



DOI:10.22144/ctu.jvn.2019.078

ẢNH HƯỞNG CỦA TẢO VÀ MẬT ĐỘ ƯƠNG LÊN TỶ LỆ SỐNG VÀ TĂNG TRƯỞNG CỦA ẤU TRÙNG CẦU GAI ĐEN *Diadema setosum* (LESKE, 1778)

Hứa Thái Nhân*, Trương Quỳnh Như, Phạm Minh Đức và Trần Ngọc Hải

Khoa Thủy sản, Trường Đại học Cần Thơ

*Người chịu trách nhiệm về bài viết: Hứa Thái Nhân (email: htphan@ctu.edu.vn)

Thông tin chung:

Ngày nhận bài: 04/08/2018

Ngày nhận bài sửa: 07/09/2018

Ngày duyệt đăng: 28/06/2019

Title:

Effects of different microalgae and larval rearing densities on growth and survival rate of black sea urchin *Diadema setosum* (Leske, 1778)

Từ khóa:

Ấu trùng cầu gai đen, *Diadema setosum*, mật độ ương, tăng trưởng, tảo khác nhau, tỷ lệ sống

Keywords:

Black sea urchin, *Diadema setosum*, growth rate, microalgal, rearing density, seed production, survival rate

ABSTRACT

This study was conducted to determine the optimum microalgal species and rearing density for black sea urchin's larvae (*Diadema setosum*). In the first experiment, larvae (2.0 larvae/mL) were fed with four different mixtures of algae [*Nannochloropsis oculata* and *Chaetoceros gracillis* (N+C); *N. oculata* and *Thalassiosira sp.* (N+T); *Thalassiosira sp.* and *C. gracillis* (T+C); *N. oculata*, *Thalassiosira sp.*, and *C. gracillis* (N+T+C)] for 25 days. The results showed that the highest survival rate (60±1.5%) was found for those larvae fed with mixture of the N+T+C. Similarly, the highest growth rate in total body length (TBL), mid-body length (MBL) and body width (BD) were also found for those larvae fed with N+T+C. For the second experiment, four different rearing densities of 0.5, 1.0, 2.0 and 4.0 larvae/mL were conducted. The larvae were fed with mixture of N+T+C (1:1:1). After 25 days, the highest survival rate (SR) was found in the treatment of 0.5 larvae/mL (62±2.0%) and the lowest SR was 9.0% for treatment of 4.0 larvae/mL. There was no significantly difference in the TBL, MBL and BD of those larvae rearing at the density of 0.5, 1.0 and 2.0 larvae/mL, but differed significantly with those larvae rearing at density of 4.0 larvae/mL. The results suggested that the mixture of algal *N. oculata*, *Thalassiosira sp.*, and *C. gracillis* and larval rearing at density of 0.5 larvae/mL are recommended for future study on seed production of black sea urchin.

TÓM TẮT

Nghiên cứu được thực hiện nhằm xác định các loài tảo làm thức ăn và mật độ ương ấu trùng phù hợp cho cầu gai đen *Diadema setosum* (Leske, 1778). Trong thí nghiệm 1, ấu trùng cầu gai (2,0 con/mL) được cho ăn kết hợp các loài tảo khác nhau với 4 nghiệm thức (NT): *Nannochloropsis oculata*+*Chaetoceros gracillis* (N+C), *N. oculata*+ *Thalassiosira sp.* (N+T), *Thalassiosira sp.*+*C. gracillis* (T+C) và *N. oculata* +*Thalassiosira sp.*+ *C. gracillis* (N+T+C). Sau 25 ngày, tỷ lệ sống (TLS) đạt cao nhất (60±1,5%) là ở NT (N+T+C) và thấp nhất (40±4,6%) là ở NT N+C. Tăng trưởng về chiều dài tổng (TL), chiều dài thân (BL) và chiều rộng thân (MDL) của ấu trùng ở NT (N+T+C) khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P<0,05$) so với các NT còn lại. Thí nghiệm 2 được thực hiện với 4 mật độ ương ấu trùng khác nhau gồm: 0,5; 1,0; 2,0 và 4,0 con/mL. Ấu trùng được cho ăn hỗn hợp 3 loài tảo N+T+C. Kết quả cho thấy TLS của ấu trùng đạt cao nhất là ở NT 0,5 con/mL (62±2,0%) và thấp nhất là NT 4,0 con/mL (9,0%). Kích thước TL, BL của ấu trùng cầu gai bị ảnh hưởng ở mật độ 4,0 con/mL và khác biệt có ý nghĩa so với các NT mật độ còn lại. Kết quả cho thấy nên ương ấu trùng cầu gai đen ở mật độ 0,5 con/mL cho ăn kết hợp 3 loài tảo *N. oculata*, *C. gracillis* và *Thalassiosira sp.* là phù hợp cho sản xuất giống cầu gai đen.

Trích dẫn: Hứa Thái Nhân, Trương Quỳnh Như, Phạm Minh Đức và Trần Ngọc Hải, 2019. Ảnh hưởng của tảo và mật độ ương lên tỷ lệ sống và tăng trưởng của ấu trùng cầu gai đen *Diadema setosum* (Leske, 1778). Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. 55(3B): 67-78.

1 GIỚI THIỆU

Cầu gai đen *Diadema setosum* (Leske, 1778) thuộc ngành da gai Echiodermata, phân bố ở nhiều vùng biển nông, chủ yếu ở khu vực nhiệt đới Ấn Độ Dương đến Nhật Bản, Nam Thái Bình Dương và vùng biển Đỏ (Lesions *et al.*, 2001). Ở Việt Nam, cầu gai đen *D. setosum* phân bố ở vùng ven biển miền Trung, vịnh Bắc Bộ, Trường Sa, Côn Đảo và vùng biển phía Tây Nam Việt Nam (Latypov and Salin, 2011; Hứa Thái Nhân *et al.*, 2019a). Bên cạnh các loài cầu gai sọ/nhưm sọ *Tripluvestes gratilla* có giá trị kinh tế và nuôi ở Việt Nam thì cầu gai đen đang là đối tượng được quan tâm và tiêu thụ nhiều, đặc biệt là ở vùng biển Kiên Giang. Do đó, cầu gai đen đang được xem là một trong những đối tượng nuôi mới, có nhiều triển vọng. Tuy nhiên, những nghiên cứu về sản xuất giống cầu gai đen ở Việt Nam rất giới hạn, chỉ có một số nghiên cứu ban đầu về phân loại học của loài này (Latypov and Salin, 2011), đặc điểm sinh học sinh sản (Hứa Thái Nhân *et al.*, 2019b). Một số nghiên cứu trước đây cho thấy ở giai đoạn ấu trùng trôi nổi thì loài tảo lơ lửng và mật độ ương đóng vai trò quan trọng lên sự phát triển, biến thái và chuyển giai đoạn của ấu trùng cầu gai (Buitrago *et al.*, 2005; Carcamo *et al.*, 2005; Jose *et al.*, 2007; Liu *et al.*, 2007a, b; Coleen *et al.*, 2018). Theo Jose *et al.* (2007), khi ương ấu trùng bằng 1 loài tảo đơn thuần như tảo *Nannochloropsis* sp. hoặc *Chaetoceros* cho tỷ lệ sống thấp và chậm biến thái chuyển giai đoạn. Theo tác giả Buitrago *et al.* (2005) cho rằng nên ương ấu trùng cầu gai *Lytechinus variegatus* ở mật độ thấp hơn 1 ấu trùng/mL sẽ cho kết quả tốt nhất. Tương tự, theo nghiên cứu của nhóm tác giả Azad *et al.* (2010) trên loài cầu gai *Strongylocentrotus purpuratus* ở các mật độ từ 0,5, 1, 2 và 4 ấu trùng/ml, kết quả cho thấy tỷ lệ sống và tăng trưởng của ấu trùng cao nhất khi ương ở mật độ thấp ≤ 1 ấu trùng/mL so với mật độ cao hơn (> 2 ấu trùng/mL). Bên cạnh đó thì nguồn dinh dưỡng trong giai đoạn nuôi vỗ bố mẹ cũng đóng vai trò rất quan trọng ảnh hưởng đến sức sống và tỷ lệ sống của giai đoạn ấu trùng (Nhan and Ako, 2014). Tuy nhiên, kết quả này còn tùy thuộc vào điều kiện thí nghiệm, chăm sóc và quản lý ở nhiều nơi khác nhau. Do đó, mục tiêu của nghiên cứu này nhằm xác định được loài tảo làm thức ăn và mật độ phù hợp trong giai đoạn ương ấu trùng cầu gai đen góp phần cung cấp dẫn liệu khoa học cho việc xây dựng thành công quy trình sản xuất giống cầu gai đen.

2 VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Kích thích sinh sản

Nguồn ấu trùng cầu gai đen sử dụng trong nghiên cứu này có được từ kết quả kích thích sinh

sản bằng phương pháp tiêm 0,5 mL KCl (0,5M) tại Khoa Thủy sản, Trường Đại học Cần Thơ. Sau khi tiêm KCl cho cầu gai vào thau nhựa (20 – 30 L nước đã xử lý, độ mặn 30‰), 5-7 con/thau. Sau khi tiêm KCl khoảng 1-5 phút, cầu gai bắt đầu sinh sản bằng cách phóng trứng và tinh trùng vào nước. Khoảng 24 h sau khi đẻ, ấu trùng được siphon qua lưới lọc 50 μ m và được rửa 2-3 lần bằng nước sạch, sau đó định lượng mật độ đẻ bố trí thí nghiệm.

2.2 Bố trí thí nghiệm

Nghiên cứu được thực hiện với 2 thí nghiệm, thí nghiệm 1 được thực hiện nhằm xác định loài tảo phù hợp cho ấu trùng cầu gai đen bằng cách cho ăn kết hợp với các loài tảo khác nhau *Nannochloropsis oculata*, *Chaetoceros gracillis*, *Thalassiosira* sp. và thí nghiệm 2 ảnh hưởng của các mật độ ương ấu trùng khác nhau lên sự tăng trưởng và tỷ lệ sống của ấu trùng cầu gai đen.

Các loài tảo sử dụng trong nghiên cứu có được từ phòng tảo, Bộ môn Thủy sinh học Ứng dụng, Khoa Thủy sản, Đại học Cần Thơ. Tảo được nuôi giữ giống trong phòng thí nghiệm và nuôi tăng trưởng sinh khối trong xô nhựa 120 L bằng dung dịch dinh dưỡng F2 (Guillard and Ryther 1962 ; Guillard 1975), các xô nhựa được đặt ngoài trời, trong điều kiện ánh sáng tự nhiên.

2.3 Thí nghiệm 1: Nghiên cứu sử dụng kết hợp các loài tảo khác nhau làm thức ăn trong ương nuôi ấu trùng cầu gai

Thừa kế từ kết quả thử nghiệm ban đầu cho thấy khi ương ấu trùng với 1 loài tảo đơn thuần như tảo *Nannochloropsis oculata*, hoặc *Chaetoceros gracillis* cho tỷ lệ sống và chuyển giai đoạn của ấu trùng cầu gai rất thấp, đặc biệt sau 7 ngày ương và quá trình phát triển, biến thái qua các giai đoạn diễn ra rất chậm. Do đó, trong thí nghiệm này được thực hiện với 4 nghiệm thức (NT) cho ăn kết hợp các loài tảo khác nhau gồm:

NT 1: *Nannochloropsis oculata* + *Chaetoceros gracillis* (N+C)

NT 2: *N. oculata* + *Thalassiosira* sp. (N+T)

NT 3: *Thalassiosira* sp. + *C. gracillis* (T+C)

NT 4: *N. oculata* + *Thalassiosira* sp. + *C. gracillis* (N+T+C)

Thí nghiệm được bố trí trong phòng Wetlab, Trại thực nghiệm nước lợ, Khoa Thủy sản, Trường Đại học Cần Thơ, các xô nhựa được sục khí liên tục, có chiếu sáng liên tục 24h (khoảng 7.000 lux) bằng hệ thống đèn LED (3x1212x28mm, 7000k, ánh sáng trắng/vàng/trung tính, FSL Lighting Co.LTD., Việt Nam). Hệ thống thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên trong xô nhựa 7,0 L, mỗi nghiệm thức

được lặp lại 3 lần và mật độ ấu trùng là 2,0 con/mL (Jose *et al.*, 2007), độ mặn 30‰ được pha từ nước ót 90‰ (đã qua xử lý bằng chlorine 30 ppm) với nước máy.

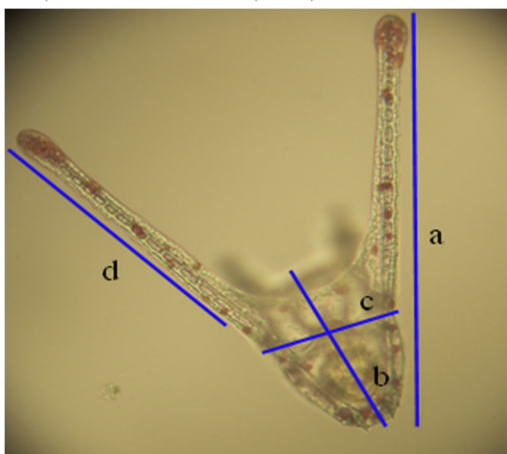
Ấu trùng ở tất cả các nghiệm thức được cho ăn 1 ngày/lần vào 8:00 h sáng. Tỷ lệ kết hợp các loài tảo là 1:1. Mật độ tảo được duy trì từ 1.500-6.500 tế bào/mL (Kelly *et al.*, 2000; Liu *et al.*, 2007a,b), trong đó từ ngày thứ 1 -7 mật độ tảo được duy trì từ 1.500 – 4.500 tế bào/mL và bắt đầu tăng dần đến ngày thứ 12 khoảng 6.500 tế bào/mL, sau đó duy trì ở mật độ tảo này cho đến hết chu kỳ ương. Hằng ngày, khoảng 30% lượng nước trong mỗi xô ương ấu trùng được thay bằng cách hút ra ngoài qua lưới lọc tảo 5 µm. Thời gian thực hiện của mỗi thí nghiệm là 25 ngày, cho đến thời điểm mà ấu trùng chuẩn bị chuyển sang giai đoạn sống đáy.

2.4 Thí nghiệm 2: Ảnh hưởng của mật độ ương ấu trùng khác nhau lên tỉ lệ sống và tăng trưởng của cầu gai

Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với 4 mật độ ương khác nhau gồm NT1: 0,5 con/mL, NT2: 1,0 con/mL, NT3: 2,0 con/mL và NT4: 4,0 con/mL. Mỗi nghiệm thức được bố trí 3 lần lặp lại. Ấu trùng ở tất cả các nghiệm thức được cho ăn kết hợp 3 loài tảo *N. oculata* + *Thalassiosira* sp. + *C. gracillis* (tỷ lệ 1:1:1), kết quả tốt nhất từ thí nghiệm 1 và được duy trì ở mật độ khoảng 6.500 tế bào/mL. Điều kiện thí nghiệm, chăm sóc, quản lý như mô tả ở thí nghiệm 1.

2.5 Các chỉ tiêu đánh giá sự phát triển của ấu trùng cầu gai

Quá trình phát triển, biến thái qua các giai đoạn trong quá trình ương ấu trùng cầu gai đen được thực hiện theo phương pháp của Dautov and Dautova (2016) và Rahman *et al.* (2014).



Hình 1: Ấu trùng cầu gai. (a) chiều dài tổng của ấu trùng, (b) chiều dài thân, (c) chiều rộng thân và (d) chiều dài tay

Tỷ lệ sống, tăng trưởng về kích thước đường kính và biến thái của ấu trùng cầu gai được định lượng, quan sát và đo đạt 3 ngày/lần vào các ngày thứ 1, 3, 5, 9, 12, 15, 19 và 25. Kích cỡ về chiều dài tổng (mm), chiều dài thân (mm), chiều rộng (mm) thân ấu trùng và chiều dài tay (mm) được thể hiện qua Hình 1. Ấu trùng được định lượng bằng cách thu 100 mL nước trực tiếp từ xô ương (có sục khí) bằng cốc thủy tinh 100 mL, sau đó cô đặc còn khoảng 30 mL. Ấu trùng được đếm dưới kính hiển vi đối với các ngày thứ 1 đến ngày thứ 5, sau đó có thể nhìn bằng mắt thường. Quá trình được lặp lại 3 lần cho mỗi lần định lượng.

Các yếu tố môi trường như nhiệt độ, pH, oxy hòa tan được đo kiểm tra theo dõi hàng ngày vào lúc 8h00 và 14h00 bằng máy đo đa chỉ tiêu (HANNA, HI 98196, Rumani).

2.6 Phương pháp xử lý số liệu

Các số liệu thu thập được tính toán giá trị trung bình và độ lệch chuẩn bằng chương trình Excel 2007. Sự khác biệt về tăng trưởng chiều dài của ấu trùng qua các đợt thu mẫu được phân tích đánh giá bằng phương pháp kiểm định phương sai One-ANOVA (phần mềm SPSS 16.0, SPSS Inc., Chicago. IL, USA) và phép thử Tukey ở mức ý nghĩa $p < 0,05$.

3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Các yếu tố môi trường

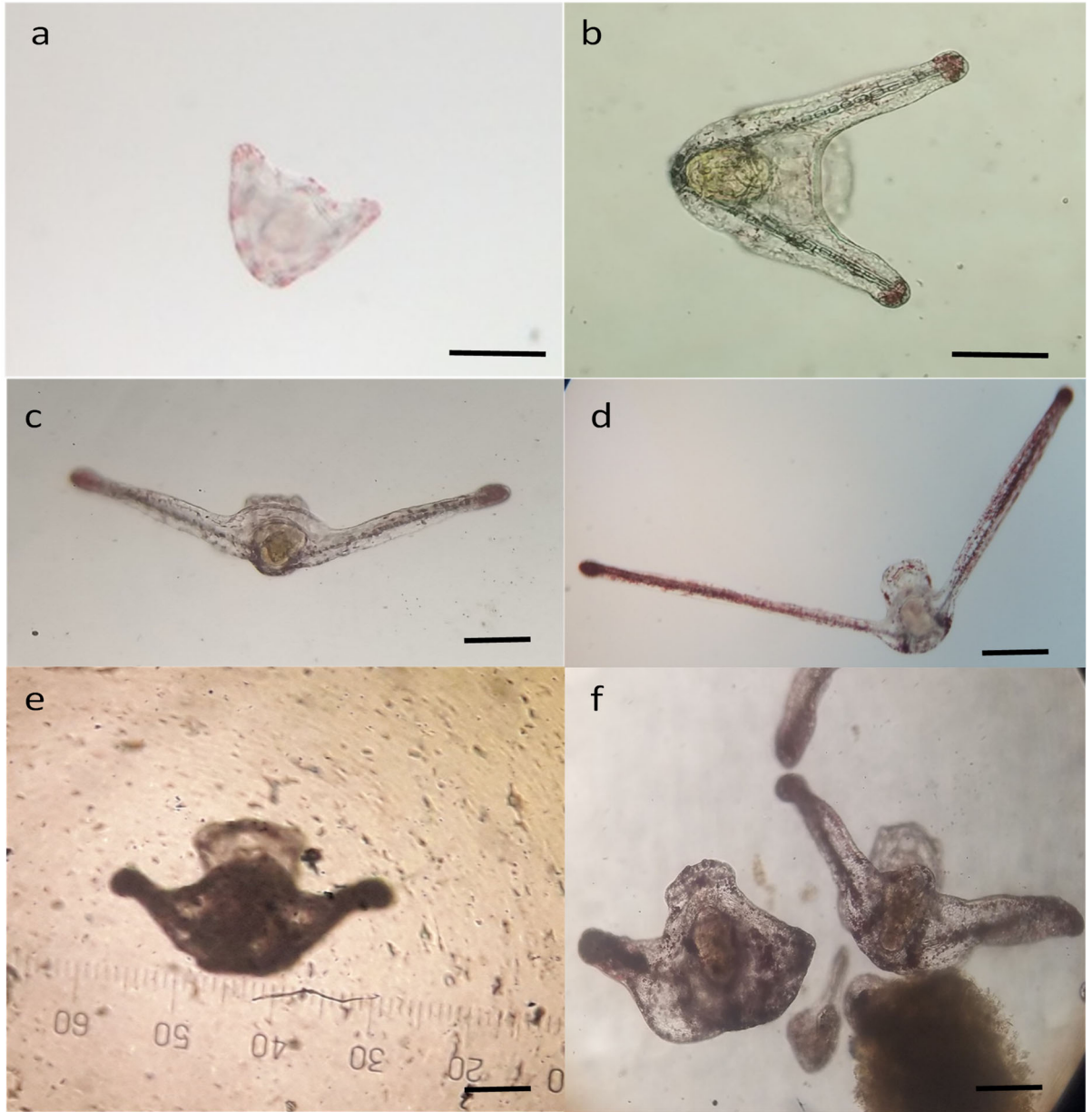
Các yếu tố môi trường như nhiệt độ sáng và chiều không có sự biến động lớn và được duy trì 27,0 – 28,0°C do thí nghiệm được bố trí trong trại thực nghiệm, pH dao động từ 6,5-7,2 và oxy hoà tan trong khoảng 6,5 – 7,5 mg/L do các xô ương có sục khí liên tục. Trong thí nghiệm này, ấu trùng cầu gai được cho ăn tảo tươi và mỗi ngày, bể nuôi được thay nước khoảng 30% thể tích nước, do đó chất lượng nước trong bể luôn được duy trì ở mức ổn định và thích hợp cho sự phát triển của ấu trùng cầu gai. Kết quả cho thấy các yếu tố thủy lý đều trong khoảng thích hợp cho sự phát triển bình thường của cầu gai đen.

3.2 Quá trình biến thái của ấu trùng cầu gai đen

Quá trình phát triển và biến thái chuyển giai đoạn của ấu trùng cầu gai đen trong thời gian thí nghiệm 1 được thể hiện trong Hình 2. Khoảng 30 h sau khi đẻ, xuất hiện ấu trùng pluteus 2 tay (Hình 2 b) và sau 48 h, hệ tiêu hóa, bao tử được hình thành và ấu trùng bắt đầu ăn phiêu sinh thực vật; 2 tay, chiều dài và chiều rộng thân bắt đầu phát triển đạt kích cỡ lớn nhất từ thứ 5 đến ngày thứ 7 sau khi ương (Hình 2c, d), sau đó giảm dần và biến mất trước khi chuyển xuống giai đoạn sống đáy (Hình 2e, f). Kết

qua quan sát trong suốt thời gian ương cho thấy đến ngày thứ 25 thì 2 tay của nhiều ấu trùng bắt đầu biến mất và nhiều ấu trùng có biểu hiện xuống đáy sau

khí tắt sục khí. Cho nên đây là thời điểm thích hợp để chuyển sang giai đoạn ương từ ấu trùng bám lên cầu gai giống.



Hình 2: Quá trình biến thái chuyển giai đoạn của ấu trùng cầu gai đen. a: ấu trùng 30 h sau khi nở; b: ấu trùng ngày thứ 3, 2 tay bắt đầu phát triển dài ra; c, d: ấu trùng ngày thứ 5 và thứ 7, 2 tay bắt đầu phát triển dài hơn; e và f: ấu trùng ngày thứ 23 và 25, 2 tay ngắn lại và bắt đầu chuyển giai đoạn sống đáy; bar: 50 μ m

Tương tự kết quả quan sát quá trình phát triển và biến thái của ấu trùng cầu gai đen bởi Dautov and Dautova (2016), ấu trùng cầu gai đen trong nghiên cứu này chỉ phát triển đến giai đoạn 2 tay, sau đó giảm dần và biến mất trước khi xuống bám đáy và phát triển thành giống.

3.3 Ảnh hưởng kết hợp của các loài tảo khác nhau làm thức ăn lên tỷ lệ sống và tăng trưởng của ấu trùng cầu gai

Bảng 1 trình bày tỷ lệ sống và tăng trưởng của ấu trùng cầu gai ương bằng các loài tảo khác nhau. Kết quả cho thấy tỷ lệ sống của ấu trùng cầu gai ở các nghiệm thức khác nhau có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) sau 25 ngày ương. Trong đó, tỷ lệ sống cao

nhất là ở nghiệm thức cho ăn kết hợp 3 loài tảo *N. oculata*, *C. gracillis* và *Thalassiosira* sp. là 60±1,5% và thấp nhất là ở nghiệm thức cho ăn kết hợp 2 loài tảo *N. oculata* và *C. gracillis* (40±4,6%).

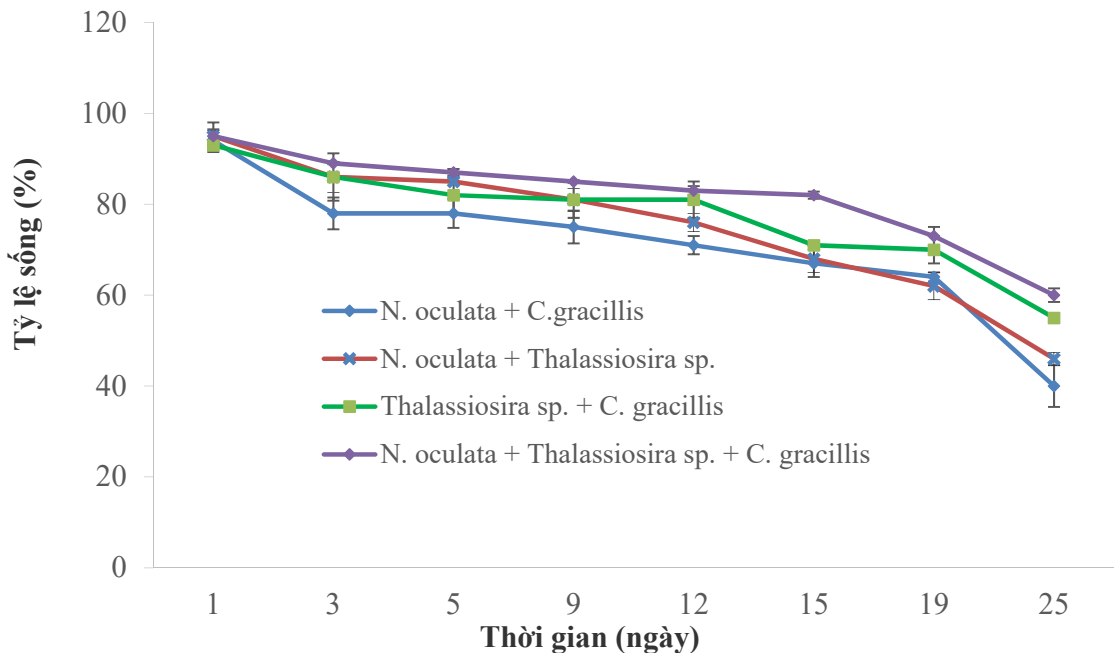
Bảng 1: Tỷ lệ sống và tăng trưởng của ấu trùng cầu gai sau 25 ngày ương

Chỉ tiêu theo dõi	Nghiệm thức			
	NT1: N+C	NT2: N+T	NT3: T+C	NT4: N+T+C
Tỷ lệ sống (%)	40,0±4,6 ^a	46,0±1,4 ^b	55,0±1,0 ^c	60,0±1,5 ^d
Chiều dài tổng (mm)	0,23±0,01 ^a	0,24±0,014 ^a	0,23±0,007 ^a	0,19±0,01 ^b
Chiều dài thân (mm)	0,13±0,01 ^a	0,123±0,001 ^a	0,122±0,01 ^a	0,143±0,01 ^b
Chiều rộng thân (mm)	0,123±0,003 ^a	0,121±0,002 ^a	0,126±0,002 ^b	0,128±0,002 ^b
Chiều dài tay (mm)	0,17±0,02 ^{ab}	0,16±0,02 ^a	0,15±0,01 ^a	0,21±0,01 ^b

Các ký tự a, b, c trong cùng 1 hàng giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức $P < 0,05$. Các số liệu thể hiện giá trị trung bình và độ lệch chuẩn (TB±SD); *Nanochloropsis oculata* + *Chaetoceros gracillis* (N+C), *N. oculata* + *Thalassiosira* sp. (N+T), *Thalassiosira* sp. + *C. gracillis* (T+C), *N. oculata* + *Thalassiosira* sp. + *C. gracillis* (N+T+C).

Tỷ lệ sống của ấu trùng cầu gai có xu hướng giảm dần trong thời gian ương (Hình 3). Ấu trùng bắt đầu chết nhiều vào ngày thứ 3 và thứ 19, đặc biệt là NT cho ăn kết hợp tảo *N. oculata* và *C. gracillis* cho tỷ lệ sống thấp nhất. Ấu trùng giảm nhiều vào ngày thứ 3 có thể do ấu trùng bắt đầu chu kỳ dinh dưỡng ngoài bằng cách sử dụng phiêu sinh thực vật như tảo lơ lửng. Cho nên việc sử dụng loài tảo có

kích cỡ phù hợp là rất quan trọng. Tỷ lệ sống của ấu trùng giảm nhiều có thể là do sự không phù hợp của 1 trong 2 loài tảo *N. oculata* và *C. gracillis*. Tỷ lệ sống của ấu trùng cầu gai đen trong nghiên cứu này thấp hơn so với nghiên cứu của Jose *et al.* (2007) khi ương ấu trùng cầu gai *Echinometra mathaie* cho ăn kết hợp tảo *Isochrysis galbana* và *C. calcitrans* (79,0±2,08%), tảo *C. calcitrans* (60%) và chỉ 40% khi cho ăn tảo *Nanochloropsis* sp. sau 22 ngày ương.



Hình 3: Tỷ lệ sống của ấu trùng cầu gai theo thời gian ương nuôi

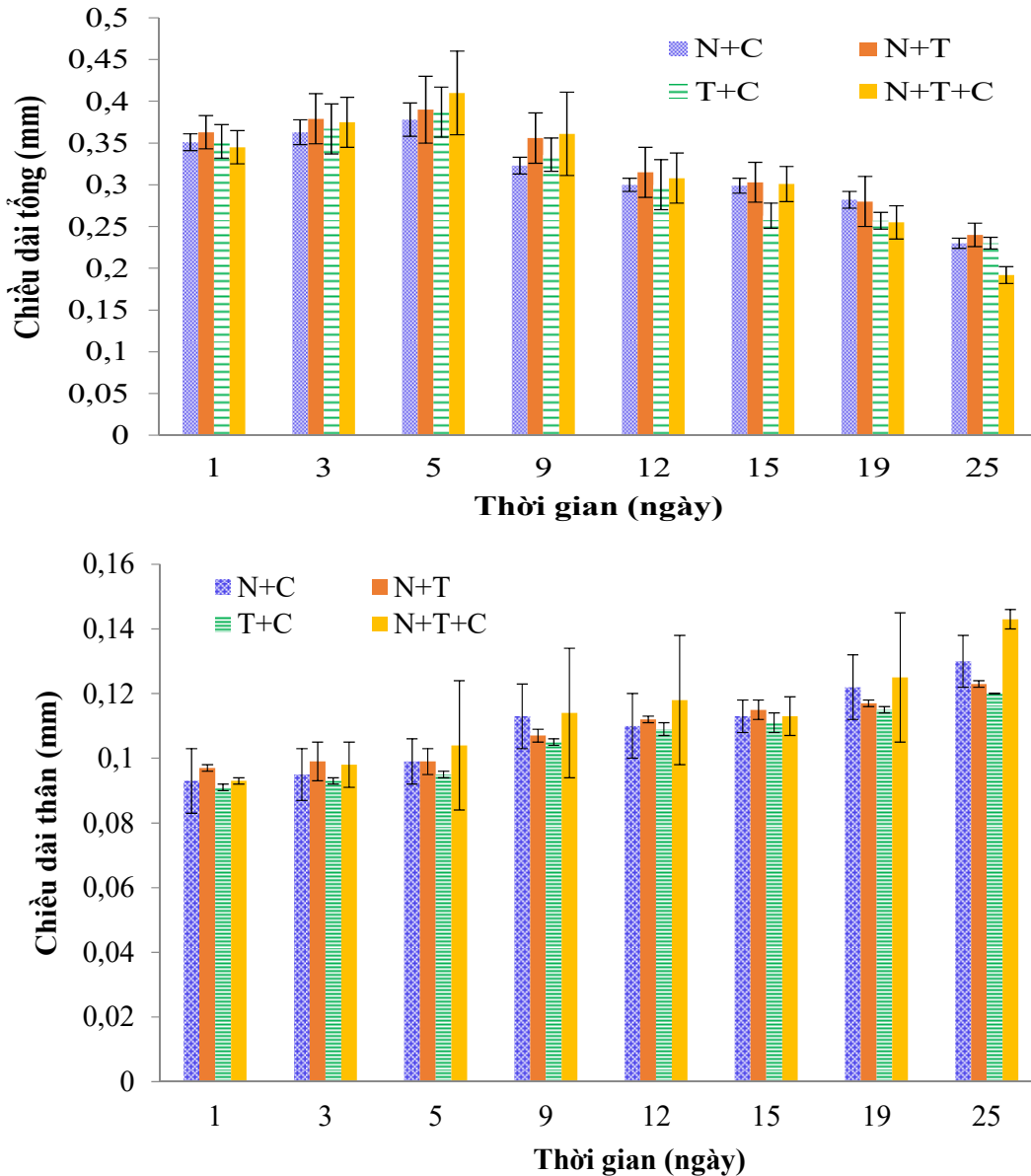
Chiều dài tổng của ấu trùng ở các nghiệm thức khác nhau có ý nghĩa thống kê sau 25 ngày ương, trong đó ấu trùng ở NT4 phát triển và biến thái nhanh và ngắn nhất (0,19±0,01 mm/con) và khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) so với các nghiệm thức còn lại (Bảng 1, Hình 4). Đồ thị ở Hình 4 cho thấy chiều dài tổng của ấu trùng tăng dần từ ngày thứ 1 đến ngày thứ 5 sau đó giảm dần đến khi kết

thức thí nghiệm. Ấu trùng đạt kích thước trung bình cao nhất (0,41±0,05 mm/ấu trùng) ở nghiệm thức 4 khi cho ấu trùng cầu gai ăn kết hợp 3 loài tảo (N+T+C) và khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$) so với các nghiệm thức còn lại. Chiều dài thân và chiều rộng của ấu trùng có xu hướng tăng dần đến cuối chu kỳ ương (đồ thị Hình 4, 5) và đạt kích cỡ lớn nhất ở NT4 (0,143±0,01 mm/con) và khác biệt

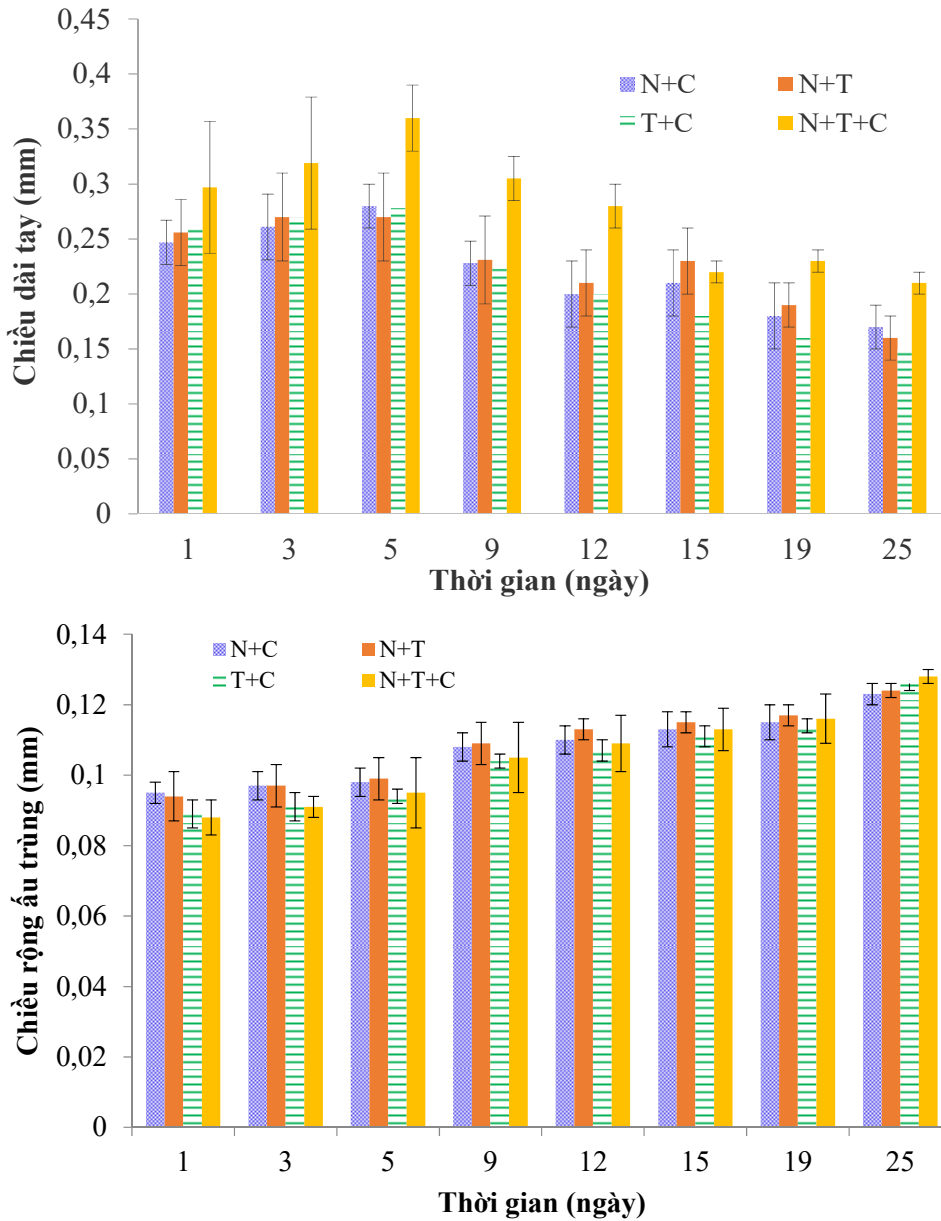
so với các nghiệm thức còn lại (Bảng 1). Trong khi đó, ấu trùng ở 3 nghiệm thức cho ăn kết hợp 2 loài tảo thì có kích cỡ tương đương nhau và khác biệt không có ý nghĩa thống kê sau 25 ngày ương.

Tương tự chiều dài tổng, chiều dài tay ấu trùng tăng từ ngày 1 đến ngày thứ 5, sau đó ấu trùng tiếp tục biến thái bằng cách giảm dần kích thước (chủ

yếu là kích thước của tay) từ ngày thứ 9 và đến khi kết thúc thí nghiệm, thấp nhất ở nghiệm thức 3 ($0,15 \pm 0,01$ mm/con) và khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) so với nghiệm thức 4, tuy nhiên không khác biệt so với các nghiệm thức còn lại (Bảng 1, Hình 5). Chiều dài tay giảm dần cho thấy ấu trùng đang phát triển và biến thái qua các giai đoạn.



Hình 4: Tăng trưởng về chiều dài tổng và chiều dài thân của ấu trùng. N+C: *N. oculata* + *C. gracillis*; N+T: *N. oculata* + *Thalassiosira* sp.; T+C: *Thalassiosira* sp. + *C. gracillis* và N+T+C: *N. oculata* + *Thalassiosira* sp. + *C. gracillis*



Hình 5: Tăng trưởng về chiều dài tay và chiều rộng thân của ấu trùng. N+C: *N. oculata* + *C. gracillis*; N+T: *N. oculata* + *Thalassiosira* sp.; T+C: *Thalassiosira* sp. + *C. gracillis* và N+T+C: *N. oculata* + *Thalassiosira* sp. + *C. gracillis*

3.4 Ảnh hưởng của các mật độ ương ấu trùng khác nhau lên tỷ lệ sống và tăng trưởng của ấu trùng

Qua trình biến thái và phát triển của ấu trùng trong thí nghiệm này tương tự trong thí nghiệm 1. Trong suốt thời gian ương ấu trùng cầu gai cũng chỉ phát triển đến giai đoạn 2 tay. Các mật độ ương khác nhau không ảnh hưởng đến sự phát triển các giai đoạn của ấu trùng. Kết quả nghiên cứu này tương tự kết quả nghiên cứu của Suckling et al. (2018) tác giả cho rằng không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê

về tỷ lệ phát triển các giai đoạn của ấu trùng cầu gai *Psammechinus milias* và *Paracentrotus lividus* ở các mật độ khác nhau từ 1 đến 4 con/mL.

Kết quả sau 25 ngày ương (Bảng 2) cho thấy tỷ lệ sống của ấu trùng biến động rất lớn và khác nhau có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức, trong đó tỷ lệ sống đạt cao nhất là ở nghiệm thức 0,5 con/mL ($62 \pm 2,0\%$), kế đến là nghiệm thức 1 con/mL ($55 \pm 1,0\%$) và thấp nhất là nghiệm thức 4 con/mL chỉ có 9,0%. Như vậy cho thấy tỷ lệ sống của ấu trùng tương quan tỷ lệ nghịch với mật độ ương của

ấu trùng, mật độ ương càng cao thì tỷ lệ sống càng thấp. Điều này có thể là do sự cạnh tranh về thức ăn, mặc dù lượng tảo trong các bể ương được duy trì và cho ăn mỗi 1 ngày/lần. Tuy nhiên quan sát và đếm mật độ tảo ở các nghiệm thức có mật độ ương ấu trùng cao (nghiệm thức 4) thì mật số tế bào tảo giảm nhanh sau khi cho ăn 24 h. Kết quả này cho thấy nếu

ương ấu trùng ở mật độ cao thì cần phải tiếp tục nghiên cứu thêm về mật độ tảo và tần suất cho ăn. Theo Coleen et al. (2018), nếu ương ấu trùng ở mật độ cao (4 con/mL) thì nên sang thưa mật độ ương ở ngày thứ 13 để nâng cao tỷ lệ sống của ấu trùng cầu gai *Psammechinus miliaris* and *Paracentrotus lividus* trước khi chuyển sang giai đoạn sống đáy.

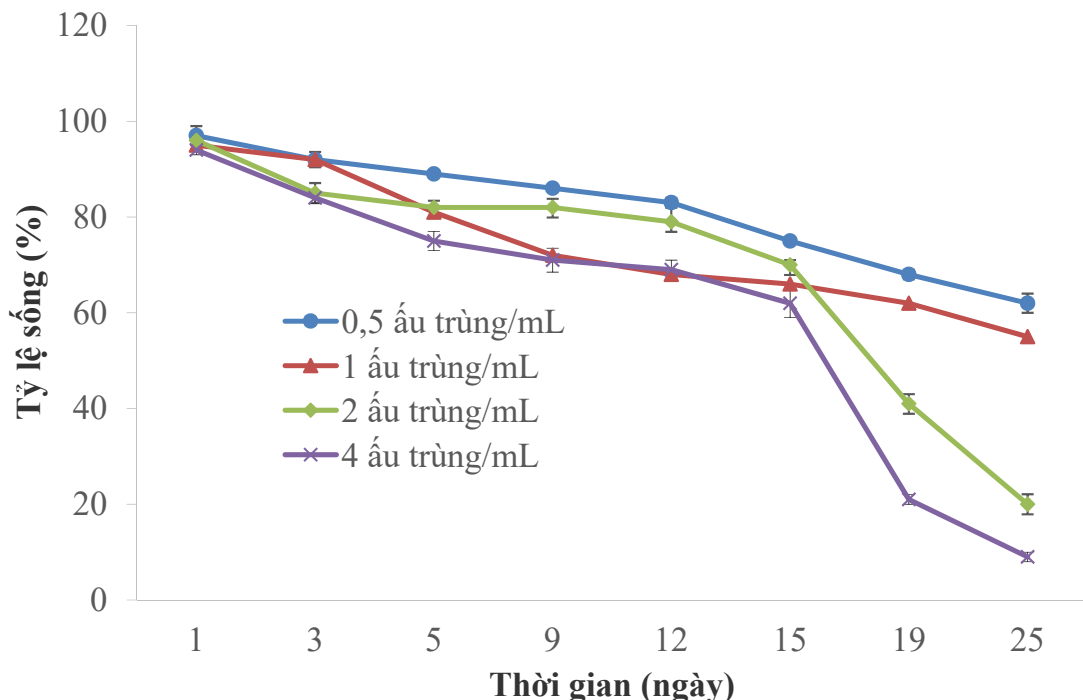
Bảng 2: Tỷ lệ sống và tăng trưởng của ấu trùng cầu gai sau 25 ngày ương ở các mật độ khác nhau

Chỉ tiêu theo dõi	Nghiệm thức mật độ ương (ấu trùng/mL)			
	0,5	1	2	4
Tỷ lệ sống (%)	62,0±2,0 ^a	55,0±1,0 ^b	20,0±2,1 ^c	9,0±1,0 ^d
Chiều dài tổng (mm)	0,21±0,02 ^c	0,24±0,05 ^b	0,28±0,05 ^a	0,28±0,04 ^a
Chiều dài thân (mm)	0,15±0,005 ^b	0,14±0,01 ^b	0,13±0,004 ^{ab}	0,12±0,003 ^a
Chiều rộng thân (mm)	0,13±0,002 ^b	0,13±0,008 ^b	0,13±0,003 ^b	0,12±0,01 ^a
Chiều dài tay (mm)	0,14±0,012 ^a	0,19±0,023 ^b	0,18±0,01 ^b	0,19±0,05 ^b

Các ký tự a, b, c trong cùng 1 hàng khác nhau thì khác nhau có ý nghĩa thống kê ở mức $P < 0,05$. Các số liệu thể hiện giá trị trung bình và độ lệch chuẩn (TB±SD)

Hình 6 cho thấy tỷ lệ sống của ấu trùng có xu hướng giảm dần đến cuối chu kỳ ương. Trong đó, thấp nhất luôn xảy ra ở nghiệm thức 4 (4,0 con/mL). Ấu trùng bắt đầu chết nhiều ở nghiệm thức mật độ 2 con/mL và 4 con/mL sau ngày thứ 15 và khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) so với các nghiệm thức còn lại. Kết quả cho thấy nên ương ấu trùng ở mật

độ thấp từ 0,5-1,0 con/mL. Tương tự kết quả nghiên cứu của Buitrago et al. (2005), khi ương ấu trùng ở mật độ 1,0 con/mL cho tỷ lệ sống cao nhất (76,0%) sau 13 ngày ương. Tác giả cũng khuyến khích nên ương ấu trùng cầu gai *Lytechinus variegatus* lớn hơn 1 con/mL sẽ làm giảm tỷ lệ sống và sản lượng ấu trùng trong sản xuất.



Hình 6: Tỷ lệ sống của ấu trùng trong thời gian ương nuôi với các mật độ khác nhau

Hình 7 thể hiện sự tăng trưởng về chiều dài tổng của ấu trùng sau 25 ngày ương ở các mật độ khác nhau. Kết quả cho thấy kích thước về chiều dài tổng của ấu trùng tăng dần từ ngày thứ 1 đến ngày thứ 5, và đạt kích thước trung bình cao nhất (0,46±0,05

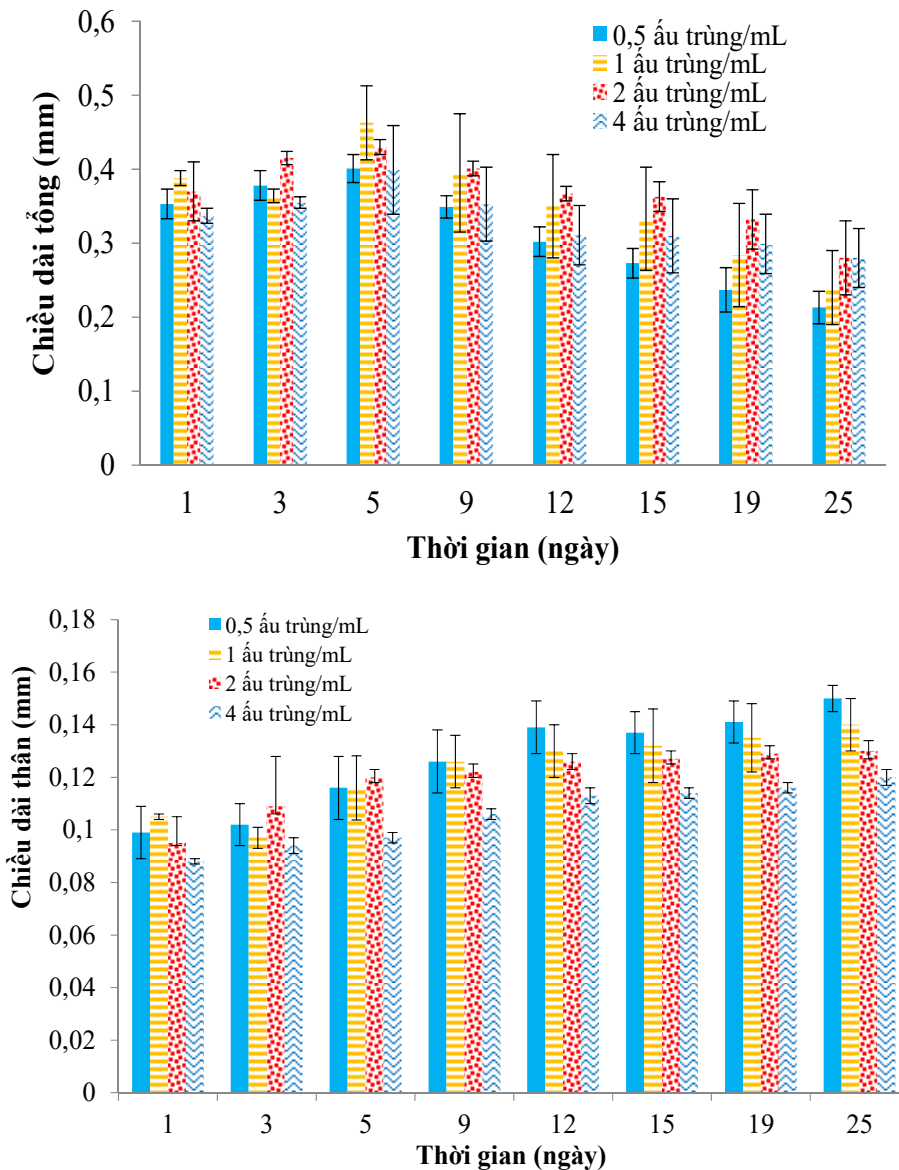
mm/ấu trùng) ở nghiệm thức 1 con/mL và khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) so với các nghiệm thức còn lại. Ấu trùng tiếp tục biến thái bằng cách giảm dần kích thước từ ngày thứ 9 và đến khi kết thúc thí nghiệm thì ấu trùng ở nghiệm thức 0,5 con/mL cho

kết quả ngắn nhất và khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) so với các nghiệm thức 4 con/mL, nhưng khác biệt không có ý nghĩa thống kê so với các nghiệm thức còn lại (nghiệm thức ương mật độ 1,0 và 2,0 con/mL). Kết quả nghiên cứu này tương tự kết quả nghiên cứu của Coleen *et al.* (2018), khi ương ấu trùng cầu gai *Psammochinus miliaris* and *Paracentrotus lividus* ở các mật độ khác nhau có ảnh hưởng đến sự phát triển kích thước của ấu trùng và ương ấu trùng ở mật độ 4 con/mL cho 25% tỷ lệ sống thấp hơn so với nghiệm thức ương 1,0 con/mL.

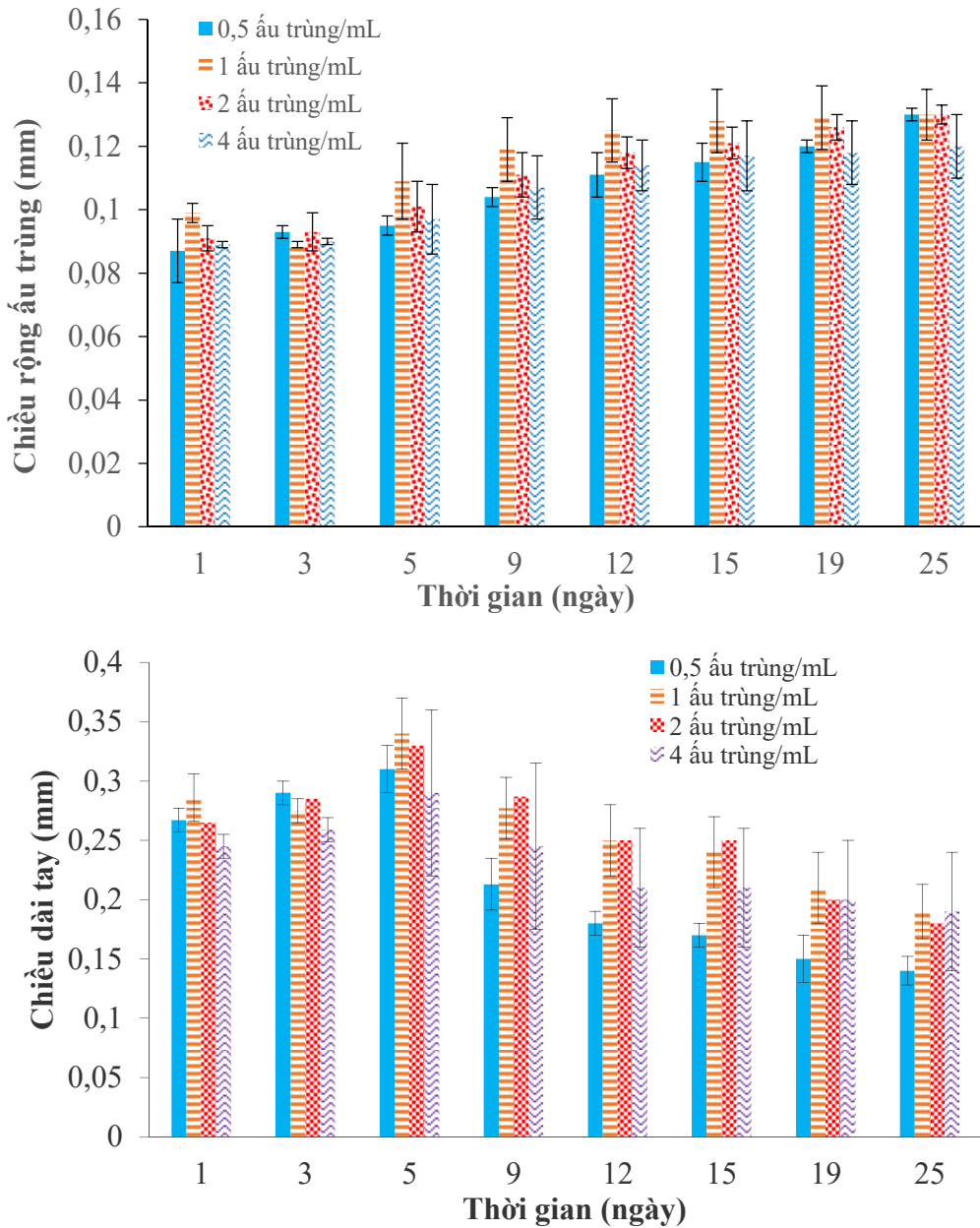
Sự tăng trưởng về chiều dài thân và chiều rộng thân của ấu trùng sau 25 ngày ương được thể hiện qua Bảng 2 và Hình 7, 8. Kết quả cho thấy kích

thước về chiều dài và chiều rộng thân của ấu trùng có xu hướng tăng dần đến hết chu kỳ ương, đạt kích thước trung bình cao nhất ($0,141 \pm 0,008$ mm/ấu trùng) ở nghiệm thức 0,5 con/mL và khác biệt có ý nghĩa so với nghiệm thức 4 con/mL, tuy nhiên không khác biệt với các nghiệm thức còn lại.

Chiều dài tay của ấu trùng tăng dần từ ngày thứ 1 đến ngày thứ 5, và đạt kích thước trung bình cao nhất ($0,340 \pm 0,03$ mm/ấu trùng) ở nghiệm thức 1 con/mL. Chiều dài tay trung bình của ấu trùng bắt đầu giảm dần từ ngày thứ 9 và đạt ngắn nhất là ở nghiệm thức 0,5 con/mL ($0,140 \pm 0,012$ mm/ấu trùng) và khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$) so với các nghiệm thức còn lại.



Hình 7: Tăng trưởng về chiều dài tổng và chiều dài thân của ấu trùng



Hình 8: Tăng trưởng về Chiều rộng thân và chiều dài tay của ấu trùng

Kết quả nghiên cứu này cho thấy ấu trùng lơ lửng của cầu gai đen phát triển và biến thái trước khi chuẩn bị xuống giai đoạn sống đáy khoảng 25 ngày ương. Trong giai đoạn này, việc chọn lựa các loài tảo có kích cỡ và hàm lượng dinh dưỡng phù hợp đóng vai trò quan trọng đến tỷ lệ sống và phát triển của ấu trùng. Các loài tảo sử dụng trong nghiên cứu này đều có kích cỡ (2-50 μm) phù hợp với kích cỡ miệng của ấu trùng cầu gai đen và đã sử dụng rộng rãi cho ương ấu trùng của nhiều loài cầu gai trên thế giới. Sự khác nhau về tỷ lệ sống ở các nghiệm thức trong thí nghiệm 1 có thể là do thành phần dinh dưỡng, đặc biệt là các axit béo cao phân tử không no

đóng vai trò quan trọng trong sự phát triển, biến thái và tỷ lệ sống của ấu trùng cầu gai (Cook *et al.*, 2007; Carboni *et al.*, 2013). Tuy nhiên trong kết quả này, chúng không có phân tích thành phần dinh dưỡng cũng như hàm lượng axit béo của các loài tảo cho ăn. Đây có thể là vấn đề có thể tập trung nghiên cứu trong thời gian tới để cải thiện tỷ lệ sống và năng suất của cầu gai đen. Bên cạnh đó, nguồn dinh dưỡng cung cấp cho cầu gai bố mẹ thành thực trước khi sinh sản cũng đóng vai trò quan trọng quyết định đến thành phần dinh dưỡng và hàm lượng fatty acid trong giai đoạn ấu trùng nên sẽ ảnh hưởng đến tỷ lệ sống và biến thái của ấu trùng cầu gai (Cook *et al.*,

2007; Carboni *et al.*, 2013). Nguồn cầu gai bố mẹ sử dụng cho sinh sản trong nghiên cứu này được thu từ tự nhiên, do đó không kiểm soát và đánh giá được chất lượng thành phần dinh dưỡng thức ăn của bố mẹ trong tự nhiên. Cho nên, ở nghiệm thức cho ăn kết hợp 3 loài tảo khác nhau có thể bổ trợ và bổ sung cho nhau một số thành phần dinh dưỡng quan trọng dẫn đến tỷ lệ sống ở nghiệm thức này tốt hơn so với các nghiệm thức còn lại.

Kết quả nghiên cứu này còn cho thấy được mật độ ương có vai trò quan trọng ảnh hưởng đến tỷ lệ sống của ấu trùng cầu gai đen. Mặc dù không có sự ảnh hưởng về tỷ lệ các giai đoạn phát triển, nhưng tỷ lệ sống của ấu trùng ở nghiệm thức có mật độ 2 con/mL và 4 con/mL thấp có thể là do sự cạnh tranh về không gian do va chạm trong quá trình sục khí làm cơ thể của ấu trùng bị thương dẫn đến tỷ lệ chết cao. Cũng theo Buitrago *et al.* (2005), khi ương ấu trùng ở mật độ lớn hơn 1 con/mL thì khả năng ấu trùng bị biến dạng, các tay bị cong và dẫn đến tỷ lệ chết là rất cao.

4 KẾT LUẬN VÀ ĐỀ XUẤT

Tỷ lệ sống của ấu trùng cầu gai đen đạt cao nhất (60,0%), tăng trưởng và biến thái tốt nhất ở nghiệm thức cho ăn kết hợp 3 loài tảo *Nannochloropsis oculata*, *Chaetoceros gracillis* và *Thalassiosira* sp. sau 25 ngày ương.

Tỷ lệ sống của ấu trùng cầu gai đen đạt cao nhất khi ương ở mật độ 0,5 con/mL (62%). Tăng trưởng về kích thước chiều dài tổng và thân của ấu trùng cầu gai đen bị ảnh hưởng khi ương ấu trùng ở mật độ 4,0 con/mL.

Nên ương ấu trùng ở mật độ 0,5 con/mL kết hợp cho ăn 3 loài tảo *Nannochloropsis oculata*, *Chaetoceros gracillis* và *Thalassiosira* sp. là phù hợp trong quá trình sản xuất giống cầu gai đen.

Tiếp tục nghiên cứu ảnh hưởng của chế độ cho ăn, các mật độ tảo khác nhau lên tỷ lệ sống của ấu trùng cầu gai đen và nghiên cứu ảnh hưởng của các yếu tố môi trường như nhiệt độ và độ mặn lên quá trình biến thái của ấu trùng cầu gai đen.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được thực hiện từ nguồn kinh phí của đề tài cấp Bộ (B2016-TCT-12ĐT).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Azad, A.K., McKinley, S., and Pearce, C.M., 2010. Factors influencing the growth and survival of larval and juvenile echinoids. *Reviews in Aquaculture*. 2(3): 121–137.

Buitrago, E., Lodeiros, C., Lunar, K., Alvarado, D., Indort, F., Frontado, K., Moreno, P., and

Vasquez, Z., 2005. Mass production of competent larvae of the sea urchin *Lytechinus variegatus* (Echinodermata). *Aquaculture International*. 13(4): 359-367.

Carboni, S., Hughes, A.D., Atack, T., Tocher, D.T., and Migaud, H., 2013. Fatty acid profiles during gametogenesis in sea urchin (*Paracentrotus lividus*): Effects of dietary inputs on gonad, egg and embryo profiles. *Comparative Biochemistry Physiology Part A*. 164(2): 376-382.

Carcamo, P.E., Candia A.I., and Chaparro, O.R., 2005. Larval development and metamorphosis in the sea urchin *Loxechinus albus* (Echinodermata: Echinoidea): effects of diet type and feeding frequency. *Aquaculture*. 249: 375-386.

Coleen, C. S., David, T., and Andrew J.D., 2018. Optimising stocking density for the commercial cultivation of sea urchin larvae. *Aquaculture*. 488: 96–104.

Cook, E.J., Hughes, A.D., Orr, H., Kelly, M.S., and Black, K.D., 2007. Influence of dietary protein on essential fatty acids in the gonadal tissue of the sea urchins *Psammechinus miliaris* and *Paracentrotus lividus* (Echinodermata). *Aquaculture*. 273: 586 – 594.

Dautov, S.S., and Dautova, T.N., 2016. The larvae of *Diadema setosum* (Leske, 1778) (Carmardoma: Diadematidae) from South China Sea. *Invertebrate Reproduction and Development*. 60(4): 1-7.

Dincer, T., and Cakli, S., 2007. Chemical composition and biometrical measurement of Turkish Sea Urchin (*Paracentrotus lividus* Lanmarck, 1816). *Critical reviews in Food science and Nutrition*. 47 (1): 21-26

Guillard, R.R.L., and Ryther, J.H., 1962. Studies of marine planktonic diatoms. I. *Cyclotella nana* Hustedt and *Detonula confervacea* Cleve. *Canadian Journal of Microbiology*. 8: 229-239.

Guillard, R.R.L., 1975. Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates in "Culture of Marine Invertebrate Animals." (eds: Smith W.L. and Chanley M.H.) Plenum Press, New York, USA. pp 26-60.

Hứa Thái Nhân, Đào Minh Hải, Dương Thúy Yên, Võ Nam Sơn, Phạm Minh Đức và Trần Ngọc Hải, 2019a. Hiện trạng và tiềm năng phát triển nuôi cầu gai ở vùng biển Kiên Giang, Việt Nam. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*. 55(1B): 38-47. DOI:10.22144/ctu.jvn.2019.020.

Hứa Thái Nhân, Trương Quỳnh Như và Ngô Thị Thu Thảo, 2019b. Nghiên cứu một số đặc điểm sinh học sinh sản cầu gai đen *Diadema setosum* (Leske, 1778). *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*. 55 (2B,D): 28-37. DOI:10.22144/ctu.jvn.2019.045.

Jose, J.J., Lipton, A.P., and Anil, M.K., 2007. Induced spawning and larval rearing of sea chin *Echinometra mathaei* (de Blainville, 1825).

- Journal of the Marine Biological Association of India. 49(2): 230-233.
- Kelly, M.S., Hunter, A.J., Scholfield, C.L., and McKenzie, J.D., 2000. Morphology and survivorship of larval *Psammechinus miliaris* (Gmelin) (Echinodermata: Echinoidea) in response to varying food quantity and quality. *Aquaculture*. 183: 223–240.
- Latypov, Y.Y, and Salin, N.I., 2011. Current status of coral reef of islands in the Gulf of Siam and Southern Viet Nam. *Russian Journal of Marine Biology*. 37(4): 255-262.
- Lesions, H.A., Kessing, B.D., and Pearse, J.S., 2001. Population structure and speciation in tropical seas: global phyogeography of the sea urchin *Diadema*. *Evolution*. 55: 955-975.
- Liu, H., Kelly, M.S., Cook, E.J., Black, K., Orr, H., Zhu, J.X. and Dong, S.L., 2007a. The effect of diet type on growth and fatty-acid composition of sea urchin larvae, I. *Paracentrotus lividus* (Lamarck, 1816) (Echinodermata). *Aquaculture*. 264: 247-262.
- Liu, H., Kelly, M.S., Cook, E.J., Black, K., Orr, H., Zhu, J.X. and Dong, S.L., 2007b. The effect of diet type on growth and fatty acid composition of the sea urchin larvae, II. *Psammechinus miliaris* (Gmelin). *Aquaculture*. 264: 263-278.
- Nhan, T.H., and Ako H., 2014. Reproductive biology and effect of arachidonic acid level in broodstock diet on final maturation of the Hawaiian limpet *Cellana sandwicensis*. *Journal of Aquaculture Research & Development*. 5:256–264.
- Pena, M.H., Oxenford, H.A., Parker, C., and Johnson, A., 2010. Biology and fishery management of the white sea urchin, *Tripneustes ventricosus*, in the eastern Caribbean. *FAO Fisheries and Aquaculture Circular*, No. 1056. Rome, 43p.
- Rahman, M.A., Arshad, A., and Yusoff, F.M., 2014. Sea urchins (Echinodermata: Echinoidea): Their biology, culture and bioactive compounds. In: J.C.M. Kao and M.A. Rahman (eds.), *Proceedings of the International Conference on Advances in Environment, Agriculture & Medical Sciences (ICAEAM¹⁴)*, International Academy of Arts, Science & Technology, Kuala Lumpur, Malaysia, pp. 23-27.