

ẢNH HƯỞNG CỦA CÁC LOẠI THỨC ĂN BỔ SUNG ĐẾN SINH TRƯỞNG VÀ TỶ LỆ SỐNG CỦA ẤU TRÙNG HÀU *CRASSOSTREA SP*

Ngô Thị Thu Thảo và Nguyễn Kiều Diễm¹

¹ Khoa Thủy sản, Trường Đại học Cần Thơ

Thông tin chung:

Ngày nhận: 10/6/2014

Ngày chấp nhận: 04/8/2014

Title:

Effects of feeding supplements on the growth and survival rate of oyster larvae *Crassostrea sp*

Từ khóa:

DHA, *Bacillus*, glucose, ấu trùng hàu, sinh trưởng, tỷ lệ sống

Keywords:

DHA, *Bacillus*, glucose, oyster larvae, growth, survival rate

ABSTRACT

Two experiments in this study were conducted to evaluate the effects of adding different supplements into the diet during larval rearing of oyster *Crassostrea sp*. In Experiment 1, D larvae were reared at stocking density of 5,000 ind./L with algal mixture of *Nannochloropsis oculata* and *Chaetoceros muelleri*, adding Lansy or DHA emulsions. After 10 days of experiment, larvae in treatment adding DHA obtained highest shell length (85.87 μm), survival rate (8.67%), metamorphosis rate (84.72%) and significantly higher than those from other treatments ($p < 0.05$). Experiment 2 was designed as experiment 1 however supplements with probiotics (*Bacillus subtilis* and *Lactobacillus acidophilus*) and glucose with concentration of 50 or 100 $\mu\text{g/L}$ was added into the water rearing. After 10 days of experiment, larvae in 50 $\mu\text{g/L}$ glucose and probiotic supplementation obtained highest shell length (81.6 μm), survival rate (8.33%) and metamorphosis rate (89%) and significantly difference with the other treatments ($p < 0.05$). Results from experiment show that algae mixture combined DHA or probiotics together glucose at concentration of 50 $\mu\text{g/L}$ could improve the growth, survival and metamorphosis of oyster larvae.

TÓM TẮT

Nghiên cứu này gồm có 2 thí nghiệm được thực hiện nhằm đánh giá ảnh hưởng của việc cho ăn các chất bổ sung khác nhau trong quá trình ương ấu trùng hàu *Crassostrea sp*. Trong thí nghiệm 1, ấu trùng chừ D được ương với mật độ 5.000 con/L, thức ăn là hỗn hợp tảo *Nannochloropsis oculata* + *Chaetoceros muelleri* và thức ăn bổ sung là Lansy và DHA. Sau 10 ngày thí nghiệm, ấu trùng được cho ăn bổ sung DHA đạt kết quả cao nhất về chiều dài (85,87 μm), tỉ lệ sống (8,67%), tỉ lệ biến thái (84,72%) và khác biệt so với các thí nghiệm thức khác ($p < 0,05$). Trong thí nghiệm 2, ấu trùng chừ D được bổ trí và cho ăn tảo giống như thí nghiệm 1, tuy nhiên có bổ sung chế phẩm sinh học (CPSH) chứa vi khuẩn *Bacillus subtilis* + *Lactobacillus acidophilus* (50 $\mu\text{g/L}$) hoặc kết hợp glucose với hàm lượng 50 và 100 $\mu\text{g/L}$. Sau 10 ngày thí nghiệm, ấu trùng ở thí nghiệm thức bổ sung 50 $\mu\text{g/L}$ glucose và CPSH đạt kết quả cao nhất về chiều dài (81,6 μm), tỉ lệ sống (8,33%), tỉ lệ biến thái (89%) và khác biệt so với các thí nghiệm thức khác ($p < 0,05$).

1 GIỚI THIỆU

Trong những năm gần đây, Việt Nam đã nghiên cứu sản xuất thành công giống hầu sông *Crassostrea rivularis*, hầu nước mặn *C. belcheri*, hầu ống *C. gigas*, giống hầu bằm đơn. Trong quá trình sản xuất giống hầu, giai đoạn ương nuôi từ ấu trùng chữ D đến sống bằm rất quan trọng vì nó quyết định sự thành công hay thất bại của trại giống. Trong thời gian này, ngoài việc kiểm soát chặt chẽ sự biến động của các yếu tố môi trường thì việc cung cấp thức ăn với thành phần và liều lượng phù hợp sẽ ảnh hưởng rất lớn đến tốc độ sinh trưởng, tỷ lệ chuyển giai đoạn và tỷ lệ sống của ấu trùng. Nghiên cứu sử dụng thức ăn nhân tạo phù hợp nhằm thay thế tảo đơn bào giúp giảm giá thành sản xuất tảo đồng thời chủ động và hạn chế sự lệ thuộc vào nuôi tảo đã được tiến hành từ nhiều năm trước đây. Nhiều nghiên cứu đã thực hiện nhằm thay thế tảo tươi như sử dụng tảo khô (Laing & Millican, 1992), tảo cô đặc bảo quản lạnh (Donalson, 1991; O'Connor & Nell, 1992), thức ăn nhân tạo chế biến với các thành phần như Acarin, lipid, carboxymethyl cellulose (CMC), hoặc kết hợp thành phần dinh dưỡng cần thiết như protein, lipid, carbohydrate, khoáng và vitamin (Jones *et al.*, 1984; Kreeger & Langdon, 1994). Vấn đề nghiên cứu tìm thức ăn thay thế tảo hoặc bổ sung thêm vào khẩu phần tảo vẫn đang được tiến hành nhằm tìm ra giải pháp tối ưu về thức ăn góp phần nâng cao hiệu quả sản xuất giống hầu.

2 PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Trong thí nghiệm 1, ấu trùng chữ D (24h sau khi trứng nở) được ương trong keo thủy tinh 10 lít, thể tích ương là 8 lít và mật độ là 5.000 con/L. Trước khi tiến hành thí nghiệm, ấu trùng được lọc và rửa sạch qua lưới có kích thước 30 µm. Thí nghiệm gồm có 4 nghiệm thức, mỗi nghiệm thức lặp lại 3 lần. Các nghiệm thức được cho ăn như sau: 1). Cho ăn 100% tảo *Nannochloropsis oculata* (Na); 2). Cho ăn tảo *N. oculata* trong 4 ngày đầu, sau đó cho ăn tảo *N. oculata* + *C. muelleri* theo tỉ lệ 50:50 (Na-Ch); 3). Cho ăn tảo giống như nghiệm thức 2, từ ngày thứ 4 bổ sung thêm Lansy (Na-Ch-La); 4). Cho ăn tảo giống như nghiệm thức 2, từ ngày thứ 4 bổ sung thêm DHA selco (Na-Ch-DHA).

Lượng thức ăn cho ăn: Trong 4 ngày đầu cho ăn tảo đơn bào *N. oculata* với mật độ duy trì là 20×10^3 tb/mL sau đó cho ăn tăng dần 10^3 tb/mL/ngày. Nghiệm thức 3 và 4 khi bổ sung DHA selco với liều lượng 50 µg/L và Lansy với liều lượng 100 µg/L thì giảm mật độ tảo bằng 1/2

nghiệm thức 1 và 2. Lansy được cã qua mắt lưới 20 µm để đảm bảo ấu trùng có thể lọc được thức ăn.

Hằng ngày ấu trùng hầu được cho ăn 2 lần vào 8 giờ sáng và 16 giờ chiều, hệ thống nuôi được thay nước 50% sau 1 ngày và thay hoàn toàn sau 2 ngày để duy trì chất lượng nước trong quá trình thí nghiệm. Các yếu tố môi trường như nhiệt độ, pH, NH_4^+ , NO_2^- được theo dõi hằng ngày kết hợp với định lượng ấu trùng.

Thí nghiệm 2 gồm có 4 nghiệm thức, mỗi nghiệm thức lặp lại 3 lần. Hầu trong tất cả các nghiệm thức được cho ăn hỗn hợp tảo *N. oculata* và *C. muelleri* tuy nhiên các chất bổ sung khác nhau là: 1). Đối chứng (Tảo); 2). Bổ sung chế phẩm sinh học (Tảo-Bac); 3). Bổ sung chế phẩm sinh học và glucose 50 µg/L (Tảo-Bac-Glu50); 4). Chế phẩm sinh học và glucose 100 µg/L (Tảo-Bac-Glu100).

Lượng thức ăn cho ăn: Mật độ tảo và cách cho ăn tương tự như thí nghiệm 1. Chế phẩm sinh học có mật độ vi khuẩn *Bacillus subtilis* là $1,5 \times 10^9$ CFU được bổ sung vào thời điểm cấy tảo với liều lượng 50 µg/L (mật độ vi khuẩn tương ứng là 10^7 CFU/mL). Glucose được bổ sung hằng ngày ở nghiệm thức 3 và 4 theo hàm lượng tương ứng là 50 và 100 µg/L.

Hằng ngày ấu trùng hầu được cho ăn 2 lần vào 8 giờ sáng và 16 giờ chiều, các bể nuôi được thay nước 50% sau 1 ngày và thay toàn bộ sau 2 ngày để duy trì chất lượng trong quá trình thí nghiệm. Các yếu tố môi trường như nhiệt độ, pH, NH_4^+ , NO_2^- được kiểm tra hằng ngày bằng bộ test SERA (sản xuất tại Đức) kết hợp định lượng ấu trùng. Việc định lượng ấu trùng được tiến hành mỗi 2 ngày 1 lần. Thực hiện quan sát và ghi nhận sự phát triển của ấu trùng, số cá thể chuyển giai đoạn và tỉ lệ chết trong mẫu quan sát đều được thực hiện dưới kính hiển vi quang học. Mẫu quan sát được cố định bằng dung dịch Lugol. Dùng trắc vi thị kính trên kính hiển vi để đo kích thước ấu trùng. Dùng buồng đếm Sedgwick-Rafter để đếm số ấu trùng có trong 1 mL mẫu nước sau đó tính được lượng ấu trùng trong thể tích nuôi.

Tỉ lệ sống của ấu trùng hầu ở thí nghiệm 1 và 2 được xác định theo công thức:

$$S = \frac{Sc}{Sđ} \times 100$$

Trong đó: S: tỷ lệ sống của hầu (%)

Sc: số hầu còn sống

Sđ: số hầu ban đầu

Sử dụng phần mềm Microsoft Excel để tính các giá trị trung bình, độ lệch chuẩn và vẽ đồ thị. Sử dụng phương pháp phân tích ANOVA trong SPSS 17.0 để so sánh thống kê các giá trị trung bình giữa các nghiệm thức ở mức $p < 0,05$.

3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Ảnh hưởng của việc bổ sung Lansy và DHA vào khẩu phần ăn của ấu trùng hàu

3.1.1 Các yếu tố môi trường

Biến động nhiệt độ giữa ngày và đêm trong suốt thời gian thí nghiệm từ 28 - 32°C. Nhìn chung

biên độ dao động nhiệt độ trong ngày lớn (3 - 4°C) nhưng vẫn nằm trong giới hạn cho phép sự phát triển bình thường của ấu trùng. Các nghiên cứu thực hiện trước đây cho thấy ở nhiệt độ 28°C ấu trùng hàu *C. rhizophorae* phát triển nhanh nhất và có tỉ lệ sống cao nhất (Lemos *et al.*, 1994) và nhiệt độ từ 26 - 28 °C thì thích hợp đối với ấu trùng hàu *C. rivularis* (Breesea & Malouf, 1997). Theo Choi (2008) ở nhiệt độ trên 27°C thì sau khoảng 10 ngày ấu trùng hàu sẽ chuyển sang giai đoạn sống bám và nếu ở mức 19 - 20°C thì khoảng hơn 20 ngày ấu trùng mới chuyển sang sống bám.

Bảng 1: Giá trị trung bình của các yếu tố môi trường trong các nghiệm thức

Chỉ tiêu	Nghiệm thức			
	1	2	3	4
	Na	Na-Ch	Na-Ch-La	Na-Ch-DHA
pH	8,03±0,12 ^a	8,05±0,11 ^a	8,03±0,13 ^a	8,04±0,08 ^a
NH ₄ ⁺ /NH ₃ (mg/L)	0,12±0,11 ^a	0,11±0,12 ^a	0,15±0,15 ^a	0,11±0,15 ^a
NO ₂ ⁻ (mg/L)	0,13±0,05 ^a	0,12±0,04 ^a	0,14±0,08 ^a	0,12±0,13 ^a
Độ kiềm (mg/L)	82,25±5,41 ^a	83,19±5,57 ^a	82,85±7,11 ^a	83,02±9,03 ^a

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

Giá trị pH dao động từ 7,9 - 8,3 và không có khác biệt giữa các nghiệm thức (Bảng 1). Theo Calabrese & Davis (1996) khoảng pH thích hợp cho ấu trùng hàu là từ 6,7 - 8,7. Ngoài tự nhiên, giá trị pH khảo sát ở khu vực hàu phát triển tốt từ 7,5 - 8,5 (Ngô Anh Tuấn *et al.*, 2008; Nguyễn Thúc Tuấn và Phạm Mỹ Dung, 2008; Lê Văn Hùng, 2008).

Nhìn chung hàm lượng NH₄⁺/NH₃ vào buổi chiều và tối (0,37 mg/L) cao hơn vào buổi sáng (0,10 mg/L) tuy nhiên không chênh lệch giữa các nghiệm thức. Hàm lượng nitrit cũng tăng vào buổi tối (0,47 mg/L) và giảm vào ban ngày (0,1 mg/L) và không có sự khác biệt giữa các nghiệm thức ($p > 0,05$). Boyd (1998) cho rằng hàm lượng NO₂-

trong nước nên thấp hơn 0,1 mg/L. Độ kiềm ổn định ở mức từ 79 - 83 mgCaCO₃/L và cũng không khác biệt giữa các nghiệm thức (Bảng 1).

3.1.2 Tỷ lệ biến thái, tỷ lệ sống và chiều dài của ấu trùng hàu

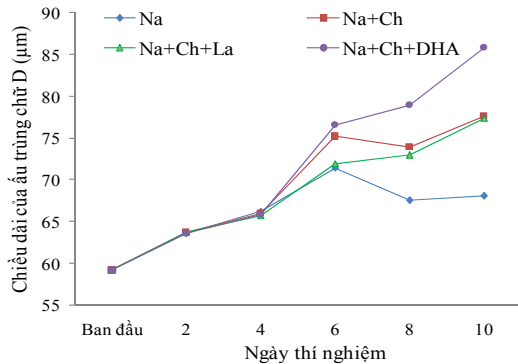
Tỷ lệ sống trung bình giai đoạn chữ D trong 4 ngày đầu thí nghiệm không có sự khác biệt giữa các nghiệm thức ($p > 0,05$). Bắt đầu từ ngày thứ 4 sau khi các loại thức ăn được bổ sung thì tỷ lệ sống của ấu trùng hàu giữa các nghiệm thức có sự khác biệt rất rõ ($p < 0,05$). Tỷ lệ sống trung bình của ấu trùng hàu đạt cao nhất (8,6%) ở nghiệm thức bổ sung DHA và thấp nhất ở nghiệm thức chỉ cho ăn tảo *N. oculata* (0,6%).

Bảng 2: Tỷ lệ sống và tỉ lệ chuyển giai đoạn của ấu trùng

Chỉ tiêu	Ngày	Nghiệm thức			
		Na	Na+Ch	Na+Ch+La	Na+Ch+DHA
Tỉ lệ sống (%)	1	100	100	100	100
	2	91,0±1,0 ^a	90,6±2,0 ^a	91,0±1,0 ^a	93,3±2,0 ^a
	4	58,6±3,2 ^a	61,6±2,8 ^a	59,0±3,6 ^a	59,6±3,7 ^a
	6	31,6±2,5 ^a	44,0±1,7 ^{bc}	38,3±3,0 ^b	46,0±1,7 ^{cd}
	8	11,0±1,7 ^a	16,6±1,1 ^{bc}	15,3±0,5 ^b	19,0±1,0 ^{cd}
	10	0,6±0,5 ^a	5,3±1,1 ^c	4,6±0,5 ^b	8,6±0,5 ^d
Tỷ lệ chuyển giai đoạn (%)	6	5,3±2,1 ^a	26,4±4,0 ^b	28,7±2,9 ^b	31,9±1,2 ^b
	8	21,7±7,4 ^a	59,7±8,6 ^b	65,2±7,0 ^b	79,1±7,9 ^a
	10	0	44,4±9,6 ^a	56,6±5,7 ^b	84,7±6,0 ^c

Các giá trị trong cùng một hàng có chữ cái giống nhau thì khác biệt không ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Kết quả thí nghiệm cho thấy các loại thức ăn bổ sung có ảnh hưởng rất lớn đến tỷ lệ chuyển giai đoạn của ấu trùng hàu ($p < 0,05$). Tỷ lệ ấu trùng chuyển sang giai đoạn đỉnh vỏ lõi đạt cao nhất khi bổ sung DHA (84,7%), kế đến là bổ sung Lansy (56,6%) và thấp nhất khi cho ăn với chỉ một loài tảo (Bảng 2).



Hình 1: Chiều dài của ấu trùng theo thời gian thí nghiệm

Ở nghiệm thức bổ sung DHA chiều dài của ấu trùng tăng nhanh bắt đầu từ ngày thứ 4 so với các nghiệm thức khác. Kết quả thống kê cho thấy chiều

dài của ấu trùng hàu vào ngày thứ 10 có sự khác biệt giữa các nghiệm thức ($p < 0,05$) trong đó cao nhất khi cho ăn kết hợp 2 loài tảo với DHA (85,8 µm), kế tiếp là cho ăn 2 loài tảo (77,6 µm) hoặc bổ sung thêm Lansy (77,4 µm) và thấp nhất là cho ăn chỉ với tảo *Nannochloropsis* (68,0 µm). Chiều dài trung bình của ấu trùng ở nghiệm thức cho ăn đơn hoặc 2 loài tảo giảm nhẹ vào ngày thứ 8 là do số ấu trùng sau biến thái chết từ 63-82% (Bảng 3).

Khẩu phần ăn bao gồm hai loài tảo và DHA selco cho kết quả ấu trùng tăng trưởng nhanh nhất, có tỷ lệ sống và tỷ lệ biến thái cao nhất. Một nghiên cứu mới của Pettersen *et al.* (2010) trên loài trai *Mytilus galloprovincialis* đã kết luận rằng, bổ sung DHA selco trong khẩu phần ăn hằng ngày có tác dụng tăng tỷ lệ sống và biến thái của ấu trùng. Khi khẩu phần ăn bao gồm tảo và acid béo cần thiết (DHA hoặc EPA) thì ấu trùng tăng trưởng nhanh hơn và tỷ lệ sống sẽ cao hơn so với chỉ cho ăn tảo (Bernsson *et al.*, 1997). DHA được bổ sung hằng ngày cho ấu trùng thì sẽ tăng tỷ lệ sống của ấu trùng đến giai đoạn sống bám, đồng thời cũng cải thiện chất lượng ấu trùng và con giống (Rivara & Patricio, 2010; Nevejan *et al.*, 2003; Koueta *et al.*, 2002).

Bảng 3: Chiều dài của ấu trùng trong thời gian thí nghiệm (µm)

Ngày	Nghiệm thức			
	Na	Na-Ch	Na-Ch-La	Na-Ch-DHA
1	59,2±0,7 ^a	59,2±0,7 ^a	59,2±0,7 ^a	59,2±0,7 ^a
2	63,5±1,0 ^a	63,6±0,9 ^a	63,7±1,0 ^a	63,6±0,9 ^a
4	66,2±0,9 ^a	66,0±0,7 ^a	65,7±0,7 ^a	65,8±0,9 ^a
6	71,4±2,7 ^a	75,2±5,3 ^b	71,9±4,8 ^a	76,6±2,9 ^b
8	67,5±3,7 ^a	73,9±5,1 ^b	72,9±3,9 ^b	79,0±4,9 ^c
10	68,0±4,9 ^a	77,6±4,5 ^b	77,4±3,6 ^b	85,8±2,5 ^c

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

Khẩu phần ăn chỉ với 1 loài tảo *N. oculata* cho thấy không cung cấp đủ thành phần dinh dưỡng cần thiết cho ấu trùng dẫn đến ấu trùng tăng trưởng chậm, tỷ lệ biến thái và tỷ lệ sống thấp. Hiệu quả của việc kết hợp từ 2 loài tảo trở lên trong khẩu phần ăn của ấu trùng đã được nhiều tác giả chứng minh trên loài hàu và một số loài động vật thân mềm khác. Ngô Anh Tuấn (2003) cho rằng sử dụng kết hợp tảo *N. oculata* và *Tetraselmis* sp. để ương nuôi ấu trùng điệp seo (*Comptopallium radula*) cho kết quả tốt hơn so với dùng tảo đơn loài cụ thể là thời gian biến thái nhanh hơn (15 ngày), tốc độ tăng trưởng cao hơn (7,4 ± 0,6 µm/ngày) và cho tỷ lệ sống cao nhất (18,7%). Đặng Diễm Hồng *et al.* (2005) nghiên cứu sinh sản nhân tạo ấu trùng Bền Tre *Meretrix lyrata* sử dụng kết hợp

nhiều loài vi tảo như *C. gracilis*, *Isochrysis galbana*, *N. oculata*, *Tetraselmis chuii* làm thức ăn cho kết quả tỷ lệ sống của ấu trùng ấu trùng tăng lên từ 10 đến 25%. Theo Liu *et al.* (2009) nghiên cứu sử dụng các loài tảo trong ương nuôi ấu trùng và sò giống *Clinocardium nuttallii* nhận định rằng tảo *C. muelleri* vẫn đảm bảo về mặt dinh dưỡng khi cho ăn đơn loài, nhưng với tảo *Pavlova lutheri*, *Isochrysis* sp. và *Thalassiosira pseudonana* nếu cho ăn kết hợp thì sò huyết phát triển tốt nhất và tỷ lệ sống cao nhất.

Sử dụng Lansy thay thế 50% lượng tảo trong khẩu phần ăn hằng ngày thì có thể nâng cao tỷ lệ chuyển giai đoạn nhưng lại giảm tỷ lệ sống và ấu trùng tăng trưởng chậm. Bastien (2006) cho rằng

ấu trùng động vật thân mềm sẽ tăng trưởng chậm hơn và tỉ lệ chết tăng lên khi trong khẩu phần ăn không có tảo tươi sống. Nếu khẩu phần ăn được thay thế hoàn toàn bằng thức ăn nhân tạo giàu protein thì mức tăng trưởng cũng chỉ bằng 60 - 70% so với khẩu phần ăn là tảo (Coutteau & Sorgeloos, 1992). Nghiên cứu của Enes & Borges (2003) trên loài *Tapes decussatus* giai đoạn giống (chiều dài từ 4 - 5mm) cũng cho kết quả tương tự, mức tăng trưởng khi cho ăn thức ăn nhân tạo chỉ bằng 20 - 40% so với cho ăn 100% vi tảo.

Nhiệt độ cao (từ 28 - 32°C) là điều kiện thuận lợi để ấu trùng rút ngắn thời gian biến thái, nhưng đồng thời cũng có thể thuận lợi cho *Vibrio* sp. phát triển và gây bệnh trên ấu trùng hàu. Trong báo cáo tổng kết về bệnh động vật thân mềm của Friedrich (2004) và kết quả nghiên cứu trên loài *Ostrea edulis* trong trại giống của Lodeiros *et al.* (2003), các tác giả cũng kết luận rằng nguyên nhân gây chết hàng loạt ấu trùng động vật thân mềm trong trại giống là do *Vibrio* sp. Khi nhiệt độ tăng lên vào mùa xuân từ 26 - 29°C thì *Vibrio* sp. bắt đầu gây bệnh hoại tử mô và gây tử vong lớn (>80%) trên ấu

trùng *C. gigas*, *Ostrea edulis* và một số loài động vật thân mềm khác. *Vibrio* sp. có trong tuyến sinh dục của con bố mẹ và nhiễm sang ấu trùng, gây tử vong hàng loạt trên ấu trùng khi nhiệt độ cao. Sự có mặt của *Vibrio* sp. trong môi trường nước sẽ làm giảm tốc độ lột xác của ấu trùng.

3.2 Ảnh hưởng kết hợp chế phẩm sinh học và glucose đến tỷ lệ sống và chiều dài của ấu trùng hàu

3.2.1 Các yếu tố môi trường

Trong quá trình thí nghiệm biến động nhiệt độ giữa ngày và đêm từ 27 - 32°C, nói chung tương đối ổn định và nằm trong giới hạn cho phép. Hàm lượng NH₄⁺/NH₃ không chênh lệch giữa các nghiệm thức. Hàm lượng NH₄⁺/NH₃ tăng lên trong 12 giờ đầu và giảm xuống từ giữa chu kỳ thay nước. Hàm lượng nitrit cũng tăng vào buổi tối (0,1 - 0,27 mg/L) và giảm vào buổi sáng (0,01 - 0,1 mg/L). Hàm lượng nitrit có xu hướng tăng vào cuối chu kỳ thay nước và cũng không có sự chênh lệch giữa các nghiệm thức. Giá trị trung bình của các yếu tố môi trường không có sự khác biệt giữa các nghiệm thức thí nghiệm (Bảng 4).

Bảng 4: Một số yếu tố môi trường trong hệ thống thí nghiệm

Chỉ tiêu	Nghiệm thức			
	Tảo	Tảo-Bac	Tảo-Bac-Glu50	Tảo-Bac-Glu100
pH	8,05±0,22 ^a	8,02±0,14 ^a	8,04±0,12 ^a	8,04±0,15 ^a
NH ₄ ⁺ /NH ₃ (mg/L)	0,11±0,02 ^a	0,11±0,03 ^a	0,12±0,03 ^a	0,10±0,02 ^a
NO ₂ ⁻ (mg/L)	0,09±0,07 ^a	0,10±0,10 ^a	0,12±0,07 ^a	0,11±0,08 ^a
Độ kiềm (mg/L)	82,52±5,45 ^a	83,24±5,12 ^a	82,55±7,01 ^a	83,22±7,13 ^a

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

3.2.2 Tỷ lệ biến thái, tỷ lệ sống và chiều dài của ấu trùng hàu

Tỉ lệ sống của ấu trùng đến ngày thứ 10 đạt cao nhất ở nghiệm thức 3 (8,3%) và thấp nhất ở nghiệm thức 4 (1,0%). Kết quả thống kê cho thấy khác biệt có ý nghĩa ($p < 0,05$) về tỉ lệ sống của ấu trùng giữa các nghiệm thức vào ngày thứ 8 và ngày thứ 10 (Bảng 5).

Tỉ lệ ấu trùng chữ D chuyển sang giai đoạn đĩnh vỏ lõi đạt cao nhất ở nghiệm thức 3 (89,0%), kế đến là nghiệm thức 2 (71,6%) và thấp nhất là nghiệm thức 4 (0%). Ở nghiệm thức 2 và 3 tỉ lệ ấu trùng chuyển giai đoạn tăng nhanh từ ngày thứ 8

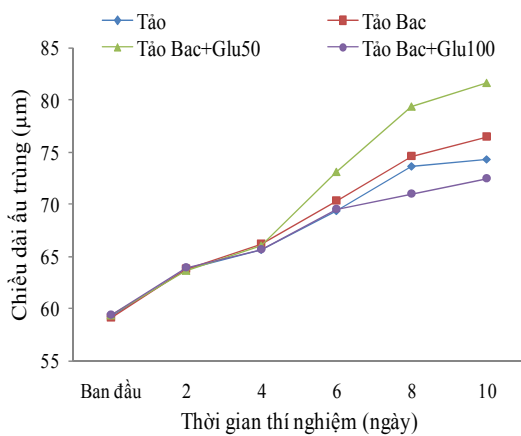
đến ngày thứ 10 (29 đến 71% và 38 đến 89%) trong khi đạt thấp ở nghiệm thức cho ăn tảo đơn thuần (30 - 32%). Điều đặc biệt là vào ngày thứ 10 ấu trùng đĩnh vỏ lõi không xuất hiện ở nghiệm thức cho ăn bổ sung glucose 100 µg/L (Bảng 5).

Ở nghiệm thức 3 tăng trưởng của ấu trùng giai đoạn chữ D và giai đoạn đĩnh vỏ nhanh hơn so với các nghiệm thức khác bắt đầu từ ngày thứ 4 (Hình 2). Chiều dài trung bình vào ngày thứ 10 của ấu trùng ở nghiệm thức 3 (81,60 µm), đạt cao hơn so với các nghiệm thức còn lại (Bảng 6). Không có sự khác biệt về chiều dài của ấu trùng cho ăn tảo và cho ăn tảo bổ sung *Bacillus* ($p > 0,05$).

Bảng 5: Tỷ lệ sống và tỷ lệ chuyển giai đoạn của ấu trùng

	Ngày	Thí nghiệm			
		Tảo	Tảo-Bac	Tảo-Bac-Glu50	Tảo-Bac-Glu100
Tỷ lệ sống (%)	0	100	100	100	100
	2	91,0 ± 3,6 ^a	91,0 ± 1,0 ^a	88,3 ± 2,5 ^a	90,0 ± 2,6 ^a
	4	73,6 ± 3,2 ^a	79,6 ± 2,5 ^a	81,3 ± 6,1 ^a	79,0 ± 2,6 ^a
	6	47,3 ± 3,0 ^a	51,3 ± 2,0 ^a	55,0 ± 5,0 ^a	49,3 ± 1,5 ^a
	8	22,0 ± 2,0 ^a	28,0 ± 2,6 ^{ab}	30,6 ± 2,0 ^{bc}	24,6 ± 2,5 ^{ab}
	10	4,0 ± 1,0 ^b	4,6 ± 0,5 ^b	8,3 ± 1,5 ^c	1,0 ± 1,0 ^a
Tỷ lệ chuyển giai đoạn (%)	6	9,2 ± 3,2 ^a	12,3 ± 2,7 ^{ab}	18,3 ± 3,5 ^{bc}	9,4 ± 1,4 ^{ab}
	8	30,0 ± 4,4 ^{ab}	29,8 ± 0,8 ^{ab}	38,4 ± 9,1 ^{bc}	21,5 ± 5,0 ^a
	10	32,7 ± 7,5 ^a	71,6 ± 10,4 ^b	89,0 ± 10,1 ^b	0

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



Hình 2: Tăng trưởng của ấu trùng theo thời gian thí nghiệm

Ấu trùng hàu có tỷ lệ sống cao hơn, tăng trưởng tốt hơn và tỷ lệ biến thái cao khi có sự hiện diện của *Bacillus* trong môi trường ương. Douillet & Langdon (1993) cung cấp vi khuẩn vào khẩu phần ăn của ấu trùng *C. gigas* thì tỷ lệ sống tăng lên từ 21 - 22% và cải thiện từ 16 - 21% mức tăng trưởng

so với khẩu phần tảo thông thường. Ấu trùng hàu có khả năng tiêu hóa mạnh mẽ vi khuẩn với số lượng từ $1,5 \times 10^6$ - 1×10^7 tế bào vi khuẩn/cá thể trong 15 phút (Philippe, 1993). Hiệu quả của việc bổ sung *Bacillus* sp. trong ương nuôi hàu giống và của các loài động vật thân mềm khác cũng được chứng minh bởi nhiều tác giả. Campa-Cordova *et al.* (2009) cho rằng tỷ lệ sống và tốc độ tăng trưởng của ấu giống *C. corteziensis* được cải thiện là do có bổ sung chế phẩm sinh học trong khẩu phần ăn. Ngô Thị Thảo và Phạm Thị Tuyết Ngân (2011) bổ sung *Bacillus* sp. vào môi trường ương ấu trùng ốc hương cho thấy tác dụng kích thích tăng trưởng, nâng cao tỷ lệ sống và tỷ lệ biến thái của ấu trùng. Macey & Coyne (2005) cho rằng bổ sung chế phẩm sinh học trong khẩu phần ăn có tác dụng nâng cao tỷ lệ sống và tăng trưởng của ấu trùng bào ngư. Bên cạnh tác động cải thiện chất lượng nước, hạn chế sự phát triển của các nhóm vi khuẩn có hại, việc bổ sung vi khuẩn *Bacillus* có thể đã làm tăng thêm nguồn thức ăn cho ấu trùng hàu. Nguồn thức ăn này góp phần làm cho ấu trùng sinh trưởng, chuyển đổi giai đoạn và đạt tỷ lệ sống tốt hơn so với đối chứng.

Bảng 6: Chiều dài của ấu trùng theo thời gian thí nghiệm (µm)

Ngày	Thí nghiệm			
	Tảo	Tảo-Bac	Tảo-Bac-Glu50	Tảo-Bac-Glu100
0	59,20 ± 0,67 ^a	59,13 ± 0,83 ^a	59,33 ± 0,90 ^a	59,40 ± 0,82 ^a
2	63,73 ± 1,03 ^a	63,73 ± 0,96 ^a	63,66 ± 0,90 ^a	63,86 ± 1,12 ^a
4	65,60 ± 0,63 ^a	66,20 ± 0,86 ^b	66,06 ± 0,88 ^{ab}	65,66 ± 0,48 ^{ab}
6	69,33 ± 3,13 ^a	70,26 ± 4,13 ^a	73,06 ± 4,18 ^b	69,46 ± 3,52 ^a
8	73,66 ± 5,32 ^a	74,60 ± 5,48 ^a	79,40 ± 4,48 ^b	71,00 ± 3,94 ^a
10	74,33 ± 4,45 ^{ab}	76,40 ± 4,95 ^b	81,60 ± 3,26 ^c	72,46 ± 1,68 ^a

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

Khi môi trường nước có hàm lượng glucose cao (nguồn carbon hữu cơ cao) có thể sẽ tạo điều kiện thuận lợi cho sự phát triển của vi khuẩn dị dưỡng

(Cvitkovitch *et al.*, 1995; Friedrich & Greenberg, 1983). Khi mật độ vi khuẩn tổng trên 10^7 CFU/mL sẽ có hại cho sinh vật nuôi (Anderson, 1993). Theo

Deckera & Saulniera (2011) vào mùa nóng, khi nhiệt độ nước đạt từ 24 - 26°C, tỉ lệ hầu giống chết do nhiễm *Vibrio* sp. cao và tử vong 100% trong thời gian từ 2 - 16 ngày. Vì vậy, với nhiệt độ nước từ 27 - 32°C trong quá trình thí nghiệm có thể đã tạo điều kiện cho vi khuẩn *Vibrio* phát triển, dẫn đến tỉ lệ chết cao và tỉ lệ biến thái thấp ở nghiệm thức có bổ sung glucose với liều lượng 100 µg/L. Khi bị nhiễm *V. splendidus* mật độ từ 10^4 - 10^8 CFU/cá thể có thể gây chết hầu giống *C. gigas* (Lacoste *et al.*, 2001). Độc tố do *Vibrio* sp. tiết ra sẽ phá vỡ tế bào và chặn đứng quá trình tiêu hóa của ấu trùng hầu (Nicolas *et al.* 1996). Anguiano-Beltrán *et al.* (2004) cho rằng ấu trùng *Mytilus galloprovincialis* bị biến dạng 89% khi gây cảm nhiễm 48 giờ với *V. alginolyticus* với mật độ $>10^5$ CFU/mL.

4 KẾT LUẬN

Tỉ lệ sống (8,67%) và tỉ lệ biến thái (84,72%) của ấu trùng hầu đạt cao nhất khi cho ăn kết hợp 2 loài tảo *N. oculata* + *C. mulleri* với DHA selco liều lượng 50 µg/L.

Chiều dài trung bình của ấu trùng vào ngày thứ 10 đạt cao nhất (85,87 µm) khi cho ăn kết hợp 2 loài tảo *N. oculata* + *C. mulleri* với DHA selco liều lượng 50 µg/L.

Tỉ lệ sống (8,3%), tỷ lệ biến thái (81,6%) và chiều dài trung bình (81,6 µm) của ấu trùng vào ngày thứ 10 đạt cao nhất khi cho ăn tảo *N. oculata* và *C. mulleri* bổ sung *Bacillus subtilis* và glucose với liều lượng 50 µg/L.

5 ĐỀ XUẤT

Có thể ứng dụng kết quả nghiên cứu này trong ương nuôi ấu trùng động vật thân mềm 2 mảnh vỏ.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Anguiano-Beltrán, C.A., M.L.L. Partida and R.S. Bernal, 2004. Effect of *Vibrio alginolyticus* on larval survival of the blue mussel *Mytilus galloprovincialis*. Diseases of aquatic organisms. Dis Aquat Org. Vol. 59: 119-123.
2. Bastien, A., 2006. Why live microalgae are better than non-living substitutes for aquaculture feeding?. Université du Québec à Rimouski - Institut des sciences de la mer 310, allée des Ursulines, Rimouski, QC G5L 3A1, Canada: 2p.
3. Bernsson, K.M., P.R. Jonsson, S.A. W'ingberg and A.S. Carlsson, 1997. Effects

of broodstock diets on fatty acid composition, survival and growth rates in larvae of the European flat oyster, *Ostrea edulis*. Aquaculture 154: 139-153.

4. Boyd, C.E., 1998. Water quality in pond in aquaculture. Department of Fisheries and Applied Aquaculture Auburn University Alabama 36849 USA.
5. Breesea, W.P. and R.E. Malouf, 1997. Hatchery rearing techniques for the oyster *Crassostrea rivularis* Gould. Aquaculture, Volume 12, Issue 2: 123-126.
6. Calabrese, A. and H.D. Davis, 1996. The pH tolerance of embryos and larvae of *Mercenaria mercenaria* and *Crassostrea virginica*. Biol Bull 131: 427-436.
7. Choi, K.S. 2008. Oyster capture-based aquaculture in the Republic of Korea. In A. Lovatelli and P.F. Holthus (eds). Capture-based aquaculture. Global overview. FAO Fisheries Technical Paper. No. 508. Rome, FAO: 271-286.
8. Coutteau, P. and Sorgeloos, P. 1992. The use of algal substitutes and the requirement for live algae in the hatchery and nursery rearing of bivalve molluscs: an international survey. Journal of Shellfish Research, Vol 11, No 2: 467-476.
9. Cvitkovitch, D.G., D.A. Boyd, and I.R. Hamilton, 1995. Regulation of sugar transport via the multiple sugar metabolism operon of *Streptococcus mutans* by the phosphoenolpyruvate phosphotransferase system. Journal of bacteriology, Vol. 177, No. 19: 5704-5706.
10. Đặng Diễm Hồng, Hoàng Sỹ Nam và Ngô Thị Hoài Thu, 2005. Sử dụng một số loại vi tảo giàu dinh dưỡng trong sinh sản nhân tạo ngao Bến Tre *Meretrix lyrata* (Sowerby, 1851). Tuyển tập báo cáo khoa học hội thảo động vật thân mềm toàn quốc lần thứ năm, 2008. Nhà xuất bản Nông nghiệp, Hà Nội: 175-184.
11. Deckera, S.D. and D. Saulniera, 2011. Vibriosis induced by experimental cohabitation in *Crassostrea gigas*: Evidence of early infection and down-expression of immune-related genes. Fish & Shellfish Immunology, Volume 30, Issue 2: 691-699.
12. Douillet, P.A., Langdon C.J. 1993. Effects of marine bacteria on the culture of axenic

- oyster *Crassostrea gigas* (Thunberg) larvae. Biol Bull 184: 36–51.
13. Enes, P. and M.T. Borges. 2003. Evaluating of microalgae and industrial cheese whey as diets for *Tapes decussates* (L.) seed: effects on water quality, growth, survival, condition and filtration rate. Aquaculture research, 34: 299-309.
 14. Friedrich, W. F. and E. P. Greenberg. 1983. Glucose repression of luminescence and luciferase in *Vibrio fischeri*. Archives of microbiology. Volume 134, Number 2: 87-91.
 15. Gordon, N., A. Neori, M. Shpigel, J. Lee and S. Harpaz, 2006. Effect of diatom diets on growth and survival of the abalone *Haliotis discus hannai* postlarvae. Aquaculture 252: 225-233.
 16. Jones, D.A., D.L. Holland and S. Jabborie, 1984. Current status of microencapsulated diets for aquaculture. Applied biochemistry and biotechnology, Volume 10, Numbers 1-3: 275-288.
 17. Koueta, N., E. Boucaud-Camou and B. Noel, 2002. Effect of enriched natural diet on survival and growth of juvenile cuttlefish *Sepia officinalis* (L.). Aquaculture 203: 293–310.
 18. Kreeger, D. A. and C. J. Langdon, 1994. Digestion and assimilation of protein by *Mytilus trossulus* (Bivalvia: Mollusca) fed mixed carbohydrate/protein microcapsules. Marine Biology 118: 479-488.
 19. Lacoste, A., F. Jalabert, S. Malham, A. Cueff, F. Gélébart, C. Cordevant, M. Lange and S.A. Poulet, 2001. A *Vibrio splendidus* strain is associated with summer mortality of juvenile oysters *Crassostrea gigas* in the Bay of Morlaix (North Brittany, France). Diseases of aquatic organisms. Vol. 46: 139–145.
 20. Laing, I. and P.F. Millican, 1992. Indoor nursery cultivation of juvenile bivalve mollusks using diets of dried algae. Aquaculture, 102(3): 231-243.
 21. Lê Văn Hùng, 2008. Nuôi hàu (*Crassostrea* sp.) góp phần xóa đói giảm nghèo ở Đầm Thị Nại - tỉnh Bình Định. Tuyển tập báo cáo khoa học hội thảo động vật thân mềm toàn quốc lần thứ 5. Nhà xuất bản Nông nghiệp, Hà Nội: 384-390.
 22. Lemos, M.B.N., I.A. Nascimento, M.M.S.D. Araujo, S.A. Pereira, I. Bahia and D.H. Smith, 1994. The combined effects of salinity, temperature, antibiotic and aeration on larval growth and survival of the mangrove oyster, *Crassostrea rhizophorae*. Journal of Shellfish Research, Volume: 13, Issue 1: 187-192.
 23. Liu, W., C.M. Pearce, A.O. Alabi and H. Gurney-Smith, 2009. Effects of microalgal diets on the growth and survival of larvae and post-larvae of the basket cockle, *Clinocardium nuttallii*. Aquaculture 293: 248–254.
 24. Lodeiros, C., J. Bolinches, C.P. Dopazo and A.E. Toranzo, 2003. Bacillary necrosis in hatcheries of *Ostrea edulis* in Spain. Aquaculture, Volume 65, Issue 1: 15-29.
 25. Macey, B.M. and V.E. Coyne, 2005. Improved growth rate and disease resistance in farmed *Haliotis midae* through probiotic treatment. Aquaculture. Volume 245. Issues 1-4: 249-261.
 26. Nevejan, N., I. Saez, G. Gajardo and P. Sorgeloos, 2003. Supplementation of EPA and DHA emulsions to a *Dunaliella tertiolecta* diet: effect on growth and lipid composition of scallop larvae, *Argopecten purpuratus* (Lamarck, 1819). Aquaculture 217: 613–632.
 27. Ngô Anh Tuấn, 2003. Ảnh hưởng của thức ăn lên sinh trưởng và tỉ lệ sống của ấu trùng điệp seo (*Comptopallium radula*, Linné, 1758). Tuyển tập báo cáo khoa học hội thảo động vật thân mềm toàn quốc lần thứ ba. Nhà xuất bản Nông nghiệp, thành phố Hồ Chí Minh: 210-219.
 28. Ngô Anh Tuấn, Vũ Trọng Đại, Châu Văn Thanh, Nguyễn Đăng Nhân, 2008. Kết quả nuôi thử nghiệm hàu *Crassostrea belcheri* Sowerby, 1871 tại khu vực cửa sông Chà Và tỉnh Bà Rịa – Vũng Tàu. Tuyển tập báo cáo khoa học hội thảo động vật thân mềm toàn quốc lần thứ năm. NXB Nông nghiệp, Hà Nội: 288-300.
 29. Ngô Thị Thu Thảo và Phạm Thị Tuyết Ngân, 2011. Ảnh hưởng của việc bổ sung các loại chế phẩm sinh học chứa *Bacillus* trong ương nuôi ấu trùng ốc hương (*Babylonia areolata*). Kỷ yếu Hội nghị Khoa học Thủy sản lần 4, Trường Đại học

- Cần Thơ. Nhà xuất bản Nông nghiệp, thành phố Hồ Chí Minh: 55-64.
30. Nguyễn Thức Tuấn và Phạm Mỹ Dung, 2008. Một số kết quả nuôi ghép hàu cửa sông (*Crassostrea rivularis*) trong ao nuôi tôm sú (*Peneus monodon*) công nghiệp. Tuyển tập báo cáo khoa học hội thảo động vật thân mềm toàn quốc lần thứ năm. Nhà xuất bản Nông nghiệp, Hà Nội: 366-374.
 31. Nicolas, J.L., S. Corre, G. Gauthier, R. Robert, D. Ansquer, 1996. Bacterial problems associated with scallop *Pecten maximus* larval culture. Dis Aquat Org 27: 67-76.
 32. O'Connor, W.A., J.A. Nell, 1992. The potential of alga concentrates for the production of Australian bivalves. In: Allan, G.L., Dall, W., (eds.), Proc. Aquaculture Nutrition Workshop, Salamander Bay, April 1991. Brackishwater Fish Culture Station, 200-201.
 33. Philippe D., 1993. Bacterivory in Pacific oyster *Crassostrea gigas* larvae. Marine ecology progress series. Mar. Ecol. Prog. Ser. Vol. 98: 123-134.
 34. Rivara, G. and R.M. Patricio, 2010. Lipid Enrichment of Eastern Oyster Broodstock Using Commercially Available Emulsions. NRAC Publication No. 204-2010.
 35. Southgate, P.C., P.S. Lee and J.A. Nel, 1992. Preliminary assessment of a microencapsulated diet for larval culture of the Sydney rock oyster, *Saccostrea commercialis* (Iredale & Roughley). Aquaculture, Volume 105, Issues 3-4: 345-352.