

THỬ NGHIỆM NUÔI *Tetraselmis* sp. VỚI MÔI TRƯỜNG DỊCH CÁ TRONG PHÒNG THÍ NGHIỆM CULTURE *Tetraselmis* sp. IN MEDIA WITH TRASH FISH EXTRACT IN LABORATORY

Đặng Thị Thanh Hoà và Phạm Thị Diệu Thơm

*Bộ môn Sinh học và Quản lý Nguồn lợi Thủy Sản, Khoa Thủy Sản,
Đại Học Nông Lâm, TpHCM*

ABSTRACT

Tetraselmis is a marine green flagellate widely used in aquaculture facilities as feed for bivalve molluscs, penaeid shrimp larvae and rotifers. Mass production has been carried out by using domestic or bio-industrial waste or inorganic compounds (Fabregas *et al.*, 1985). This study was tried to culture this microalgae in media with trash fish extract. Culturing in six media (BBM, Hanney modified, Bristol, E, chicken manure and trash fish extract) in 500ml flask, *Tetraselmis* grew better in BBM, Hanney, trash fish extract and gained the highest density of $1750 \times 10^3 \pm 174 \times 10^3$, $1900 \times 10^3 \pm 125 \times 10^3$ and $1950 \times 10^3 \pm 236 \times 10^3$ tb.ml⁻¹, respectively. The initial density of 100, 200 and 300 $\times 10^3$ tb.ml⁻¹ expressed a little difference among them. The salinity experiment was conducted with range of 30, 25, 20 and 15 ppt showing that *Tetraselmis* could growth in range from 20 to 25 ppt (density got 1800 ± 101 and $1600 \pm 121 \times 10^3$ tb.ml⁻¹). When nourishing *Tetraselmis* in bigger volume (115, 3 and 5 litres), the highest density was decreased and the peak came quicker ($1250 \pm 107 \times 10^3$, $1100 \pm 128 \times 10^3$, $650 \pm 81 \times 10^3$ tb.ml⁻¹ on the fifth and fourth day, respectively).

GIỚI THIỆU

Các hoạt động nuôi trồng thủy sản đã, đang và sẽ ngày càng phát triển trên thế giới, vì thế nhu cầu con giống ngày một gia tăng. Trong sản xuất giống, thức ăn cho ấu trùng là vấn đề rất quan trọng vì kích thước miệng nhỏ, cơ quan cảm nhận thức ăn và hệ thống tiêu hoá chưa phát triển làm hạn chế trong việc lựa chọn và sử dụng đúng loài thức ăn trong thời kỳ này. Thức ăn cho ấu trùng cần phải: (1) dễ tiêu hoá toàn bộ hoặc từng phần (thức ăn phải chứa các acid amin tự do và các chất ít peptid, (2) chứa các hệ thống enzym cho phép tự tiêu hoá (tự huỷ các hạt thức ăn) và (3) cung cấp đầy đủ tất cả các chất dinh dưỡng cần thiết. Nhìn chung, thức ăn chế biến khó đáp ứng tất cả những yêu cầu này, trong khi đó một số sinh vật lại có khả năng thoả mãn chúng. Thêm vào đó, sự chuyển động liên tục có thể thu hút ấu trùng và hoạt động bơi sẽ giúp việc phân phối thức ăn trong cột nước được đảm bảo. Hiện nay có ba nhóm thức ăn sống đang được áp dụng rộng rãi là các loài vi tảo, luân trùng *Brachionus* và nauplius của các loài *Artemia* (Lavens và Sorgeloos, 1996). Về nhóm tảo, có khoảng hơn 40 loài khác nhau được phân lập và nuôi thuần để làm thức ăn bao gồm các loài tảo khuê, tảo lục lông roi và tảo sợi xanh lục có kích thước từ vài µm đến hơn 100 µm. Một số loài tảo được dùng phổ biến nhất ở nước mặn như *Skeletonema costatum*, *Thalassiosira pseudonana*, *Chaetoceros gracilis*, *Isochrysis galbana*, *Tetraselmis suecica*,... Nuôi sinh khối các loài vi tảo sử dụng các môi trường pha chế từ chất vô cơ sạch trong phòng thí nghiệm đòi hỏi chi phí cao nên một số nghiên cứu được tiến hành tìm ra các chất dinh dưỡng thay thế có nguồn gốc hữu cơ dễ tìm và rẻ tiền hơn như phân bón vườn, chất chiết xuất từ đất,... (Fabregas, 1987). Để tìm hiểu thêm về dạng môi trường này, chúng tôi thực hiện nghiên cứu “Thử nghiệm nuôi tảo *Tetraselmis* sp. với môi trường dịch cá trong phòng thí nghiệm” với mục tiêu: tìm hiểu ảnh hưởng các môi trường; các mật độ nuôi ban đầu, các độ mặn, các thể tích nuôi lên sự tăng trưởng của *Tetraselmis* sp trong môi trường dịch cá.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Nguồn tạo giống lấy từ Viện Nghiên Cứu Nuôi Trồng Thủy Sản III.

Môi trường gồm có: BBM (Bold's Basal Medium), Hanney (cải tiến), Bristol, E (Emerson và Luis), phân gà và dịch cá hấp. Môi trường phân gà được chuẩn bị như sau: phân gà phơi khô, tán nhuyễn, pha với nước cất với tỷ lệ 150g/1lít, khuấy đều, lọc, hấp khử trùng. Môi trường dịch cá hấp: cá tạp xay nhuyễn khuấy với nước biển (500g với 1 lít nước), lọc, hấp khử trùng.

Các chỉ tiêu nhiệt độ, pH, cường độ ánh sáng đo hàng ngày bằng nhiệt kế, test đo pH của Sera và máy đo cường độ ánh sáng DL-204.

Bố trí thí nghiệm: bố trí 4 thí nghiệm một yếu tố tương ứng về môi trường, mật độ nuôi ban đầu, độ mặn và thể tích nuôi theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên với 3 lần lặp lại. Ở TN1, nuôi *Tetraselmis* sp. trong 6 môi trường (BBM, Hanney cải tiến, Bristol, E, phân gà và dịch cá hấp) với mật độ 100×10^3 tb.ml⁻¹; TN2 nuôi *Tetraselmis* sp. trong môi trường dịch cá hấp với 3 mức mật độ ban đầu là 100, 300 và 500×10^3 tb.ml⁻¹; TN3 nuôi *Tetraselmis* sp. trong môi trường dịch cá hấp có mật độ ban đầu là 300×10^3 tb.ml⁻¹ với 4 mức độ mặn là 30, 25, 20, 15 ppt (tảo giống ở 30 ppt được thuần hoá xuống 25 ppt, một phần được nhân giống bố trí thí nghiệm, một phần được thuần hoá tiếp xuống độ mặn 20 ppt, tiếp tục tương tự xuống 15 ppt); TN4 nuôi *Tetraselmis* sp. trong môi trường dịch cá hấp có mật độ ban đầu là 300.000 tb.ml⁻¹ với 3 thể tích 1,5, 3 và 5 lít.

Hàng ngày đếm mật độ tảo trong cùng thời điểm xác định bằng buồng đếm hồng cầu Hirschmann với công thức theo Martinez và ctv (1975) (trích bởi Aujero, 1981):

$$d = N / (10 \times 4 \times 10^{-6})$$

Với d: mật độ tảo (tb.ml⁻¹)

N: tổng số tế bào đếm được trong 10 ô nhỏ ở 2 phần buồng đếm

10: số ô nhỏ ở 2 phần buồng đếm

4×10^{-6} : thể tích một ô nhỏ

Sục khí và chiếu sáng liên tục.

Xử lý số liệu và vẽ đồ thị trong Excel.

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Điều kiện môi trường

Sự phát triển của tảo chịu sự ảnh hưởng của nhiều yếu tố vật lý và hoá học trong môi trường nước, tuy nhiên do bố trí trong phòng nên ảnh hưởng giảm đi ít nhiều, chúng tôi chỉ đo thông số của nhiệt độ, pH và cường độ ánh sáng.

Nhiệt độ: nhiệt độ không khí dao động từ 29-31°C còn nhiệt độ dịch nuôi cao hơn khoảng 2-3°C. Trương Sỹ Kỳ (2000) cho rằng có thể nuôi tảo ở khoảng 20-30°C, Lavens và Sorgeloos (1996) cho rằng tảo nước mặn trong đó có *Tetraselmis* phát triển tốt trong khoảng 16-27°C, còn Mai (2000) cho thấy khoảng nhiệt độ tối ưu cho giống này là 25-27°C. Như thế, nhiệt độ ở các thí nghiệm này có thể chưa thật sự thuận lợi cho sinh trưởng và phát triển của đối tượng nghiên cứu.

pH: dao động từ 7,3 đến 8,8 và giá trị pH tăng dần theo mật độ tảo, giá trị này khá phù hợp cho sự phát triển của tảo vì theo Coutteau (1996) biên độ cho hầu hết các loài tảo nuôi là từ 7-9. Riêng pH trong môi trường E hơi thấp hơn so với các môi trường khác (khoảng 5 đến 6,5). Theo Nho (2002), *Tetraselmis tetrathele* chịu được sự dao động lớn của pH, đặc biệt ở pH cao.

Ánh sáng: cường độ ánh sáng trong các thí nghiệm duy trì khoảng 1000-2000 lux tương đối thích hợp.

Thí nghiệm 1

Môi trường dinh dưỡng thích hợp sẽ làm tảo tăng trưởng tốt, đạt yêu cầu về số lượng lẫn chất lượng. Qua đồ thị 1 ta thấy *Tetraselmis* sp. ở môi trường BBM, Hanney cải tiến và dịch cá đều có sự tăng trưởng khá tốt, đường cong tăng trưởng tương đối phù hợp với quy luật chung, mật độ cực đại ở ba môi trường lần lượt là $1750 \times 10^3 \pm 174 \times 10^3$, $1900 \times 10^3 \pm 125 \times 10^3$ và $1950 \times 10^3 \pm 236 \times 10^3$ tb.ml⁻¹, tuy nhiên thời điểm đạt cực đại ở ba môi trường có sự khác biệt (BBM ở ngày thứ 6, Hanney cải tiến ở ngày thứ 5 và dịch cá ở ngày thứ 4). Quan sát dưới kính hiển vi và mắt thường, ta thấy ở cả ba môi trường, cho đến khi đạt đỉnh sinh khối, các tế bào đều có cấu trúc rõ ràng còn môi trường nuôi có màu xanh lục đậm dần nhưng sau khi đạt đỉnh thì kích thước tế bào nhỏ hơn, tạo thành từng cụm tế bào xanh đen bám trên thành bình và lắng dưới đáy, nhất là ở môi trường dịch cá (môi trường này xuất hiện nhiều protozoa kích thước nhỏ với mật độ ngày càng tăng).

Fabregas và ctv (1985) đã nuôi sinh khối thành công một số loài vi tảo có bổ sung chất thải sinh học và một số hợp chất vô cơ. Phân bón nông nghiệp có chứa nitrogen và phospho cũng được sử dụng như là nguồn dinh dưỡng thay thế, những loại phân này chủ yếu gồm các hợp chất nitrogen và phospho, ngoài ra còn thêm một số vi chất như sắt, kali và natri, nhưng, nhìn chung, chúng không chứa đầy đủ tất cả các vi chất và vitamin cần thiết cho sự tăng trưởng của tảo (Stein, 1973; trích bởi Frabreges và ctv, 1987). Để thay thế một phần các môi trường sạch được pha trong phòng thí nghiệm khá mắc tiền, Fabreges và ctv (1987) đã nuôi *Tetraselmis suecica* trong các môi trường rẻ tiền hơn như phân bón vườn (Ferticros), phân bón vườn + chất tách chiết từ đất, phân bón vườn + chất tách chiết từ đất + vi chất và phân bón vườn + vi chất + vitamin với mật độ ban đầu 10×10^3 tb.ml⁻¹; thí nghiệm cho thấy mật độ tảo cao nhất trong 4 môi trường tương ứng là 1900, 1990, 3000 và 2250×10^3 tb.ml⁻¹ so với nuôi trong môi trường pha hợp chất vô cơ là 5580×10^3 tb.ml⁻¹. Một thử nghiệm khác của Fabregas (1997) sử dụng môi trường pha dịch chiết từ khoai tây với mật độ ban đầu 130×10^3 tb.ml⁻¹ đã đạt 1430×10^3 tb.ml⁻¹ trong khi lô đối chứng nuôi trong môi trường pha chất vô cơ chỉ đạt 370×10^3 tb.ml⁻¹.

Kết quả TN1 cho thấy ta có thể nuôi *Tetraselmis* trong môi trường sử dụng nguồn đạm hữu cơ dễ tìm thay thế cho các chất vô cơ trong phòng thí nghiệm nhưng chúng ta phải lưu ý nên sử dụng chúng trước phase tàn lụi để hạn chế sự giảm chất lượng tảo nuôi.

Thí nghiệm 2

Bên cạnh môi trường dinh dưỡng, mật độ tảo ban đầu cũng ảnh hưởng đến tăng trưởng của tảo, nếu mật độ ban đầu cao sẽ lãng phí nguồn tảo giống, còn nếu mật độ thấp sẽ kéo dài thời gian nuôi. Để tìm mật độ thích hợp, chúng tôi bố trí 3 mức 100, 300 và 500×10^3 tb.ml⁻¹ và thu được kết quả như trong đồ thị 2. Otero và Fabregas (1997) nuôi *T. suecica* trong môi trường nước biển được làm giàu dưỡng chất với mật độ ban đầu 500×10^3 tb.ml⁻¹ đạt mật độ

$9490 \times 10^3 \text{ tb.ml}^{-1}$; còn Meseck và ctv (2005) nuôi *T. chui* trong môi trường E/4 với mật độ ban đầu $100 \times 10^3 \text{ tb.ml}^{-1}$ đã đạt $2580 \times 10^3 \text{ tb.ml}^{-1}$. Kết quả của các thí nghiệm trên cao hơn khá nhiều so với thí nghiệm của chúng tôi, sự khác biệt có thể do môi trường dinh dưỡng, nhiệt độ. Với mật độ cao nhất đạt $2000 \pm 60 \times 10^3 \text{ tb.ml}^{-1}$ vào ngày thứ 5, mức mật độ $300 \times 10^3 \text{ tb.ml}^{-1}$ tỏ ra thích hợp trong thí nghiệm này tuy nhiên phân tích thống kê cho thấy không có sự khác biệt giữa ba mật độ.

Thí nghiệm 3

Tetraselmis được cho là giống tảo nước mặn có khả năng sống rộng độ mặn (Fabregas, 1984). Kết quả nuôi trong 4 thang độ mặn được thể hiện qua đồ thị 3. Đường cong tăng trưởng của cả 4 độ mặn không có sự khác biệt rõ ràng, mật độ cực đại vào ngày thứ 5 đạt 1450 ± 146 , 1800 ± 101 , 1600 ± 121 và $1500 \pm 84 \times 10^3 \text{ tb.ml}^{-1}$ tương ứng 15, 20, 25 và 30 ppt. Tuy nhiên ở độ mặn 15 ppt, mật độ hơi thấp và màu sắc dịch nuôi không được xanh đậm như ba mức còn lại. Febragas và ctv (1984) nuôi *T. secica* trong môi trường nước biển được làm giàu ở các mức độ mặn 35, 30, 25, 20, 15, 10, 5 và 0 ppt với mật độ ban đầu $10 \times 10^3 \text{ tb.ml}^{-1}$, nhiệt độ 15°C , cường độ chiếu sáng khoảng 3900 lux thì thấy rằng ở khoảng độ mặn 25-30 ppt, mật độ đạt $1300 \times 10^3 \text{ tb.ml}^{-1}$ và khi độ mặn giảm dưới 25 ppt, mật độ tảo giảm tỉ lệ thuận với độ mặn. Một thí nghiệm khác của Laing và Utting (1980), *T. suecica* được nuôi trong môi trường làm giàu Lyman và Fleming với mật độ ban đầu $30 \times 10^3 \text{ tb.ml}^{-1}$ ở các độ mặn 15, 20, 25, 30 và 35 ppt đã đạt được mật độ lần lượt là 3215, 3001, 3970, 3573 và $3445 \times 10^3 \text{ tb.ml}^{-1}$; kết quả cho thấy độ mặn cao không ảnh hưởng đến tăng trưởng của *Tetraselmis* và *Tetraselmis* cũng sẽ giảm tăng trưởng khi độ mặn xuống dưới 25 ppt.

Qua thí nghiệm 3, ta thấy có thể giảm độ mặn xuống 20-25 ppt để nuôi *Tetraselmis*, ở khoảng nhiệt độ này, tảo đạt đỉnh sinh khối cao, tế bào đồng đều, màu xanh đẹp, điều này có ý nghĩa với những cơ sở sản xuất giống thiếu nguồn nước mặn. Theo Laing và Utting (1980), nuôi tảo là một trong những hoạt động chiếm chi phí cao trong trại sản xuất giống những loài hai mảnh và bất kì biện pháp nào làm tăng năng suất tảo đều rất có ý nghĩa; việc pha loãng nước biển bằng nước ngọt làm giảm độ mặn từ 30 ppt xuống còn 25-28 ppt là cách rẻ tiền và dễ làm, việc này sẽ làm tăng năng suất như trong thí nghiệm của ông cho thấy trong quy mô nuôi nhỏ, *Isochrysis* tăng sản lượng từ 15-30% còn *Tetraselmis* tăng 10-15% khi giảm độ mặn xuống dưới 35 ppt.

Thí nghiệm 4

Thử nghiệm nuôi *Tetraselmis* với thể tích lớn hơn 1,5, 3 và 5 lit; kết quả thể hiện ở đồ thị 4. Qua đồ thị ta thấy khi thể tích nuôi càng tăng thì mật độ cực đại càng giảm và thời điểm đạt đỉnh càng ngắn, mật độ đạt $1250 \pm 107 \times 10^3$, $1100 \pm 128 \times 10^3$, $650 \pm 81 \times 10^3 \text{ tb.ml}^{-1}$ vào ngày thứ 5 và thứ 4 tương ứng lần lượt với các thể tích 1,5, 3l và 5l. Laing và Utting (1987) nuôi *T. suecica* trong hệ thống nuôi bán liên tục ở bình 20l với mật độ ban đầu khoảng $100 \times 10^3 \text{ tb.ml}^{-1}$ sau 1 tuần đạt mật độ khoảng $1000 \times 10^3 \text{ tb.ml}^{-1}$. Còn Lourenço và ctv (1997) nuôi *T. gracilis* trong môi trường Conway ở thể tích 4l5 với mật độ ban đầu $10 \times 10^3 \text{ tb.ml}^{-1}$ đã đạt $1710 \times 10^3 \text{ tb.ml}^{-1}$. Và Mai (2000) nuôi *Tetraselmis* sp. trong môi trường E đạt mật độ cực đại $21,8 \times 10^3 \text{ tb.ml}^{-1}$ sau 4 ngày. Ta thấy khi nuôi ở thể tích càng lớn thì việc quản lí càng gặp nhiều trở ngại như ánh sáng và sục khí không được phân bố đều làm các tế bào dễ bị tụ lại cũng như bám trên thành bình nuôi, các vi sinh vật địch hại như các protozoa dễ xâm nhập, ...tuy nhiên việc sử dụng vi tảo trong trại giống lại đòi hỏi một lượng lớn nên chúng ta phải nghiên cứu cải tiến quản lí nuôi cho tốt hơn để nuôi được thể tích lớn.

Theo Lourenço và ctv (1997), nuôi trồng thủy sản thường phát triển các mô hình nuôi trong nhà và thường sử dụng các môi trường truyền thống mắc tiền như f/2 và Conway, kết quả là việc sử dụng những môi trường này trong các mô hình nuôi sinh khối lớn ngoài trời sẽ gây nhiều thiệt hại về kinh tế, vì thế cần sử dụng những môi trường rẻ tiền hơn. Tuy vậy khi nuôi bằng các môi trường này, thành phần sinh hoá của các loài tảo có thể thay đổi. Thêm vào đó, khi nuôi ngoài trời, những yếu tố môi trường như cường độ ánh sáng, nhiệt độ, pH không được quản lý chặt chẽ lệ thuộc vào quy mô hệ thống nuôi. Mặc dù vậy, thành phần môi trường nuôi phải tương đương với những môi trường truyền thống trong phòng thí nghiệm để có thể đạt được thông số cần thiết khi nuôi.

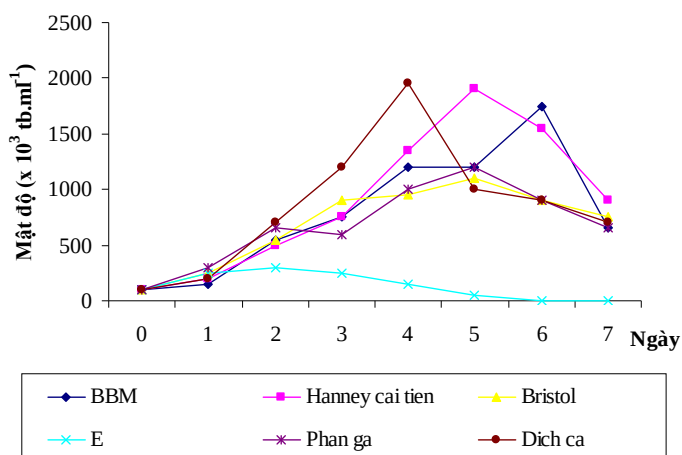
KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

- Mật độ *Tetraselmis* sp. trong môi trường dịch cá đạt được tương đương như trong một số môi trường pha từ các chất vô cơ (BBM, Hanney cải tiến) nên ta có thể sử dụng dịch chiết từ cá tạp nấu như một chất dinh dưỡng thay thế cho các chất vô cơ trong phòng thí nghiệm khá mắc tiền.

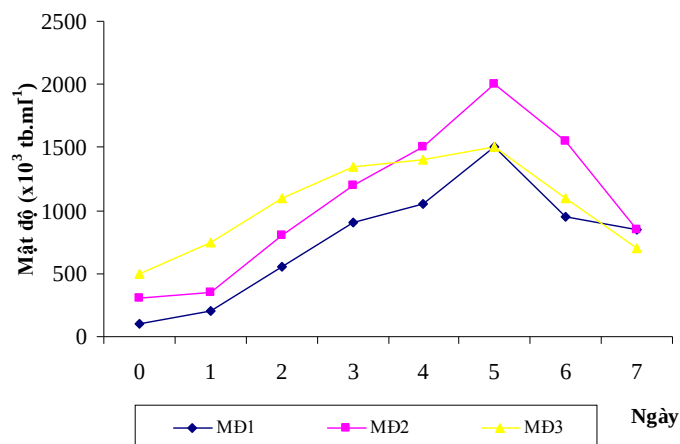
- Khi nhân giống ban đầu trong phòng thí nghiệm, có thể bố trí mật độ từ $100 - 300 \times 10^3 \text{ tb.ml}^{-1}$ để tiết kiệm nguồn tảo giống.

- Có thể sử dụng nước có độ mặn từ 20-25 ppt để tiết kiệm hơn nguồn nước ót pha chế trong trường hợp trại sản xuất thiếu nguồn nước có độ mặn cao.

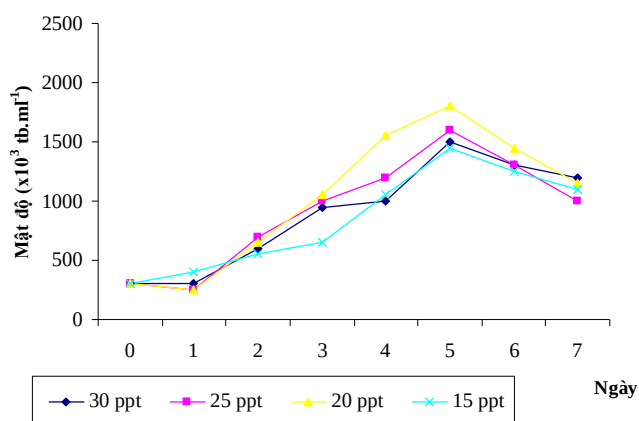
Cần nghiên cứu rõ hơn về nồng độ các chất dinh dưỡng như đạm có trong dịch cá để pha chế chính xác hơn và sau khi nuôi phân tích hàm lượng các chất có trong tảo để thấy rõ được hiệu quả của việc sử dụng dịch cá như nguồn dưỡng chất.



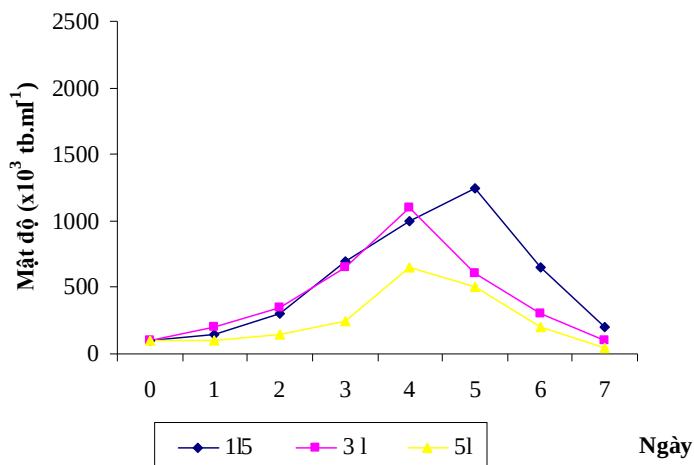
Đồ thị 1: Tăng trưởng của *Tetraselmis* trong 6 môi trường nuôi



Đồ thị 2: Tăng trưởng của *Tetraselmis* ở 3 mật độ nuôi ban đầu ($100, 200$ và 300×10^3 tb.ml⁻¹)



Đồ thị 3: Tăng trưởng *Tetraselmis* ở các thang độ mặn



Đồ thị 4: Tăng trưởng của *Tetraselmis* ở các thể tích

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Trương Sĩ Kỳ, 2004. *Kỹ thuật nuôi một số loài sinh vật làm thức ăn cho ấu trùng các loài thủy sản*. Viện Hải Dương Học Nha Trang. Nhà xuất bản Nông nghiệp, 48 trang.

Hoàng Bích Mai, 2000. Ảnh hưởng một số điều kiện môi trường sinh thái lên sự phát triển của tảo lục đơn bào *Platymonas* spp. trong điều kiện phòng thí nghiệm. *Hội thảo toàn quốc về nuôi trồng thủy sản T9/1998*. Viện Nghiên Cứu Nuôi Trồng Thủy Sản I.

Nguyễn Trọng Nho, 2002. Vai trò của thực vật phù du trong ao nuôi tôm. *Tập San Khoa Học và Công Nghệ, Đại Học Thủy Sản Nha Trang*, số 1/2002, trang 3-10.

Aujero E., 1981. Use of the hematocytometer for counting phytoplankton (in R.D. Guerrero (ed.)) *Report of the training course on growing food organisms for fish hatcheries*.

Coutteau, P., 1996. Microalgae (in P. Lavens and P. Sorgeloos (ed.)) *Manual on the production and use of live food for aquaculture*. FAO Fisheries Technical Papers 361.

Fabregas, J., Abalde, J., Cabezas, B., Herrero, C. and Veiga, M., 1984. Growth of the marine microalgae *Tetraselmis suecica* in batch culture with different salinity and nutrient concentrations. *Aquaculture*, 42: 207-215.

Fabregas, J., Toribio, L., Abalde, J., Cabezas, B. and Herrero, C., 1987. Approach to biomass production of the marine microalgae *Tetraselmis suecica* (Kyllin) Butch using common garden fertilizer and soil extract as cheap nutrient supply in batch culture. *Aquaculture Engineering*, 6 (2): 141-150.

Fabregas, J., Morales, E., Garcia, D., Cabezas, B. and Otero, A., 1997. The soluble fraction of *Solanum tuberosum* enhances growth and pigmentation of the microalgae *Tetraselmis suecica* under photoheterotrophic conditions. *Bioresource Technology*, 59: 263-266.

Laing, I. and Utting, S.D., 1980. The influence of salinity on the production of two commercially important unicellular marine algae. *Aquaculture*, 21: 79-86.

Laing, I. and Helm, M.M., 1981. Factors affecting the semi-continuous production of *Tetraselmis suecica* (Kyllin) Butch in 200 l-vessels. *Aquaculture*, 22: 137-148.

Lavens, P. and Sorgeloos, P., 1996. *Manual on the production and use of live food for aquaculture*. FAO Fisheries Technical Papers 361. Laboratory of Aquaculture and Artemia Reference Center, University of Ghent, Belgium, 295 pages.

Lourenço, S.O., Marquez, U.M.L., Mancini-Filho, J., Barbarino, E. and Aidar, E., 1997. Changes in biochemical profile of *Tetraselmis gracilis* I. Comparison of two culture media. *Aquaculture*, 148: 153-168.

Meseck, S.L., Alix, J.H. and Wikfors, G.H., 2005. Photoperiod and light intensity effect on growth and utilization of nutrient s by the aquaculture feed microalgae, *Tetraselmis chui* (PLY 429). *Aquaculture*, 246: 393-404.

Otero, A. and Fabregas, J., 1997. Changes in the nutrient composition of *Tetraselmis suecica* cultured semicontinuously with different nutrient concentrations and renewal rates. *Aquaculture*, 159: 111-123.