

Nghiên cứu ảnh hưởng của chế độ dinh dưỡng lên tăng trưởng và tỷ lệ sống của ấu trùng hào sữa (*Crassostrea angulata*) phục vụ chọn giống

Nguyễn Thành Luân^{1,2*}, Nguyễn Thị Mai Anh¹, Nguyễn Thảo Suong²,
Nguyễn Thị Nga³, Nguyễn Như Trí², Nguyễn Văn Sáng¹

¹Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản II, 116 Nguyễn Đình Chiểu, phường Đa Kao, quận 1, TP Hồ Chí Minh, Việt Nam

²Trường Đại học Nông Lâm TP Hồ Chí Minh, khu phố 6, phường Linh Trung, TP Thủ Đức, TP Hồ Chí Minh, Việt Nam

³Trường Đại học Quốc tế Hồng Bàng, 215 Điện Biên Phủ, phường 15, quận Bình Thạnh, TP Hồ Chí Minh, Việt Nam

Ngày nhận bài 12/10/2023; ngày chuyển phản biện 15/10/2023; ngày nhận phản biện 30/10/2023; ngày chấp nhận đăng 6/11/2023

Tóm tắt:

Nghiên cứu này đánh giá ảnh hưởng của các chế độ dinh dưỡng khác nhau đến tăng trưởng (tốc độ tăng trưởng, chiều cao, chiều dài vỏ), tỷ lệ ấu trùng điểm mắt (eyed spat) và tỷ lệ sống của ấu trùng hào sữa (*Crassostrea angulata*) có nguồn gốc tự nhiên từ Đài Loan (Trung Quốc). Ba loài tảo *Nannochloropsis oculata*, *Isochrysis galbana* và *Chaetoceros calcitrans* sử dụng làm thức ăn cho ấu trùng được bố trí ở các tỷ lệ và thời gian cho ăn khác nhau từ giai đoạn ấu trùng chữ D (ngày 1) tới ấu trùng điểm mắt (ngày ương thứ 16). Thí nghiệm được bố trí trong bể ương 200 lít, gồm 5 nghiệm thức (NT): NT1, NT2, NT3, NT4 và NT5, mỗi nghiệm thức lặp lại 3 lần. Kết quả cho thấy, tỷ lệ sống cao nhất (83,28±9,14%) thu được ở NT4 kết hợp cả ba loài tảo theo tỷ lệ 1:1:1 trong suốt 16 ngày nuôi (p<0,05). Kích thước vỏ và tốc độ tăng trưởng theo ngày cao nhất ở các NT3 và NT2 khi sử dụng kết hợp tảo *I. galbana* và *C. calcitrans* từ ngày nuôi số 4-16, khác biệt có ý nghĩa thống kê với các NT còn lại (p<0,05). Tỷ lệ ấu trùng điểm mắt cũng thu được cao nhất ở nhóm NT2, NT3 và NT4 (p<0,05). Tùy theo mục tiêu sản xuất cụ thể, chế độ dinh dưỡng ở NT3, NT2 và NT4 là phù hợp nhất cho lai tạo gia đình chọn giống hoặc sản xuất giống hào sữa phục vụ nghề nuôi thương phẩm.

Từ khóa: *Crassostrea angulata*, dinh dưỡng, hào sữa, tăng trưởng, tỷ lệ sống, vi tảo.

Chỉ số phân loại: 1.6, 4.5, 4.6

A study on effects of nutrition on growth and survival of oyster larvae *Crassostrea angulata* for selective breeding program

Thanh Luan Nguyen^{1,2*}, Mai Anh Thi Nguyen¹, Thao Suong Nguyen²,
Thi Nga Nguyen³, Nhu Tri Nguyen², Van Sang Nguyen¹

¹Research Institute for Aquaculture No.2, 116 Nguyen Dinh Chieu Street, Da Kao Ward, District 1, Ho Chi Minh City, Vietnam

²Nong Lam University, Quarter 6, Linh Trung Ward, Thu Duc City, Ho Chi Minh City, Vietnam

³Hong Bang International University, 215 Dien Bien Phu Street, Ward 15, Binh Thanh District, Ho Chi Minh City, Vietnam

Received 12 October 2023, revised 30 October 2023; accepted 6 November 2023

Abstract:

This study evaluated the effect of different nutrition on growth (growth rate, shell height, shell length), eyed spat larvae rate and survival rate of *Crassostrea angulata* derived from the wild Taiwanese coastline (China). Three microalgae species of *Nannochloropsis oculata*, *Isochrysis galbana* and *Chaetoceros calcitrans* were fed to oyster larvae at different ratios and time points from D-larvae (day 1) to eyed spat larvae (day 16). The experiment was designed with five treatments NT1, NT2, NT3, NT4 and NT5, three replicates per treatment in the 200 l tanks. The results showed that the highest survival rate (83.28±9.14%) was obtained in the NT4 treatment, in which the diet combined all three algae species at a ratio of 1:1:1 throughout 16 days of culture (p<0.05). Shell size and daily growth rate were highest in treatments NT2 and NT3, which used algae *I. galbana* and *C. calcitrans* from culture days no.4-16, showing a statistically significant difference compared to the other treatments (p<0.05). The rate of eye spot larvae was also highest in groups NT2, NT3 and NT4 (p<0.05). Depending on specific production goals, the nutritional regimes in NT3, NT2 and NT4 are most suitable for family breeding or producing oyster seeds for commercial farming.

Keywords: *Crassostrea angulata*, growth, microalgae, nutrition, oysters, survival rate.

Classification numbers: 1.6, 4.5, 4.6

*Tác giả liên hệ: Email: nguyentuan0309@gmail.com

1. Đặt vấn đề

Hàu *Crassostrea angulata* (tên tiếng Anh: Portuguese oyster) tên thường gọi ở Việt Nam: hàu sữa hay hàu Bò Đào Nha) là một trong những loài thương mại quan trọng. Ở châu Âu, trước năm 1970, hàu sữa là đối tượng nuôi chính trong gần một thế kỷ với sản lượng hàng năm lên đến 100.000 tấn, nhưng hiện nay chỉ còn một vài vùng ở châu Âu nuôi trồng loài hàu này do bùng phát dịch bệnh *Ostreid herpesvirus 1* (OsHV-1) [1]. Ở châu Á, hàu sữa được nuôi trồng chính tại Đài Loan (Trung Quốc) [2], gần đây được nuôi phổ biến ở Việt Nam với sản lượng khoảng 50.000 tấn vào năm 2018 [3]. Nuôi hàu sữa tại Việt Nam hiện đối mặt với nhiều thách thức do đối tượng này được du nhập vào Việt Nam từ những năm 2008 và con giống hoàn toàn phụ thuộc vào sản xuất nhân tạo. Hàu bố mẹ cận huyết, tuyển chọn thiếu cơ sở khoa học từ hàu thương phẩm trong thời gian dài dẫn tới chất lượng con giống ngày càng suy thoái và ảnh hưởng tới năng suất nuôi [3].

Chọn giống là tương lai của ngành nuôi trồng thủy sản nhằm nâng cao hiệu quả kinh tế, cải thiện năng suất, chất lượng sản phẩm [4]. Thách thức lớn nhất trong chọn giống dựa trên gia đình là phải đồng thời sản xuất số lượng lớn gia đình mỗi thế hệ trong thời gian ngắn [4]. Vì vậy, hàu bố mẹ không những phải được tuyển chọn khoa học mà còn phải cung cấp chế độ dinh dưỡng tối ưu nhằm đạt hiệu quả cao nhất trong ương nuôi ấu trùng.

Vì tảo là thức ăn thích hợp để nuôi động vật thân mềm hai mảnh vỏ, có chứa các thành phần sinh hóa lipid (axit béo không bão hòa), carbohydrate và protein [5], trong đó sự phối trộn giữa các loài tảo là chế độ ăn uống được sử dụng phổ biến nhất, cung cấp sự cân bằng tốt hơn các chất dinh dưỡng [6]. Tuy nhiên, kích thước, hình thái và thành phần dinh dưỡng của tảo phải được đánh giá để xây dựng chế độ dinh dưỡng phù hợp và đảm bảo rằng các yếu tố này không cản trở ấu trùng ăn lọc và tiêu hóa cả ở giai đoạn phát triển sớm và muộn [5]. Một số loài hai mảnh vỏ có thể phân biệt thức ăn từ nhiều loại hạt khác nhau, ưu tiên ăn những hạt thích hợp và loại bỏ những hạt không mong muốn [7, 8]. Vì vậy, chế độ dinh dưỡng cao, giàu chất béo kết hợp từ hai hoặc nhiều vi tảo để đáp ứng đầy đủ nhu cầu phát triển và thiết lập quy trình sản xuất giống tối ưu cho ấu trùng hai mảnh vỏ [9].

Các axit béo không bão hòa trong vi tảo như DHA (Docosahexaenoic acid), EPA (Eicosapentaenoic acid) và ARA (Arachidonic acid) có liên quan trực tiếp đến tốc độ tăng trưởng nhanh, tỷ lệ sống cao và giảm căng thẳng ở hai

mảnh vỏ như hàu Thái Bình Dương, vẹm, điệp [10]. Ba vi tảo đơn bào *N. oculata*, *I. galbana* và *C. calcitrans* trong nghiên cứu này có chứa đầy đủ các thành phần axit béo kể trên và được sử dụng phổ biến làm thức ăn trong sản xuất giống hai mảnh vỏ do kích thước phù hợp với khả năng ăn lọc và dinh dưỡng đầy đủ cho các giai đoạn phát triển ấu trùng [6]. Dù vậy, cho đến nay có rất ít nghiên cứu đánh giá sử dụng thích hợp các loài tảo khác nhau từ giai đoạn ấu trùng chữ D tới con giống tám nhằm nâng cao tốc độ tăng trưởng và tỷ lệ sống của ấu trùng hàu sữa.

Với ý nghĩa khoa học và thực tiễn, nghiên cứu này nhằm:

1) xác định chế độ dinh dưỡng tối ưu nâng cao hiệu quả sản xuất giống quần đàn hàu sữa tự nhiên được nhập khẩu từ Đài Loan (Trung Quốc); 2) ứng dụng kết quả nghiên cứu phục vụ ương nuôi ấu trùng các gia đình hàu sữa các thế hệ chọn giống theo tính trạng tăng trưởng; 3) đề xuất chế độ dinh dưỡng tối ưu phục vụ sản xuất giống thương mại hàu sữa.

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng

Ấu trùng (AT) chữ D hàu sữa khỏe mạnh có bố mẹ thu thập từ tự nhiên tại đảo Bành Hồ, Đài Loan (Trung Quốc). Các giai đoạn phát triển của ấu trùng hàu sữa [9] được trình bày trong bảng 1.

Bảng 1. Các giai đoạn phát triển của ấu trùng hàu sữa.

Giai đoạn ấu trùng	Chữ D	Đỉnh vỏ	Điểm mắt	Bám (spat)
Thời gian (ngày)	1-7	5-12	14-21	21

Thức ăn cho ấu trùng hàu gồm 3 loài vi tảo đơn bào gồm: 1) *N. oculata*, 2) *I. galbana*, 3) *C. calcitrans* được lưu giữ giống và nuôi sinh khối tại Trung tâm Quốc gia giống hải sản Nam Bộ. Thành phần axit béo và kích thước của các loài vi tảo sử dụng trong thí nghiệm được thể hiện trong bảng 2.

Bảng 2. Hàm lượng (%) tổng các axit béo và kích thước của vi tảo trong thí nghiệm.

Chỉ tiêu	<i>N. oculata</i> [8]	<i>I. galbana</i> [7]	<i>C. calcitrans</i> [7]
Kích thước (µm)	1,5-2,0	3,0-4,0	4,0-6,0
Axit béo (%) tổng axit béo)	20:4n-6 (ARA)	8,47-10,55	11,3
	20:5n-3 (EPA)	29,34-35,51	26,3
	22:6n-3 (DHA)	26,8	2,3

ARA: Arachidonic acid; EPA: Eicosapentaenoic acid; DHA: Docosahexaenoic acid.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Thiết kế thí nghiệm

Thí nghiệm được bố trí trong 15 bể với 5 NT, mỗi NT 3 lần lặp lại trong các bể ương bể nhựa 200 lít (thể tích nước 150 lít). Các NT sử dụng các loài tảo đơn hoặc kết hợp đồng thời và thời gian cho ăn khác nhau (bảng 3).

Bảng 3. Các nghiệm thức thí nghiệm.

Nghiem thức	Loài tảo	Thời gian cho ăn (ngày)
NT1	<i>N. oculata</i> + <i>I. galbana</i> + <i>C. calcitrans</i>	(1-3) + (4-7) + (8-16)
NT2	<i>N. oculata</i> và <i>I. galbana</i> + <i>I. galbana</i> và <i>C. calcitrans</i>	(1-3) + (4-16)
NT3	<i>I. galbana</i> + <i>I. galbana</i> và <i>C. calcitrans</i>	(1-3) + (4-16)
NT4	1/3 <i>N. oculata</i> + 1/3 <i>I. galbana</i> + 1/3 <i>C. calcitrans</i>	(1-16)
NT5	<i>N. oculata</i> + <i>I. galbana</i>	(1-3) + (4-16)

2.2.2. Bố trí thí nghiệm

Ấu trùng chữ D khỏe mạnh sau khi ấp nở 24 giờ được bố trí vào các bể thí nghiệm. Mật độ ương ban đầu là 3 ấu trùng/ml/bể. Môi trường ương nuôi được duy trì trong điều kiện thích hợp nhiệt độ 28-29°C, độ mặn 30‰, pH 8,0, $\text{NO}_2^- < 1$, $\text{NH}_3 < 0,5$ ppm.

Chế độ cho ăn 2 lần/ngày vào lúc 8:00 và 16:00. Mật độ tảo trong bể ương được duy trì khoảng 30.000 tế bào/ml ở 3 ngày đầu tiên, sau tăng lên 50.000 tế bào/ml ở các ngày tiếp theo và tăng lên 80.000 tế bào/ml từ ngày ương thứ 10 [9]. Mật độ tảo trong các bể nuôi ương và nuôi sinh khối tảo định lượng bằng buồng đếm Sedgewick dưới kính hiển vi vật kính 40× trước khi cho ăn [10]. Định kỳ thay nước 3 ngày/lần, lượng nước thay 30-50%. Các chỉ tiêu theo dõi bao gồm tỷ lệ sống, chiều dài và chiều cao vỏ ấu trùng, tỷ lệ ấu trùng điểm mắt (eyed spat) ở các nghiệm thức sau 16 ngày ương.

2.3. Phương pháp nuôi sinh khối tảo

Tảo giống trong phòng thí nghiệm khi đạt mật độ khoảng 8×10^5 tế bào/ml sẽ được nhân sinh khối ra hệ thống bể nuôi ngoài trời, sử dụng môi trường F2 đối với tảo *N. oculata* và môi trường Walne đối với tảo *I. galbana* và *C. calcitrans* theo tỷ lệ 1 ml môi trường cho 1 lít nước nuôi [11].

Tảo sinh khối được nuôi trong bể 500 và 1000 lít ngoài trời che lưới lan để ổn định nhiệt độ và hạn chế ánh sáng quá mức vào buổi trưa được thiết kế riêng cho việc nuôi tảo. Các chỉ tiêu nhiệt độ 26-28°C, pH nước 7,5-8,0; sục khí liên tục 24/24 giờ. Sau thời gian nuôi khoảng 3-4 ngày, mật độ tảo đạt $6-8 \times 10^6$ tế bào/ml thì tiến hành thu hoạch làm thức ăn cho ấu trùng.

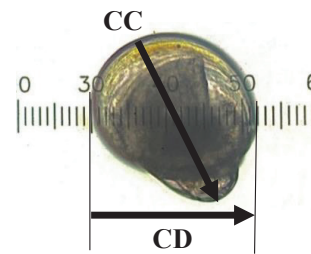
2.4. Phương pháp thu thập số liệu

Phương pháp xác định chỉ tiêu tăng trưởng: Tốc độ tăng trưởng theo ngày (%/ngày) được xác định bằng phương pháp đo kích thước vỏ của ấu trùng theo công thức:

$$\text{SGR} = 100 \times (\ln[L_2] - \ln[L_1]) / (T_2 - T_1)$$

trong đó: SGR: tốc độ tăng trưởng theo ngày (%/ngày); L_1 và L_2 : chiều cao hoặc chiều dài vỏ trung bình thời điểm đầu và kết thúc (μm); T_1 và T_2 : thời gian giữa 2 lần lấy mẫu.

Kích thước ấu trùng được đo bằng thước vi thị kính có 100 vạch, tương ứng là 10 μm /vạch, dưới vật kính 10×, định kỳ 2 ngày/lần, số lượng 25 ấu trùng/lần/bể. Chiều cao (CC) được đo từ mép vỏ phía mặt bụng đến đỉnh vỏ phía mặt lưng. Chiều dài (CD) được đo từ mép vỏ của mặt sau đến mép vỏ của mặt trước (hình 1).



Hình 1. Đo kích thước ấu trùng hàu sữa bằng thước vi thị kính.

Phương pháp xác định tỷ lệ sống ấu trùng: được xác định ở thời điểm kết thúc thí nghiệm và tính toán theo công thức:

$$\text{TLS} (\%) = N_2 / N_1 \times 100$$

trong đó: TLS: tỷ lệ sống ấu trùng (%); N_1 : số lượng ấu trùng chữ D ban đầu bố trí thí nghiệm (con); N_2 : số lượng ấu trùng thu được khi kết thúc thí nghiệm (con).

Phương pháp xác định tỷ lệ ấu trùng điểm mắt được tính theo công thức:

$$\text{R} (\%) = N_3 / N_2 \times 100$$

trong đó: R: tỷ lệ ấu trùng điểm mắt (%); N_3 : số lượng ấu trùng điểm mắt thời điểm kết thúc thí nghiệm (con); N_2 : số lượng ấu trùng thời điểm kết thúc thí nghiệm (con).

Phương pháp xác định các chỉ tiêu môi trường ương nuôi: nhiệt độ, độ mặn, oxy hòa tan (DO), pH được đo 2 lần/ngày vào lúc 6:00 và 14:00 bằng các dụng cụ đo môi trường như: nhiệt kế, máy đo oxy, pH và khúc xạ kế; NH_4^+ , NO_2^- được đo bằng bộ dụng cụ kiểm tra Sera 3 ngày/lần.

2.5. Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu được thu thập và quản lý bằng phần mềm Microsoft Excel 2019. Kết quả được trình bày là trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn để so sánh các giá trị trung bình ở các nghiệm thức thí nghiệm. Phân tích số liệu bằng phương pháp phân tích phương sai một nhân tố (One-way ANOVA, kiểm định Duncan) với mức ý nghĩa 5% ($p=0,05$), sử dụng phần mềm SPSS phiên bản 22.0.

3. Kết quả

3.1. Điều kiện môi trường ương nuôi ấu trùng

Các yếu tố môi trường nước ương nuôi đều trong khoảng thích hợp cho sinh trưởng và phát triển của ấu trùng hàu sữa, cho thấy việc bố trí thí nghiệm trong nhà an toàn sinh học hoàn toàn phù hợp với mục tiêu của nghiên cứu (bảng 4).

Bảng 4. Môi trường ương nuôi ấu trùng hàu sữa trong các nghiệm thức.

Chỉ tiêu	NT1	NT2	NT3	NT4	NT5
Nhiệt độ (°C)	27-30	27-30	26-30	27-30	26-30
pH	7,6-8,0	7,8-8,0	7,7-8,0	7,6-8,0	7,5-8,0
Độ mặn (‰)	30	30	30	30	30
DO (mg/l)	5,0-5,5	5,0-5,5	5,2-5,5	5,3-5,5	5,1-5,5
NH ₄ ⁺ /NH ₃ (mg/l)	0	0	0	0	0
NO ₂ (mg/l)	0	0	0	0	0

NT: nghiệm thức.

3.2. Tốc độ tăng trưởng của ấu trùng

Kích thước ấu trùng chữ D khi bố trí thí nghiệm là tương đồng với chiều dài vỏ 68,56 $\pm$ 0,32 μ m và 55,36 $\pm$ 0,17 μ m chiều cao vỏ ở tất cả các nghiệm thức. Từ kết quả bảng 5 cho thấy, kích thước vỏ trung bình đạt được khi kết thúc thí nghiệm cao nhất ở NT2 và NT3, với chiều cao vỏ lớn nhất là 273,71 $\pm$ 5,51 μ m ở NT2, trong khi chiều dài vỏ lớn nhất ở NT3 đạt 252,16 $\pm$ 2,15 μ m (khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p<0,05$) với các nghiệm thức còn lại). Kích thước vỏ nhỏ nhất ở NT1 với chiều cao và chiều dài vỏ lần lượt là 228,85 $\pm$ 1,73 μ m và 209,22 $\pm$ 1,56 μ m.

Tương tự kích thước vỏ, tốc độ tăng trưởng theo ngày cũng được ghi nhận cao nhất ở NT2 và NT3, khác biệt ý nghĩa thống kê với NT1, NT4 và NT5 ($p<0,05$). NT3 có tốc độ tăng trưởng nhanh nhất với chiều cao vỏ đạt 10,16 $\pm$ 0,07%/ngày và chiều dài vỏ (8,13 $\pm$ 0,1%/ngày) cao hơn khác biệt ý nghĩa thống kê ($p<0,05$) so với NT2 (7,85 $\pm$ 0,09 %/ngày). NT4 và

NT5 có tốc độ tăng trưởng tương đương. Tốc độ tăng trưởng theo ngày ở NT1 là thấp nhất và khác biệt ý nghĩa ($p<0,05$) với cả 4 NT còn lại (bảng 5).

Bảng 5. Kích thước vỏ và tốc độ tăng trưởng của ấu trùng hàu sữa sau 16 ngày ương.

Nghiệm thức	Kích thước vỏ AT (μ m)		Tốc độ tăng trưởng (%/ngày)	
	CC	CD	SGR _{CC}	SGR _{CD}
NT1	228,85 $\pm$ 1,73 ^c	209,22 $\pm$ 1,56 ^d	8,99 $\pm$ 0,06 ^c	6,99 $\pm$ 0,07 ^d
NT2	273,71 $\pm$ 5,51 ^a	240,94 $\pm$ 2,86 ^b	10,15 $\pm$ 0,12 ^a	7,85 $\pm$ 0,09 ^b
NT3	272,71 $\pm$ 2,18 ^a	252,16 $\pm$ 2,15 ^a	10,16 $\pm$ 0,07 ^a	8,13 $\pm$ 0,1 ^a
NT4	244,75 $\pm$ 2,66 ^b	226,77 $\pm$ 1,84 ^c	9,49 $\pm$ 0,07 ^b	7,48 $\pm$ 0,06 ^c
NT5	249,78 $\pm$ 1,88 ^b	222,79 $\pm$ 3,81 ^c	9,62 $\pm$ 0,02 ^b	7,37 $\pm$ 0,08 ^c

a, b, c, d: Các giá trị trong cùng một cột mang chữ cái khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa ($p<0,05$). Giá trị trong bảng là trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn; CC: chiều cao vỏ; CD: chiều dài vỏ; SGR_{CC}: tốc độ tăng trưởng theo ngày chiều cao vỏ; SGR_{CD}: tốc độ tăng trưởng theo ngày chiều dài vỏ. AT: ấu trùng, NT: nghiệm thức.

3.3. Tỷ lệ ấu trùng điểm mắt và tỷ lệ sống của ấu trùng

Kết quả ở bảng 6 cho thấy, tỷ lệ xuất hiện ấu trùng điểm mắt và tỷ lệ sống của ấu trùng có sự phân nhóm ở các NT sau 16 ngày ương. Tỷ lệ ấu trùng điểm mắt là tương đồng ở nhóm NT2 (69,33 $\pm$ 2,03%), NT3 (67,33 $\pm$ 3,18%) và NT4 (69,11 $\pm$ 2,14%) là cao hơn khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p<0,05$) so với nhóm NT1 (36,78 $\pm$ 10,52%) và NT5 (29,67 $\pm$ 3,28%). Tỷ lệ sống cao nhất là ở NT4 (83,28 $\pm$ 9,14%), cao hơn không khác biệt thống kê ($p>0,05$) so với NT1 (67,50 $\pm$ 12,82%) nhưng khác biệt thống kê ($p<0,05$) với NT3, NT2 và NT5. Tỷ lệ sống thấp nhất là ở NT5 (52,19 $\pm$ 20,05%).

Bảng 6. Tỷ lệ ấu trùng điểm mắt và tỷ lệ sống hàu sữa sau 16 ngày ương.

Nghiệm thức	Tỷ lệ AT điểm mắt (%)	Tỷ lệ sống (%)
NT1	36,78 $\pm$ 10,52 ^b	67,50 $\pm$ 12,82 ^{ab}
NT2	69,33 $\pm$ 2,03 ^a	56,06 $\pm$ 17,21 ^b
NT3	67,33 $\pm$ 3,18 ^a	57,56 $\pm$ 4,46 ^b
NT4	69,11 $\pm$ 2,14 ^a	83,28 $\pm$ 9,14 ^a
NT5	29,67 $\pm$ 3,28 ^b	52,19 $\pm$ 20,05 ^b

a, b: Các giá trị trong cùng một cột mang chữ cái khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa ($p<0,05$). Giá trị trong bảng là trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn. AT: ấu trùng, NT: nghiệm thức.

4. Bàn luận

Các nghiên cứu trên hàu sữa (*C. angulata*) nói chung còn rất hạn chế so với hàu Thái Bình Dương (*C. gigas*), đặc biệt các nghiên cứu liên quan tới chế độ dinh dưỡng trong ương nuôi ấu trùng. Quy trình sản xuất giống hàu hầu hết dựa trên quy trình sản xuất giống hàu Thái Bình Dương do 2 loài hàu này có quan hệ gần gũi với nhau, có khả năng tạo con lai, được phân tách thành 2 loài cùng một nguồn gốc [12] và hàu sữa không được nuôi phổ biến [13] như hàu Thái Bình Dương. Hạn chế của nghiên cứu này là không có NT đối chứng, các NT thí nghiệm được bố trí và dựa trên kết quả nghiên cứu trước trên hàu Thái Bình Dương và đặc điểm sinh học các giai đoạn phát triển ấu trùng của hàu *Crassostrea* sp. [14-16].

Nghiên cứu này cho kết quả tốc độ tăng trưởng của ấu trùng nhanh (7-10%/ngày) và tỷ lệ xuất hiện ấu trùng điểm mắt (30-70%) và tỷ lệ sống từ trung bình tới cao (52-83%) qua 16 ngày ương nuôi từ giai đoạn chữ D tới giai đoạn ấu trùng điểm mắt ở các NT thí nghiệm (bảng 5 và bảng 6). Kết quả này khẳng định hàu sữa bố mẹ có nguồn gốc tự nhiên nhập khẩu từ Đài Loan (Trung Quốc) đã thích nghi tốt và sản xuất giống hiệu quả trong điều kiện Việt Nam. Tốc độ tăng trưởng nhanh và tỷ lệ sống cao chỉ sau 16 ngày ương nuôi tới giai đoạn con giống bám so với 18-21 ngày được báo cáo trên hàu Thái Bình Dương [10] cho thấy chất lượng ấu trùng và kỹ thuật ương nuôi ấu trùng hàu đáp ứng yêu cầu thí nghiệm và quan trọng hơn, các loài vi tảo sử dụng làm thức ăn trong thí nghiệm phù hợp cho các giai đoạn phát triển của ấu trùng hàu sữa nguồn gốc Đài Loan (Trung Quốc).

Hàm lượng dinh dưỡng của vi tảo là yếu tố chính ảnh hưởng đến sinh trưởng và tỷ lệ sống của ấu trùng 2 mảnh vỏ [5]. Hàm lượng axit béo của thức ăn rất quan trọng để đáp ứng yêu cầu về dinh dưỡng của động vật 2 mảnh vỏ [5]. PUFA (Polyunsaturated fatty acids), đặc biệt là axit béo omega-3 (DHA và EPA) hết sức cần thiết trong dinh dưỡng ương nuôi ấu trùng do ấu trùng 2 mảnh vỏ hầu hết thiếu khả năng tổng hợp DHA, EPA và sterol [11]. DHA là thiết yếu duy trì cấu trúc màng và tính toàn vẹn chức năng của

ấu trùng và EPA không thể thiếu cho quá trình hình thành phôi và sự phát triển của ấu trùng [12]. Nghiên cứu trên hàu *C. corteziensis* cho thấy, thức ăn thiếu ARA hạn chế sự phát triển của ấu trùng và có thể ảnh hưởng tới chức năng miễn dịch và sản xuất hormone sinh sản của ấu trùng động vật 2 mảnh vỏ [13]. Với nhu cầu đa dạng thành phần, hàm lượng chất béo và axit béo không bão hòa cao cho các giai đoạn phát triển khác nhau của ấu trùng 2 mảnh vỏ, không có loài vi tảo nào cung cấp đầy đủ các chất dinh dưỡng cần thiết [14]. Vì vậy, chế độ dinh dưỡng gồm nhiều loại tảo với tỷ lệ thích hợp có thể mang lại sự cân bằng dinh dưỡng, tăng trưởng tốt hơn và tỷ lệ sống cao hơn [15]. Các kết quả tăng trưởng và tỷ lệ sống ấu trùng hàu trong nghiên cứu này cho thấy, 3 loài tảo *N. oculata*, *I. galbana* và *C. calcitrans* đơn bào có kích thước và hàm lượng dinh dưỡng (DHA, EPA, ARA) khác nhau (bảng 2) phù hợp với khả năng ăn lọc của ấu trùng hàu và khẳng định thêm kết quả nghiên cứu của P. Cheng và cs (2020) [6] cho rằng, sự kết hợp từ 2 hoặc 3 loài tảo này đảm bảo chế độ dinh dưỡng tốt và hiệu quả sản xuất giống cao hơn so với sử dụng một loài tảo cho từng giai đoạn hoặc xuyên suốt các giai đoạn phát triển của ấu trùng hàu sữa.

Ở NT1, tảo *I. galbana* không được sử dụng ở những ngày sau của giai đoạn phát triển ấu trùng dẫn đến sự thiếu hụt DHA, có thể kết quả kích thước ấu trùng nhỏ nhất. Trong khi ở NT5, chỉ sử dụng tảo *I. galbana* (DHA cao) cho thấy sự thiếu hụt ARA và EPA từ tảo *N. oculata* và *C. calcitrans* từ ngày 4-16 có thể gây ra tỷ lệ sống thấp nhất (52,19±20,05%). Ngược lại, NT2 và NT3 duy trì sử dụng *I. galbana* và *C. calcitrans* (đầy đủ DHA, ARA và EPA) trong suốt quá trình ương nuôi ấu trùng cho thấy tốc độ tăng trưởng và kích thước ấu trùng nhanh nhất. Kết quả này cũng tương đồng với kết luận của B.R. Villa và cs (2006) [16] cho rằng, khẩu phần 25% *I. galbana* + 75% *C. calcitrans* là tối ưu cho sinh trưởng của ấu trùng hàu Thái Bình Dương. Có thể nói, chế độ dinh dưỡng kết hợp *I. galbana* và *C. calcitrans* hoàn toàn phù hợp với ương nuôi ấu trùng hàu sữa. Ở NT4, chế độ dinh dưỡng với hỗn hợp cả 3 loài tảo *N. oculata*, *I. galbana* và *C. calcitrans* (tỷ lệ 1:1:1) từ đầu tới kết thúc thí nghiệm cho tỷ lệ sống (83,28±9,14%) và

tỷ lệ xuất hiện ấu trùng điểm mắt ($69,1 \pm 2,14\%$) cao nhất ($p < 0,05$) so với các nghiệm thức khác, tốc độ tăng trưởng kích thước vỏ cũng khá nhanh (bảng 5).

Một yếu tố quan trọng khác là kích thước phù hợp của tế bào tảo cũng ảnh hưởng trực tiếp tới tăng trưởng, tỷ lệ sống của ấu trùng hai mảnh vỏ [7]. Tỷ lệ lọc ở ấu trùng 2 mảnh vỏ thường cao nhất với kích thước hạt từ 4,7 đến 6,3 μm [17], nghĩa là bên cạnh thành phần dinh dưỡng thiết yếu thì kích thước thức ăn phải phù hợp với kích thước ấu trùng ở các giai đoạn phát triển đảm bảo ấu trùng có thể sử dụng tối đa và tiêu hóa thức ăn tốt nhất. Theo R. Robert và cs (2001) [18], ấu trùng hàu *C. gigas* phát triển kém ($1,2-1,7 \mu\text{m/ngày}$) với chế độ ăn đơn loài *Tetraselmis suecica* cho đến khi đạt 140 μm , sau đó tăng trưởng được cải thiện ($6,4-8,0 \mu\text{m/ngày}$). Hơn nữa, M.M. Helm và cs (2004) [9] cho rằng, kích thước tảo ảnh hưởng đến khả năng bắt mồi, tiêu hóa của ấu trùng. Tảo *C. calcitrans* hay *T. pseudonana* thích hợp cho ấu trùng lớn hơn 55 μm trong khi *C. muelleri* thích hợp cho ấu trùng lớn hơn 90 μm . Trong nghiên cứu này, ương nuôi ấu trùng từ giai đoạn chữ D ($>68 \mu\text{m}$) sử dụng *N. oculata* ($1,5-2,0 \mu\text{m}$) và *I. galbana* ($3-4 \mu\text{m}$) đảm bảo cho ấu trùng có thể lọc và tiêu hóa tốt. Đặc biệt ở NT4, tảo *N. oculata* kích thước nhỏ được duy trì xuyên suốt thí nghiệm, những ấu trùng hàu chậm lớn hơn trong đàn có thể vẫn được cung cấp đầy đủ thức ăn có kích thước phù hợp để duy trì phát triển nên đạt tỷ lệ sống cao nhất. Tỷ lệ sống cao nhất nên mật độ ương nuôi ấu trùng ở NT4 cao hơn ($p < 0,05$) các NT khác trong suốt thời gian thí nghiệm có thể ảnh hưởng tới tốc độ tăng trưởng chậm hơn ở NT4 so với các NT2 và NT3. Mặt khác, NT5 không sử dụng *C. calcitrans*, tỷ lệ sống của ấu trùng đạt thấp nhất ($52,19 \pm 20,05\%$). Ngoài ra, R. Marshall và cs (2010) [5] thống kê tất cả các nghiệm cứu đạt tỷ lệ sống cao hơn 88% thì chế độ dinh dưỡng đều chứa *C. calcitrans* đơn đặc hiệu hoặc kết hợp với các loài tảo khác và tỷ lệ sống thấp dưới 50% thì chế độ dinh dưỡng hầu hết có chứa các loài Pavlova.

Trong sản xuất giống nhân tạo, tỷ lệ ấu trùng điểm mắt cũng là chỉ tiêu quan trọng đánh giá sự thành công sản xuất giống. Ấu trùng điểm mắt là ấu trùng ra chân bò, biến đổi hình thái và chuẩn bị kết thúc giai đoạn ấu trùng trôi nổi để

chuyển sang giai đoạn sống bám vào giá thể tới hết vòng đời. Tỷ lệ ấu trùng điểm mắt cao cho thấy ấu trùng phát triển đồng đều và con giống đạt chất lượng tốt. Ở nghiên cứu này, để đánh giá chính xác hơn, chúng tôi tiếp tục theo dõi ấu trùng bám giá thể sau khi kết thúc thí nghiệm. NT2, NT3 và NT4 vượt trội hơn so với NT1 và NT5 với tỷ lệ ấu trùng điểm mắt cao, tăng trưởng nhanh hơn, ấu trùng bắt đầu và kết thúc bám giá thể sớm hơn 2 ngày so với NT1 và NT5 (bảng 5 và bảng 6). NT3 có tốc độ tăng trưởng kích thước vỏ nhanh nhất, khác biệt ý nghĩa thống kê với NT4 và tỷ lệ ấu trùng điểm mắt cao, tỷ lệ sống cao tương đồng với NT2 và NT4. Vì vậy, nếu các nghiệm cứu không đặt mục tiêu cao ở khía cạnh tỷ lệ sống như trong lai tạo gia đình chọn giống tăng trưởng nhanh thì NT3 là chế độ dinh dưỡng tối ưu nhất, theo sau là NT2. Mặt khác, NT4 có tỷ lệ sống cao nhất ($83,28 \pm 9,14\%$), tỷ lệ ấu trùng điểm mắt tương đương và tốc độ tăng trưởng thấp hơn, khác biệt ý nghĩa thống kê với NT2 và NT3 cho thấy, NT4 nên được xem xét như là chế độ dinh dưỡng tối ưu trong các nghiệm cứu nâng cao tỷ lệ sống hoặc trong thực tiễn sản xuất giống thương mại nhằm nâng cao năng suất thu hoạch.

5. Kết luận

Điều kiện môi trường ương nuôi ấu trùng là trong khoảng thích hợp để bố trí thí nghiệm và sự phát triển của ấu trùng. Chế độ dinh dưỡng kết hợp các loài vi tảo *N. oculata*, *I. galbana* và *C. calcitrans* là phù hợp cho sản xuất giống hàu sữa. NT3 (*I. galbana* từ ngày 1-3 + *I. galbana* và *C. calcitrans* từ ngày 4-16) và NT2 (*N. oculata* và *I. galbana* từ ngày 1-3 + *I. galbana* và *C. calcitrans* từ ngày 4-16) là chế độ dinh dưỡng tối ưu nhất cho mục tiêu ương nuôi gia đình phục vụ chọn giống tăng trưởng nhanh. NT4 ($1/3 N. oculata + 1/3 I. galbana + 1/3 C. calcitrans$ từ ngày 1-16) có thể là chế độ dinh dưỡng thích hợp nhất cho thực tiễn sản xuất giống thương mại. Hàu sữa (*C. angulata*) tự nhiên Đài Loan (Trung Quốc) đáp ứng yêu cầu làm vật liệu ban đầu cho chương trình chọn giống. Từ kết quả trên, chúng tôi đề nghị tiếp tục mở rộng nghiên cứu ở quy mô sản xuất để đề xuất chế độ dinh dưỡng tối ưu nhất cho thực tiễn sản xuất giống hàu sữa trong tương lai.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] F.M. Batista, M.L. Sanmartin, A. Grade, et al. (2015), “Sequence variation in *Ostreid herpesvirus 1* microvar isolates detected in dying and asymptomatic *Crassostrea angulata* adults in the Iberian Peninsula: Insights into viral origin and spread”, *Aquaculture*, **435**, pp.43-51, DOI: 10.1016/j.aquaculture.2014.09.016.
- [2] S. Lapègue, S. Heurtebise, F. Cornette, et al. (2020), “Genetic characterisation of cupped oyster resources in Europe using informative single nucleotide polymorphism (SNP) panels”, *Genes*, **11**(4), DOI: 10.3390/genes11040451.
- [3] W. O'Connor, M. Dove, S. O'Connor, et al. (2019), *Enhancing Bivalve Production in Northern Vietnam and Australia, Final Report*, Australian Centre for International Agricultural Research FIS/2010/100.
- [4] B. Gjerde (2005), *Selection and Breeding Programs in Aquaculture*, Springer, DOI: 10.1007/1-4020-3342-7.
- [5] R. Marshall, S. McKinley, C.M. Pearce (2010), “Effects of nutrition on larval growth and survival in bivalves”, *Reviews in Aquaculture*, **2**(1), pp.33-55, DOI: 10.1111/j.1753-5131.2010.01022.x.
- [6] P. Cheng, C. Zhou, R. Chu, et al. (2020), “Effect of microalgae diet and culture system on the rearing of bivalve mollusks: Nutritional properties and potential cost improvements”, *Algal Research*, **51**, DOI: 10.1016/j.algal.2020.102076.
- [7] Z.S. Pinarbaş, M. Sayar, S.S. Türk, et al. (2023), “Effect of microalgae diets on growth, proximate and fatty acid composition of black mussel (*Mytilus galloprovincialis*)”, *Research Square*, **1**, pp.1-23, DOI: 10.21203/rs.3.rs-2911662/v1.
- [8] X. Huang, Z. Huang, W. Wen, et al. (2013), “Effects of nitrogen supplementation of the culture medium on the growth, total lipid content and fatty acid profiles of three microalgae (*Tetraselmis subcordiformis*, *Nannochloropsis oculata* and *Pavlova viridis*)”, *Journal of Applied Phycology*, **25**, pp.129-137, DOI: 10.1007/s10811-012-9846-9.
- [9] M.M. Helm, N. Bourne, A. Lovatelli (2004), “Hatchery operation: Culture of larvae basic methodology, feeding and nutrition, factors influencing growth and survival, and settlement and metamorphosis”, *Hatchery Culture of Bivalves. A Practical Manual. FAO Fish Technical Paper*, **471**, pp.59-83.
- [10] I. Laing (1991), *Cultivation of Marine Unicellular Algae*, Ministry of Agriculture, Fisheries and Food Conwy, **67**, 31pp.
- [11] D.R. Pesantes, C. Lodeiros, A. Márquez, et al. (2020), “Microalgal diet evaluation in the larval development and substrate selection for settlement in the rock oyster *Striostrea prismatica* (Gray, 1825)”, *Aquaculture Research*, **51**(12), pp.4938-4947, DOI: 10.1111/are.14831.
- [12] R. Gagné, R. Tremblay, F. Pernet, et al. (2010), “Lipid requirements of the scallop *Pecten maximus* (L.) during larval and post-larval development in relation to addition of *Rhodomonas salina* in diet”, *Aquaculture*, **309**(1-4), pp.212-221, DOI: 10.1016/j.aquaculture.2010.09.040.
- [13] M.A. Hurtado, M. Reza, A.M. Ibarra, et al. (2009), “Arachidonic acid (20:4n-6) effect on reproduction, immunology, and prostaglandin E2 levels in *Crassostrea corteziensis* (Hertlein, 1951)”, *Aquaculture*, **294**(3-4), pp.300-305, DOI: 10.1016/j.aquaculture.2009.06.009.
- [14] S. Hemaiswarya, R. Raja, R.R. Kumar, et al. (2011), “Microalgae: A sustainable feed source for aquaculture”, *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, **27**, pp.1737-1746, DOI: 10.1007/s11274-010-0632-z.
- [15] R.G. Araya, C. Mingant, B. Petton, et al. (2012), “Influence of diet assemblage on *Ostrea edulis* broodstock conditioning and subsequent larval development”, *Aquaculture*, **364**, pp.272-280, DOI: 10.1016/j.aquaculture.2012.08.036.
- [16] B.R. Villa, J.R.L. Coz, C. Mingant, et al. (2006), “Influence of phytoplankton diet mixtures on microalgae consumption, larval development and settlement of the Pacific oyster *Crassostrea gigas* (Thunberg)”, *Aquaculture*, **256**, pp.377-388, DOI: 10.1016/j.aquaculture.2006.02.015.
- [17] F. Sommer, H. Stibor, U. Sommer, et al. (2000), “Grazing by mesozooplankton from Kiel Bight, Baltic Sea, on different sized algae and natural seston size fractions”, *Marine Ecology Progress Series*, **199**, pp.43-53, DOI: 10.3354/meps199043.
- [18] R. Robert, G. Parisi, L. Rodolfi, et al. (2001), “Use of fresh and preserved *Tetraselmis suecica* for feeding *Crassostrea gigas* larvae”, *Aquaculture*, **192**(2-4), pp.333-346, DOI: 10.1016/S0044-8486(00)00456-7.