

NGHIÊN CỨU THU HOẠCH VÀ SỬ DỤNG SCD (*Single cell detritus*) TỪ RONG CÂU (*Gracilaria tenuistipitata*) LÀM THỨC ĂN CHO ĐỘNG VẬT ĂN LỌC

Ngô Thị Thu Thảo và Nguyễn Huỳnh Anh Huy

Khoa Thủy sản, Trường Đại học Cần Thơ

Thông tin chung:

Ngày nhận: 19/09/2016

Ngày chấp nhận: 29/04/2017

Title:

Study on elaborating and utilizing SCD from red seaweed (*Gracilaria tenuistipitata*) for filter feeders

Từ khóa:

Artemia franciscana, *Gracilaria tenuistipitata*, *Lactobacillus*, nấm men, tế bào đơn (SCD)

Keywords:

Artemia franciscana, *Gracilaria tenuistipitata*, *Lactobacillus*, single cell detritus (SCD), yeast

ABSTRACT

This study is aimed to determine the appropriate method for elaborating of single cell detritus (SCD) from red seaweed (*Gracilaria tenuistipitata*) and to assess the effects of SCD as feed on growth and survival of *Artemia franciscana*- one filter feeder species. Three SCD products including SCD-N, SCD-L, SCD-Y were elaborated with the process: Step 1) seaweed powder was immersed in freshwater, shaken well during 2 hours; Step 2) non-fermented and fermented with *Lactobacillus acidophilus* (SCD-L) or yeast *Saccharomyces cerevisiae* (SCD-Y) for 72 h; Step 3) separated by filtering through 50 μm mesh size. The densities of SCD-N, SCD-L and SCD-Y are $77.7 \pm 4.7 \times 10^4$; $165 \pm 10.0 \times 10^4$ and $301 \pm 30.6 \times 10^4$ particles/mL, respectively. *Artemia* were fed by 7 feeding regimes, shrimp feed was considered as the control diet, the others were 6 food regimes in which shrimp feed was replaced by SCD-N, SCD-L, or SCD-Y, with percentage of 50% and 100%. Results showed that diet with 100% SCD-Y or a combination of 50% SCD and 50% shrimp food presented the relatively high survival rate, good growth performance of *Artemia*, as well as a positive influence on the maturity of *A. franciscana*.

TÓM TẮT

Nghiên cứu được thực hiện nhằm xác định phương pháp thích hợp để thu hoạch tế bào đơn (single cell detritus, SCD) từ rong câu chi (*Gracilaria tenuistipitata*) và đánh giá ảnh hưởng của việc sử dụng SCD làm thức ăn đến sinh trưởng và tỷ lệ sống của *Artemia franciscana*- một đối tượng ăn lọc. Quy trình thu hoạch SCD gồm 3 bước như sau: Bước 1) bột rong biển được ngâm và lắc trong nước ngọt khoảng 2 giờ; Bước 2) tương ứng với mỗi loại SCD mà công đoạn tiếp theo khác nhau như sau: không được lên men (SCD-N), lên men với *Lactobacillus* trong 72 giờ (SCD-L), lên men với nấm men trong 72 giờ (SCD-Y); Bước 3) lọc qua rây có mắt lưới 50 μm và bảo quản ở 4°C. Kết quả cho thấy mật độ của SCD-N, SCD-L và SCD-Y lần lượt là: $77,7 \times 10^4$; 165×10^4 và 301×10^4 hạt/mL. *Artemia* được nuôi với 7 nghiệm thức thức ăn, trong đó, nghiệm thức đối chứng là thức ăn tôm sú số 0, 6 nghiệm thức còn lại gồm SCD-N, SCD-L và SCD-Y với các mức thay thế 100% và 50%. Kết quả cho thấy khẩu phần 100% SCD-Y hoặc kết hợp 50% SCD và 50% thức ăn tôm sú đã dẫn đến sự tăng trưởng tốt, tỷ lệ sống tương đối cao, cũng như ảnh hưởng tích cực đến quá trình thành thực sinh sản của *A. franciscana*.

Trích dẫn: Ngô Thị Thu Thảo và Nguyễn Huỳnh Anh Huy, 2017. Nghiên cứu thu hoạch và sử dụng SCD (*Single cell detritus*) từ rong câu (*Gracilaria tenuistipitata*) làm thức ăn cho động vật ăn lọc. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. 49b: 91-99.

1 GIỚI THIỆU

Tảo là nguồn thức ăn không thể thiếu trong sản xuất giống và nuôi thương phẩm các loài động vật biển, các giai đoạn sinh trưởng của động vật thân mềm hai mảnh vỏ, giai đoạn ấu trùng của một số loài giáp xác và giai đoạn rất sớm trong quá trình phát triển của một số loài cá. Tuy nhiên, không phải tất cả các loài tảo đều thích hợp cho các loài động vật ăn lọc. Loài tảo phù hợp phải được lựa chọn dựa trên các tiêu chí là khả năng nuôi sinh khối, kích thước tế bào, khả năng tiêu hóa và giá trị dinh dưỡng nói chung đối với động vật ăn lọc. Coutteau (1996) cho rằng trong thực tế sản xuất giống nhân tạo các đối tượng thủy sản, việc sản xuất sinh khối tảo là một quá trình phức tạp, tốn kém và kết quả phụ thuộc rất nhiều vào biến động của các yếu tố môi trường, đặc biệt là thời tiết. Do đó, việc tìm kiếm một nguồn thức ăn thay thế ít tốn kém hơn và giảm thiểu các giai đoạn sản xuất phức tạp, nhưng vẫn đảm bảo được các tiêu chí về dinh dưỡng và khả năng hấp thụ của sinh vật là rất cần thiết.

SCD (single cell detritus-dạng tế bào đơn) không phải là tế bào sống mà là mảnh vụn của rong biển được tách ra thành dạng các tế bào đơn lẻ. Tùy theo loài rong biển, phương pháp thu hoạch và bảo quản mà SCD sẽ có những giá trị dinh dưỡng đặc trưng khác nhau. Các nghiên cứu về thu hoạch và sử dụng SCD đã được thử nghiệm trên *Artemia* (Uchida, 1997), nghêu *Ruditapes decussatus* (Camacho *et al.*, 2004) và hào *Crassostrea belcheri* (Tanyaros và Chuseingjaw, 2016) cho thấy ảnh hưởng khá tích cực đến sinh trưởng và tỷ lệ sống của các đối tượng nêu trên. Uchida (1997) bổ sung vi khuẩn *Pseudoalteromonas espejiana* vào bột rong *Ulva* và đạt được mật độ 10^6 hạt/mL sau 16 giờ. Tác giả thu được kết quả là thành phần đạm trong thức ăn SCD đã tăng lên 2 lần sau khi vi khuẩn bám dính và phát triển trên các hạt SCD và có thể sử dụng làm thức ăn cho *Artemia* từ giai đoạn ấu trùng. Camacho *et al.* (2004) ương giống nghêu *Ruditapes decussatus* bằng khẩu phần cho ăn hoàn toàn bằng SCD từ rong bẹ *Laminaria saccharina* (99% các hạt SCD có kích thước <20 μm) thì nghêu giống tăng trưởng khối lượng và chiều dài đạt tương ứng 54% và 68% khi so sánh với khẩu phần tảo tươi. Các kết quả nghiên cứu trên cho thấy SCD có thể là một giải pháp để thay thế tảo tươi trong quá trình nuôi các đối tượng thủy sản có đặc điểm ăn lọc (filter feeder). Nghiên cứu này được thực hiện nhằm đánh giá kết quả thu hoạch SCD từ rong câu chỉ (*Gracilaria tenuistipitata*) bằng 3 phương pháp khác nhau và ảnh hưởng của các loại SCD này đến tăng trưởng, tỷ lệ sống của *Artemia franciscana*- một loài giáp

xác có đặc điểm ăn lọc không chọn lựa các hạt thức ăn có kích thước <50 μm . Nếu SCD có thể thu hoạch từ một số loài rong biển ở Việt Nam và có ảnh hưởng tốt đối với sinh trưởng, sinh sản của *Artemia* thì loại thức ăn này có khả năng được sử dụng trên các đối tượng ăn lọc khác, góp phần chủ động thức ăn trong quá trình ương giống hoặc nuôi thương phẩm thay vì phải phụ thuộc hoàn toàn vào tảo tươi như trước đây.

2 PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Thí nghiệm 1: Khả năng thu sản phẩm và chất lượng SCD từ các phương pháp thu hoạch khác nhau

SCD được thu hoạch từ rong câu chỉ (mua từ Nha Trang, Khánh Hòa) bằng 3 phương pháp và mỗi loại sản phẩm của từng phương pháp sẽ được đặt tên SCD-N, SCD-L, SCD-Y:1) Nghiệm thức 1 (SCD-N): bột rong biển được ngâm và lắc trong nước ngọt khoảng 2 giờ, sau đó lọc qua rây; 2) Nghiệm thức 2 (SCD-L): bột rong biển được ngâm và lắc trong nước ngọt khoảng 2 giờ, lên men với *Lactobacillus acidophilus* (sản phẩm thương mại, mật độ 10^9 CFU/g), sau đó lọc qua rây; 3) Nghiệm thức 3 (SCD-Y): bột rong biển được ngâm và lắc trong nước ngọt khoảng 2 giờ, ủ với nấm men bánh mì (*Saccharomyces cerevisiae*), sau đó lọc qua rây.

Sản phẩm SCD-N được thu hoạch dựa trên kỹ thuật được mô tả bởi Tanyaros and Chuseingjaw (2016) theo thứ tự các bước như sau:

Bước 1: Lấy 100 gram rong câu (đã sấy khô) cho vào máy xay thành bột nhuyễn, sau đó lọc phần rong này qua một tấm rây lọc với mắt lưới 200 μm .

Bước 2: Cho 0,5 g rong đã xay ở Bước 1 cùng với 250 mL nước cất vào mỗi bình tam giác, sau đó mẫu được lắc với tần số 100 vòng/phút trong 2 giờ.

Bước 3: Lọc dung dịch bột rong qua một tấm rây với mắt lưới 50 μm ; sau đó phần dung dịch qua lưới lọc được bảo quản ở 4°C cho các thí nghiệm sau.

Sản phẩm SCD-L và SCD-Y được thu hoạch tương tự SCD-N ở Bước 1 và Bước 2. Nhưng sau Bước 2, nghiệm thức SCD-L được bổ sung vi khuẩn *L. acidophilus* ở mật độ 10^6 CFU/mL, đây bình chứa hỗn hợp trên bằng bông gòn và ủ trong 72 giờ ở nhiệt độ phòng, sau đó, SCD-L được lọc qua rây có kích thước mắt lưới 50 μm và bảo quản ở 4°C. Sản phẩm SCD-Y được thu hoạch tương tự SCD-L, nhưng nấm men (*Saccharomyces cerevisiae*) được bổ sung với mật độ 10^6 tế bào/mL. Việc bổ sung vi khuẩn hoặc nấm men vào để giúp quá trình phân mảnh của rong biển diễn ra nhanh và hiệu quả hơn, tạo ra nhiều hạt SCD có

kích thước nhỏ <50 μm mà đa số các đối tượng ăn lọc có thể sử dụng được.

Đánh giá khả năng thu hoạch SCD

Mật độ SCD được đếm bằng buồng đếm Improved Neubauer (độ sâu 0,1 mm và diện tích 0,0025 mm²) vào ngày 1 (với SCD-N) và ngày 4, 7, 10, 14 (với cả 3 loại SCD). Công thức xác định mật độ hạt SCD là:

$$C = \frac{N}{4} \times 10^4$$

Trong đó: C là mật độ SCD (hạt/mL), N là số hạt đếm được trong 4 ô lớn ở 4 góc buồng đếm.

Các yếu tố môi trường trong dung dịch SCD như giá trị pH, hàm lượng TAN và N-NO₂⁻ được kiểm tra vào ngày 1, 10 và 14 của quá trình thí nghiệm bằng bộ test SERA (Đức).

2.2 Thí nghiệm 2: Ảnh hưởng của SCD đến tăng trưởng và tỷ lệ sống của *Artemia*

2.2.1 Bố trí thí nghiệm

Artemia được cho ăn 7 loại thức ăn khác nhau (tương ứng với 7 nghiệm thức) và mỗi nghiệm thức lặp lại 3 lần như sau: 1) Thức ăn tôm sú số 0 (Đối chứng, F); 2) Sản phẩm SCD không lên men (S-N); 3) Sản phẩm SCD lên men với vi khuẩn *Lactobacillus* (S-L); 4) Sản phẩm SCD được bổ sung nấm men (S-Y); 5) 50% thức ăn tôm sú và 50% S-N (F+S-N); 6) 50% thức ăn tôm sú và 50% S-L (F+S-L); 7) 50% thức ăn tôm sú và 50% S-Y (F+S-Y).

2.2.2 Chuẩn bị thức ăn cho *Artemia*

Sản phẩm SCD-N được thu hoạch vào ngày đầu tiên ngay sau khi quá trình lactic kết thúc, dung dịch SCD-N được ly tâm và sấy khô ở nhiệt độ 60°C. Sản phẩm SCD-L và SCD-Y được ly tâm và sấy khô vào ngày thứ 7 sau quá trình ủ với vi khuẩn hoặc nấm men.

Tảo *Chaetoceros* sp được nuôi trong phòng thí nghiệm, sử dụng dung dịch Walne làm nguồn dinh dưỡng và có bổ sung silicate cùng với vitamin (FAO, 1996). Mật độ tảo được kiểm tra bằng buồng đếm Improved Neubauer từ đó làm cơ sở để tính thể tích tảo cần dùng trong khẩu phần ăn của *Artemia*.

Thức ăn tôm sú số 0 (Công ty Grobest) là loại chứa 40-42% đạm, được ngâm trong nước mặn 30‰ khoảng 15 phút trước khi lọc qua lưới 50 μm để cho *Artemia* ăn.

2.2.3 Quá trình nuôi *Artemia* thí nghiệm

Trứng *Artemia* được ấp nở với nước có độ mặn 30‰ và tỷ lệ 1 g trứng/1 lít nước biển. Sục khí và

chiếu sáng được cung cấp liên tục trong quá trình ấp trứng (FAO, 1996). Sau 20-24 giờ ấp trứng, sử dụng ống siphon thu ấu trùng *Artemia* mới nở và đếm số lượng để bố trí vào các bình nuôi.

Cho 1 lít nước nuôi vào mỗi bình nhựa (dung tích 1,6 L), sau đó thả *Artemia* với mật độ 100 con/L và sục khí liên tục trong suốt quá trình nuôi. Nước biển sử dụng nuôi *Artemia* có độ mặn 30‰ (đã được xử lý với chlorine 30 ppm, sục khí mạnh trong 3-5 ngày và lọc qua túi lưới 5 μm trước khi cho vào bình nuôi *Artemia*), sục khí và chiếu sáng được cung cấp liên tục trong quá trình nuôi *Artemia* thí nghiệm. *Artemia* được cho ăn mỗi ngày 2 lần lúc 8 giờ và 16 giờ. Ngày thứ nhất, *Artemia* ở tất cả các nghiệm thức được cho ăn tảo *Chaetoceros calcitrans* với mật độ 50.000 tế bào/mL và tăng lên 100.000 tb/mL vào ngày thứ 2. Kể từ ngày thứ 3, *Artemia* được cho ăn theo 7 loại nghiệm thức ăn nêu trên. Liều lượng thức ăn được sử dụng theo khẩu phần ăn tiêu chuẩn cho 1 con *Artemia* được tính theo khối lượng khô từ 0,0154 mg/con ngày thứ nhất đến 0,2215 mg/con vào ngày thứ 14 của quá trình nuôi (Nguyễn Văn Hòa, 1993). Lượng thức ăn được cân, sau đó hòa tan với nước có độ mặn tương ứng với môi trường nuôi và cho ăn bằng micropipette. Việc siphon rút cạn và thay nước trong mỗi keo nuôi *Artemia* được thực hiện vào các ngày 3, 5, 8, 11, 13 của quá trình thí nghiệm.

2.2.4 Thu thập số liệu về các yếu tố môi trường

Giá trị pH, hàm lượng TAN và N-NO₂⁻ trong các bình thủy tinh nuôi *Artemia* được kiểm tra vào các ngày thứ 1, 3, 7, 10, 14 bằng cách sử dụng bộ test SERA (Đức). Nhiệt độ trong các keo nuôi *Artemia* được kiểm tra bằng nhiệt kế thủy ngân vào lúc 7h sáng và 14h chiều hàng ngày.

2.2.5 Thu thập số liệu về sinh trưởng và tỷ lệ sống của *Artemia*

Chiều dài *Artemia*: Thu mẫu 30 con ấu trùng *Artemia* mới nở vào ngày đầu tiên và lấy ngẫu nhiên 5 con/keo của từng nghiệm thức để đo chiều dài vào ngày thứ 3, 7, 10 và 14 của quá trình nuôi. Chiều dài *Artemia* được tính từ đầu đến chạc đuôi, và được đo thông qua kính lúp có gắn trục vi thị kính.

Tỷ lệ sống của *Artemia* được xác định vào ngày thứ 14 của quá trình nuôi dựa vào số con còn sống ở mỗi keo theo công thức:

$$SR(\%) = \frac{N_2 \times 100}{N_1}$$

Trong đó: N₁ là số ấu trùng thả nuôi ban đầu; N₂ là số con còn sống tính ở thời điểm thu mẫu.

Tỷ lệ *Artemia* bắt cặp và con cái mang trứng được thu vào ngày 14 của quá trình thí nghiệm và được tính theo các công thức như sau:

$$\text{Tỷ lệ bắt cặp: } TLBC(\%) = \frac{C \times 2 \times 100}{M}$$

Trong đó: C là số cặp *Artemia*, M là tổng số con còn sống.

Tỷ lệ con cái mang trứng:

$$TLMT(\%) = \frac{T \times 100}{M}$$

Trong đó: T là số con cái mang trứng, M là tổng số con còn sống.

2.2.6 Phương pháp phân tích và xử lý số liệu

Sử dụng phần mềm Microsoft Excel để tính các giá trị trung bình và độ lệch chuẩn của các số liệu thu thập từ các nghiệm thức. Phương pháp phân tích ANOVA một nhân tố trong phần mềm SPSS 22.0 được áp dụng để so sánh sự khác biệt giữa các giá trị trung bình của các nghiệm thức bằng phép thử Duncan với $p < 0,05$.

3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Khả năng thu hoạch và chất lượng của SCD

3.1.1 Các yếu tố môi trường

Giá trị pH của dung dịch SCD-N đạt cao nhất ($6,67 \pm 0,29$) vào ngày 7 và giảm nhẹ vào ngày 14 ($6,33 \pm 0,14$). Giá trị pH của dung dịch SCD-L và

SCD-Y khác nhau có ý nghĩa ($p < 0,05$) vào ngày 7, tương đương nhau vào ngày 10 và ngày 14 (Bảng 1). Giá trị pH giảm liên tục theo thời gian chứng tỏ có sự lên men lactic do hoạt động của vi khuẩn và nấm men.

Bảng 1: Biến động giá trị pH trong các loại dung dịch SCD

Ngày thu mẫu	Nghiệm thức		
	SCD-N	SCD-L	SCD-Y
7	$6,67 \pm 0,29^c$	$4,50 \pm 0,00^a$	$5,00 \pm 0,0^b$
10	$6,67 \pm 0,29^b$	$4,33 \pm 0,29^a$	$4,50 \pm 0,0^a$
14	$6,33 \pm 0,14^b$	$4,00 \pm 0,00^a$	$4,00 \pm 0,0^a$

Số liệu (TB±std) có chữ cái khác nhau trong cùng một hàng cho thấy sự khác biệt có ý nghĩa ($p < 0,05$)

Nghiệm thức SCD-N có hàm lượng TAN cao nhất vào ngày thứ 10 ($3,33 \pm 0,29$ mg/L) và giảm đáng kể vào ngày thứ 14 ($1,0 \pm 0,0$ mg/L). Trong khi đó, hàm lượng TAN ở SCD-L là thấp nhất và không biến động theo thời gian. Hàm lượng TAN trong dung dịch SCD-Y ở mức trung bình ($1,0 \pm 0,0$ mg/L) và giảm một nửa vào ngày thứ 14 (Bảng 2).

Hàm lượng $N-NO_2^-$ tăng dần theo thời gian bảo quản SCD-N. Ngày thứ 10 của quá trình bảo quản, SCD-N có hàm lượng $N-NO_2^-$ cao nhất ($1,0 \pm 0,0$ mg/L) và tăng đáng kể vào ngày thứ 14 ($2,67 \pm 0,29$ mg/L). Hàm lượng NO_2^- ở hai nghiệm thức còn lại rất thấp và không có sự khác biệt giữa SCD-L và SCD-Y ($p > 0,05$).

Bảng 2: Biến động hàm lượng TAN và NO_2^- (mg/L) trong các loại dung dịch SCD

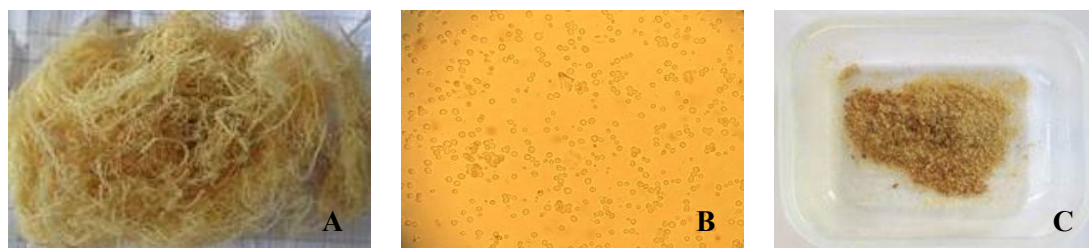
Nghiệm thức	TAN (mg/L)			$N-NO_2^-$ (mg/L)		
	Ngày 1	Ngày 10	Ngày 14	Ngày 1	Ngày 10	Ngày 14
SCD-N	$1,0 \pm 0,0$	$3,33 \pm 0,3^c$	$1,00 \pm 0,0^c$	$0 \pm 0,0$	$1,0 \pm 0,0^b$	$2,67 \pm 0,3^b$
SCD-L	-	$0,25 \pm 0,0^a$	$0,25 \pm 0,0^a$	-	$0,0 \pm 0,0^a$	$0,00 \pm 0,0^a$
SCD-Y	-	$1,00 \pm 0,0^b$	$0,50 \pm 0,0^b$	-	$0,0 \pm 0,0^a$	$0,03 \pm 0,1^a$

Số liệu (TB±std) có chữ cái khác nhau trong cùng một cột cho thấy sự khác biệt có ý nghĩa ($p < 0,05$)

3.1.2 Mật độ SCD (hạt/mL)

Các hạt SCD-N và SCD-L là những hạt trong suốt, có màu xanh sáng hoặc một số hạt có màu đỏ và không có hình dạng nhất định. Tuy không đủ điều kiện để đo kích thước các hạt SCD nhưng khi quan sát dưới kính hiển vi cùng độ phóng đại thì các hạt SCD-Y có kích thước nhỏ hơn nhiều lần so với SCD-N và SCD-L, đa phần chúng có màu xanh sáng, hạt nhỏ hơn tế bào nấm men chiếm tỷ lệ cao.

Kết quả cho thấy SCD-N có mật độ cao nhất ở ngày đầu tiên (776.667 ± 46.926 hạt/mL) và có xu hướng giảm dần theo thời gian bảo quản. Trong khi đó, mật độ SCD-L và SCD-Y tăng dần trong 7 ngày đầu và giảm dần trong 7 ngày cuối của quá trình thí nghiệm (Bảng 3). Cụ thể, SCD-L và SCD-Y đều đạt mật độ cao nhất ở ngày thứ 7 của quá trình bảo quản, lần lượt ở mức $1.650.000 \pm 100.000$ và $3.010.000 \pm 306.472$ hạt/mL.



Hình 1: Rong câu khô (A), Dung dịch SCD-Y dưới kính hiển vi (B; 40×) và Bột SCD-Y sau khi sấy khô (C)

Bảng 3: Mật độ SCD (hạt/mL) trong các nghiệm thức theo thời gian bảo quản

Ngày	Nghiệm thức		
	SCD-N	SCD-L	SCD-Y
1	776.667 ± 46.926	-	-
4	696.667 ± 20.052 ^a	833.333 ± 80.364 ^b	970.000 ± 82.614 ^c
7	485.833 ± 36.429 ^a	1.650.000 ± 100.000 ^b	3.010.000 ± 306.472 ^c
10	225.667 ± 43.662 ^a	935.000 ± 85.440 ^b	1.980.000 ± 72.629 ^c
14	132.500 ± 18.875 ^a	216.667 ± 38.188 ^b	1.128.333 ± 180.716 ^c

Số liệu (TB±std) có chữ cái khác nhau trong cùng một hàng cho thấy sự khác biệt có ý nghĩa ($p < 0,05$)

Mật độ SCD-N ở thí nghiệm này cao hơn mức $33,7 \pm 7,0 \times 10^4$ hạt/mL được công bố bởi Tanyaros và Chuseingjaw (2016). Tỷ lệ khối lượng bột rong và thể tích nước là như nhau (0,2% w/v) nhưng có sự khác biệt về mật độ SCD so với nghiên cứu này vì lưới 50 μm được sử dụng để thu SCD-N. Tanyaros và Chuseingjaw (2016) giữ SCD trong dung dịch nước biển có độ mặn 30‰ nhằm hạn chế quá trình phân hủy. Ngược lại trong nghiên cứu này, SCD-N được bảo quản trong nước cất ở nhiệt độ 4°C và điều này có thể dẫn đến sự phát triển của vi khuẩn làm cho mật độ SCD-N giảm rất rõ theo thời gian.

Mật độ SCD-L và SCD-Y trong nghiên cứu này thấp hơn so với mức 3×10^8 hạt/mL (kích thước hạt từ 2-20 μm) mà Camacho *et al.* (2004) đã công bố. Sự khác biệt này do bột rong biển mà các tác giả sử dụng với tỷ lệ khối lượng/thể tích (w/v) là 10%, trong khi tỷ lệ w/v của SCD-L và SCD-Y là 0,2%. Bên cạnh đó, các tác giả đã tạo ra SCD từ 3 giai đoạn là hydrat hóa và xử lý acid, xử lý với enzyme (endoglucanase và cellulase) và phân hủy bởi một số nhóm vi khuẩn (*P. espejiana*, *Vibrio sp.*). Sản phẩm SCD-L và SCD-Y trong nghiên cứu này chỉ được tạo ra từ quá trình lên men của vi khuẩn *Lactobacillus* hoặc nấm men *S. cerevisiae* sau khi quá trình lactic acid, do đó quá trình phân mảnh có thể đã bị hạn chế và kết quả làm cho mật độ SCD đạt thấp hơn.

Mật độ SCD trong nghiên cứu của Uchida và Murata (2002) là $5,8 \times 10^7$ hạt/mL được tạo từ 5,0% bột rong biển *Undaria*, 3,5% NaCl, 0,5% enzyme cellulase, 10^9 tế bào vi khuẩn *Lactobacillus brevis*, $5,3 \times 10^5$ tế bào nấm men *Debaryomyces hansenii*,

$1,2 \times 10^7$ tế bào nấm men *Candida sp.* và được ủ 6 ngày ở nhiệt độ 20°C. Kết quả này cao hơn hẳn mật độ của 3 loại SCD-N, SCD-L và SCD-Y đạt được vào ngày thứ 7 của quá trình lên men tương ứng là 485.833, 1.650.000 và 3.010.000 hạt/mL. Có thể là do hoạt động của enzyme cellulase và các vi sinh vật bổ sung đã tác động mạnh và cho kết quả mật độ SCD đạt cao hơn. Tuy nhiên, nếu xét về khả năng ứng dụng thực tế thì phương pháp của Uchida và Murata (2002) khá phức tạp và đòi hỏi rất nhiều thành phần nguyên liệu tham gia vào quá trình phân mảnh để tạo sản phẩm SCD.

Xác định phương pháp thích hợp để thu hoạch SCD

SCD-N có mật độ cao nhất vào ngày đầu tiên và giảm dần theo thời gian do sự phân hủy tế bào. Hàm lượng NO_2^- từ mức 0,0 mg/L đã tăng dần trong quá trình bảo quản. Do đó, SCD-N nên được thu hoạch ngay sau khi quá trình lactic acid kết thúc bằng cách ly tâm và sấy khô ở nhiệt độ 60°C, sau đó bảo quản ở nhiệt độ 4°C. Mật độ hạt trong các nghiệm thức SCD-L và SCD-Y đạt cao nhất vào ngày thứ 7 của quá trình bảo quản, do đó SCD-L và SCD-Y cần được thu hoạch và bảo quản để sử dụng làm thức ăn cho các đối tượng thủy sản ăn lọc vào ngày thứ 7. Cách thu hoạch và bảo quản này giúp sản phẩm đảm bảo duy trì chất lượng, không nhiễm tạp và không ảnh hưởng đến môi trường nuôi khi cho ăn dưới dạng dung dịch.

Theo kết quả thu được, 1 g bột SCD-N khô thành phẩm được tạo ra từ 52 g bột rong câu và 26 lít nước. Trong khi đó, để có được 1 g bột SCD-L khô thành phẩm cần có 39 g bột rong câu, 19,5 g

men vi sinh *Lactobacillus acidophilus* (10^9 CFU/g) và 19,5 lít nước. Đáng chú ý là 1 g bột SCD-Y khô thành phẩm chỉ cần 3,5 g bột rong câu, 1,75 g men bánh mì ($13,0 \times 10^9$ CFU/g) và 1,75 lít nước. Như vậy, việc thu hoạch SCD-Y giúp cho việc tiết kiệm nguyên liệu một cách hiệu quả hơn.

3.2 Ảnh hưởng của SCD đến tăng trưởng và tỷ lệ sống của *Artemia*

3.2.1 Biến động của các yếu tố môi trường

Nhiệt độ và pH

Trong 14 ngày thí nghiệm, nhiệt độ trung bình lúc 7 giờ và 14 giờ lần lượt là $25,7 \pm 0,47^\circ\text{C}$ và $30,4 \pm 1,94^\circ\text{C}$ với mức chênh lệch trung bình trong một ngày là $4,68^\circ\text{C}$. Giá trị pH trong 7 ngày đầu ở tất cả các nghiệm thức đều ổn định, dao động trong khoảng 8,7-9,0. Vào ngày thứ 14, pH ở các nghiệm thức đều giảm dao động từ 8,0-8,5 và không khác biệt có ý nghĩa ($p > 0,05$). Theo Nguyễn Văn Hòa và

ctv., (2007) thì *A. franciscana* (Vĩnh Châu) phát triển tốt trong điều kiện pH từ 7-9 và nhiệt độ từ 22-35°C, như vậy nhiệt độ và pH môi trường nuôi trong quá trình thí nghiệm không ảnh hưởng đến sự phát triển của *Artemia*.

Hàm lượng TAN và NO₂⁻

Hàm lượng TAN trong 3 ngày đầu không có sự khác biệt giữa các nghiệm thức ($p > 0,05$). Sự khác biệt xuất hiện từ ngày 7 đến ngày thứ 14 của quá trình thí nghiệm, trong đó nghiệm thức F+SCD-Y luôn có hàm lượng TAN cao nhất và các nghiệm thức còn lại có hàm lượng TAN đạt thấp hơn (Bảng 4). Mặc dù vào ngày 10 và 14, nghiệm thức F+SCD-Y có hàm lượng TAN $\geq 3,0$ mg/L nhưng *Artemia* vẫn phát triển bình thường. Sự biến động không theo quy luật của TAN có thể do việc thay nước vào các ngày 3, 5, 8, 11 và 13 của quá trình thí nghiệm.

Bảng 4: Hàm lượng TAN (mg/L) trong các nghiệm thức nuôi *Artemia*

STT	Nghiệm thức	Ngày				
		1	3	7	10	14
1	F (ĐC)	0,25 ± 0,0	0,38 ± 0,18 ^a	1,00 ± 0,0 ^c	1,38 ± 0,18 ^b	1,63 ± 0,18 ^b
2	SCD-N	0,25 ± 0,0	0,50 ± 0,0 ^a	0,50 ± 0,0 ^a	0,50 ± 0,00 ^a	0,25 ± 0,00 ^a
3	SCD-L	0,25 ± 0,0	0,50 ± 0,0 ^a	0,50 ± 0,0 ^a	0,50 ± 0,00 ^a	0,25 ± 0,00 ^a
4	SCD-Y	0,25 ± 0,0	0,50 ± 0,0 ^a	0,75 ± 0,0 ^{abc}	1,38 ± 0,18 ^b	1,38 ± 0,18 ^b
5	F+SCD-N	0,25 ± 0,0	0,50 ± 0,0 ^a	0,88 ± 0,18 ^{bc}	1,38 ± 0,18 ^b	1,38 ± 0,18 ^b
6	F+SCD-L	0,25 ± 0,0	0,50 ± 0,0 ^a	0,63 ± 0,18 ^{ab}	1,25 ± 0,35 ^b	1,63 ± 0,18 ^b
7	F+SCD-Y	0,25 ± 0,0	0,50 ± 0,0 ^a	1,63 ± 0,18 ^d	3,00 ± 0,00 ^c	3,13 ± 0,18 ^c

Số liệu (TB±std) có chữ cái khác nhau trong cùng một cột cho thấy sự khác biệt có ý nghĩa ($p < 0,05$)

Trong 7 ngày đầu của thí nghiệm, hàm lượng N-NO₂⁻ của các nghiệm thức không có sự khác biệt ($p > 0,05$). Từ ngày thứ 10, hàm lượng N-NO₂⁻ tăng cao trong tất cả các nghiệm thức, ngoại trừ nghiệm

thức cho ăn SCD-N (Bảng 5). Hầu hết các nghiệm thức có hàm lượng N-NO₂⁻ đạt mức an toàn ($< 0,3$ mg/L). Điều này có thể do việc siphon thay nước vào ngày 3, 5, 8, 11 và 13.

Bảng 5: Biến động hàm lượng N-NO₂⁻ (mg/L) trong các nghiệm thức nuôi *Artemia*

STT	Nghiệm thức	Ngày				
		1	3	7	10	14
1	F (ĐC)	0 ± 0,0	0 ± 0,0	0,03 ± 0,04 ^a	0,50 ± 0,00 ^c	0,63 ± 0,18 ^c
2	SCD-N	0 ± 0,0	0 ± 0,0	0,00 ± 0,00 ^a	0,00 ± 0,00 ^a	0,00 ± 0,00 ^a
3	SCD-L	0 ± 0,0	0 ± 0,0	0,03 ± 0,04 ^a	0,03 ± 0,04 ^{ab}	0,00 ± 0,00 ^a
4	SCD-Y	0 ± 0,0	0 ± 0,0	0,00 ± 0,00 ^a	0,05 ± 0,00 ^{ab}	0,05 ± 0,00 ^a
5	F+SCD-N	0 ± 0,0	0 ± 0,0	0,05 ± 0,07 ^a	0,08 ± 0,04 ^{ab}	0,00 ± 0,00 ^a
6	F+SCD-L	0 ± 0,0	0 ± 0,0	0,00 ± 0,00 ^a	0,05 ± 0,07 ^{ab}	0,00 ± 0,00 ^a
7	F+SCD-Y	0 ± 0,0	0 ± 0,0	0,03 ± 0,04 ^a	0,10 ± 0,00 ^b	0,25 ± 0,00 ^b

Số liệu (TB±std) có chữ cái khác nhau trong cùng một cột cho thấy sự khác biệt có ý nghĩa ($p < 0,05$)

3.2.2 Chiều dài, tỷ lệ sống và sinh sản của *Artemia*

*Chiều dài của *Artemia**

Lúc mới nở, ấu trùng nauplii có chiều dài trung bình khoảng $0,46 \pm 0,05$ mm. Trong 2 ngày đầu nuôi

bằng tảo *Chaetoceros* sp., *Artemia* ở các nghiệm thức phát triển bình thường và chiều dài không có sự khác biệt ($p > 0,05$). Chiều dài của *Artemia* ở ngày thứ 3 dao động từ $1,81 \pm 0,07$ đến $1,89 \pm 0,06$ mm (Bảng 6).

Chiều dài *Artemia* có sự khác biệt giữa các nghiệm thức ($p < 0,05$) kể từ ngày thứ 7 trở đi và cũng từ giai đoạn này, chiều dài *Artemia* ở nghiệm thức SCD-N và SCD-L không khác biệt ($p > 0,05$) và luôn thấp nhất trong các nghiệm thức. Vào ngày thứ 7, chiều dài *Artemia* ở nghiệm thức SCD-Y và F+SCD-N đạt trung bình từ $3,06 \pm 0,13$ mm đến $3,08 \pm 0,14$ mm. *Artemia* thuộc các nghiệm thức gồm đối chứng, F+SCD-L, F+SCD-Y có chiều dài cao nhất, dao động từ $3,14 \pm 0,14$ mm đến $3,19 \pm 0,61$ mm. Vào ngày thứ 10, chiều dài *Artemia* cao

nhất thuộc nghiệm thức đối chứng ($6,0 \pm 0,55$ mm) thấp hơn giá trị $8,55 \pm 0,32$ mm mà Nguyễn Thị Kim Phụng và Nguyễn Văn Hòa (2013) đã nghiên cứu nuôi *Artemia* với 100% thức ăn tôm sú số 0. Chiều dài *Artemia* ở nghiệm thức F+SCD-L tương đối cao hơn so với các nghiệm thức còn lại ($5,28 \pm 0,57$ mm). Cũng theo nghiên cứu trên, chiều dài *Artemia* được nuôi bằng 100% *Chaetoceros* vào ngày thứ 10 là $7,54 \pm 0,48$ mm cao hơn chiều dài của *Artemia* trong nghiên cứu này.

Bảng 6: Chiều dài của *Artemia* (mm) trong các nghiệm thức theo thời gian nuôi

STT	Nghiệm thức	Ngày			
		3	7	10	14
1	F (ĐC)	$1,81 \pm 0,07^a$	$3,19 \pm 0,61^b$	$6,00 \pm 0,55^d$	$6,60 \pm 0,70^{ab}$
2	SCD-N	$1,82 \pm 0,08^a$	$2,76 \pm 0,28^a$	$3,89 \pm 0,22^a$	$6,11 \pm 0,26^a$
3	SCD-L	$1,81 \pm 0,08^a$	$2,78 \pm 0,47^a$	$3,89 \pm 0,42^a$	$6,12 \pm 0,31^a$
4	SCD-Y	$1,84 \pm 0,09^a$	$3,06 \pm 0,13^{ab}$	$4,28 \pm 0,75^{ab}$	$7,13 \pm 0,62^{bc}$
5	F+SCD-N	$1,89 \pm 0,06^a$	$3,08 \pm 0,14^{ab}$	$4,33 \pm 0,43^{ab}$	$7,63 \pm 0,75^{cd}$
6	F+SCD-L	$1,81 \pm 0,08^a$	$3,14 \pm 0,14^b$	$5,28 \pm 0,57^c$	$8,03 \pm 0,70^d$
7	F+SCD-Y	$1,85 \pm 0,11^a$	$3,16 \pm 0,11^b$	$4,44 \pm 0,39^b$	$6,98 \pm 0,33^b$

Số liệu (TB±std) có chữ cái khác nhau trong cùng một cột cho thấy sự khác biệt có ý nghĩa ($p < 0,05$)

Vào ngày thứ 14, chiều dài của *Artemia* ở nghiệm thức F+SCD-L là $8,03 \pm 0,70$ mm, đạt cao nhất trong các nghiệm thức còn lại. Trong nghiên cứu của Nguyễn Thị Kim Phụng và Nguyễn Văn Hòa (2013), chiều dài *Artemia* được nuôi với 50% thức ăn tôm và 50% tảo *Chaetoceros* vào ngày thứ 10 là $8,82 \pm 0,71$ mm, cao hơn kết quả của thí nghiệm này. *Artemia* ở nghiệm thức đối chứng đã tăng trưởng chậm lại từ ngày thứ 10 trở đi và chiều dài đạt tương đối thấp vào cuối quá trình thí nghiệm khi so sánh với các nghiệm thức khác có thể do hàm lượng NO_2^- trong nghiệm thức đối chứng cao hơn các nghiệm thức còn lại và vượt mức an toàn nên có thể đã gây độc và ức chế khả năng lột xác của *Artemia*. Mặt khác cũng có thể do khẩu phần SCD-N không đáp ứng đầy đủ nhu cầu dinh dưỡng khi *Artemia* gần đạt đến giai đoạn trưởng thành. Chiều dài *Artemia* đạt khá cao ở nghiệm thức SCD-Y ($7,13 \pm 0,62$ mm) và F+SCD-N ($7,63 \pm 0,75$ mm). Như vậy có thể thấy với khẩu phần 100% SCD-Y hoặc kết hợp SCD với thức ăn tôm sú theo tỷ lệ 50:50 về khối lượng đã mang đến sự tăng trưởng tốt cho *Artemia*.

Tỷ lệ sống (%)

Kết quả Bảng 7 cho thấy *Artemia* được nuôi với thức ăn kết hợp giữa SCD-Y và thức ăn tôm sú đạt tỷ lệ sống cao nhất ($72,0 \pm 5,0\%$), nhưng *Artemia* cho ăn SCD-N có tỷ lệ sống thấp nhất ($49,0 \pm 10,0\%$). *Artemia* ở nghiệm thức SCD-Y có tỷ lệ sống đạt mức trung bình so với các nghiệm thức còn lại ($67,0 \pm 4,0\%$). Kết quả của thí nghiệm thu

hoạch SCD cho thấy, để có được 1,0 g SCD-Y khô thành phẩm thì chỉ cần 3,5 g bột rong câu và 1,75 g men. Trong khi khối lượng bột rong cần có để thu 1,0 g SCD-N và SCD-L lần lượt là 52,0 và 39,0 g. Vấn đề được đặt ra là nấm men hay mảnh vụn tế bào rong biển đã quyết định giá trị dinh dưỡng của sản phẩm SCD-Y khi sử dụng làm thức ăn cho *Artemia*. Theo nghiên cứu của Coutteau *et al.* (1990), tỷ lệ sống của *Artemia* khi được nuôi với nấm men (*S. cerevisiae*) vào ngày thứ 8 của quá trình thí nghiệm là $29,4 \pm 7,5\%$, tỷ lệ này có thể lên đến $66,7 \pm 9,5\%$ khi *Artemia* được nuôi với nấm men đã tách bỏ vách tế bào, các tác giả cũng nhận định *Artemia* gặp khó khăn trong việc tiêu hóa nấm men sống còn nguyên vách tế bào. Trong nghiên cứu thực hiện thu hoạch SCD, nấm men sống được bổ sung để lên men bột rong biển tạo ra sản phẩm SCD-Y, do đó có thể khẳng định vai trò của mảnh vụn tế bào rong biển là nhân tố quan trọng hơn góp phần quyết định giá trị dinh dưỡng của sản phẩm này. Trong nghiên cứu của Gómez *et al.* (1999), tỷ lệ sống của *Artemia* được nuôi bằng tảo *Chaetoceros* vào ngày thứ 10 là 67,4%. Tỷ lệ này xấp xỉ với tỷ lệ sống của *Artemia* được nuôi với khẩu phần kết hợp giữa SCD và thức ăn tôm sú, hoặc 100% thức ăn tôm sú hoặc 100% SCD-Y (từ 67-68%). Như vậy, từ các kết quả nghiên cứu này có thể nhận định việc cho *Artemia* ăn SCD ú với nấm men hoặc khẩu phần kết hợp giữa SCD và thức ăn tôm sú đã dẫn đến việc nâng cao tỷ lệ sống của *Artemia*.

Bảng 7: Tỷ lệ sống, bắt cặp và con cái mang trứng của *Artemia* sau 14 ngày nuôi

STT	Nghiệm thức	Tỷ lệ sống (%)	Tỷ lệ bắt cặp (%)	Tỷ lệ con cái mang trứng (%)
1	F (ĐC)	67,0 ± 4,0 ^{bc}	0,0 ± 0,0 ^a	0,0 ± 0,0 ^a
2	SCD-N	49,0 ± 10,0 ^a	0,0 ± 0,0 ^a	0,0 ± 0,0 ^a
3	SCD-L	54,0 ± 8,0 ^{ab}	1,31 ± 2,26 ^a	0,0 ± 0,0 ^a
4	SCD-Y	67,0 ± 4,0 ^{bc}	10,88 ± 2,97 ^b	2,45 ± 1,59 ^b
5	F+SCD-N	67,0 ± 6,0 ^{bc}	7,74 ± 4,03 ^b	1,42 ± 1,39 ^b
6	F+SCD-L	68,0 ± 9,0 ^{bc}	10,32 ± 0,69 ^b	2,99 ± 0,41 ^b
7	F+SCD-Y	72,0 ± 5,0 ^c	6,94 ± 1,50 ^b	2,07 ± 0,85 ^b

Số liệu (TB±std) có chữ cái khác nhau trong cùng một cột cho thấy sự khác biệt có ý nghĩa ($p < 0,05$)

Tỷ lệ bắt cặp (%)

Khi cho ăn SCD-Y, *Artemia* có hiện tượng bắt cặp sớm nhất vào ngày thứ 13 của quá trình thí nghiệm, tỷ lệ bắt cặp của *Artemia* ở các nghiệm thức đối chứng, SCD-N và SCD-L rất thấp trong khi tỷ lệ này đạt cao hơn ở các nghiệm thức SCD-Y; F+SCD-N; F+SCD-L và F+SCD-Y với các kết quả lần lượt là 10,9; 7,74; 10,3 và 6,94%. Tỷ lệ bắt cặp của *Artemia* trong nghiên cứu này đạt tương đối thấp hơn so với kết quả $37,6 \pm 0,14\%$ trong nghiên cứu của Ngô Thị Thu Thảo và Nguyễn Thị Ngoan (2014) khi các tác giả nuôi *Artemia* với khẩu phần là tảo *Chaetoceros* tuy nhiên vẫn cho thấy khả năng SCD được *Artemia* sử dụng làm thức ăn phục vụ cho sinh trưởng và quá trình sinh sản.

Tỷ lệ con cái mang trứng (%)

Tỷ lệ con cái mang trứng được ghi nhận ở các nghiệm thức SCD-Y và các nghiệm thức cho ăn SCD+thức ăn tôm sú với kết quả dao động từ $1,42 \pm 1,39\%$ đến $2,99 \pm 0,41\%$, các nghiệm thức còn lại không có con cái mang trứng. Như vậy, thức ăn 100% SCD-Y và sự kết hợp giữa SCD với thức ăn tôm sú theo tỷ lệ 50:50 về khối lượng đã ảnh hưởng tốt đến khả năng sinh sản của *A. franciscana* trong nghiên cứu này. Uchida *et al.* (1997) bổ sung vi khuẩn *P. espejiana* vào bột rong *Ulva* và đạt được mật độ SCD là 10^6 hạt/mL sau 16 giờ lên men. Tác giả thu được kết quả là thành phần đạm trong thức ăn SCD đã tăng lên 2 lần sau khi vi khuẩn bám dính và phát triển trên các hạt SCD do đó đã góp phần thúc đẩy tăng trưởng của ấu trùng *Artemia* khi sử dụng làm thức ăn. Kết quả phân tích thành phần sinh hóa của SCD từ rong câu (*Gracillaria tenuistipitata*) và rong bún (*Enteromorpha* sp) sau khi ủ với nấm men *Saccharomyces cerevisiae* (10^5 tb/mL) đều cho thấy thành phần đạm tăng lên khoảng 5% so với bột rong khô nguyên liệu (Tin và Thao, 2016). Nghiên cứu này không phân tích thành phần sinh hóa của các loại SCD khác nhau, tuy nhiên việc thu hoạch SCD bằng cách ủ bột rong với nấm men

Saccharomyces cerevisiae có thể đã phân mảnh rong tốt hơn, tạo điều kiện cho nấm men và vi khuẩn phát triển, gia tăng khả năng tiêu hóa và hàm lượng chất dinh dưỡng khi sử dụng làm thức ăn cho *Artemia*. Kết quả này cũng hứa hẹn khả năng ứng dụng SCD làm thức ăn trên các đối tượng động vật thân mềm ăn lọc ở giai đoạn ương giống và nuôi vỗ.

4 KẾT LUẬN VÀ ĐỀ XUẤT

4.1 Kết luận

SCD từ rong câu được ủ nấm men *S. cerevisiae* có mật độ hạt cao nhất và quá trình thu hoạch sản phẩm SCD này đạt hiệu quả cao hơn so với sử dụng vi khuẩn *Lactobacillus*.

Khẩu phần 100% SCD được ủ với nấm men *S. cerevisiae* hoặc kết hợp SCD với thức ăn tôm sú số 0 với tỷ lệ 50:50 về khối lượng cho kết quả tốt về tỷ lệ sống và khả năng sinh sản của *Artemia*.

4.2 Đề xuất

Thực hiện các đánh giá về kích thước hạt SCD, thành phần dinh dưỡng cũng như các phương pháp thu hoạch và bảo quản SCD hiệu quả hơn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Camacho, P., Salinas, J.M, Fuertes, C. and Delgado, M., 2004. Preparation of single cell detritus from *Laminaria saccharina* as a hatchery diet for bivalve mollusks. *Marine Biotechnology* 6: 642-649.

Coutteau, P., 1996. Micro-algae. In: Lavens, P. and Sorgeloos, P. (eds.). *Manual on the production and use of live food for aquaculture*. FAO Fisheries Technical Paper. No. 361. Rome: 295 pages.

Coutteau, P., Lavens, P. and Sorgeloos, P., 1990. Baker's yeast as a potential substitute for live algae in aquaculture diets: *Artemia* as a case study. *Journal of the World Aquaculture Society*. 21: 1-9.

Tin, DH. and Thao N.T.T., 2016. Abstracts of International Fish Symposium, Phu Quoc Island Vietnam, 31st October- 2nd November, 2016: Page 527.

Gómez, M. G. U., Delgado J.G., Aguirre J.L.Z., Fujii T.O. and Lavens P., 1999. Influence of different

- diets on length and biomass production of brine shrimp *A. franciscana*. Boletín de Investigaciones Y Marinas Costeras. 28: 7-18.
- Lavens, P. and Sorgeloos, P., 1966. Manual on the production and use of live food for aquaculture. FAO Fisheries Technical Paper. No. 361. Rome: 295 pages.
- Ngô Thị Thu Thảo, Nguyễn Thị Ngoan, 2014. Ảnh hưởng của các phương pháp bổ sung chế phẩm sinh học đến sinh trưởng và sinh sản của *Artemia franciscana* Vĩnh Châu. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. Số 32B: 94-99.
- Nguyễn Thị Kim Phượng và Nguyễn Văn Hòa, 2013. Ảnh hưởng của khẩu phần thức ăn lên sinh trưởng và một số chỉ tiêu sinh sản của *Artemia franciscana* (dòng Vĩnh Châu). Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. Số 26B: 34-42.
- Nguyễn Văn Hòa (Chủ biên), Nguyễn Thị Hồng Vân, Nguyễn Thị Ngọc Anh, Phạm Thị Tuyết Ngân, Huỳnh Thanh Tới và Trần Hữu Lễ, 2007. *Artemia* – Nghiên cứu và ứng dụng trong nuôi trồng thủy sản. Nhà xuất bản Nông Nghiệp: 134 trang.
- Tanyaros, S. and Chuseingjaw, S., 2016. A partial substitution of microalgae with single cell detritus produced from seaweed (*Porphyra haitanensis*) for the nursery culture of tropical oyster (*Crassostrea belcheri*). Aquaculture Research. 47: 2080-2088.
- Uchida, M. and Murata, M., 2002. Fermentative preparation of single cell detritus from seaweed, *Undaria pinnatifida*, suitable as a replacement hatchery diet for unicellular algae. Aquaculture. 207: 345-357.
- Uchida, M., Nakata, K. and Maeda M., 1997. Introduction of detrital food webs into an aquaculture system by supplying single cell algal detritus produced from *Laminaria japonica* as a hatchery diet for *Artemia nauplii*. Aquaculture. 154: 125-137.