).

Chi *Schizochytrium* đang thu hút nhiều mối quan tâm nghiên cứu do thành phần axit béo của chúng rất thích hợp làm thức ăn bổ sung cho cá/tôm cũng như chúng có tốc độ sinh trưởng cao trong điều kiện nuôi cấy dị dưỡng (Ren et al., 2010; Shah et al., 2018). Hàm lượng lipid của chúng thường chứa trên 50% sinh khối khô, trong đó có DHA, EPA và axit arachidonic, ARA (C20: 4 $\omega$ -6) có thể chiếm tương ứng 35%, 7% và 5% so với tổng số axit béo (Barclay,

1997). Hàm lượng DHA trong sinh khối tảo *Schizochytrium* cao hơn EPA, trong khi hầu hết các loại dầu từ ngành công nghiệp thức ăn cho cá lại chứa nhiều EPA hơn DHA (Nakahara et al., 1996; Kangpanich et al., 2017).

Việc tăng hàm lượng (làm giàu) các PUFAs trong động vật phù du như luân trùng và *Artemia* trước khi cho ấu trùng tôm, cá ăn là một khâu kỹ thuật cần thiết trong tất cả các trại sản xuất giống công nghiệp. Giá thành sản xuất các loài vi tảo sống, giàu PUFAs thường cao và khó đảm bảo chất lượng sinh khối. Nhiều ấu trùng cá cần lượng DHA nhiều hơn EPA. Mặt khác, các tế bào vi tảo thường có kích thước nhỏ, tạo huyền phù tốt trong nước biển. Việc sấy khô vi tảo sẽ làm thành tế bào trở nên mỏng hơn, vì vậy, tế bào dễ bị phá vỡ và tiêu hóa trong ruột của động vật phù du, giúp nâng cao hiệu quả của quá trình đồng hoá và sử dụng thức ăn (Del-Castillo et al., 2009).

Ngày nay, sinh khối *Schizochytrium* được sấy phun đang được sử dụng khá phổ biến để làm giàu luân trùng *Brachionus plicatilis* và *Artemia nauplii*, là thức ăn tươi sống trong ương nuôi cá biển (Song et al., 2007; Yamasaki et al., 2007; Del-Castillo et al., 2009). Những nghiên cứu khác cũng đã cho thấy, *Schizochytrium* spp. có thể là sự thay thế tốt cho dầu cá hoặc để bổ sung PUFAs trong chế độ ăn cho động vật giáp xác, bao gồm tôm thẻ chân trắng *Litopenaeus vannamei* (Poungchor et al., 2009; Wang et al., 2017), tôm càng xanh *Macrobrachium rosenbergii* (Kangpanich & Senanan, 2015).

Hiện nay, Việt Nam đã cho sinh sản thành công một số loài cá biển quý hiếm, có ý nghĩa kinh tế cao như cá bông bớp, cá giò, cá song, cá vược... Trong đó, vi tảo quang tự dưỡng được xem là nguồn thức ăn tốt nhất để nuôi luân trùng, thức ăn sống của ấu trùng các loài cá biển. Tuy nhiên, việc nuôi thu sinh khối các loài vi tảo quang tự dưỡng còn gặp nhiều khó khăn như chi phí đầu tư ban đầu cao, cần nhiều nhân công, giá thành sản phẩm cao, phụ thuộc vào thời tiết, chất lượng sản phẩm không ổn định (Hemaiswarya et al. 2011). Mục đích của nghiên cứu này là thử nghiệm khả năng sử dụng sinh khối loài *S. mangrovei* PQ6 để nuôi luân trùng (*B. plicatilis*) cho ương nuôi cá bông

bóp *Bostrichthys sinensis*. Kết quả thu được sẽ là cơ sở để góp phần giải quyết khâu thức ăn, một trong bốn khâu quan trọng của nuôi trồng thủy sản của Việt Nam hiện nay.

## VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### Chủng giống và điều kiện nuôi cấy

Các loài vi tảo biển quang tự dưỡng gồm *Nannochloropsis oculata* (phân lập tại Hải Phòng, 2008), *Chaetoceros gracilis* (phân lập tại Quảng Ninh, 2008) và dị dưỡng *S. mangrovei* PQ6 (phân lập tại Phú Quốc, Kiên Giang, 2008) thuộc tập đoàn giống của Phòng Công nghệ Tảo, Viện Công nghệ sinh học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam được sử dụng trong nghiên cứu. Loài *S. mangrovei* PQ6 được nuôi trồng ở hệ thống lên men 30 L trong môi trường M12 có chứa (g/L) glucose: 90, cao nấm men: 10 và muối biển nhân tạo: 17,5. Nuôi cấy ở nhiệt độ phòng, tốc độ khuấy 300–400 rpm, tốc độ sục khí 0,5 L/L/phút. Tảo được thu hoạch ở pha cân bằng sử dụng chitosan với nồng độ 150 mg/L. Sinh khối tảo dạng paste sau đó bảo quản ở tủ lạnh (-)20°C cho đến khi sử dụng. Luân trùng, ấu trùng cá bóng bóp do Viện nghiên cứu Hải sản, Bộ NN&PTNT cung cấp.

### Bố trí thí nghiệm nuôi sinh khối luân trùng bằng tảo *S. mangrovei* PQ6

Luân trùng được nuôi trong bể composite, có dung tích 0,5 m<sup>3</sup>. Mật độ ban đầu của luân trùng 20 con/mL. Bể nuôi được sục khí, tránh ánh sáng mặt trời chiếu trực tiếp vào trong bể, nước biển được lọc có độ mặn 25‰, nhiệt độ nuôi từ 28 đến 30°C, pH từ 7,8 đến 8,2.

Thí nghiệm được bố trí gồm 3 công thức:

Công thức 1 (Lô 1): Luân trùng sử dụng men bánh mì với lượng 3 mg/m<sup>3</sup>.

Công thức 2 (Lô 2): Luân trùng sử dụng vi tảo quang tự dưỡng *Nannochloropsis oculata*, *Chaetoceros gracilis* với mật độ tế bào là 9–10 × 10<sup>6</sup> tế bào/mL.

Công thức 3 (Lô 3): Luân trùng sử dụng tảo *S. mangrovei* PQ6 với nồng độ 300 mg/10<sup>6</sup> luân trùng/ngày.

Tất cả các công thức được lặp lại 3 lần. Các chỉ tiêu theo dõi bao gồm: mật độ luân trùng, hàm lượng lipid và thành phần, hàm lượng các loại axit béo của luân trùng.

### Bố trí thí nghiệm nuôi ấu trùng cá bóng bóp sử dụng luân trùng được nuôi bằng tảo *S. mangrovei* PQ6

Trong thí nghiệm này, chúng tôi đánh giá tác dụng của luân trùng đã được nuôi ở điều kiện khác nhau ở trên đến tốc độ sinh trưởng và tỷ lệ sống của ấu trùng cá bóng bóp. Thí nghiệm cũng được bố trí thành 3 lô như sau:

Lô đối chứng âm: ấu trùng cá sử dụng luân trùng được nuôi bằng men bánh mì (Lô 1).

Lô đối chứng dương: ấu trùng cá sử dụng luân trùng nuôi bằng tảo *N. oculata*, *C. gracilis* (Lô 2).

Lô thí nghiệm: ấu trùng cá sử dụng luân trùng được nuôi bằng *S. mangrovei* PQ6 (Lô 3).

Ấu trùng cá bóng bóp 3 ngày tuổi nuôi trong các bể composite có dung tích 0,5 m<sup>3</sup> với mật độ 50 con/L. Mật độ luân trùng cho ăn là 5 cá thể/mL, chế độ cho ăn 2 lần/ngày (lúc 6 giờ và 14 giờ). Tất cả các công thức được lặp lại 3 lần. Chúng tôi tiến hành theo dõi sinh trưởng (chiều dài ấu trùng) và tỷ lệ sống sót của cá vào các ngày nuôi thứ 3, 6, 9, 12, 15.

### Các phương pháp phân tích

*Phân tích lipid tổng số và thành phần axit béo:* Hàm lượng lipid tổng số được xác định theo phương pháp của Bligh & Dyer (1959) có một số cải tiến để phù hợp với điều kiện Việt Nam (Đinh Thị Ngọc Mai và nnk., 2011). Thành phần và hàm lượng axit béo được xác định bằng phương pháp sắc ký khí tại Viện Hóa học các hợp chất tự nhiên theo tiêu chuẩn ISO/FDIS 5590:1998 (Germany) theo phương pháp đã mô tả trong công bố của Dang et al. (2011).

*Phương pháp theo dõi sự tăng sinh khối của luân trùng:* Mật độ luân trùng được xác định bằng buồng đếm phiêu sinh động dưới kính hiển vi có độ phóng đại 100 lần. Mật độ luân trùng được tính theo công thức sau:

$$N = n \cdot A / a \text{ (cá thể/mL)}$$

Trong đó:  $N$ : số cá thể/mL;  $n$ : số cá thể đếm được;  $A$ : số ô của buồng đếm;  $a$ : số ô đã đếm.

**Xác định chiều dài của ấu trùng cá bống bớp:** Tiến hành lấy mẫu cá ở các thời gian đã định, lấy ngẫu nhiên 30 cá thể/bể. Chiều dài của cá được tính là khoảng cách từ mõm cá đến hết đuôi. Khi cá còn nhỏ đo cá bằng thước vi thị kính, khi cá lớn được đo bằng thước kẻ có chia vạch đến mm.

Chiều dài ấu trùng được tính theo công thức:

$$L = X \cdot a$$

Trong đó:  $L$ : chiều dài ấu trùng (mm);  $X$ : số vạch lớn đo được trên thước vi thị kính (vạch);  $a$ : hệ số quy đổi ( $a = 0,025$  với vật kính 40,  $a = 0,095$  với vật kính 10,  $a = 0,25$  với vật kính 4).

**Xác định tỷ lệ sống của ấu trùng cá bống bớp:** Tỷ lệ sống của cá bống bớp được tính theo công thức sau:

$$TLS (\%) = \frac{n}{N} * 100\%$$

Trong đó:  $TLS$ : Tỷ lệ sống;  $N$ : Số lượng cá thả ban đầu;  $n$ : Số lượng cá thu được sau mỗi thời điểm thu.

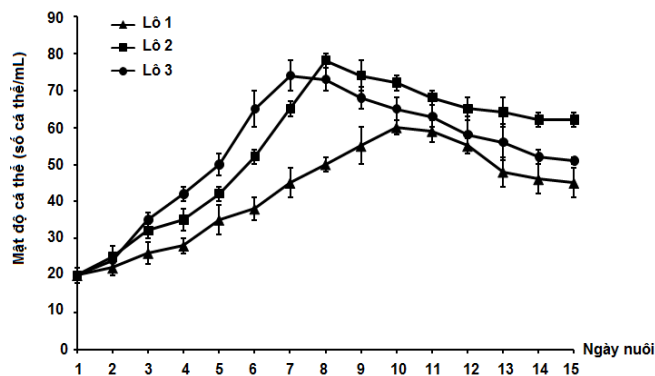
Các số liệu sau khi thu thập được phân tích bằng phép phân tích phương sai một yếu tố ANOVA. Sử dụng phép kiểm định thống kê t- test để xác định sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với mức ý nghĩa  $P < 0,05$ . Tất cả các

số liệu trong thí nghiệm được trình bày dưới dạng Trung bình (Mean)  $\pm$  Sai số chuẩn (SE).

## KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### Ảnh hưởng của tảo *S. Mangrovei* PQ6 lên mật độ luân trùng

Men bánh mì được xem là nguồn dinh dưỡng thay thế cho vi tảo biển quang tự dưỡng, phục vụ cho nuôi sinh khối luân trùng bởi một số khó khăn nhất định trong vấn đề nuôi trồng các loài vi tảo này (Hagiwara & Satuito, 1991). Tuy nhiên, nếu chỉ cho luân trùng ăn men bánh mì, năng suất thường không ổn định, quần thể luân trùng mau tàn và quan trọng hơn nữa là khó quản lý chất lượng nguồn nước. Vì vậy, chúng tôi đã thử nghiệm khả năng sử dụng sinh khối *S. mangrovei* PQ6 lên việc tăng mật độ trong quần thể luân trùng. Kết quả cho thấy, ở cả 3 công thức đều có sự tăng trưởng liên tục của quần thể luân trùng từ ngày nuôi thứ nhất đến ngày thứ 9. Tuy nhiên, đối với công thức 1 và 2, có thời gian đạt mật độ luân trùng đạt cực đại dài hơn hẳn so với công thức 3 (7 ngày ở Lô 3 so với 8 ngày ở lô 2 và 10 ngày ở lô 1). Mật độ luân trùng ở công thức 1, 2, 3 đạt cực đại tương ứng là 61, 78, 74 cá thể/mL. Công thức 2 và 3 sau 7 ngày nuôi có dấu hiệu suy giảm mật độ, song vẫn dao động ở mức trung bình  $64 \pm 4$  ct/mL. Kết quả thu được cho thấy, sử dụng thức ăn là tảo *Schizochytrium* (lô 3) có thể rút ngắn thời gian nuôi luân trùng so với nuôi bằng men bánh mì hoặc phối trộn 2 loài vi tảo biển quang tự dưỡng (hình 1).

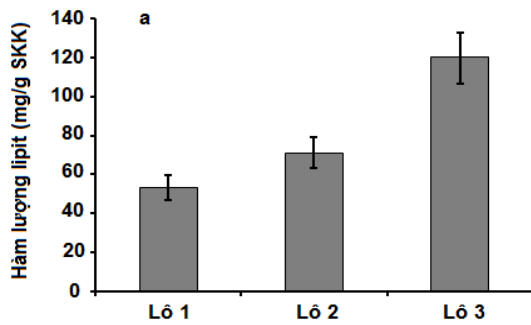


Hình 1. Tăng trưởng của quần thể luân trùng trong các công thức 1, 2 và 3 (Ghi chú: Lô 1- luân trùng nuôi bằng men bánh mì; Lô 2- luân trùng nuôi bằng tảo *N. oculata*, *C. gracilis*; Lô 3- luân trùng nuôi bằng *S. mangrovei* PQ6)

## Ảnh hưởng của tảo *S. mangrovei* PQ6 đến hàm lượng lipid và axit béo của luân trùng

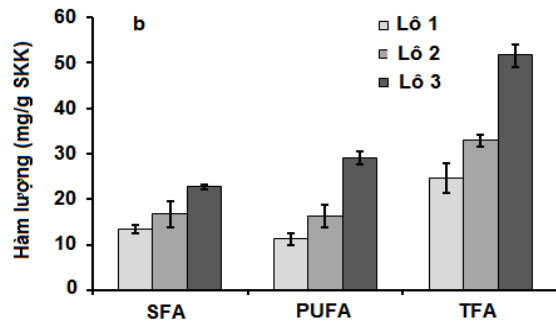
### Hàm lượng lipid tổng số

Giữa chu kỳ nuôi luân trùng, chúng tôi tiến hành thu mẫu để phân tích lipid. Hàm lượng lipid tổng số của luân trùng ở các công thức 1, 2 và 3 được chỉ ra trên hình 2a. Trong các công thức, hàm lượng lipid tổng số của luân trùng cũng khác nhau rõ rệt, cao nhất ở công thức 3 và thấp nhất ở công thức 1. Hàm lượng lipid tổng số của luân trùng ở công thức 1, 2, 3 lần lượt là: 52,99 mg/g khối lượng khô-KLK; 70,81 mg/g KLK và 119,68 mg/g KLK. Hàm lượng lipid tổng số của luân trùng ở công thức 3 cao gấp 2,26 và 1,69 lần so với công thức 1 và 2, tương ứng. Sự sai khác này có ý nghĩa thống kê sinh học ( $P < 0,05$ ).



### Thành phần axit béo trong luân trùng

Thành phần axit béo trong luân trùng ở các công thức 1, 2 và 3 được chỉ ra trên hình 2b. Kết quả cho thấy, luân trùng được nuôi bằng tảo *S. mangrovei* PQ6 có hàm lượng axit béo tổng số (TFA- total fatty acid) đạt 51,55 mg/g SKK, cao hơn ở Lô 2- 32,81 mg/g SKK và Lô 1- 24,59 mg/g SKK. Trong đó, thành phần axit béo chính là các axit béo không no chiếm 56,18% so với TFA. Trong công thức 1, luân trùng chỉ sử dụng men bánh mì có hàm lượng TFA đạt thấp nhất với thành phần các axit béo no là chính (chiếm đến 54,36% so với TFA). Còn thành phần axit béo của luân trùng ở công thức 2 có hàm lượng axit béo no và không no gần tương đương nhau, đạt giá trị 50,50% và 49,49% so với TFA, tương ứng.



Hình 2. Hàm lượng lipid và thành phần axit béo của luân trùng ở các công thức khác nhau (Ghi chú: Lô 1- luân trùng nuôi bằng men bánh mì; Lô 2- luân trùng nuôi bằng tảo *N. oculata*, *C. gracilis*; Lô 3- luân trùng nuôi bằng *S. mangrovei* PQ6; SFA- saturated fatty acid: axit béo no; PUFA- polyunsaturated fatty acid: axit béo không bão hòa đa nối đôi; TFA- total fatty acid: axit béo tổng số)

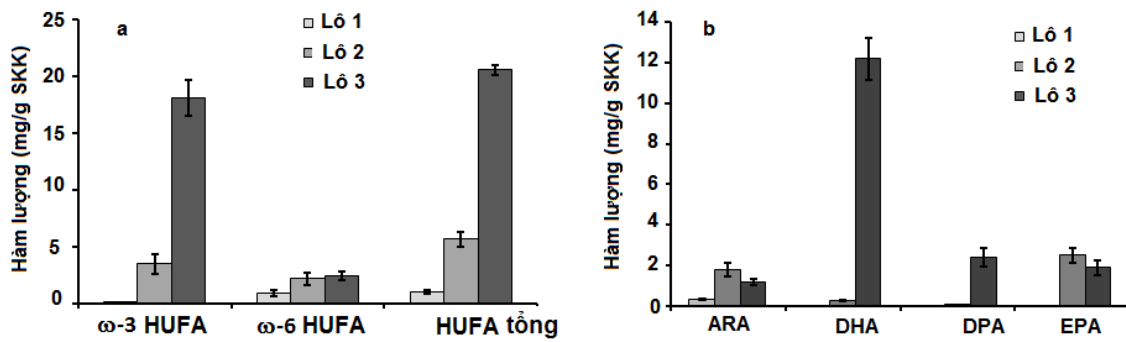
Trong các công thức, thành phần các axit béo không no có mạch cacbon  $\geq 20$  (HUFA- high unsaturated fatty acid) thuộc nhóm  $\omega$ -3 và  $\omega$ -6 HUFA của công thức 3 đạt cao nhất, chiếm 39,81% so với TFA, tương ứng với 20,52 mg/g KLK. Trong khi đó, thành phần này ở công thức 1 và 2 chỉ đạt 0,99 và 5,61 mg/g KLK, tương ứng. Ngoài ra, ở công thức 1, hàm lượng  $\omega$ -3 HUFA đạt 88,04% so với tổng số HUFA, còn công thức 1 và 2 chủ yếu lại là các  $\omega$ -6 HUFA. Thành phần  $\omega$ -3 HUFA trong công thức 1 thấp nhất, chỉ chiếm 9,33% so với tổng số HUFA (hình 3a).

### Thành phần các axit béo ARA, EPA, DPA, DHA

Kết quả trình bày trên hình 3b cho thấy, luân trùng được nuôi ở các công thức khác nhau có hàm lượng các axit béo ARA, EPA, DHA và DPA (docosapentaenoic acid, 22:5 $\omega$ -6) hoàn toàn khác nhau. Hàm lượng DHA và DPA cao nhất ở luân trùng được nuôi ở công thức 3 đạt 41,95% và 8,24% so với tổng số axit béo không no, tương ứng với giá trị 12,15 mg/g KLK và 2,4 mg/g KLK. Luân trùng ở công thức 1, sử dụng thức ăn là men bánh mì có hàm lượng EPA, DHA là thấp nhất, chiếm tỷ lệ rất nhỏ trong tổng số axit béo không no (tổng hàm lượng của ARA, EPA, DHA, DPA chiếm khoảng 3,39% so với tổng axit béo không no). Trong công thức này, thành phần

ARA là chủ yếu, chiếm tỷ lệ cao nhất và đạt 3,16% so với tổng số các axit béo không no. Hàm lượng ARA, EPA, DHA và DPA trong lô 2 lần lượt là 9,88%; 13,90%; 1,39% và 0,35% so với tổng axit béo không no (hình 5). Tỷ lệ DHA/EPA trong luân trùng được nuôi công thức 3 có giá trị là: 6,5, còn tỷ lệ EPA/ARA là 1,6. Các tỷ lệ này ở luân trùng được nuôi công thức 2 chỉ đạt 0,1 và 1,4 tương ứng. Kết quả phân tích axit béo có trong luân trùng cũng phản ánh rất rõ đặc điểm về thành phần axit béo của từng loại thức ăn. Men bánh

mì giàu protein nhưng thiếu các axit béo không no thiết yếu (Fernandez-Reiriz et al., 1993). Đối với tảo quang tự dưỡng là *N. oculata*, loại axit béo  $\omega$ -3 quan trọng nhất có trong thành phần phổ axit béo của loài tảo này là EPA (Ngô Thị Hoài Thu và nnk., 2008). Tương tự, tảo silic *C. gracilis* ngoài EPA còn có một lượng nhỏ DHA (Jiang & Mai, 2005). Trong khi đó tảo dị dưỡng *S. mangrovei* PQ6 lại rất giàu các loại axit béo nói trên (Dang et al., 2011).



Hình 3. Thành phần các loại axit béo của luân trùng ở các công thức khác nhau

(Ghi chú: Lô 1- luân trùng nuôi bằng men bánh mì; Lô 2- luân trùng nuôi bằng tảo *N. oculata*, *C. gracilis*; Lô 3- luân trùng nuôi bằng *S. mangrovei* PQ6)

### Thử nghiệm sử dụng luân trùng được nuôi sinh khối bằng men bánh mì, hỗn hợp tảo quang tự dưỡng và *S. mangrovei* PQ6 cho ương nuôi ấu trùng cá bông bớp

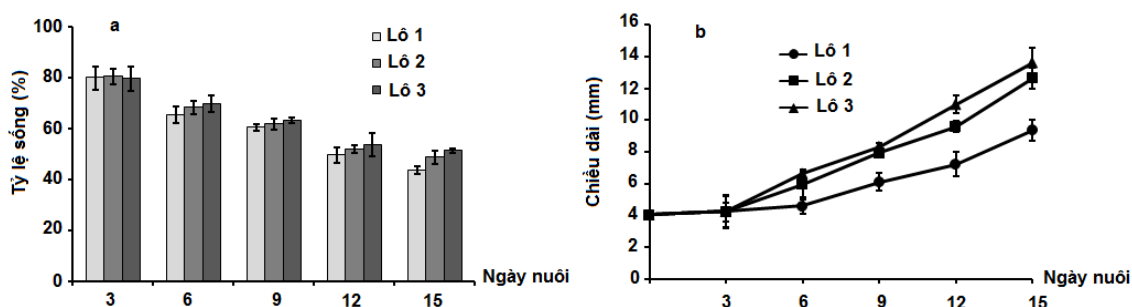
#### Ảnh hưởng của luân trùng lên tỷ lệ sống của cá bông bớp

Kết quả chỉ ra trên hình 4a cho thấy ở cả 3 lô thí nghiệm, tỷ lệ chết của ấu trùng cá bông bớp trong 6 ngày ương đầu tiên là rất lớn. Sau đó, tỷ lệ chết này giảm dần. Sau 15 ngày ương, tỷ lệ sống của cá bông bớp được sử dụng bằng luân trùng cho ăn bằng men bánh mì (lô L1) là thấp nhất, đạt 43,44%. Trong khi đó, tỷ lệ sống của cá bông bớp đạt cao nhất ở lô cá sử dụng luân trùng được nuôi bằng *S. mangrovei* PQ6 (Lô 3) đạt 51,20%. Sự sai khác ở lô L1 và L3 có ý nghĩa thống kê sinh học ( $P < 0,05$ ) trong khi đó giữa lô L2 và

L3 sự sai khác chưa có ý nghĩa thống kê sinh học ( $P > 0,05$ ).

#### Ảnh hưởng của luân trùng lên tốc độ tăng trưởng của cá bông bớp

Kết quả chỉ ra trên hình 4b cho thấy, cá tăng trưởng chậm trong vòng 3 ngày đầu. Tuy nhiên, sang các ngày tiếp theo, tốc độ tăng trưởng của cá ở các lô khác nhau đã có sự khác biệt. Trong lô L3, cá có tốc độ tăng trưởng nhanh hơn so với hai lô L1 và L2. Sang ngày ương thứ 15, chiều dài cá ở các lô L1, lô L2 và lô L3 lần lượt là 11,5, 12,6 và 13,6 mm, tương ứng. Như vậy, so với lô L1 và Lô 2, chiều dài cá ở Lô 3 tăng 1,18 và 1,08 lần tương ứng. Tuy nhiên, không có sự sai khác nhau về chiều dài của cá ở các lô thí nghiệm ( $P > 0,05$ ).



Hình 4. Ảnh hưởng của luân trùng được nuôi bằng men bánh mì, hỗn hợp vi tảo biển quang tự dưỡng và *S. mangrovei* PQ6 lên tỷ lệ sống và sự tăng trưởng của ấu trùng cá bóng bớp (Ghi chú: Lô 1: ấu trùng cá sử dụng luân trùng được nuôi bằng men bánh mì; Lô 2: ấu trùng cá sử dụng luân trùng nuôi bằng tảo *N. oculata*, *C. gracilis*; Lô 3: ấu trùng cá sử dụng luân trùng được nuôi bằng *S. mangrovei* PQ6)

## KẾT LUẬN

Sử dụng sinh khối tảo *S. mangrovei* PQ6 (Lô 3) để nuôi luân trùng có thể rút ngắn thời gian nuôi 3 ngày so với men bánh mì (Lô 1) và 1 ngày so với hỗn hợp vi tảo quang tự dưỡng *Nannochloropsis oculata*, *Chaetoceros gracilis* (Lô 2).

Hàm lượng lipid, các axit béo tổng số và axit béo không no của luân trùng nuôi bằng tảo *S. mangrovei* PQ6 cao hơn so với các lô nuôi bằng men bánh mì hoặc hỗn hợp tảo quang tự dưỡng. Thành phần các axit béo không bão hòa mạch dài ( $C \geq 20$ ) nhóm  $\omega$ -3,  $\omega$ -6 của lô luân trùng nuôi bằng tảo *S. mangrovei* PQ6 là cao nhất, chiếm 39,81% so với tổng số axit béo, tương ứng với 20,52 mg/g KLK.

Hàm lượng DHA và DPA cao nhất ở luân trùng được nuôi bằng tảo *S. mangrovei* PQ6 đạt giá trị 41,95% và 8,24% so với tổng số axit béo không no, tương ứng với 12,15 và 2,4 mg/g KLK. Luân trùng nuôi bằng men bánh mì có hàm lượng EPA, DHA thấp nhất (3,39% tổng số axit béo không no) và ARA đạt cao nhất (3,16% so với tổng số các axit béo không no). Trong khi, luân trùng được nuôi bằng tảo quang tự dưỡng có hàm lượng ARA, EPA, DHA và DPA lần lượt là 9,88%; 13,90%; 1,39% và 0,35% so với tổng axit béo không no.

Sau 15 ngày ương nuôi, tỷ lệ sống của ấu trùng cá bóng bớp đạt cao nhất ở lô sử dụng

luân trùng được nuôi bằng tảo *S. mangrovei* PQ6 (51,20% sau 15 ngày nuôi) và tốc độ tăng trưởng tăng 1,18 và 1,08 lần so với nuôi bằng men bánh mì hoặc tảo quang tự dưỡng.

**Lời cảm ơn:** Công trình được hỗ trợ kinh phí của Dự án Phát triển SPTM cấp Viện Hàn lâm KHCNVN “Phát triển sản phẩm sinh khối tảo dị dưỡng làm thức ăn bổ sung cho tôm/cá” do PGS. TS. Đặng Diễm Hồng làm chủ nhiệm 2018–2020.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Barclay W. R., 1997. Method of aquaculture feeding microflora having a small cell aggregate size. United States Patent 5,688,500.
- Becker W., 2004. Microalgae in human and animal nutrition. In: Richmond A (ed) Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology. Blackwell Science Ltd, Cambridge, pp. 312–351.
- Bligh E. G., Dyer W. J., 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.*, 37: 911–917.
- Dang D.H., Hoang T. L. A., Ngo T. H. T., 2011. Study on biological characteristics of heterotrophic marine microalga – *Schizochytrium mangrovei* PQ6 isolated from Phu Quoc Island, Kien Giang province, Vietnam. *J. Phycol.*, 47: 944–954.



- Del Castillo C. E., Gapasin R. S., Leño E. M., 2009. Enrichment potential of HUFA-rich thraustochytrid *Schizochytrium mangrovei* for the rotifer *Brachionus plicatilis*. *Aquaculture*, 293: 57–61.
- FAO, 2012. The state of world fisheries and aquaculture. FAO, Rome. (<http://www.fao.org/docrep/016/i2727e/i2727e.pdf>)
- FAO, 2014. The state of world fisheries and aquaculture: opportunities and challenges. FAO, Rome. (<http://www.fao.org/3/a-i3720e.pdf>)
- FAO, 2016. The state of world fisheries and aquaculture 2016. Contributing to food security and nutrition for all. Rome. 200 pp. (<http://www.fao.org/3/a-i5555e.pdf>)
- Fernandez-Reiriz M.J., Labarta U., Ferreira M.J., 1993. Effects of commercial enrichment diets on the nutritional value of the rotifer (*Brachionus plicatilis*). *Aquaculture*, 112: 195–206.
- Hagiwara A., Satuito C. G., 1991. The nutritional improvement of baker's yeast for the growth of the rotifer. In: Rotifer and microalgae system. The Oceanic Institute, Hawaii, pp. 151–162.
- Hemaiswarya S., Raja R., Kumar R. R., Ganesan V., Anbazhagan C., 2011. Microalgae: a sustainable feed source for aquaculture. *World J. Microbiol. Biotechnol.*, 27: 1737–1746.
- Kangpanich C., Pratoomyot J., Senanan W., 2017. Effects of alternative oil sources in feed on growth and fatty acid composition of juvenile giant river prawn (*Macrobrachium rosenbergii*). *ANRES*, 51: 103–108.
- Kangpanich C., Senanan W., 2015. Effects of *Schizochytrium* sp. on growth performance and survival rate of giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii* (de man). *IJAT*, 11: 1337-1348.
- Liang Y., Mai K., 2005. Effect of growth phase on the fatty acid compositions of four species of marine diatoms. *J. O. U. C.*, 4: 157–162.
- Đinh Thị Ngọc Mai, Lê Thị Thơm, Nguyễn Cẩm Hà, Bùi Đình Lãm, Hoàng Lan Anh, Đặng Diễm Hồng. 2013. Nghiên cứu sản xuất Diesel sinh học chất lượng cao từ vi tảo biển *Tetraselmis* sp. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ*, 51: 185–192.
- Nakahara T., Yokochi T., Higashihara T., Tanaka S., Yaguchi T., Honda D., 1996. Production of docosahexaenoic and decosapentaenoic acids by *Schizochytrium* sp. isolated from Yap islands. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 73: 1421–1426.
- Poungchor P., Ratanaarporn P., Limsuwan C., Chuchird N., 2009. Effects of *Schizochytrium* sp. on growth and survival rate of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*, Boone) in low and normal salinity conditions, pp. 588-597. In: Proceedings of the 47th Kasetsart University Annual Conference. Bangkok, Thailand.
- Ren L. J., Ji X. J., Huang H., Qu L., Feng Y., Tong Q. Q., Ouyang P. K., 2010. Development of a stepwise aeration control strategy for efficient docosahexaenoic acid production by *Schizochytrium* sp. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 87: 1649–1656.
- Shah M. R., Lutz G. A., Alam A., Sarker P., Chowdhury M. A. K., Parsaeimehr A., Liang Y., Daroch M., 2018. Microalgae in aquafeeds for a sustainable aquaculture industry. *J. Appl. Phycol.*, 30: 197–213.
- Song X., Zhang X., Guo N., Zhu L., Kuang C., 2007. Assessment of marine thraustochytrid *Schizochytrium limacinum* OUC88 for mariculture by enriched feeds. *Fisheries Sci.*, 73: 565–573.
- Ngô Thị Hoài Thu, Lưu Thị Tâm, Đặng Diễm Hồng, 2008. Một số đặc điểm sinh học của hai loài vi tảo biển *Isochrysis galbana* và *Nannochloropsis oculata* phân lập tại Việt Nam. *Tạp chí Hoá học*, 46: 98–104.
- Wang Y., Li M., Filer K., Xue Y., Ai Q., Mai K., 2017. Evaluation of *Schizochytrium*

- meal in microdiets of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) larvae. *Aquacult. Res.*, 48: 2328–2336.
- Yamasaki T., Aki T., Shinozaki M., Taguchi M., Kawamoto S., Ono K., 2006. Utilization of Shochu distillery wastewater for production of polyunsaturated fatty acids and xanthophylls using thraustochytrid. *J. Biosci. Bioeng.*, 102: 323–327.
- Zhou Q. C., Li C. C., Liu C. W., Chi S. Y., Yang Q. H., 2007. Effects of dietary lipid sources on growth and fatty acid composition of juvenile shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Aquacult. Nutr.*, 13: 222–229.