

ẢNH HƯỞNG CỦA VIỆC BỔ SUNG GLUCOSE VÀ CHẾ PHẨM SINH HỌC ĐẾN SINH TRƯỞNG VÀ SINH SẢN CỦA *ARTEMIA FRANCISCANA*

Ngô Thị Thu Thảo¹ và Mã Linh Tâm¹

¹ Khoa Thủy sản, Trường Đại học Cần Thơ

Thông tin chung:

Ngày nhận: 19/07/2013

Ngày chấp nhận: 23/12/2013

Title:

Effect of probiotics and glucose supplementation on the growth and reproduction of *Artemia franciscana*

Từ khóa:

Artemia franciscana, chế phẩm sinh học, glucose, sinh trưởng, sinh sản

Keywords:

Artemia franciscana, probiotics, glucose, growth, reproduction

ABSTRACT

This study was conducted to evaluate the effects of the direct supplementation probiotics and glucose on the growth, survival rate and reproduction of *Artemia franciscana* Vinh Chau. *Artemia* were cultured at a density of 100 ind./L at salinity of 30‰ and fed by Lansy PZ. In the first experiment, different concentrations of glucose (0, 50, 75 and 100 µg/L) were added to the *Artemia* culture medium. After 10 days, the survival rate (59.0%) and the length of *Artemia* (7.3mm) reached highest values when adding glucose at the concentration of 100 µg/L. The second experiment included 6 treatments: Control treatment; Glucose 100 µg/L; *Bacillus subtilis*; *Lactobacillus acidophilus*; and combined *B. subtilis* or *L. acidophilus* with glucose 100 µg/L. After 15 days of experiment, survival rate of *Artemia* was highest (61%) in treatment with only glucose adding. However, the length (7.47mm), matching rate (43.0%) and fecundity of *Artemia* (48 offsprings/female) in *B. subtilis* together glucose supplementation presented highest values and significant difference from other treatments ($p < 0.05$).

TÓM TẮT

Nghiên cứu này được thực hiện nhằm đánh giá ảnh hưởng của việc bổ sung trực tiếp glucose và chế phẩm sinh học đến sinh trưởng, tỷ lệ sống và sinh sản của *Artemia franciscana* dòng Vĩnh Châu. *Artemia* được nuôi với mật độ 100 con/L ở độ mặn 30‰ và thức ăn là Lansy PZ. Trong thí nghiệm 1, các hàm lượng glucose khác nhau (0, 50, 75 và 100 µg/L) được bổ sung vào môi trường nuôi *Artemia*. Kết quả sau 10 ngày thí nghiệm cho thấy tỷ lệ sống (59,0%) và chiều dài *Artemia* (7,3 mm) đạt cao nhất khi bổ sung glucose 100 µg/L. Thí nghiệm 2 gồm 6 nghiệm thức: đối chứng; glucose 100 µg/L; bổ sung đơn thuần *Bacillus subtilis* hoặc *Lactobacillus acidophilus*; kết hợp bổ sung *B. subtilis* hoặc *L. acidophilus* cùng với glucose 100 µg/L. Sau 15 ngày nuôi, tỷ lệ sống của *Artemia* đạt cao nhất (61%) ở nghiệm thức chỉ bổ sung glucose. Tuy nhiên, chiều dài (7,47 mm), tỷ lệ bắt cặp (43%) và sức sinh sản của *Artemia* (48 phôi/con cái) đều đạt cao nhất trong nghiệm thức bổ sung *B. subtilis* kết hợp với glucose và khác biệt so với các nghiệm thức khác ($p < 0,05$).

1 GIỚI THIỆU

Ảnh hưởng của glucose đến các đối tượng thủy sản đã được nghiên cứu và cho thấy kết quả khả quan, đặc biệt với các loài ăn lọc. Thí nghiệm của Uchida *et al.* (2010) cho thấy glucose được hấp thụ và góp phần vào tăng trưởng của nghêu Philippine (*Ruditapes philippinarum*). Ngoài ra, theo Cheong (2006) đường glucose là thích hợp nhất cho việc nuôi tăng sinh khối *Bacillus subtilis* và nếu duy trì glucose trong môi trường nuôi ở 0,2 g/L thì mật độ vi khuẩn đạt $3,5 \times 10^{10}$ CFU/mL vào cuối chu kỳ nuôi. Bên cạnh đó, chế phẩm sinh học đang ngày càng được sử dụng phổ biến vì chúng mang lại hiệu quả tích cực cho nghề nuôi thủy sản. Một số chế phẩm sinh học vừa thúc đẩy quá trình tiêu hóa, tăng trưởng của sinh vật đồng thời cải thiện môi trường sống. Moriarty (1998) cho thấy chế phẩm sinh học hiệu quả trong việc ngăn chặn các loài vi khuẩn phát sáng *Vibrio* dựa vào sự cạnh tranh giữa các loài vi khuẩn và các hợp chất kháng sinh khác nhau do *Bacillus* tạo ra. Do kích cỡ nhỏ và hàm lượng dinh dưỡng cao, vi khuẩn cũng được xem là nguồn thức ăn cho *Artemia* (Huynh Thanh Toi, 2004). Yashuda và Taga (1980) dùng vi khuẩn *Acinetobacteria* spp làm thức ăn cho *Artemia salina*, kết quả là tỉ lệ sống đạt hơn 40% và sau 6 ngày khi bị tác động bởi *Vibrio* spp thì *Artemia* mới bị chết hoàn toàn. Các dòng vi khuẩn *Bacillus* (*B. subtilis*, *B. cereus*, *B. coagulans*) giúp cải thiện sự phát triển của ấu trùng *Artemia*, chống lại vi khuẩn *Vibrio alginolyticus* gây bệnh (Abdelkarim *et al.*, 2010). Huynh Thanh Toi *et al.* (2013) nghiên cứu bổ sung đường sucrose và tinh bột khoai tây hòa tan vào môi trường nghèo tảo để kích thích vi khuẩn phát triển. Các tác giả thu được kết quả sau 15 ngày nuôi, sinh khối *Artemia* đã tăng lên rất khác biệt trong các nghiệm thức cho ăn ít tảo nhưng được bổ sung thêm nguồn carbohydrate. Vì vậy, mục tiêu của đề tài là tìm hiểu những thay đổi về các chỉ tiêu môi trường, sinh trưởng và sinh sản của *Artemia franciscana* khi bổ sung glucose và chế phẩm sinh học vào trong môi trường nuôi.

2 PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm 1 được thực hiện trong phòng gồm 4 nghiệm thức, mỗi nghiệm thức lặp lại 3 lần và liều lượng glucose được bổ sung như sau: 1). Đối chứng (không bổ sung glucose và chỉ cho ăn Lansy); 2). 50 µg/L; 3). 75 µg/L và 4). 100 µg/L. *Artemia franciscana* ấp nở sau 20-24 giờ được bố trí trong các keo nhựa (2 L) với mật độ nuôi là

100 con/L và độ mặn 30‰ được duy trì trong suốt quá trình thí nghiệm. Hệ thống đèn được chiếu sáng liên tục và sục khí được duy trì ổn định trong quá trình nuôi *Artemia*. Hàng ngày *Artemia* được cho ăn Lansy 2 lần (7 giờ sáng và 14 giờ chiều) theo khẩu phần ăn tiêu chuẩn (Nguyễn Văn Hòa, 1993). Trong ngày đầu tiên của thí nghiệm, Lansy được cho ăn với liều lượng 0,42 mL/ngày; ngày thứ 2 đến ngày 4 cho ăn 0,83 mL/ngày. Lượng thức ăn được tăng lên từ ngày 5 và 6 (1,25 mL/ngày) đến ngày 10 (4 mL/ngày). Sau đó định kỳ cách 2 ngày thì tăng 1 mL đến ngày nuôi thứ 18 và 19 là 8,5 mL/ngày. Kể từ ngày 20 trở đi, liều lượng cho ăn mỗi ngày là 10 mL. Khi *Artemia* bắt cặp, chúng được thu và bố trí trong các keo nhựa 2 lít để tiến hành theo dõi các chỉ tiêu về sinh sản.

Cũng trong điều kiện tương tự, thí nghiệm 2 gồm có 6 nghiệm thức và mỗi nghiệm thức được lặp lại 3 lần như sau: Nghiệm thức đối chứng (không bổ sung glucose hoặc chế phẩm sinh học); Nghiệm thức 2: glucose được bổ sung với hàm lượng 100 µg/L; Nghiệm thức 3: chế phẩm sinh học (CPSH) chứa vi khuẩn *Bacillus subtilis* được bổ sung trực tiếp vào môi trường nuôi; Nghiệm thức 4 bổ sung trực tiếp *Bacillus subtilis* kết hợp với glucose 100 µg/L; Nghiệm thức 5 và 6 lần lượt được bố trí như nghiệm thức 3 và 4, chỉ thay thế thành phần chế phẩm sinh học là vi khuẩn *Lactobacillus acidophilus*. CPSH là sản phẩm thương mại dạng bột khô với trọng lượng 1 g/gói. Glucose và CPSH được bổ sung định kỳ sau mỗi 3 ngày. Mật độ vi khuẩn *Bacillus subtilis* $10^7 - 10^8$ CFU/g và *Lactobacillus acidophilus* khoảng 10^9 CFU/g. Liều lượng CPSH bổ sung là 150 mg/L và glucose là 100 µg/L. Cách chăm sóc và quản lý giống như thí nghiệm 1.

2.2 Các chỉ tiêu theo dõi trong quá trình thí nghiệm

Các yếu tố môi trường nuôi *Artemia*

Các yếu tố môi trường như: pH, độ kiềm, ammonia và nitrite được kiểm tra sau mỗi 3 ngày bằng phương pháp so màu (sử dụng bộ SERA-test, Đức). Hàng ngày, nhiệt độ nước được kiểm tra vào 7 giờ sáng và 14 giờ chiều.

Sinh trưởng, tỷ lệ sống và sinh sản của *Artemia*

Chiều dài *Artemia* được thu vào ngày nuôi đầu tiên, ngày 5, 10 và 15 của quá trình thí nghiệm. Mỗi nghiệm thức thu 15 con ngẫu nhiên để xác định chiều dài. Kích thước *Artemia* được đo từ

đỉnh đầu đến chạc đuôi dưới kính lúp có gắn trục vi thị kính.

Tỉ lệ sống được xác định bằng cách thu số con còn sống ở mỗi keo vào ngày nuôi thứ 7 và 15.

Tỷ lệ sống = (số con thu được × 100)/ số con bố trí.

Chiều dài của *Artemia* khi tham gia sinh sản được thu bằng cách bắt 10 con đực và 10 con cái ở từng nghiệm thức, sau đó tiến hành đo kích thước, mổ con cái để xác định phương thức sinh sản và số phôi.

Tỷ lệ bắt cặp = (số cặp/ số *Artemia* thả ban đầu) × 100

Số phôi/con cái = số trứng bào xác (cyst) hoặc con nauplius được sinh ra bởi 1 con cái/lứa đẻ.

2.3 Phương pháp xử lý số liệu

Sử dụng phần mềm Microsoft Excel để tính toán các giá trị trung bình, độ lệch chuẩn và phương pháp ANOVA trong chương trình SPSS 16.0 để đánh giá sự khác biệt giữa những giá trị trung bình ở các nghiệm thức ($p < 0,05$).

3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Thí nghiệm 1: Ảnh hưởng của các hàm lượng glucose đến sinh trưởng, tỷ lệ sống và sinh sản của *Artemia franciscana*

Các yếu tố môi trường

Nhiệt độ trong ngày dao động trong khoảng từ 21-27°C. Vào buổi sáng, nhiệt độ đo được 21-22°C và buổi chiều là 26-27°C. Nhìn chung, khoảng nhiệt độ này là thích hợp cho *Artemia*. Đối với *Artemia franciscana* dòng Vĩnh Châu, chúng có thể phát triển tốt trong điều kiện nhiệt độ từ 22-35°C (Nguyễn Văn Hòa và *ctv.*, 2005).

pH của môi trường nuôi luôn ổn định ở mức 8,2 và không có sự khác biệt ở các nghiệm thức. Theo Browne *et al.* (1991) pH thích hợp để ấu trùng *Artemia* phát triển tốt là 7-8,5. Độ kiềm trong nước nuôi dao động từ 106,8-124,6 mgCaCO₃/L. pH trong nước có thể bị biến động bởi độ kiềm. Wurts và Durborow (1992) nhận định môi trường có độ kiềm thấp pH dễ bị biến động hơn so với khi độ kiềm cao, độ kiềm cao thì khả năng đệm tốt giúp pH ao nuôi ít biến động theo ngày đêm.

Hàm lượng ammonia tăng dần trong quá trình nuôi. Nguồn nước cấp vào có lượng ammonia là 0,8 mg/L và sau 5 ngày nuôi, ammonia đạt

2 mg/L. Hàm lượng ammonia lên đến 5 mg/L sau 10 ngày nuôi dù đã tiến hành thay nước toàn bộ cho các nghiệm thức vào ngày thứ 6. Môi trường nuôi có hàm lượng NH₄⁺ >2 mg/L được xem là giàu dinh dưỡng, hàm lượng NH₄⁺ thích hợp trong ao tôm nên dao động trong khoảng 0,2-2 mg/L (Boyd, 1998).

Hàm lượng nitrite luôn ở mức 5 mg/L trong suốt thời gian thí nghiệm và không có sự khác biệt ở các nghiệm thức. Boyd (1998) cho rằng nitrite có nồng độ cao hơn 2 mg/L sẽ gây độc cho tôm cá, hàm lượng nitrite thích hợp trong ao nuôi thủy sản phải thấp hơn 0,3 mg/L. Nitrite cao trong thí nghiệm này (5 mg/L) có thể đã không thích hợp cho *Artemia*. Hơn nữa, trong điều kiện nước có nồng độ muối thấp và ammonia cao thì khả năng gây độc của nitrite càng mạnh (Chen và Chen, 1992). Vì vậy, hàm lượng nitrite kết hợp với ammonia tăng cao có thể là nguyên nhân chủ yếu khiến cho *Artemia* có tỉ lệ sống rất thấp vào cuối quá trình thí nghiệm.

Tỷ lệ sống, sinh trưởng và sinh sản của *Artemia*

Sau 10 ngày nuôi, *Artemia* có tỉ lệ sống cao nhất (59,0%) ở nghiệm thức bổ sung glucose 100 µg/L và khác biệt có ý nghĩa ($p < 0,05$) so với các nghiệm thức khác có tỉ lệ sống dao động từ 43-48% (Bảng 1).

Bảng 1: Tỉ lệ sống (%) của *Artemia* sau 10 ngày nuôi với các hàm lượng glucose khác nhau

Nghiệm thức	Ngày nuôi	
	5	10
1 (Đối chứng)	64,0±2,83 ^b	48,5±2,12 ^c
2 (Glucose 50 µg/L)	55,5±0,71 ^a	43,0±1,41 ^a
3 (Glucose 75 µg/L)	70,0±4,24 ^c	47,0±7,07 ^b
4 (Glucose 100 µg/L)	78,0±21,21 ^d	59,0±18,38 ^d

Các số liệu có chữ cái giống nhau trong cùng một cột thì không khác biệt thống kê ($p > 0,05$)

Sau 5 ngày nuôi, chiều dài của *Artemia* trong hai nghiệm thức bổ sung glucose 75 µg/L và 100 µg/L đều đạt 2,49 mm và cao hơn ($p < 0,05$) so với nghiệm thức glucose 50 µg/L (1,93 mm) hoặc đối chứng (1,73 mm). Sau 10 ngày nuôi, chiều dài *Artemia* lớn nhất ở nghiệm thức bổ sung glucose 100 µg/L (7,33 mm) trong khi đó rất thấp ở nghiệm thức đối chứng (5,35 mm). Hàm lượng glucose bổ sung càng tăng thì chiều dài *Artemia* cũng tăng tương ứng, sự khác biệt về chiều dài của *Artemia* giữa các nghiệm thức rất rõ khi phân tích

thống kê ($p < 0,05$). Việc duy trì tỷ lệ sống cao hơn và tăng trưởng tốt hơn của *Artemia* trong các nghiệm thức bổ sung trực tiếp glucose có thể do *Artemia* có khả năng hấp thu loại đường này và sử dụng như một nguồn carbon hữu cơ, phục vụ nhu cầu sinh trưởng và phát triển. Carbohydrate cùng với protein là thành phần quan trọng cho *Artemia* giai đoạn ấu trùng và trưởng thành (D'Agostino, 1980). Carbohydrate từ cám gạo có thể góp phần vào sự tăng trưởng của *Artemia* vì nhu cầu carbohydrate trong những ngày đầu vòng đời, như một thành phần dinh dưỡng hay là chất nền để vi khuẩn phát triển (Johnson, 1980). Trong ao nuôi *Artemia*, việc bổ sung carbohydrate có thể dùng để kích thích sự chuyển đổi chất thải nitơ thành sinh

khôi vi khuẩn dị dưỡng (Huynh Thanh Toi *et al.*, 2013). Như vậy, có khả năng glucose giúp tăng lượng sinh khối vi khuẩn trong ao nuôi, từ đó tạo ra nguồn thức ăn cho *Artemia*. Li *et al.* (1993) nghiên cứu khả năng hấp thu glucose trong môi trường nước của 3 loài phiêu sinh là *Platymonas subcordiformis*, *Brachionus plicatilis* và *Artemia salina*. Các tác giả quan sát thấy khả năng hấp thu glucose của *Artemia salina* từ môi trường nước, tuy nhiên quá trình này diễn ra chậm hơn các đối tượng thí nghiệm khác. Nghiên cứu của Uchida *et al.* (2010) cho thấy việc bổ sung glucose trực tiếp vào môi trường nuôi có thể kích thích tăng trưởng của nghêu (*Ruditapes philippinarum*) cao hơn 30% so với nhóm không bổ sung glucose.

Bảng 2: Tăng trưởng chiều dài (mm) của *Artemia* sau 10 ngày nuôi

Nghiệm thức	Ngày nuôi		
	0	5	10
1 (Đối chứng)	0,50±0,04 ^a	1,73±0,25 ^a	5,35±0,01 ^a
2 (Glucose 50 µg/L)	0,51±0,02 ^a	1,93±0,47 ^b	6,55±0,50 ^b
3 (Glucose 75 µg/L)	0,51±0,01 ^a	2,49±0,34 ^c	6,76±0,26 ^b
4 (Glucose 100 µg/L)	0,50±0,0 ^a	2,49±0,32 ^c	7,33±0,58 ^b

Các số liệu có chữ cái giống nhau trong cùng một cột thì không khác biệt thống kê ($p > 0,05$)

Chiều dài *Artemia* khi bắt cặp sinh sản và số phôi

Trong thí nghiệm này *Artemia* có hiện tượng bắt cặp vào ngày nuôi thứ 8. Số liệu Bảng 3 cho thấy chiều dài *Artemia* khi tham gia bắt cặp sinh sản đạt cao nhất ở nghiệm thức 4 (con đực:

7,46±0,35 mm và con cái: 7,68±0,45 mm). Sức sinh sản (số phôi/con cái) được xác định vào ngày 10 và đồng thời cũng cao nhất ở nghiệm thức 4 (22,4±3,86 phôi/con cái). Kết thúc thí nghiệm 1 hàm lượng glucose 100 µg/L được lựa chọn sử dụng cho thí nghiệm 2.

Bảng 3: Chiều dài *Artemia* đực và cái (mm) khi bắt cặp sinh sản và số phôi/con cái

	Hàm lượng glucose bổ sung (µg/L)			
	ĐC	50	75	100
Chiều dài con đực	6,50 ± 0,52 ^a	6,64 ± 0,42 ^{ab}	7,18 ± 0,20 ^{bc}	7,46 ± 0,35 ^c
Chiều dài con cái	7,00 ± 0,64 ^a	7,32 ± 0,39 ^a	7,52 ± 0,51 ^a	7,68 ± 0,45 ^a
Số phôi/con cái	21,0 ± 7,35 ^a	19,20 ± 6,34 ^b	21,60 ± 5,02 ^c	22,40 ± 3,86 ^d

Các số liệu có chữ cái giống nhau trong cùng một hàng thì không khác biệt thống kê ($p > 0,05$)

3.2 Thí nghiệm 2: Ảnh hưởng của glucose và các loại chế phẩm sinh học đến sinh trưởng, tỷ lệ sống và sinh sản của *Artemia franciscana*

Các yếu tố môi trường

Nhiệt độ giữa buổi sáng và chiều trong quá trình thí nghiệm dao động từ 26-30°C. Khoảng nhiệt độ này thích hợp cho *Artemia*. Theo Nguyễn Văn Hòa và *ctv.* (2005) nhiệt độ là một trong những yếu tố môi trường ảnh hưởng trực tiếp đến sinh trưởng và sinh sản của *Artemia*. Nhiệt độ quá thấp ($\leq 20^\circ\text{C}$) *Artemia* sẽ sinh trưởng chậm hoặc chết rải rác và ngược lại nhiệt độ quá cao ($>36^\circ\text{C}$)

gây ra hiện tượng chết, có khi chết hàng loạt, giảm khả năng sinh sản và quần thể phục hồi rất chậm.

Giá trị pH đạt 8,0 và luôn ổn định trong suốt khoảng thời gian nuôi. pH không có sự khác biệt ở từng nghiệm thức. Theo Browne và *ctv.* (1991) pH thích hợp để ấu trùng *Artemia* phát triển tốt là 7-8,5. Còn Treece (2001) cho rằng *Artemia* có thể sống trong khoảng pH từ 7-10; ngưỡng pH tối ưu là 8-8,5. Kết quả thí nghiệm cho thấy pH môi trường nước không gây ảnh hưởng bất lợi lớn cho sự phát triển của *Artemia*.

Độ kiềm trong nước vào ngày nuôi đầu tiên là 124,6 mgCaCO₃/L, giảm xuống còn 106,8 mg CaCO₃/L vào ngày nuôi thứ 3 và luôn ở mức này trong các ngày tiếp theo. Độ kiềm giảm xuống nhưng không ảnh hưởng đến sự phát triển của *Artemia*. Theo Chanratchakool *et al.* (2003) độ kiềm thích hợp cho sự sinh trưởng của tôm, cá nằm trong khoảng 80-120 mgCaCO₃/L.

Hàm lượng ammonia và nitrite có sự khác biệt giữa các nghiệm thức. Đối với các nghiệm thức không bổ sung chế phẩm sinh học (nghiệm thức 1 và 2), hàm lượng ammonia đều đạt 1 mg/L trong các ngày nuôi thứ 3, 9 và 15. Tương tự, hàm lượng nitrite trong các ngày trên cũng đạt 0,5 mg/L. Ở các nghiệm thức khác (3, 4, 5 và 6), hàm lượng của 2 chất này là 0 mg/L. Vào ngày thứ 6 và 12, nước nuôi được thay mới cho toàn bộ thí nghiệm. Theo Ngô Thị Thu Thảo và *ctv.* (2012) việc bổ sung chế phẩm sinh học vào bể ương nghêu làm cho NO₂⁻ thấp và ít biến động hơn, điều này có thể do vi khuẩn *Bacillus subtilis* đã góp phần phân hủy thức ăn dư thừa và sản phẩm thải của nghêu tạo điều kiện cho quá trình chuyển hóa đạm của các nhóm vi khuẩn *Nitrosomonas* và *Nitrobacter* diễn ra theo chiều hướng thuận lợi hơn. Cũng tương tự, Phạm Thị Tuyết Ngân và Trương Quốc Phú (2010) thu được kết quả là chất lượng nước trong bể nuôi tôm sú có bổ sung vi khuẩn *Bacillus* nằm trong giới hạn cho phép, ngược lại trong các bể không bổ sung *Bacillus*, các yếu tố môi trường như TAN và NO₂⁻ đều ở mức bất lợi cho tôm. Kết quả thí nghiệm cũng cho thấy khả năng xử lý môi trường của nhóm vi khuẩn *Lactobacillus*.

Tỉ lệ sống của *Artemia*

Kết quả sau 15 ngày nuôi, *Artemia* có tỉ lệ sống cao nhất ở nghiệm thức 2 (61,0%). Nghiệm thức 3 và 4 có tỉ lệ sống lần lượt là 47,5% và 57,5%. *Artemia* có tỉ lệ sống thấp ở nghiệm thức 6 (25,0%) và thấp nhất ở nghiệm thức 5 (20,0%).

Bảng 4: Tỉ lệ sống (%) của *Artemia*

Nghiệm thức	Ngày thí nghiệm	
	7	15
1 (Đối chứng)	53,0 ± 7,1 ^{ab}	42,5 ± 3,5 ^{ab}
2 (Glucose)	81,5 ± 2,1 ^c	61,0 ± 8,5 ^b
3 (<i>B. subtilis</i>)	53,0 ± 5,7 ^{ab}	47,5 ± 3,5 ^{ab}
4 (Glucose + <i>B. subtilis</i>)	66,5 ± 20,5 ^{bc}	57,5 ± 24,7 ^b
5 (<i>L. acidophilus</i>)	35,0 ± 12,7 ^a	20,0 ± 8,5 ^a
6 (Glucose + <i>L. acidophilus</i>)	40,5 ± 2,1 ^{ab}	25,0 ± 7,1 ^a

Các số liệu có chữ cái giống nhau trong cùng một cột thì không khác biệt thống kê ($p > 0,05$)

Artemia đạt tỉ lệ sống cao nhất (61,0%) trong nghiệm thức có bổ sung glucose với hàm lượng 100 µg/L. Các nghiệm thức có bổ sung CPSH chứa *Bacillus* cũng đạt tỉ lệ sống cao (47,5 và 57,5%). Điều này cho thấy khi glucose được bổ sung vào môi trường nuôi đã tác động tích cực đến việc duy trì tỉ lệ sống của *Artemia*. Đồng thời, việc kết hợp glucose với vi khuẩn sẽ có hiệu quả hơn so với chỉ sử dụng đơn thuần vi khuẩn *Bacillus subtilis*. Vi khuẩn *Lactobacillus acidophilus* trong thí nghiệm này không cho thấy được ảnh hưởng tích cực đến tỉ lệ sống của *Artemia*, nhưng theo thí nghiệm của Ronsón-Paulín và *ctv.* (2009) sử dụng một loại chế phẩm vi sinh chứa *Lactobacillus* kết hợp với tảo *Tetraselmis suecica* và *Nanochloropsis* sp. làm thức ăn cho *Artemia franciscana* cho tỉ lệ sống cao hơn 90% trong 9 ngày nuôi. Tế bào tảo sống có thể đóng vai trò như giá thể phục vụ cho quá trình phát triển của vi khuẩn *Lactobacillus* và việc sử dụng đồng thời phức hợp tảo + vi khuẩn có thể đã làm tăng giá trị dinh dưỡng và nâng cao tỉ lệ sống của *Artemia* trong nghiên cứu trên. Tuy nhiên, Lansy sử dụng làm thức ăn cho *Artemia* có lẽ không phải là giá thể phù hợp cho nhóm vi khuẩn *Lactobacillus* cư trú và phát triển.

Tăng trưởng chiều dài

Chiều dài *Artemia* bắt đầu có sự khác biệt giữa các nghiệm thức kể từ ngày nuôi thứ 5: *Artemia* có chiều dài lớn nhất ở nghiệm thức 4 (2,46 mm) và thấp nhất ở nghiệm thức 1 (1,83 mm). Sau 15 ngày nuôi, chiều dài *Artemia* ở nghiệm thức đối chứng chỉ đạt 5,25 mm và thấp hơn rất rõ so với các nghiệm thức khác ($p < 0,05$). *Artemia* đạt chiều dài lớn nhất (7,47 mm) ở nghiệm thức có bổ sung glucose 100 µg/L và vi khuẩn *B. subtilis* (Bảng 5).

Việc bổ sung CPSH có chứa vi khuẩn *Bacillus subtilis* vào môi trường nuôi đã làm cho *Artemia* tăng trưởng nhanh hơn về chiều dài. Mặc dù không khác biệt khi phân tích thống kê, nhưng việc bổ sung đồng thời glucose với vi khuẩn *Bacillus subtilis* đã góp phần thúc đẩy sinh trưởng của *Artemia*. Chiều dài *Artemia* khá cao ở nghiệm thức 5 (6,81 mm) và nghiệm thức 6 (7,01 mm) nhưng có thể là do tỉ lệ sống giảm nhiều sau 7 ngày đầu tiên đã tạo điều kiện cho *Artemia* ít phải cạnh tranh về nguồn thức ăn, môi trường sống... nên dẫn đến việc tăng trưởng về chiều dài nhanh hơn.

Tỉ lệ bắt cặp của *Artemia*

Vào ngày nuôi thứ 9, *Artemia* bắt đầu có hiện tượng bắt cặp. Các nghiệm thức bổ sung glucose,

Bacillus hoặc kết hợp glucose+*Bacillus* có *Artemia* bắt cặp sớm nhất. Sau 15 ngày thí nghiệm, *Artemia* có tỉ lệ bắt cặp cao nhất ở nghiệm thức kết hợp glucose+*Bacillus* (43%). Nghiệm thức đối chứng hoặc bổ sung

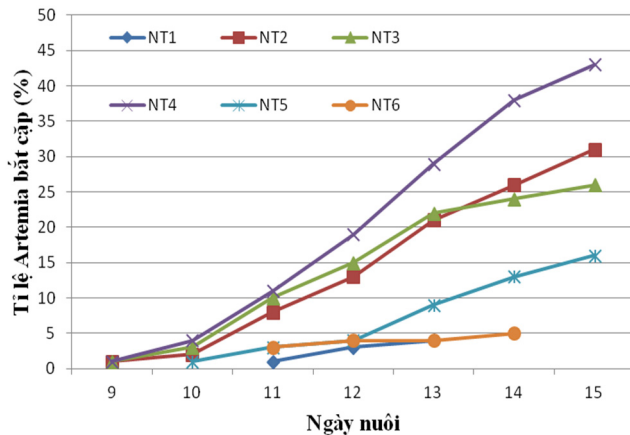
Lactobacillus có tỷ lệ *Artemia* bắt cặp thấp nhất. Có thể thấy, việc bổ sung glucose vào môi trường nuôi giúp *Artemia* tăng cường khả năng bắt cặp sinh sản, còn khi kết hợp glucose với *Bacillus subtilis* thì hiệu quả rõ rệt hơn.

Bảng 5: Trung bình chiều dài thân (mm) của *Artemia* theo ngày nuôi

Nghiệm thức	Ngày nuôi			
	0	5	10	15
1 (Đối chứng)	0,50 ± 0,03 ^a	1,83 ± 0,34 ^a	3,88 ± 0,47 ^a	5,25 ± 0,61 ^a
2 (Glucose)	0,51 ± 0,01 ^a	1,92 ± 0,49 ^b	5,64 ± 0,86 ^b	6,58 ± 0,60 ^b
3 (<i>B. subtilis</i>)	0,51 ± 0,01 ^a	2,43 ± 0,34 ^c	6,12 ± 0,60 ^b	6,69 ± 0,30 ^b
4 (Glucose+ <i>B. subtilis</i>)	0,50 ± 0,00 ^a	2,46 ± 0,33 ^c	6,33 ± 0,51 ^b	7,47 ± 0,44 ^b
5 (<i>L. acidophilus</i>)	0,50 ± 0,00 ^a	1,85 ± 0,30 ^{ab}	4,02 ± 0,70 ^a	6,81 ± 0,61 ^b
6 (Glucose + <i>L. acidophilus</i>)	0,50 ± 0,00 ^a	1,92 ± 0,29 ^b	4,45 ± 0,79 ^a	7,01 ± 0,70 ^b

Các số liệu có chữ cái giống nhau trong cùng một cột chứng tỏ không khác biệt thống kê ($p > 0,05$)

Hình 1: Tỷ lệ bắt cặp của *Artemia* trong thời gian thí nghiệm



Chiều dài *Artemia* khi bắt cặp sinh sản

Trong thí nghiệm này, chiều dài của *Artemia* ở

nghiệm thức 4 là lớn nhất (con đực: 7,92 mm, con cái: 7,64 mm), khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) so với các nghiệm thức còn lại (Bảng 6).

Bảng 6: Chiều dài *Artemia* (mm) khi tham gia sinh sản

	Nghiệm thức					
	1	2	3	4	5	6
Con đực	6,04 ± 0,32 ^a	6,54 ± 0,46 ^{ab}	7,40 ± 0,43 ^{cd}	7,92 ± 0,13 ^d	6,88 ± 0,55 ^{bc}	6,18 ± 0,56 ^a
Con cái	6,78 ± 0,54 ^a	7,18 ± 0,75 ^{ab}	7,46 ± 0,75 ^{ab}	7,64 ± 0,26 ^b	7,48 ± 0,46 ^{ab}	6,96 ± 0,57 ^{ab}

Các số liệu có chữ cái giống nhau trong cùng một hàng chứng tỏ không khác biệt thống kê ($p > 0,05$)

Sức sinh sản của *Artemia*

Nghiệm thức bổ sung kết hợp glucose + *Bacillus* có sức sinh sản cao nhất (48 phôi/con cái). Số phôi Nauplius ở nghiệm thức này cũng nhiều nhất (58 phôi/con cái). Điều này có thể do ảnh hưởng tích cực từ sự kết hợp vi khuẩn

Bacillus subtilis với glucose. Trong khi đó, sức sinh sản ở nghiệm thức đối chứng chỉ có 34 phôi/con cái với 2 cá thể đẻ trứng cyst. Các nghiệm thức còn lại có sức sinh sản dao động từ 40-43 phôi/con cái (Bảng 7). Riêng các nghiệm thức bổ sung *Lactobacillus* chỉ có duy nhất một con cái đẻ Nauplius (78 phôi).

Bảng 7: Các chỉ tiêu sinh sản của *Artemia* trong thí nghiệm 2

	Thí nghiệm thứ 2					
	1	2	3	4	5	6
Số phôi/con cái	34±5,66 ^a	40,4±16,73 ^b	43,7±12,9 ^c	48,6±22,45 ^f	42,9±23,57 ^e	43,4±27,76 ^d
Tỷ lệ đẻ cyst (%)	20±0	50±7,1	80±21	40±7,1	80±12	40±14
Số cyst/con cái	34±5,66 ^a	47,2±20,57 ^e	43,9±14,14 ^d	34±25,02 ^a	38,5±20,89 ^e	34,8±23,0 ^b
Tỷ lệ đẻ nauplius (%)	0±0	50±7,1	20±0	60±0	10±0	10±0
Số nauplius/con cái	0±0 ^a	33,6±9,56 ^b	43±9,90 ^c	58,3±15,73 ^d	78	78

Các số liệu có chữ cái giống nhau trong cùng một hàng chứng tỏ không khác biệt thống kê ($p > 0,05$)

Phương thức sinh sản của *Artemia* phụ thuộc vào mức thức ăn, trong điều kiện thức ăn ít, *Artemia* cái có khả năng phát triển cơ chế đẻ trứng bào xác (Mohebbi, 2010). Sự đẻ trứng bào xác có thể bị gây ra bởi số lượng và chất lượng thức ăn (D'Agostino và Provasoli, 1968), kết hợp với nhiệt độ có ảnh hưởng đến thời gian thành thực của *Artemia* ở Great Salt Lake (Wurtsbaugh và Gliwicz, 2001). Mặc dù không tác động một cách rõ ràng, vi khuẩn *Bacillus* và *Lactobacillus* trong nước nuôi có thể đã ảnh hưởng đến khả năng đẻ trứng bào xác của *Artemia*. Khi bổ sung CPSH vào nước nuôi *Artemia* ở 30%, con cái tăng khả năng đẻ trứng ở nghiệm thức 3 và 5. Tuy nhiên, cần thực hiện nghiên cứu trong thời gian kéo dài hơn về ảnh hưởng của CPSH đến phương thức sinh sản của *Artemia* mới có thể kết luận chắc chắn.

4 KẾT LUẬN VÀ ĐỀ XUẤT

Các yếu tố môi trường gây bất lợi như: ammonia, nitrite đều giảm đáng kể trong các nghiệm thức có bổ sung chế phẩm sinh học chứa vi khuẩn *Bacillus subtilis* và *Lactobacillus acidophilus*.

Bổ sung trực tiếp chế phẩm sinh học chứa vi khuẩn *Bacillus subtilis* và glucose 100 µg/L vào môi trường nuôi có tác động tích cực đến các chỉ tiêu sinh trưởng, sinh sản của *Artemia*.

Cần thực hiện thêm các thí nghiệm về sự tác động của nhóm vi khuẩn *Lactobacillus* đến sự sinh trưởng và sinh sản của *Artemia* đồng thời theo dõi và đánh giá thành phần vi khuẩn trong môi trường.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Abdelkarim, M., H. Besma, E.M. Angeles, C. Kamel, K. Fathi and B. Amina. 2010. Using mixture design to construct consortia of potential probiotic *Bacillus* strains to protect gnotobiotic *Artemia* against pathogenic *Vibrio*. *Biocontrol Science and Technology*. 20(9-10): 983-996.

2. Browne, R.A., P. Sorgeloos and C.N.A. Trotman. 1991. *Artemia* biology, CRC press. Inc, Printed in United State. 384 pages.

3. Chen, J.C. and Chen S.F., 1992. Effects of nitrite on growth and molting of *Penaeus monodon* juveniles. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Comparative Pharmacology*, 101: 453-458.

4. Cheong, L.K. 2006. Optimization of condition high cell density cultivation of *Bacillus subtilis*. Masters thesis, Universiti Putra Malaysia. 108 pages.

5. D'Agostino, A. 1980. The vital requirements of *Artemia*: physiology and nutrition. In: Persoone, G., Sorgeloos, P., Roels, O., Jaspers, E. (eds.). *The Brine shrimp Artemia. Physiology, biochemistry, molecular biology*. Universa, Wetteren, Belgium. 2: 55-82.

6. D'Agostino, A.S. and L. Provasoli. 1968. Effects of salinity and nutrients on mono- and diaxenic cultures of two strains of *Artemia salina*. *Biol. Bull.* 134(1): 1-14.

7. Huynh Thanh Toi, P. Boeckx, P. Sorgeloos, P. Bossier and G.V. Stappen. 2013. Bacteria contribute to *Artemia* nutrition in algae-limited conditions: A laboratory study. *Aquaculture* 388-391: 1-7

8. Huynh Thanh Toi. 2004. Beneficial effect of selected bacterial strains on axenically cultured *Artemia*. Thesis of Master of Science in Aquaculture. Ghent University. 71 pages.

9. Johnson, D. 1980. Evaluation of various diets for optimal growth and survival of selected life stages of *Artemia*. In: Persoone, G., Sorgeloos, P., Roels, O., Jaspers, E. (eds.). *The Brine shrimp Artemia*, Universa, Wetteren, Belgium. 3: 185-192.

10. Li, W., Wang, X. and Zhang, Y. 1993. Study on kinetics of glucose uptake by some species of plankton. Chinese Journal of Oceanology and Limnology. Vol. 11 (1): 8-15.
11. Mohebbi, F. 2010. The brine shrimp *Artemia* and hypersaline environments microalgal composition: a mutual interaction. International journal of aquatic science. 1(1): 19-27.
12. Moriarty, D.J.W. 1998. Control of luminous *Vibrio* species in penaeid aquaculture ponds. Aquaculture 164(1): 351-358.
13. Ngô Thị Thu Thảo, Đào Thị Mỹ Dung và Võ Minh Thế. 2012. Ảnh hưởng của việc bổ sung CPSH đến sinh trưởng và tỉ lệ sống của nghêu (*Meretrix lyrata*) giai đoạn giống. Tạp chí Khoa học - Đại học Cần Thơ (ISSN: 1859-2333) 21b/2012: 97-107.
14. Nguyen Thi Ngoc Anh, Nguyen Van Hoa, G.V. Stappen and P. Sorgeloos. 2009. Effect of different supplemental feeds on proximate composition and *Artemia* biomass production in salt ponds. Aquaculture. 286(3-4): 217-225.
15. Nguyễn Văn Hòa, Nguyễn Thị Ngọc Anh, Nguyễn Thị Hồng Vân, Trần Thị Thanh Hiền, Trần Sương Ngọc và Trần Hữu Lễ. 2005. Nâng cao hiệu quả của việc nuôi sinh khối *Artemia* trên ruộng muối. Báo cáo khoa học. Đề tài cấp Bộ. Khoa Thủy sản, Đại học Cần Thơ. 63 trang.
16. Nguyen Van Hoa. 1993. Effect of environment conditions on the quantitative feed requirements of the brine shrimp *Artemia franciscana* (Kellogg). University of Ghent. Thesis of Master of Science in Aquaculture
17. Phạm Thị Tuyết Ngân và Trương Quốc Phú. 2010. Biến động các yếu tố môi trường và mật độ vi khuẩn *Bacillus* sp chọn lọc trong bể nuôi tôm sú (*Penaeus monodon*). Tạp chí Khoa học - Đại học Cần Thơ (ISSN: 1859-2333) 14b/2010: 29-42.
18. Ronsón-Paulín, J.A., C.L. Cuevas-Pérez, F. Flores-Arvizu, E. Ramírez-Gómez, C. Gómez-Montes, Y. Huante-González and M.L. Cruz-Urano. 2009. Influence of the probiotic *Lactobacillus* in the survival and growth of *Artemia franciscana*, fed with *Tetraselmis suecica* and *Nanochloropsis* sp. World Aquaculture. Veracruz México.
19. Treece, G.D. 2001. Shrimp maturation and spawning. UJNR Technical Report. (28): 128-133.
20. Uchida, M., M. Kanematsu and T. Miyoshi. 2010. Growth promotion of the juvenile clam, *Ruditapes philippinarum*, on sugars supplemented to the rearing water. Aquaculture, 302(3-4): 243-247. ISSN: 0044-8486.
21. Wurts, W.A. and R. M. Durborow. 1992. Interactions of pH, carbon dioxide, alkalinity and hardness in fish ponds. Southern Regional Aquaculture Center Publication No. 464.
22. Wurtsbaugh, W.A. and Z.M. Gliwicz. 2001. Limnological control of brine shrimp population dynamics and cyst production in the Great Salt Lake, Utah. Hydrobiologia, 466: 119-132.
23. Yashuda, K. and N. Taga. 1980. A mass-culture method for *Artemia salina* using bacteria as food. *La mer (Bulletin de la société franco-janonaie d'océanographie)*, 18(2): 55-62.