

## LỜI CAM ĐOAN

Tôi xin cam đoan đây là công trình nghiên cứu của tôi. Các kết quả nghiên cứu được trình bày trong luận án là thành quả nghiên cứu của đề tài cấp bộ: “Nghiên cứu đặc điểm sinh học, sinh thái của giáp xác chân chèo (*Pseudodiaptomus annandalei*) trong bối cảnh biến đổi khí hậu” (B2019 - TSN - 562 - 08/Bộ Giáo dục và Đào tạo). Tôi là thành viên tham gia đề tài với tư cách là nghiên cứu sinh, thực hiện chính toàn bộ thí nghiệm về đặc điểm sinh học và nuôi sinh khối loài *P. annandalei* trong điều kiện biến đổi khí hậu. Tôi được chủ nhiệm đề tài, TS. Đinh Văn Khương, đồng thời là người hướng dẫn, cho phép tôi sử dụng tất cả các kết quả, số liệu nghiên cứu này cho luận án tiến sĩ của mình. Tôi xin cam đoan các kết quả, số liệu trong luận án là trung thực và chưa từng được công bố trong bất kỳ công trình nghiên cứu hay tạp chí nào trước đây. Việc công bố các kết quả nghiên cứu đã tuân thủ theo quy định của chương trình đào tạo tiến sĩ của Trường Đại học Nha Trang.

Khánh Hòa, ngày 10 tháng 04 năm 2023

Nghiên cứu sinh

**Đoàn Xuân Nam**

## LỜI CẢM ƠN

Lời đầu tiên, tôi xin trân trọng cảm ơn tới Ban Giám hiệu Trường Đại học Nha Trang, Ban Lãnh đạo Viện Nuôi trồng Thủy sản đã tạo điều kiện thuận lợi cho tôi hoàn thành khóa học.

Tôi đặc biệt cảm ơn sâu sắc tới hai Thầy hướng dẫn, PGS. TS. Phạm Quốc Hùng và T.S. Đinh Văn Khương đã dẫn dắt, hỗ trợ cho tôi trong suốt quá trình nghiên cứu và cho đến khi tôi hoàn thành khóa học. Nếu không có sự giúp đỡ của hai thầy, thì tôi không thể đạt được tiến độ như này và con đường làm nghiên cứu sinh của tôi còn rất gian nan.

Tôi xin cảm ơn GS. TS. Vũ Ngọc Út - Chủ nhiệm dự án Vlir Network Vietnam, đã hỗ trợ một số kinh phí để tôi thực hiện một số thí nghiệm.

Tôi xin gửi lời cảm ơn sâu sắc tới trưởng thành, vợ, các con và mọi người thân trong gia đình. Mọi người đã hỗ trợ tôi về mọi mặt, thời gian, tài chính và tinh thần, trong suốt thời gian tôi làm nghiên cứu sinh. Sự giúp đỡ này là nguồn động lực lớn lao nhất để tôi có thể hoàn thành tốt luận án này.

Tôi xin chân thành cảm ơn PGS. TS. Nguyễn Đình Mão, PGS. TS. Lê Minh Hoàng, những Thầy đã hỗ trợ tôi nhiều trong quá trình hoàn thành khóa học.

Tôi xin chân thành cảm ơn GS. Nielsen TG và Th.S Josephine đã giúp tôi có thêm hiểu biết về Copepoda và cùng tôi thực hiện các nghiên cứu.

Tôi cũng chân thành cảm ơn sự giúp đỡ của các em sinh viên: Khóa 56 là Cảnh, Duy, Hà, Huyền, Yến, Nguyệt, Thiện, Băng; Khóa 57 là Hoàng, Hà, Hương, Hằng, Đức, Tin. Các em đã cùng tôi vượt qua nhiều khó khăn để thực hiện tốt các nội dung nghiên cứu trong luận án. Đồng thời, tôi cũng gửi lời cảm ơn tới các anh em kỹ sư trong Trại thực nghiệm Cam Ranh là Quang, Trình, Trọng, Sùng và Thành, những người đã hỗ trợ tôi trong quá trình làm thí nghiệm.

Cuối cùng, tôi xin gửi lời cảm ơn chân thành tới bạn bè và đồng nghiệp. Những người đã động viên và gánh vác các công việc của tôi trong suốt quá trình học tập nghiên cứu sinh.

Nghiên cứu sinh

**Đoàn Xuân Nam**

## MỤC LỤC

|                                                                                                                                                                                                                                                     |            |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| <b>LỜI CAM ĐOAN .....</b>                                                                                                                                                                                                                           | <b>i</b>   |
| <b>LỜI CẢM ƠN .....</b>                                                                                                                                                                                                                             | <b>ii</b>  |
| <b>MỤC LỤC .....</b>                                                                                                                                                                                                                                | <b>iii</b> |
| <b>DANH MỤC CÁC KÝ HIỆU, CÁC CHỮ VIẾT TẮT .....</b>                                                                                                                                                                                                 | <b>v</b>   |
| <b>DANH MỤC BẢNG .....</b>                                                                                                                                                                                                                          | <b>vii</b> |
| <b>DANH MỤC HÌNH .....</b>                                                                                                                                                                                                                          | <b>ix</b>  |
| <b>NHỮNG ĐÓNG GÓP MỚI CỦA LUẬN ÁN .....</b>                                                                                                                                                                                                         | <b>xii</b> |
| <b>MỞ ĐẦU .....</b>                                                                                                                                                                                                                                 | <b>1</b>   |
| <b>CHƯƠNG 1 - TỔNG QUAN .....</b>                                                                                                                                                                                                                   | <b>3</b>   |
| 1.1. Nuôi giáp xác chân chèo làm thức ăn sống trong nuôi trồng thủy sản .....                                                                                                                                                                       | 3          |
| 1.2. Đặc điểm sinh học của loài <i>P. annandalei</i> .....                                                                                                                                                                                          | 27         |
| 1.3. Ảnh hưởng của biến đổi khí hậu lên giáp xác chân chèo .....                                                                                                                                                                                    | 32         |
| 1.4. Nghiên cứu về loài <i>P. annandalei</i> trên thế giới và Việt Nam .....                                                                                                                                                                        | 33         |
| <b>CHƯƠNG 2 - VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU .....</b>                                                                                                                                                                                          | <b>38</b>  |
| 2.1. Đối tượng nghiên cứu .....                                                                                                                                                                                                                     | 38         |
| 2.2. Phạm vi nghiên cứu .....                                                                                                                                                                                                                       | 38         |
| 2.3. Thời gian và địa điểm nghiên cứu .....                                                                                                                                                                                                         | 38         |
| 2.4. Hệ thống thí nghiệm .....                                                                                                                                                                                                                      | 38         |
| 2.5. Thiết kế thí nghiệm .....                                                                                                                                                                                                                      | 39         |
| 2.5.1. Giáp xác chân chèo và tảo thí nghiệm .....                                                                                                                                                                                                   | 39         |
| 2.5.2. Nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ tảo ( <i>Chaetoceros muelleri</i> , <i>Isochrysis galbana</i> , <i>Tetraselmis chuii</i> ) và nhiệt độ (25°C, 30°C và 35°C) lên tốc độ lọc của con trưởng thành - Thí nghiệm 1 .....                        | 40         |
| 2.5.3. Nghiên cứu ảnh hưởng sự cho ăn 3 loài tảo khác nhau ( <i>Chaetoceros muelleri</i> , <i>Isochrysis galbana</i> , <i>Tetraselmis chuii</i> ) lên sinh trưởng và sinh sản của <i>P. annandalei</i> ở nhiệt độ 30°C và 34°C - Thí nghiệm 2 ..... | 43         |
| 2.5.4. Nghiên cứu ảnh hưởng của điều kiện nhiệt độ cao (34°C) đến sinh trưởng và sinh sản của loài <i>P. annandalei</i> qua 3 thế hệ - Thí nghiệm 3 .....                                                                                           | 46         |
| 2.5.5. Nghiên cứu ảnh hưởng của 3 nhiệt độ (25°C, 30°C và 34°C) lên sinh trưởng và sinh sản của <i>P. annandalei</i> - Thí nghiệm 4 .....                                                                                                           | 47         |
| 2.5.6. Nghiên cứu khả năng chịu sốc độ mặn và sự tương tác của độ mặn với nhiệt độ lên sinh trưởng và sinh sản của <i>P. annandalei</i> - Thí nghiệm 5 .....                                                                                        | 49         |

|                                                                                                                                                                                              |            |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| 2.5.7. Nghiên cứu ảnh hưởng của mật độ ấu trùng ban đầu và mật độ con trưởng thành ban đầu lên sinh trưởng và sinh sản của <i>P. annandalei</i> ở nhiệt độ 30°C và 34°C - Thí nghiệm 6 ..... | 53         |
| 2.5.8. Nghiên cứu thử nghiệm nuôi sinh khối và nuôi thu ấu trùng của <i>P. annandalei</i> ở nhiệt độ 30°C và 34°C - Thí nghiệm 7 .....                                                       | 55         |
| 2.5.9. Các chỉ tiêu đánh giá, phương pháp thu và phân tích mẫu .....                                                                                                                         | 58         |
| 2.6. Phương pháp phân tích và xử lý số liệu .....                                                                                                                                            | 65         |
| <b>CHƯƠNG 3 - KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN .....</b>                                                                                                                                                 | <b>67</b>  |
| 3.1. Ảnh hưởng của nồng độ tảo ( <i>C. muelleri</i> , <i>I. galbana</i> , <i>T. chuii</i> ) và nhiệt độ (25°C, 30°C và 35°C) lên tốc độ lọc của <i>P. annandalei</i> trưởng thành. ....      | 67         |
| 3.2. Ảnh hưởng sự cho ăn 3 loài tảo khác nhau lên sinh trưởng và sinh sản của loài <i>P. annandalei</i> ở nhiệt độ 30°C và 34°C. ....                                                        | 76         |
| 3.3. Ảnh hưởng của điều kiện nhiệt độ cao (34°C) đến sinh trưởng và sinh sản của loài <i>P. annandalei</i> qua 3 thế hệ .....                                                                | 83         |
| 3.4. Ảnh hưởng của nhiệt độ lên sinh trưởng và sinh sản của <i>P. annandalei</i> .....                                                                                                       | 91         |
| 3.5. Khả năng chịu sốc độ mặn và sự tương tác của độ mặn với nhiệt độ lên đặc điểm sinh học và sinh sản của <i>P. annandalei</i> .....                                                       | 96         |
| 3.6. Ảnh hưởng của mật độ ấu trùng và mật độ con trưởng thành nuôi ban đầu lên sinh trưởng và sinh sản của <i>P. annandalei</i> ở nhiệt độ 30°C và 34°C .....                                | 106        |
| 3.7. Nuôi sinh khối và nuôi thu ấu trùng <i>P. annandalei</i> ở nhiệt độ 30°C và 34°C ..                                                                                                     | 116        |
| <b>KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ .....</b>                                                                                                                                                           | <b>126</b> |
| <b>KẾT LUẬN .....</b>                                                                                                                                                                        | <b>126</b> |
| <b>KIẾN NGHỊ .....</b>                                                                                                                                                                       | <b>127</b> |
| <b>DANH MỤC CÔNG TRÌNH CỦA TÁC GIẢ</b>                                                                                                                                                       |            |
| <b>TÀI LIỆU THAM KHẢO</b>                                                                                                                                                                    |            |
| <b>PHỤ LỤC</b>                                                                                                                                                                               |            |



## DANH MỤC CÁC KÝ HIỆU, CÁC CHỮ VIẾT TẮT

|                                       |                                   |
|---------------------------------------|-----------------------------------|
| HUFA (Highly unsaturated fatty acids) | Axít béo có mức chưa no cao       |
| ARA (C20:4n - 6)                      | Axít arachidonic                  |
| DHA (C22:6n - 3)                      | Axít docosahexaenoic              |
| EFA (Essential fatty acids)           | Axít béo thiết yếu                |
| EPA (C20:5n - 3)                      | Axít eicosapentaenoic             |
| N1 (Naupliar 1)                       | Ấu trùng giai đoạn 1              |
| N2 (Naupliar 2)                       | Ấu trùng giai đoạn 2              |
| N3 (Naupliar 3)                       | Ấu trùng giai đoạn 3              |
| N4 (Naupliar 4)                       | Ấu trùng giai đoạn 4              |
| N5 (Naupliar 5)                       | Ấu trùng giai đoạn 5              |
| N6 (Naupliar 6)                       | Ấu trùng giai đoạn 6              |
| C1 (Copepodid 1)                      | Con non giai đoạn 1               |
| C2 (Copepodid 2)                      | Con non giai đoạn 2               |
| C3 (Copepodid 3)                      | Con non giai đoạn 3               |
| C4 (Copepodid 4)                      | Con non giai đoạn 4               |
| C5 (Copepodid 5)                      | Con non giai đoạn 5               |
| N10 (Nauplii in 10 days)              | Số ấu trùng sinh ra trong 10 ngày |
| ‰ (Part per thousand)                 | Đơn vị đo độ mặn (gam/L)          |
| pg C/tế bào                           | Picogram cacbon/tế bào            |
| PP (Pellet production)                | Số phân thải ra                   |

|                                             |                                   |
|---------------------------------------------|-----------------------------------|
| PPmax (Maximum pellet production)           | Số phân thải ra cực đại           |
| SPP (Specific pellet production)            | Số phân thải ra đặc trưng         |
| SPPmax (Maximum Specific pellet production) | Số phân thải ra đặc trưng cực đại |
| SGR (Specific growth rate)                  | Tốc độ sinh trưởng đặc trưng      |
| F (Fecundity)                               | Sức sinh sản                      |
| g/L và $\mu\text{g C/L}$                    | Gam/L và Microgram cacbon/L       |
| HS (Hatching success)                       | Tỷ lệ nở                          |
| Km (half - saturation constant)             | Hằng số nửa bão hòa               |
| VNN (Viral nervous necrosis)                | Bệnh vi rút hoại tử thần kinh     |

## DANH MỤC BẢNG

|                                                                                                                                                                                                                                                                          |     |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Bảng 2.1. Khối lượng tế bào tảo và mật độ của 3 loài tảo cho ăn (mức 800 $\mu\text{g C/L}$ )..41                                                                                                                                                                         | 41  |
| Bảng 2.2. Nồng độ tảo cho ăn và quy đổi ra mật độ tảo thực tế.....41                                                                                                                                                                                                     | 41  |
| Bảng 3.1. Phân tích phương sai đa yếu tố (Three-way ANOVAs), ảnh hưởng của nồng độ tảo <i>Chaetoceros muelleri</i> và nhiệt độ lên PP và SPP của <i>P. annandalei</i> . ....68                                                                                           | 68  |
| Bảng 3.2. Phân tích phương sai đa yếu tố (Three-way ANOVAs), ảnh hưởng của nồng độ tảo <i>Isochrysis galbana</i> và nhiệt độ lên PP và SPP của <i>P. annandalei</i> ..... 70                                                                                             | 70  |
| Bảng 3.3. Phân tích phương sai đa yếu tố (Three-way ANOVAs), ảnh hưởng của nồng độ tảo <i>Tetraselmis chuii</i> và nhiệt độ lên PP và SPP của <i>P. annandalei</i> . ....72                                                                                              | 72  |
| Bảng 3.4. Thể tích hạt phân của <i>P. annandalei</i> theo giới tính, nhiệt độ và loài tảo ..... 72                                                                                                                                                                       | 72  |
| Bảng 3.5. Tổng hợp các mô hình khớp với số liệu về PP và SPP .....73                                                                                                                                                                                                     | 73  |
| Bảng 3.6. Phân tích phương sai đa yếu tố (Two-way ANOVAs): ảnh hưởng của nhiệt độ và loài tảo lên tỷ lệ sống, sức sinh sản, tỷ lệ nở thành công, số ấu trùng/Cái và tổng số ấu trùng sinh ra trong 10 ngày của mỗi <i>P. annandalei</i> cái ..... 79                     | 79  |
| Bảng 3.7. Ảnh hưởng của nhiệt độ và thể hệ lên kích thước con trưởng thành. ....85                                                                                                                                                                                       | 85  |
| Bảng 3.8. Ảnh hưởng của nhiệt độ và thể hệ lên sức sinh sản và sức sinh sản đặc trưng của <i>P. annandalei</i> . .... 86                                                                                                                                                 | 86  |
| Bảng 3.9. Ảnh hưởng của nhiệt độ và thể hệ lên tỷ lệ nở của <i>P. annandalei</i> . .... 87                                                                                                                                                                               | 87  |
| Bảng 3.10. Ảnh hưởng của nhiệt độ và thể hệ lên sinh sản và sinh sản đặc trưng của <i>P. annandalei</i> . ....88                                                                                                                                                         | 88  |
| Bảng 3.11. Kích thước ( $\mu\text{m}$ ) các giai đoạn phát triển và tốc độ sinh trưởng của <i>P. annandalei</i> ở nhiệt độ 25°C, 30°C và 34°C. .... 92                                                                                                                   | 92  |
| Bảng 3.12. Ảnh hưởng của nhiệt độ lên tỷ lệ sống, sức sinh sản, tỷ lệ nở và số ấu trùng nở ra/Cái <i>P. annandalei</i> . ....93                                                                                                                                          | 93  |
| Bảng 3.13. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến sinh sản và tuổi thọ của <i>P. annandalei</i> . ....94                                                                                                                                                                             | 94  |
| Bảng 3.14. Phân tích phương sai đa yếu tố (Two-way ANOVAs): ảnh hưởng của độ mặn, thời gian sốc, giai đoạn phát triển đến tỷ lệ sống của <i>P. annandalei</i> . .... 98                                                                                                  | 98  |
| Bảng 3.15. Phân tích phương sai đa yếu tố (Two-way ANOVAs): ảnh hưởng của độ mặn và nhiệt độ lên kích thước, SGR <sub>L</sub> của con đực và cái trưởng thành, tỷ lệ nở thành công, số ấu trùng nở ra/con cái và tổng số ấu trùng sinh ra/con cái trong 10 ngày .... 101 | 101 |

|                                                                                                                                                                                                                                                                                       |     |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Bảng 3.16. Phân tích One - way ANOVA: ảnh hưởng của độ mặn lên kích thước và SCR của con trưởng thành, tỷ lệ nở, số ấu trùng/Cái và số ấu trùng sinh ra trong 10 ngày/Cái ở hai điều kiện nhiệt độ nuôi 30°C và 34°C. ....                                                            | 105 |
| Bảng 3.17. Phân tích phương sai đa yếu tố (Two-way ANOVAs): ảnh hưởng của nhiệt độ và mật độ ấu trùng ban đầu lên tỷ lệ sống và phần trăm con trưởng thành <i>P. annandalei</i> ở 10 ngày tuổi. ....                                                                                  | 107 |
| Bảng 3.18. Phân tích phương sai đa yếu tố (Two-way ANOVAs): ảnh hưởng của nhiệt độ và mật độ ấu trùng ban đầu lên kích thước, tốc độ sinh trưởng và sức sinh sản của <i>P. annandalei</i> ở ngày nuôi thứ 10 .....                                                                    | 109 |
| Bảng 3.19. Phân tích phương sai đa yếu tố (Two - way ANOVAs): Ảnh hưởng của nhiệt độ và mật độ lên tổng số ấu trùng sinh ra 10 ngày của quần thể và tỷ lệ sống <i>P. annandalei</i> ; ảnh hưởng mật độ và ngày nuôi lên trung bình số ấu trùng/Cái ở ngày thứ 1 và ngày thứ 10.. .... | 113 |
| Bảng 3.20. Phân tích phương sai đa yếu tố (Two - way ANOVAs): Ảnh hưởng của nhiệt độ và tỷ lệ thu hoạch lên tổng số copepod thu được trong toàn thời gian nuôi sinh khối. ....                                                                                                        | 120 |
| Bảng 3.21. Phân tích phương sai đa yếu tố (Two - way ANOVAs): Ảnh hưởng của nhiệt độ và tỷ lệ thu hoạch lên tổng số ấu trùng. ....                                                                                                                                                    | 123 |

## DANH MỤC HÌNH

|                                                                                                                                                                                                                                |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Hình 1. 1. Giai đoạn phát triển của <i>Pseudaptomus annandalei</i> [1] .....                                                                                                                                                   | 7  |
| Hình 1. 2. Các giai đoạn phát triển của <i>Tigriopus japonicus</i> (Harpacticoida) [58] .....                                                                                                                                  | 8  |
| Hình 1. 3. Các giai đoạn phát triển của <i>Paracyclopina nana</i> (Cyclopoida) [59].....                                                                                                                                       | 8  |
| Hình 1. 4. Sử dụng copepod từ ao cho ương nuôi ấu trùng cá [112].....                                                                                                                                                          | 26 |
| Hình 1.5. Con trưởng thành loài <i>P. annandalei</i> (ảnh Đoàn Xuân Nam).....                                                                                                                                                  | 27 |
| Hình 1.6. Các giai đoạn phát triển của ấu trùng <i>P. annandalei</i> : a (N1), b (N2), c (N3), d (N4), e và f (N5), g và h (N6) [169].....                                                                                     | 29 |
| Hình 1.7. Các giai đoạn con non của <i>P. annandalei</i> : a, b (C1); c, d (C2); e, f (C3); g, h (C4 đực); i, j (C5 đực); k, l (con đực trưởng thành); m, n (C4 cái); o, p (C5 cái); q, r, s (con cái trưởng thành) [169]..... | 29 |
| Hình 2.1. Loài tảo ( <i>C. muelleri</i> , <i>I. galbana</i> và <i>T. chuii</i> ), nhiệt độ (25°C, 30°C và 35°C), con cái và con đực.....                                                                                       | 43 |
| Hình 2.2. Loài tảo ( <i>C. muelleri</i> , <i>I. galbana</i> và <i>T. chuii</i> ), nhiệt độ (25°C, 30°C và 35°C), con cái và con đực.....                                                                                       | 44 |
| Hình 2.3. <i>C. muelleri</i> , <i>I. galbana</i> và <i>T. chuii</i> , nhiệt độ (30°C và 34°C), tổng số ấu trùng/Cái (10 ngày) của <i>P. annandalei</i> .....                                                                   | 45 |
| Hình 2.4. <i>C. muelleri</i> , <i>I. galbana</i> và <i>T. chuii</i> , nhiệt độ (30°C và 34°C), tỷ lệ nở thành công của <i>P. annandalei</i> .....                                                                              | 45 |
| Hình 2.5. <i>C. muelleri</i> , <i>I. galbana</i> và <i>T. chuii</i> , nhiệt độ (30°C và 34°C), số ấu trùng/cái của <i>P. annandalei</i> .....                                                                                  | 46 |
| Hình 2.6. <i>C. muelleri</i> , <i>I. galbana</i> và <i>T. chuii</i> , nhiệt độ (30°C và 34°C), số ấu trùng/cái của <i>P. annandalei</i> .....                                                                                  | 47 |
| Hình 2.7. Nhiệt độ (25°C, 30°C và 34°C), các giai đoạn phát triển, đo kích thước copepod, tốc độ sinh trưởng chiều dài đặc trưng của <i>P. annandalei</i> .....                                                                | 48 |
| Hình 2.8. Các độ mặn từ 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40‰ đến tỷ lệ sống của <i>P. annandalei</i> sau 24 giờ, 48 giờ.....                                                                                                      | 50 |
| Hình 2.9. Các độ mặn(5 - 35‰) và nhiệt độ (30°C và 34°C) đến kích thước trưởng thành, sức sinh sản, tỷ lệ nở thành công và số ấu trùng/Cái.....                                                                                | 52 |
| Hình 2.10. Các độ mặn(5 - 35‰) và nhiệt độ (30°C và 34°C) đến tỷ lệ nở.....                                                                                                                                                    | 52 |

|                                                                                                                                                                                                                     |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Hình 2.11. Các độ mặn (5 - 35‰) và nhiệt độ (30°C và 34°C) đến số ấu trùng/Cái.....                                                                                                                                 | 52 |
| Hình 2.12. Các mật độ ấu trùng ban đầu (500, 1.000, 1.500, 2.000 con/L) và nhiệt độ (30°C và 34°C) đến phần trăm con trưởng thành, tỷ lệ sống, kích thước con trưởng thành, tốc độ sinh trưởng và sức sinh sản..... | 54 |
| Hình 2.13. Các con trưởng thành ban đầu (100, 200, 400, 600, 800, 1.000 con/L) và nhiệt độ (30°C và 34°C) đến số ấu trùng/Cái (ngày thứ 1 và ngày thứ 10) và tổng số ấu trùng/Quần thể trong 10 ngày.....           | 55 |
| Hình 2.14. Nuôi sinh khối ở nhiệt độ (30°C và 34°C).....                                                                                                                                                            | 56 |
| Hình 2.15. Nuôi thu sinh khối ở các tỷ lệ thu hoạch (10% - 50%), 30°C và 34°C.....                                                                                                                                  | 57 |
| Hình 2.16. Nuôi sinh sản ấu trùng ở các tỷ lệ thu hoạch (25%, 50%, 75%, 100%), ở nhiệt độ 30°C và 34°C.....                                                                                                         | 58 |
| Hình 2.17. Hạt phân được đo chiều dài và chiều rộng bằng kính hiển vi soi nổi (Olympus SZ61).....                                                                                                                   | 59 |
| Hình 2.18. Phương pháp đo kích thước ấu trùng (a), con non và trưởng thành (b).....                                                                                                                                 | 61 |
| Hình 3.1. Ảnh hưởng của nồng độ tảo <i>Chaetoceros muelleri</i> ( $\mu\text{g C/L}$ ), nhiệt độ và giới tính lên PP và SPP của <i>P. annandalei</i> .....                                                           | 67 |
| Hình 3.2. Ảnh hưởng của nồng độ tảo <i>Isochrysis galbana</i> ( $\mu\text{g C/L}$ ), nhiệt độ và giới tính lên PP và SPP của <i>P. annandalei</i> .....                                                             | 69 |
| Hình 3.3. Ảnh hưởng của nồng độ tảo <i>Tetraselmis chuii</i> ( $\mu\text{g C/L}$ ), nhiệt độ và giới tính lên PP và SPP của <i>P. annandalei</i> .....                                                              | 71 |
| Hình 3.4. Sự phát triển quần thể ở các nghiệm thức loài tảo và nhiệt độ .....                                                                                                                                       | 77 |
| Hình 3.5. Tốc độ sinh trưởng đặc trưng theo chiều dài của con cái (a), con đực (b) trưởng thành .....                                                                                                               | 78 |
| Hình 3.6. Ảnh hưởng của loài tảo, nhiệt độ lên tỷ lệ sống (a), sức sinh sản (b), tỷ lệ nở (c), số ấu trùng/Cái (d) và tổng số ấu trùng sinh ra bởi mỗi cái <i>P. annandalei</i> trong 10 ngày (e) .....             | 80 |
| Hình 3.7. Sự phát triển quần thể <i>P. annandalei</i> ở nhiệt độ 30°C và 34°C.....                                                                                                                                  | 84 |
| Hình 3.8. Kích thước trưởng thành <i>P. annandalei</i> đực (a), cái (b) ở 30°C và 34°C qua 3 thế hệ.....                                                                                                            | 85 |
| Hình 3.9. Sức sinh sản (a) và sức sinh sản đặc trưng (b) của <i>P. annandalei</i> ở nhiệt độ 30°C và 34°C qua 3 thế hệ.....                                                                                         | 86 |

|                                                                                                                                                                                                              |     |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Hình 3.10. Tỷ lệ nở thành công của <i>P. annandalei</i> ở 30°C và 34°C qua 3 thế hệ.....                                                                                                                     | 87  |
| Hình 3.11. Sinh sản ấu trùng (a) và sinh sản ấu trùng đặc trưng (b) của <i>P. annandalei</i> ở 30°C và 34°C qua 3 thế hệ.....                                                                                | 88  |
| Hình 3.12. Sự phát triển quần thể ở nhiệt độ 25°C (a), 30°C (b) và 34°C (c). ....                                                                                                                            | 92  |
| Hình 3.13. Ảnh hưởng của sốc độ mặn đến tỷ lệ sống các giai đoạn phát triển: a) ấu trùng, b) con non, c) con đực trưởng thành, d) con cái trưởng thành <i>P. annandalei</i> . ...                            | 99  |
| Hình 3.14. Ảnh hưởng của sốc độ mặn lên tỷ lệ nở (a) và số ấu trùng/Cái (b). ....                                                                                                                            | 99  |
| Hình 3.15. Ảnh hưởng của nhiệt độ và mật độ lên tỷ lệ sống của quần thể <i>P. annandalei</i> ở 10 ngày tuổi. ....                                                                                            | 107 |
| Hình 3.16. Ảnh hưởng của nhiệt độ và mật độ lên tỷ lệ con trưởng thành trong quần thể ở ngày thứ 10. ....                                                                                                    | 108 |
| Hình 3.17. Ảnh hưởng của nhiệt độ và mật độ lên kích thước và SGR của <i>P. annandalei</i> đực và cái trưởng thành. ....                                                                                     | 110 |
| Hình 3.18. Ảnh hưởng của nhiệt độ và mật độ lên sức sinh sản <i>P. annandalei</i> . ....                                                                                                                     | 110 |
| Hình 3.19. Số ấu trùng/Cái ở ngày 1 và ngày 10 ở nhiệt độ 30°C (a), 34°C (b) và tổng số ấu trùng thu được từ quần thể trong 10 ngày (c). ....                                                                | 112 |
| Hình 3.20. Ảnh hưởng của nhiệt độ và mật độ trưởng thành ban đầu lên tỷ lệ sống của quần thể trưởng thành <i>P. annandalei</i> ở ngày nuôi thứ 10. ....                                                      | 113 |
| Hình 3.21. Mật độ nuôi sinh khối qua các ngày nuôi ở nhiệt độ 30°C và 34°C. ....                                                                                                                             | 117 |
| Hình 3.22. Mật độ các giai đoạn phát triển, ấu trùng, con non, con trưởng thành, trong quần thể nuôi sinh khối qua các ngày nuôi ở nhiệt độ 30°C (a) và 34°C (b). ....                                       | 118 |
| Hình 3.23. Tổng số copepod thu được ở các ngày nuôi tương ứng với các tỷ lệ thu hoạch từ 10% đến 50% ở nhiệt độ 30°C (a) và 34°C (b). ....                                                                   | 119 |
| Hình 3.24. Tổng số copepod được thu được với các tỷ lệ thu hoạch từ 10% đến 50% ở nhiệt độ 30°C và 34°C. ....                                                                                                | 119 |
| Hình 3.25. Tổng số ấu trùng thu ứng với các tỷ lệ thu hoạch qua các ngày nuôi ở nhiệt độ 30°C (a), 34°C (b). ....                                                                                            | 121 |
| Hình 3.26. Ảnh hưởng của nhiệt độ và tỷ lệ thu hoạch lên tổng số ấu trùng thu được qua 30 ngày nuôi, (a) 5 lần thu đầu, (b) 5 lần thu thứ 2, (c) 5 lần thu thứ 3, (d) tổng 15 lần thu tổng số ấu trùng. .... | 122 |

## NHỮNG ĐÓNG GÓP MỚI CỦA LUẬN ÁN

**Đề tài luận án:** Nghiên cứu đặc điểm sinh học sinh trưởng, sinh sản và nuôi sinh khối Copepoda *P. annandalei* Sewell, 1919 trong điều kiện biến đổi khí hậu

**Chuyên ngành:** Nuôi trồng Thủy sản

**Mã số:** 9620301

**Nghiên cứu sinh:** Đoàn Xuân Nam

**Người hướng dẫn:** 1. PGS.TS. Phạm Quốc Hùng

2. TS. Đinh Văn Khương

**Cơ sở đào tạo:** Trường Đại học Nha Trang

**Tóm tắt những đóng góp mới về lý luận và học thuật của luận án:**

1. Đây là lần đầu tiên cung cấp các hiểu biết về ảnh hưởng của nhiệt độ cao (34°C) ứng với sự ấm lên do biến đổi khí hậu lên sự sinh trưởng và sinh sản của loài *P. annandalei* qua 3 thế hệ nuôi. Nhiệt độ 34°C làm chậm sự phát triển quần thể, giảm kích thước, giảm khả năng sinh sản cũng như giảm tỷ lệ sống và tuổi thọ của loài *P. annandalei*. Tác động này có thể ảnh hưởng tới chuỗi thức ăn của hệ sinh thái rừng ngập mặn và nước lợ.
2. Đây cũng là lần đầu tiên cung cấp các thông tin góp phần nuôi sinh khối và sinh sản ấu trùng của loài *P. annandalei* trong điều kiện bình thường (30°C) và điều kiện ấm lên của nước (34°C): lượng thức ăn cho con trưởng thành là từ 400 µg C/L với tảo *Isochrysis galbana* hoặc *Tetraselmis chuii*; từ 800 µg C/L với tảo *Chaetoceros muelleri* ở nhiệt độ 30°C và 34°C; 15‰ là độ mặn thích hợp; 500 ấu trùng/L và 100 trưởng thành/L là mật độ ban đầu thích hợp; tỷ lệ thu hoạch sinh khối tối ưu là 20% thể tích mỗi 3 ngày; nuôi thu ấu trùng với tỷ lệ thu hoạch tối ưu là 50% mỗi 2 ngày.

**TẬP THỂ HƯỚNG DẪN**

**NGHIÊN CỨU SINH**





**PGS.TS. Phạm Quốc Hùng   TS. Đinh Văn Khương**

**Đoàn Xuân Nam**



## THE NEW CONTRIBUTIONS OF THESIS

**Thesis title:** Study on some biological characteristics of growth and reproduction of copepod *P. annandalei* (Sewell, 1919) and mass culture under climate change.

**Major:** Aquaculture

**Major code:** 9620301

**PhD student:** Doan Xuan Nam

**Supervisor:** 1. Assoc. Prof. Dr. Pham Quoc Hung

2. Dr. Dinh Van Khuong

**Educational Institution:** Nha Trang University

**Key finding:**

1. This is the first time the study results provide an understanding of the effects of extreme temperature (34°C) corresponding to climate change condition on the growth and reproduction of *P. annandalei* over three generations. The temperature 34°C made them had slower growth, smaller size, lower reproduction, the lower survival rate of *P. annandalei*. As a result, the warming affects to food chain of brackish water and mangrove ecosystems.
2. This is the first time the study results provide an understanding to contribute for mass culture and nauplii production of this species at normal condition (30°C) and warming condition (34°C): quantity of microalgal for feeding adult *P. annandalei* was 400 µg C/L for *Isochrysis galbana* or *Tetraselmis chuii* and 800 µg C/L for *Chaetoceros muelleri*; 15‰ is optimal salinity; the optimal density are 500 nauplii/Liter and 100 adults/Liter; the optimal dilution ratio are 20% for every three days in mass culture and 50% for every two days in nauplii production.

**PhD Student**

**Doan Xuan Nam**

## MỞ ĐẦU

Việt Nam là một trong những nước sản xuất thủy sản lớn nhất thế giới nhưng cũng là một trong bốn nước chịu ảnh hưởng nặng nề từ biến đổi khí hậu. Tác động của biến đổi khí hậu lên nuôi trồng thủy sản đang là một vấn đề được quan tâm đặc biệt trên thế giới [163, 164, 166, 168, 212]. Hiện tượng ấm lên toàn cầu làm tăng quá trình trao đổi chất của các động vật thủy sản và làm giảm hàm lượng oxy hòa tan trong nước [163], ảnh hưởng trực tiếp tới sinh trưởng của các loài thủy sinh vật trong chuỗi thức ăn và trong nuôi trồng thủy sản. Nhóm giáp xác chân chèo (Copepoda) được cho là mắt xích quan trọng trong chuỗi thức ăn tự nhiên. Chúng góp phần đến 80% sinh khối động vật phù du ở vùng ven bờ và đại dương [7]. Đồng thời Copepoda cũng được chứng minh là thức ăn sống giá trị trong nuôi trồng thủy sản [8 - 11]. Tương tự, *P. annandalei* được cho là Copepoda có vai trò quan trọng trong việc truyền năng lượng trong chuỗi thức ăn của hệ sinh thái nước lợ và cửa sông rừng ngập mặn nhiệt đới [12, 13] và đồng thời cũng là thức ăn sống tốt cho ương nuôi ấu trùng các loài cá biển [14].

Dưới điều kiện biến đổi khí hậu như hiện nay, nhiệt độ bề mặt nước biển vùng nhiệt đới đã tăng gần bằng giới hạn chịu đựng nhiệt độ của Copepoda [15], nên có thể cũng ảnh hưởng tiêu cực đến loài *P. annandalei* trong tự nhiên. Bên cạnh đó, nguồn *P. annandalei* trong hỗn hợp nhiều loài Copepoda, được sử dụng làm thức ăn sống cho ương nuôi ấu trùng cá biển, có nguồn gốc hoàn toàn từ tự nhiên trong các ao nuôi thủy sản ngoài trời [16]. Nguồn copepod này có nhiều nhược điểm như khó kiểm soát về số lượng cũng như chất lượng do sự biến động về mùa vụ và sự truyền nhiễm của các tác nhân gây bệnh [17]. Do vậy, đến nay vẫn chưa chủ động được nguồn *P. annandalei* đơn loài, an toàn cung cấp cho nuôi trồng thủy sản. Đồng thời cũng chưa có công trình nghiên cứu nào cung cấp thông tin về ảnh hưởng của sự ấm lên do biến đổi khí hậu lên loài

*P. annandalei* này, cũng như về nuôi sinh khối Copepoda này ở Việt Nam. Trước thực tế đó, đề tài: **“Nghiên cứu đặc điểm sinh học sinh trưởng, sinh sản và nuôi sinh khối Copepoda *Pseudodiaptomus annandalei* Sewell, 1919 trong điều kiện biến đổi khí hậu”** được lựa chọn để thực hiện là cần thiết.

### **Mục tiêu chính của luận án:**

- Đánh giá sự ảnh hưởng của biến đổi khí hậu (nhiệt độ nước tăng cao lên 34°C) lên sinh trưởng và sinh sản của *P. annandalei*.
- Xác định các thông số kỹ thuật làm cơ sở cho việc xây dựng quy trình nuôi sinh khối loài *P. annandalei*.

### **Các nội dung luận án:**

1. Nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ tảo (*C. muelleri*, *I. galbana*, *T. chuii*) và nhiệt độ (25°C, 30°C và 35°C) lên tốc độ lọc của con trưởng thành.
2. Nghiên cứu ảnh hưởng sự cho ăn 3 loài tảo khác nhau (*C. muelleri*, *I. galbana*, *T. chuii*) lên sinh trưởng và sinh sản của *P. annandalei* ở nhiệt độ 30°C và 34°C.
3. Nghiên cứu ảnh hưởng của điều kiện nhiệt độ cao (34°C) đến sinh trưởng và sinh sản của *P. annandalei* qua 3 thế hệ.
4. Nghiên cứu ảnh hưởng của 3 nhiệt độ (25°C, 30°C và 34°C) lên sinh trưởng và sinh sản của *P. annandalei*.
5. Nghiên cứu ảnh hưởng của độ mặn và tương tác độ mặn với nhiệt độ lên sinh trưởng và sinh sản của *P. annandalei*.
6. Nghiên cứu ảnh hưởng của mật độ ấu trùng và mật độ con trưởng thành ban đầu lên sinh trưởng và sinh sản của *P. annandalei* ở nhiệt độ 30°C và 34°C.
7. Nghiên cứu thử nghiệm nuôi sinh khối và nuôi thu ấu trùng của *P. annandalei* ở nhiệt độ 30°C và 34°C.

### **Ý nghĩa khoa học và thực tiễn của luận án:**

- Về mặt khoa học, nghiên cứu này góp phần cung cấp các thông tin về sự ảnh hưởng của sự tăng nhiệt độ nước do biến đổi khí hậu đến sự sinh trưởng và sinh sản của *P. annandalei*. Nghiên cứu làm rõ hơn và bổ sung các dẫn liệu khoa học cho sự ảnh hưởng của biến đổi khí hậu lên thủy sinh vật nói chung và giáp xác chân chèo nói riêng.
- Về thực tiễn, đây là công trình nghiên cứu nuôi sinh khối *P. annandalei* đầu tiên ở Việt Nam. Thông qua nghiên cứu này, các thông số nuôi *P. annandalei* được xác định. Kết quả của đề tài giúp cho các nhà nghiên cứu và sản xuất có cơ sở để tiếp tục nghiên cứu sử dụng loài giáp xác chân chèo này làm thức ăn sống thay thế các loại thức ăn sống truyền thống trong ương nuôi các đối tượng thủy sản để đạt tỷ lệ sống và chất lượng con giống tốt hơn.

## CHƯƠNG 1 - TỔNG QUAN

### 1.1. Nuôi giáp xác chân chèo làm thức ăn sống trong nuôi trồng thủy sản

#### 1.1.1. Sự cần thiết sử dụng thức ăn sống trong nuôi trồng thủy sản

Việc sản xuất con giống hải sản thành công là then chốt trong phát triển nuôi công nghiệp các đối tượng thủy sản nước mặn nói riêng và ngành nuôi trồng thủy sản nói chung. Một trong những khó khăn nhất trong sản xuất giống cá biển là giai đoạn ương nuôi ấu trùng. Thời điểm ăn đầu tiên của ấu trùng cá là giai đoạn chuyển từ dinh dưỡng bên trong dựa vào noãn hoàng sang dinh dưỡng bên ngoài, thường có tỷ lệ chết cao do nhiều yếu tố như các điều kiện vật lý, hóa học, sinh học của môi trường nước và các yếu tố sinh học của ấu trùng cá [18]. Phần lớn các loài cá biển nhiệt đới như cá chẽm, cá bớp, cá hồng, cá mú, cá chim, cá bè... có trứng ở dạng trôi nổi, nở ra ấu trùng với kích thước nhỏ, miệng nhỏ, các cơ quan còn kém phát triển tại thời điểm ăn thức ăn bên ngoài môi trường. Do vậy, khả năng bắt được và tiêu hóa được thức ăn, cũng như thức ăn có đầy đủ chất dinh dưỡng cho sự phát triển của ấu trùng cá giai đoạn đầu là rất quan trọng.

Ấu trùng cá biển được cho là sinh vật non yếu và chưa phát triển hoàn thiện các cơ quan hỗ trợ cho việc phát hiện và bắt được con mồi cũng như tiêu hóa tốt thức ăn. Hầu hết ấu trùng các loài cá biển bắt mồi bằng thị giác [19]. Trong giai đoạn đầu, mắt ấu trùng cá có võng mạc hình nón đơn giản, các phần còn lại chưa biệt hóa nên yêu cầu có mức ánh sáng tương đối cao để nhìn thấy được con mồi [20]. Đồng thời khoảng cách xác định được con mồi cũng như góc nhìn của ấu trùng cá cũng ngắn và hẹp tại thời điểm này. Theo quá trình phát triển, mắt ấu trùng phát triển sẽ giúp góc nhìn rộng hơn và khoảng cách phát hiện được con mồi cũng xa hơn [21, 22]. Khi nhìn thấy được con mồi thì ấu trùng cá cũng cần phải có khả năng di chuyển đến một khoảng cách đủ gần để bắt được con mồi. Tuy nhiên, ấu trùng cá biển lại có kích thước tương đối nhỏ, bơi chậm với hệ cơ xương và các vây còn chưa phát triển hoàn thiện nên khả năng di chuyển bắt mồi còn rất hạn chế. Hơn nữa, khó khăn trong việc bơm bóng hơi của ấu trùng cá cũng ảnh hưởng đến khả năng di chuyển của ấu trùng cá trong tầng nước để tìm kiếm thức ăn. Do vậy, thức ăn phải có khả năng di chuyển đến một vị trí nằm trong khoảng cách và góc độ mà ấu trùng cá có thể nhìn thấy và bắt được là cần thiết. Ngược lại, nếu không có được thức ăn thích hợp trong một khoảng thời gian nhất định thì ấu trùng có thể rơi vào thời điểm chết, được định nghĩa bởi Blaxter và Hempel (1963), tức là thời điểm sau khi hết

noãn hoàng, ấu trùng không thể ăn và tiêu hóa được thức ăn [23, 24]. Có thể do ấu trùng không còn đủ năng lượng để bắt mồi và hoạt tính tiêu hóa của các enzym không còn để tiêu hóa được thức ăn. Nghiên cứu cũng chứng minh rằng ấu trùng cá đối sẽ mất hoạt tính các enzym tiêu hóa và có hàm lượng các enzym thấp hơn nhiều so với ấu trùng cá ăn được thức ăn tại thời điểm ăn đầu tiên [25, 26].

Trong khi thức ăn tổng hợp chỉ có khả năng trôi nổi trên mặt nước và từ từ chìm xuống đáy, gây ra vấn đề về chất lượng nước, thì thức ăn sống như luân trùng, ấu trùng *Artemia* hay giáp xác chân chèo là những sinh vật sống có thể di chuyển liên tục trong tầng nước nên luôn luôn sẵn có trong phạm vi ấu trùng cá có thể bắt được. Đồng thời, bản thân luân trùng và giáp xác chân chèo cũng là thức ăn sống tự nhiên của ấu trùng cá nên màu sắc, hình dạng, hương vị, cũng như sự di chuyển dễ dàng kích thích ấu trùng cá bắt mồi tích cực hơn so với thức ăn tổng hợp. Hơn nữa, tại thời điểm ăn ban đầu, ấu trùng chỉ có thể nuốt trọn con mồi nên thức ăn sống có thành phần và cấu tạo cơ thể tự nhiên được cho là dễ nuốt hơn so với thức ăn tổng hợp [27]. Nhìn chung, ấu trùng cá biển cần loại thức ăn phù hợp, có khả năng thu hút và dễ dàng bắt được cũng như nuốt được như các sinh vật thức ăn sống.

Ở giai đoạn phát triển đầu, ấu trùng cá yêu cầu nhiều chất dinh dưỡng để có tốc độ tăng trưởng cao nhưng hệ tiêu hóa của ấu trùng cá lại còn khá đơn giản chưa phát triển, đặc biệt ở nhóm cá chưa có chức năng dạ dày ở giai đoạn ấu trùng và chỉ phát triển ở giai đoạn ấu niên [28]. Mặc dù hệ tiêu hóa của ấu trùng đã biệt hóa thành các vùng chức năng nhưng còn khá đơn giản và chưa có chức năng dạ dày nên ấu trùng không có khả năng tiêu hóa được thức ăn tổng hợp. Tại thời điểm ăn đầu tiên, nhiều enzym tiêu hóa quan trọng đã hoạt động tham gia vào chức năng tiêu hóa thức ăn [29, 30]. Tuy nhiên, khả năng tiêu hóa thức ăn của ấu trùng vẫn còn thấp [20] do hệ thống enzym chưa hoàn thiện. Chúng chỉ hoạt động hiệu quả cho tới thời điểm hệ tiêu hóa phát triển gần như hoàn thiện. Ví dụ ở 24 ngày tuổi với cá chêm chấm *Paralabrax maculatofasciatus* [31], ở 18 đến 30 ngày tuổi với cá bơn *Paralichthys californicus* [25]. Tương tự ở ngày tuổi thứ 22 với cá tráp trắng *Diplodus sargus* [32] và ngày tuổi thứ 23 đến 25 với cá chêm *Dicentrarchus labrax* [30] hay ở ngày tuổi từ 12 đến 20 với cá bớp *Rachycentron canadum* [33]; từ ngày tuổi thứ 13 đến 17 với cá chêm *Lates calcarifer* [34]. Hai loài cá tráp biển đỏ *Pagrus major* [35] và cá chim *Trachinotus ovatus* [36] cũng chỉ thấy phát

triển ở ngày tuổi thứ 15. Vì vậy, ấu trùng cá được cần có loại thức ăn sống, dễ ăn và dễ tiêu hóa như thức ăn sống [29]. Khác với thức ăn tổng hợp thì thức ăn sống bản thân sẵn có các enzym nội sinh trong cơ thể nên có thể tự phân hủy từ bên trong cơ thể chúng và đóng góp thêm một phần enzym tiêu hóa giúp tăng khả năng tiêu hóa thức ăn của ấu trùng cá [37 - 39]. Ngoài ra, nhược điểm tan rã nhanh nhiều thành phần dinh dưỡng trong thức ăn tổng hợp khi được đưa vào nước đã làm giảm giá trị dinh dưỡng thức ăn nên không đáp ứng đủ nhu cầu dinh dưỡng của ấu trùng cá. Ngược lại, thức ăn sống không những giàu giá trị dinh dưỡng với nhiều thành phần dinh dưỡng tự nhiên, phù hợp cho hệ tiêu hóa của ấu trùng mà thức ăn sống còn có thể được làm giàu thêm để tăng giá trị dinh dưỡng hơn nên có thể đáp ứng đầy đủ hơn nhu cầu dinh dưỡng cho ấu trùng cá. Hơn nữa, việc cung cấp vi tảo trong ương nuôi ấu trùng cá đem lại nhiều lợi ích [40] và giúp sinh vật làm thức ăn sống có thức ăn nên duy trì được các thành phần dinh dưỡng trong cơ thể [41] và còn tiếp tục sống, phát triển trong bể ương khi chưa được ấu trùng cá ăn.

Thực tế cho thấy, tất cả các trại sản xuất giống cá biển ở Việt Nam hiện nay vẫn sử dụng thức ăn sống là luân trùng hoặc ấu trùng của giáp xác chân chèo làm thức ăn cho ấu trùng cá tại thời điểm ăn ngoài đầu tiên trong quy trình ương nuôi. Ở các ngày nuôi tiếp theo, tùy vào sự phát triển ấu trùng cá đặc trưng tương ứng với mỗi loài mà có sự bổ sung, thay thế một phần hoặc hoàn toàn thức ăn sống bằng các loại thức ăn tổng hợp trong quá trình nuôi và thường ở giai đoạn khi ấu trùng gần giai đoạn con non hoặc sang giai đoạn con non. Thời điểm chuyển đổi thức ăn sớm, sử dụng thức ăn tổng hợp thay thế một phần thức ăn sống ở giai đoạn ấu trùng, có thể dẫn đến kết quả tỷ lệ sống thấp hơn, tăng trưởng chậm hơn so với việc thay thế thức ăn tổng hợp vào thời điểm khi ấu trùng phát triển hoàn thiện hệ tiêu hóa. Nghiên cứu trên một số loài cá biển cho thấy, việc sử dụng thức ăn sớm từ ngày tuổi thứ 15 ở cá chêm Châu Âu *Dicentrarchus labrax* dẫn đến giảm tăng trưởng, giảm chất lượng con giống, tăng sự phân đàn và tăng tỷ lệ dị hình xương hoặc nếu sử dụng sớm hơn còn dẫn đến tỷ lệ sống thấp và tăng trưởng chậm [42]. Sự chuyển đổi thức ăn sớm vào ngày tuổi thứ 8 hay vào ngày tuổi thứ 13 ở ấu trùng cá bớp *Rachycentron canadum* cho kết quả tỷ lệ sống thấp hơn, tăng trưởng chậm hơn và tiêu hóa thấp hơn so với ấu trùng sử dụng thức ăn sống [33]. Chế độ chuyển đổi thức ăn ở cá chim *Trachinotus ovatus* ở 13 ngày tuổi và 16 ngày tuổi cho tỷ lệ sống và tăng

trưởng thấp hơn so với nghiệm thức chuyển đổi thức ăn ở ngày tuổi thứ 19 và 22 [43]. Tương tự việc sử dụng hoàn toàn thức ăn tổng hợp ngay từ ngày ăn đầu tiên ở cá chẽm trắng *Lates calcarifer* cũng cho tỷ lệ sống 0,1% và tăng trưởng thấp đạt 1,3 mg/cá ở 28 ngày [44].

Việc sử dụng thức ăn sống trong ương nuôi ấu trùng cá biển đặc biệt từ khi bắt đầu ăn thức ăn ngoài vẫn là bắt buộc để đảm bảo ấu trùng cá đạt tỷ lệ sống cao và tăng trưởng tốt. Các nhà khoa học và nhà sản xuất giống đang tìm kiếm loại thức ăn sống thích hợp nhất cho ấu trùng các loài cá biển. Liệu giáp xác chân chèo có được cho là thức ăn sống tiềm năng có thể thay thế một phần hoặc hoàn toàn thức ăn sống truyền thống như luân trùng và *Artemia* hay không?

### **1.1.2. Giáp xác chân chèo - thức ăn sống tiềm năng**

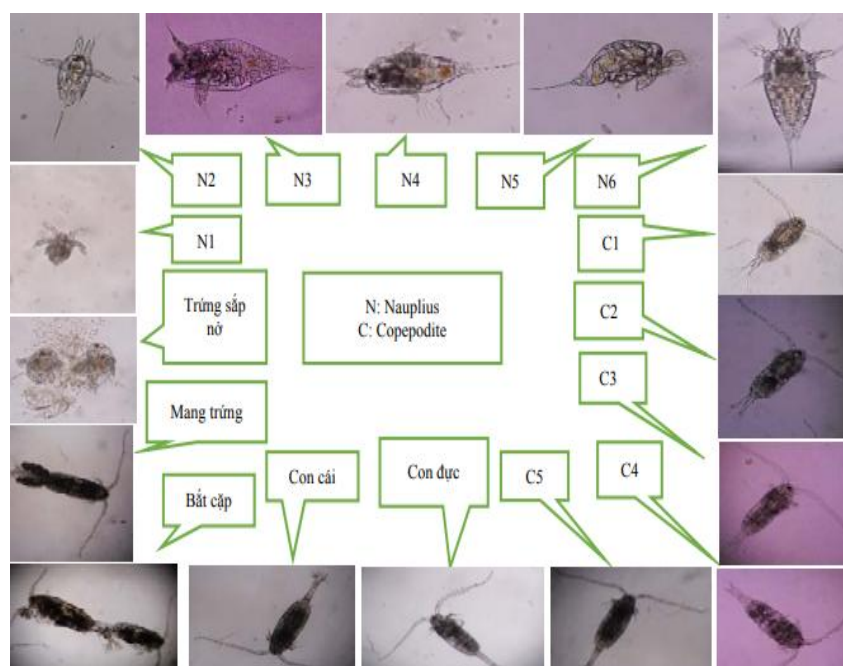
Luân trùng và *Artemia* là thức ăn sống được sử dụng phổ biến trong các trại sản xuất giống các đối tượng thủy sản biển do luân trùng dễ nuôi đạt mật độ cao [45] và tính sẵn có, tiện lợi của nguồn trứng nghi *Artemia* [46]. Tuy nhiên, luân trùng và *Artemia* khi so sánh với giáp xác chân chèo thì chúng vẫn chưa phải là thức ăn sống thích hợp nhất cho ấu trùng của nhiều loài cá biển do chúng còn có một số điểm hạn chế về mặt sinh học và dinh dưỡng. Trong khi, giáp xác chân chèo thể hiện nhiều tính ưu việt, vượt trội hơn hẳn thức ăn truyền thống như liên quan đến kích thước cơ thể, tập tính bơi và thành phần sinh hóa. Giáp xác chân chèo làm thức ăn sống có thể làm tăng khả năng ăn, khả năng tiêu hóa và đáp ứng được đầy đủ nhu cầu dinh dưỡng của giai đoạn ấu trùng của nhiều loài cá biển, đảm bảo ấu trùng phát triển tối ưu và đạt tỷ lệ sống cao.

#### **1.1.2.1. Kích thước cơ thể và tập tính di chuyển của giáp xác chân chèo.**

Giáp xác chân chèo có khoảng rộng về kích thước, từ khoảng 70 tới 10.000  $\mu\text{m}$ , phù hợp cho toàn bộ giai đoạn phát triển của ấu trùng cá. Giáp xác chân chèo có nhiều giai đoạn phát triển trong vòng đời: đầu tiên là 6 giai đoạn ấu trùng (Ấu trùng 1 - Ấu trùng 6), tiếp theo là 5 giai đoạn con non (Copepodit 1 - Copepodit 5) và cuối cùng là giai đoạn con trưởng thành. Kích thước phần lớn của giáp xác chân chèo trưởng thành nhiều loài, sử dụng trong nuôi trồng thủy sản, là từ 1000 đến 2000  $\mu\text{m}$  [47, 48]. Tại thời điểm ăn đầu tiên của ấu trùng nhiều loài cá biển, ấu trùng cá có kích thước miệng nhỏ, khó nuốt được thức ăn sống kích thước lớn hơn cỡ miệng như luân trùng (kích thước  $> 100 \mu\text{m}$ ) và ấu trùng *Artemia* (kích thước  $> 400 \mu\text{m}$ ), như ở loài cá mú *Epinephelus coioides*, cá

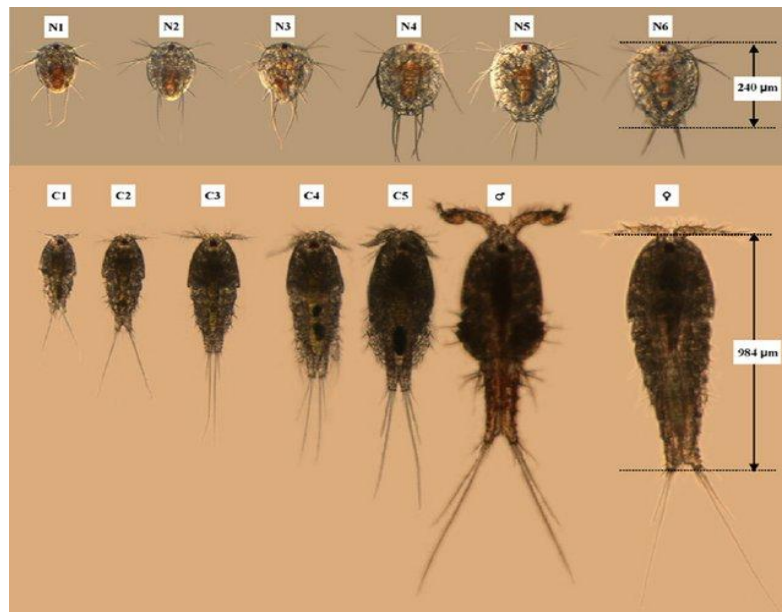
hồng bạc *Lutjanus argentimaculatus* [49, 50] và cá mú *Epinephelus marginatus* [51]. Khả năng nuốt được thức ăn phụ thuộc vào kích thước miệng của ấu trùng cá và chiều rộng của con mồi [52]. Do ấu trùng của giáp xác chân chèo có chiều rộng cơ thể nhỏ hơn so với luân trùng và ấu trùng *Artemia*, với chỉ từ 38 đến 59  $\mu\text{m}$  [53 - 55] nên ấu trùng của giáp xác chân chèo trở thành thức ăn lý tưởng cho sự ăn đầu tiên của ấu trùng nhiều loài cá biển. Khi ấu trùng cá lớn dần, ấu trùng cá có xu hướng lựa chọn các con mồi có kích thước lớn hơn với nhiều năng lượng hơn để đáp ứng cho quá trình phát triển nhanh. Do vậy, đối với nguồn thức ăn có phổ rộng có nhiều kích thước như giáp xác chân chèo thì ấu trùng cá dễ dàng có được con mồi thích hợp để ăn ngay từ khi mở miệng cho tới khi hoàn thành giai đoạn ấu trùng.

Bên cạnh kích thước cơ thể thì tập tính di chuyển của thức ăn sống cũng là một yếu tố quan trọng ảnh hưởng đến sự lựa chọn con mồi của ấu trùng cá. Hầu hết ấu trùng cá săn sinh vật phù du bằng thị giác nên chúng cần thiết phải phát hiện và nhận dạng được con mồi trước khi tấn công để bắt nuốt [56]. Thường con mồi di chuyển dạng nhảy từ vị trí này sang vị trí khác để thu hút ấu trùng cá hơn so với con mồi bơi liên tục hoặc bất động [57]. Trái với sự di chuyển liên tục của luân trùng và *Artemia*, ấu trùng giáp xác chân chèo di chuyển theo kiểu giật giật dắc dắc hay dạng bơi nghỉ ở giai đoạn con non và con trưởng thành, giúp kích thích sự bắt mồi và làm tăng tốc độ lọc mồi của ấu trùng cá [57, 56].

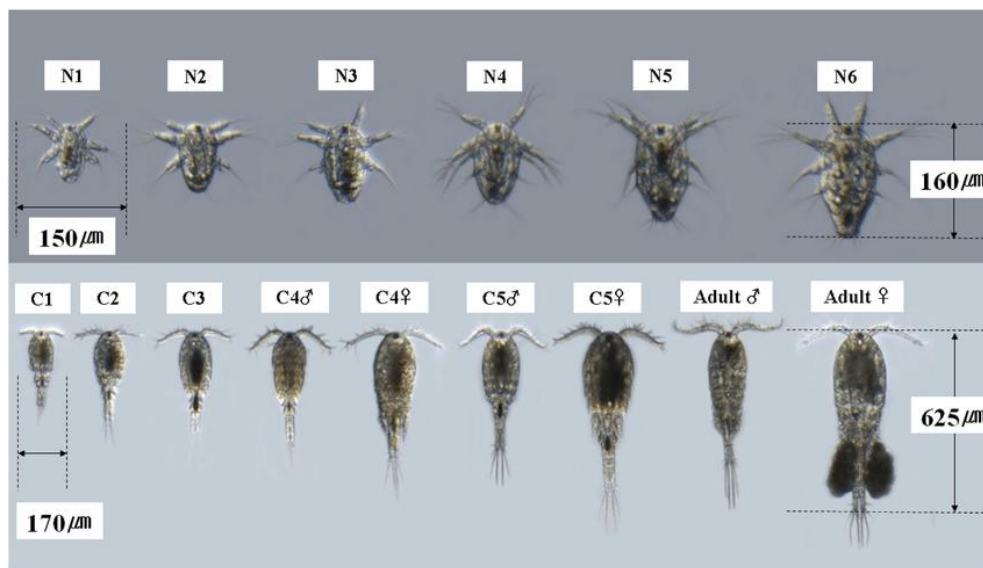


Hình 1.1. Giai đoạn phát triển của *Pseudodiaptomus annandalei* [1]





Hình 1.2. Các giai đoạn phát triển của *Tigriopus japonicus* (Harpacticoida) [58]



Hình 1.3. Các giai đoạn phát triển của *Paracyclopina nana* (Cyclopoida) [59]

#### 1.1.2.2. Thành phần sinh hóa trong cơ thể và khả năng tiêu hóa của Copepoda

Một trong những thách thức trong ương nuôi ấu trùng cá biển là việc đáp ứng đúng và đủ nhu cầu các thành phần dinh dưỡng cho giai đoạn ấu trùng cá. Trong các sinh vật thức ăn sống thì giáp xác chân chèo được cho là thức ăn sống phù hợp với nhu cầu dinh dưỡng cho ấu trùng cá biển hơn so với luân trùng và *Artemia*.

Nghiên cứu về nhu cầu dinh dưỡng lipid cho thấy, ấu trùng cá biển có nhu cầu cao về các axit béo thiết yếu (EFA), đặc biệt là axit béo có mức chưa no cao - HUFA như DHA

(22:6n - 3), EPA (20:5n - 3) và ARA (20:4n - 6) [60, 61]. Các axit béo thiết yếu này có vai trò sinh lý quan trọng với cá như: tham gia cấu trúc màng tế bào, hình thành các tế bào mới cho tăng trưởng; tham gia thành phần của photpholipit (PL) liên quan đến hoạt tính của màng tế bào và các trao đổi chất màng như hô hấp, vận chuyển, các hoạt tính enzym; tiền chất của prostaglandin ảnh hưởng đến điều khiển quá trình trao đổi chất tế bào thông qua các chức năng hormon [62], nguồn năng lượng chính cho việc hấp thụ các vitamin tan trong dầu (A, D, E, K) [63]. Các axit béo thiết yếu này được cho là đặc biệt quan trọng cho giai đoạn ấu trùng cá, vì giai đoạn này ấu trùng cá có tốc độ tăng trưởng rất nhanh, sự phát triển hình thành các tế bào, biệt hóa mô và cơ quan mới. Tuy nhiên, ấu trùng cá biển lại không có khả năng tổng hợp được các axit béo thiết yếu này nên chúng bắt buộc phải được cung cấp từ nguồn thức ăn để đáp ứng đủ nhu cầu này [18]. Trong các axit béo thiết yếu thì DHA được cho là quan trọng nhất đối với ấu trùng cá biển. Nghiên cứu cho thấy sự phát triển các mô thần kinh, não, mắt có mối quan hệ với nhu cầu cao về DHA của ấu trùng cá. Nếu thức ăn cung cấp cho ấu trùng không đủ nhu cầu về DHA sẽ làm giảm chức năng thần kinh và thị giác ở ấu trùng cá như ở cá trích *Clupea harengus* [64, 65], cá chêm Châu Âu *Dicentrarchus labrax* [66], cá bơn *Hippoglossus hippoglossus* [67], cá tráp *Sparus aurata* [68]. Hệ quả là ấu trùng cá khó bắt được con mồi cho sự ăn đầu tiên, nên có nguy cơ chết đói cao. Ngược lại, nếu ấu trùng được cung cấp đủ lượng DHA thì sẽ giúp phát triển tốt thần kinh và mắt của ấu trùng cá như ở cá ngừ vây xanh Đại Tây Dương *Thunnus thynnus*, kết quả giúp tăng khả năng săn và bắt mồi thành công [69]. Nghiên cứu cũng chỉ ra ấu trùng cá biển có nhu cầu cao DHA để đảm bảo cho sự tăng trưởng tối ưu cũng như đạt tỷ lệ sống cao [70]. Các axit béo EPA, ARA cũng thể hiện vai trò quan trọng trong mô thần kinh, nhưng chúng còn có vai trò quan trọng hơn trong thành phần cấu tạo photpholipit màng tế bào và là những tiền chất tổng hợp prostaglandin [18]. Axit béo EPA, ARA trong thức ăn cũng sẽ giúp cải thiện tăng trưởng và tỷ lệ sống ấu trùng cá [71 - 73]. Bên cạnh đó, tỷ lệ của 2 loại axit béo DHA/EPA trong thức ăn cũng được cho là rất quan trọng đối với sự phát triển của ấu trùng cá. Phân tích thành phần lipid trong noãn hoàng của trứng nhiều loài cá biển cho thấy tỷ lệ DHA/EPA là 2, đây được cho là tỷ lệ đáp ứng đủ nhu cầu dinh dưỡng cho ấu trùng cá [74, 75]. Việc bổ sung nhiều EPA làm giảm tỷ lệ DHA/EPA, có thể làm mất cân

bằng trong thành phần cấu trúc của photpholipit và ảnh hưởng làm giảm tăng trưởng cũng như giảm chất lượng ấu trùng cá [60].

Thành phần và hàm lượng các HUFA là chỉ tiêu đánh giá chất lượng của các loại thức ăn sống và có vai trò quyết định đến thành công của việc ương nuôi ấu trùng nhiều loài cá biển [75]. Luân trùng và *Artemia* là những thức ăn sống được sử dụng phổ biến trong nuôi trồng thủy sản. Tuy nhiên, chúng lại có nhược điểm là thiếu các HUFA (đặc biệt là DHA) và chúng cũng không có khả năng chuyển hóa tạo ra các HUFA mà chỉ có được từ nguồn thức ăn có chứa các HUFA [76, 77]. Do vậy, luân trùng và *Artemia* thường phải được làm giàu để bổ sung và nâng cao hàm lượng các HUFA trước khi cho ấu trùng cá ăn. Thành phần cơ thể luân trùng và *Artemia* sau khi được làm giàu bằng các chất làm giàu lại thường có tỷ lệ cao các lipid trung tính và mất cân bằng Protein/Lipid, dư thừa triacylglycerol, trong khi ấu trùng cá biển lại có nhu cầu cao về phospholipid. Đặc biệt với *Artemia*, DHA thường thấp do bản thân DHA không phải thành phần tự nhiên của cơ thể *Artemia* nên chúng có xu hướng tự oxy hóa DHA sang EPA hoặc tái tổng hợp thành các nhóm lipid không thích hợp đối với nhu cầu của ấu trùng cá biển. Bên cạnh đó, tỷ lệ DHA/EPA trong luân trùng và *Artemia* sau khi làm giàu thường thấp, khó đạt lớn hơn 1 nên vẫn chưa đáp ứng đủ nhu cầu của ấu trùng cá biển [46]. Thành phần các HUFA trong luân trùng được làm giàu bằng các chất làm giàu tổng hợp như Multigain, Ori - Green hay bằng tảo *Chlorella* giàu DHA, vẫn có hàm lượng HUFA thấp hơn so với thành phần tự nhiên của giáp xác chân chèo [77]. Hơn nữa, luân trùng và *Artemia* khi được đưa vào trong bể ương cho ấu trùng cá ăn thì thành phần các HUFA của chúng có xu hướng giảm nhanh trong vài giờ đặc biệt ở điều kiện thiếu thức ăn và nhiệt độ cao.

Trái lại, giáp xác chân chèo được cho là thức ăn sống tự nhiên có thể đáp ứng đủ hàm lượng HUFA cho ấu trùng cá, với hàm lượng DHA và EPA cao hơn cả so với luân trùng và *Artemia* đã được làm giàu [78, 79, 49, 80 - 82]. Đồng thời giáp xác chân chèo cũng có tỷ lệ DHA/EPA khoảng 2 [46, 67], cơ thể có nhiều phospholipid hơn >50% tổng số lipid [83]. Nghiên cứu trên loài giáp xác chân chèo *P. annandalei* còn cho thấy, thành phần cơ thể vẫn có hàm lượng HUFA cao cho dù chúng được nuôi bằng loài tảo không có DHA như *Tetraselmis chuii* [84]. Tương tự, loài *Tisbe furcata*, *Nitokra lacustris* luôn có hàm lượng DHA và EPA cao hơn cả hàm lượng có trong thức ăn sử dụng để nuôi chúng. Điều này chứng tỏ những loài giáp xác chân chèo trên có khả năng tích lũy được hàm

lượng cao DHA, EPA và có khả năng tổng hợp được các HUFA từ axit béo linolenic (18:3 $\omega$ 3) có từ trong thức ăn [85]. Các nghiên cứu này chứng minh rằng khác với luân trùng và *Artemia*, thành phần axit béo trong cơ thể của loài giáp xác chân chèo như *P. annandalei*, *T. furcata*, *N. lacustris* không phụ thuộc hoàn toàn vào thành phần axit béo trong thức ăn. Có thể nhiều loài giáp xác chân chèo khác cũng có đặc điểm trên, một trong những đặc điểm có giá trị quan trọng về mặt dinh dưỡng khác biệt giữa giáp xác chân chèo so với luân trùng và *Artemia*. Bên cạnh đó, giáp xác chân chèo cũng có hàm lượng cao các amino axit tự do và nhiều vitamin (E, C), khoáng, astaxanthin hơn so với luân trùng và *Artemia* [86, 87, 67, 8]. Đặc biệt là thành phần sinh hóa trong cơ thể giáp xác chân chèo có tính ổn định cao qua thời gian, ít bị suy giảm hàm lượng dinh dưỡng cho dù bị tác động bởi các điều kiện môi trường [8]. Nhiều nghiên cứu đã chứng minh, ấu trùng cá biển sử dụng giáp xác chân chèo một phần hoặc hoàn toàn trong khẩu phần ăn đều cho những kết quả tốt hơn so với ấu trùng cá chỉ ăn luân trùng và *Artemia* như tăng trưởng tốt hơn, tỷ lệ sống cao hơn, màu sắc tự nhiên, hệ tiêu hóa phát triển sớm hơn, khả năng chịu stress tốt hơn và tỷ lệ dị hình xương thấp hơn [8, 10, 49, 88, 86, 89, 73, 90 - 94]. Ngoài ra, xét về khả năng tiêu hóa con mồi thì ấu trùng cá ăn giáp xác chân chèo dễ tiêu hóa hơn so với luân trùng và *Artemia*. Giáp xác chân chèo là thức ăn tự nhiên của ấu trùng cá nên theo tiến hóa thì thành phần cơ thể của giáp xác chân chèo phù hợp và dễ tiêu hóa cho ấu trùng cá hơn so với luân trùng và *Artemia*. Giáp xác chân chèo cũng đóng vai trò quan trọng góp phần thêm các enzym ngoại sinh hỗ trợ cho khả năng tiêu hóa của ấu trùng cá [80]. Hơn nữa, giáp xác chân chèo được nuốt vào bởi ấu trùng cá thường có thời gian tồn tại trong hệ tiêu hóa của ấu trùng cá lâu hơn so với các luân trùng và *Artemia*, do luân trùng và *Artemia* thường có xu hướng di chuyển nhanh qua hệ tiêu hóa của ấu trùng cá [95 - 97]. Nghiên cứu trên cá bơn *Hippoglossus hippoglossus* cho thấy ấu trùng cá bơn có khả năng tiêu hóa *Artemia* kém hiệu quả hơn so với giáp xác chân chèo và cho kết quả hệ tiêu hóa phát triển hoàn thiện chậm hơn so với ấu trùng cá bơn được cho ăn giáp xác chân chèo [95]. Ấu trùng cá hồng *Lutjanus johnii* cũng thể hiện khó tiêu hóa với luân trùng hơn so với tiêu hóa giáp xác chân chèo [88]. Khi xem xét về khía cạnh kinh tế, giáp xác chân chèo được cho là thức ăn sống đem lại hiệu quả kinh tế hơn so với luân trùng và *Artemia*, do giáp xác chân chèo giúp tăng tỷ lệ sống và chất lượng ấu trùng cá, từ đó làm tăng năng suất trong ương nuôi đảm bảo về số lượng

cũng như chất lượng cá giống [98]. Đồng thời, một số loài giáp xác chân chèo sinh sản được trứng có thể bảo quản được trong thời gian dài nên cũng là nguồn thức ăn sống ổn định, sẵn có, chủ động được kích cỡ, giai đoạn [99, 100]. Do vậy, trứng của giáp xác chân chèo trong tương lai có thể cạnh tranh được với trứng nghỉ của *Artemia* - nguồn phụ thuộc nhiều vào tự nhiên với có giá biến động. Từ các ưu điểm vượt trội được nêu trên, có thể cho thấy giáp xác chân chèo sẽ đảm bảo giúp phát triển ngành công nghiệp cá biển một cách bền vững.

### **1.1.3. Nuôi giáp xác chân chèo**

Theo phân loại học, giáp xác chân chèo thuộc ngành chân khớp (Arthropoda), phân ngành giáp xác (Crustacea), lớp Hexanauplia, phân lớp Copepoda. Đến nay, giáp xác chân chèo có 9 bộ: Calanoida, Cyclopoida, Harpacticoida, Platycopioidea, Mormonilloidea, Misophrioida, Siphonostomatoida, Monstrilloidea và Gelyelloidea (do bộ Poecilostomatoida được nhập vào bộ Cyclopoida). Có khoảng 210 họ với 2400 giống và khoảng 24.000 loài [101]. Trong đó, có 2/3 số loài giáp xác chân chèo sống tự do và 1/3 là loài ký sinh. Giáp xác chân chèo thường được sử dụng trong nuôi trồng thủy sản là nhóm giáp xác chân chèo sống tự do và chủ yếu thuộc 3 bộ: Calanoida, Cyclopoida, Harpacticoida [47].

Giáp xác chân chèo thuộc bộ Calanoida chủ yếu sống trôi nổi và sống trong các tầng nước ở tất cả các độ sâu, một số loài sống ở đáy, gần đáy và phân bố phần lớn ở cửa sông và ven bờ. Chúng là nhóm sinh vật ăn lọc có lựa chọn, với thức ăn là thực vật phù du, động vật phù du nhỏ hơn và cả trứng của giáp xác chân chèo. Calanoida được phân biệt với các nhóm khác dựa vào những râu dài bằng hoặc hơn phần đầu ngực với 27 đốt, có 2 cặp râu ở 2 bên. Giáp xác chân chèo thuộc bộ Calanoida được sử dụng nhiều trong nuôi trồng thủy sản hơn so với 2 bộ còn lại. Một số loài hiện đang được nghiên cứu và sử dụng như *Acartia tonsa* [96, 102], *Gladioferens imparipes* [103], *Temora longicornis* [104], *P. annandalei* [14]...

Giáp xác chân chèo thuộc bộ Harpacticoida chủ yếu là những loài phân bố ở nước mặn, sống tự do và cư trú chủ yếu ở đáy. Chúng được nhận biết với râu ngắn, ít hơn 10 đốt, có 2 cặp râu ở 2 bên. Một số loài giáp xác chân chèo thuộc bộ Harpacticoida đã được nghiên cứu sử dụng trong nuôi trồng thủy sản như loài *Tigriopus japonicus* [105], *Tisbe holothuriae* và *Tisbe* sp. [102, 106], *Nitokra lacustris* [107].

Giáp xác chân chèo thuộc bộ Cyclopoida sống cả trôi nổi, gần đáy và trên nền đáy, phân bố cả ở nước ngọt và nước mặn. Một số loài sống tự do trong nước mặn và còn lại phần lớn loài sống trong nước ngọt. Họ Cyclopinidae sống đáy, họ Oithonidae sống trôi nổi và cả 2 họ này phân bố ở nước mặn. Chúng có 1 cặp râu gồm 6 đến 17 đốt, ngắn hơn so với giáp xác chân chèo thuộc bộ Calanoida nhưng dài hơn so với bộ Harpacticoida. Một số loài giáp xác chân chèo thuộc bộ Cyclopoida được sử dụng trong nuôi trồng thủy sản như loài *Oithona colcarva* [108], *Apocyclops royi* [16], *A. panamensis* [109]...

Giáp xác chân chèo được quan tâm sử dụng trong ương nuôi ấu trùng cá biển bắt đầu từ những năm 1980 [11]. Trước đây, Copepoda trong hỗn hợp nhiều loài động vật phù du thu được ngoài tự nhiên bằng lưới kéo hoặc các thiết bị bơm lọc. Giáp xác chân chèo được giữ sống trong các bể hoặc cấp đông và được sử dụng làm nguồn thức ăn sống cho ương nuôi ấu trùng cá [46]. Nhược điểm của hình thức thu Copepoda ngoài tự nhiên là nguồn Copepoda này phụ thuộc vào mùa vụ, biến động theo sự biến động của điều kiện thời tiết như mưa, nắng, bão, thủy triều... nên dẫn tới không chủ động được về số lượng cũng như kích cỡ đáp ứng cho từng giai đoạn phát triển của ấu trùng cá. Do vậy, nuôi giáp xác chân chèo cần thiết. Một số hình thức nuôi copepod hiện nay như nuôi quảng canh, bán thâm canh và thâm canh [46, 47].

Nuôi quảng canh copepod là hình thức gây nuôi copepod trong vịnh kín, đầm, ao lớn ngoài trời. Cách thức nuôi này dựa vào việc bón phân nông nghiệp nhằm thúc đẩy sự phát triển của tảo để làm thức ăn cho quần xã copepod có sẵn trong nước phát triển. Nguồn này có thể thu được và phân cỡ rồi sử dụng cho ấu trùng cá ăn hoặc có thể thả trực tiếp ấu trùng cá vào hệ thống nuôi quảng canh giáp copepod để ương nuôi. Hình thức nuôi này đơn giản nhưng tiềm ẩn nguy cơ truyền nhiễm các bệnh như virus như VNN và bệnh ký sinh trùng [110], gây ra tỷ lệ chết cao trên ấu trùng cá biển [111]. Bên cạnh đó, một khó khăn khác là khó kiểm soát được sự phát triển tự nhiên của tảo và có thể phát sinh tảo độc nở hoa gây chết copepod và cá. Đồng thời cũng không thể loại bỏ hoàn toàn được các sinh vật cạnh tranh và ăn copepod cũng như ấu trùng của các cá ngoài tự nhiên.

Nuôi bán thâm canh copepod có thể được thực hiện trong các hệ thống ao và bể lớn ngoài trời với thể tích tới vài nghìn khối nước. Ao và bể được cải tạo hoặc xử lý sạch trước khi cấp nước. Nước tự nhiên cấp vào được lọc qua mắt lưới có kích cỡ 20 - 40  $\mu\text{m}$

chỉ để tảo đi qua, loại bỏ copepod và các sinh vật khác. Sau đó sử dụng phân hóa học để kích thích sự phát triển của tảo. Nguồn copepod có thể xuất phát từ nguồn trứng nghỉ tự nhiên có trong nền đáy phát triển lên hoặc copepod đơn loài hay hỗn hợp nhiều loài thu được từ nơi khác đưa vào hệ thống nuôi. Bên cạnh nguồn thức ăn như tảo, thức ăn chế biến hay thức ăn tổng hợp trong ao cũng có thể được bổ sung để nuôi copepod. Giáp xác chân chèo trong hệ thống có thể phát triển đạt mật độ cao hơn 300 con/L [112, 16]. Giáp xác chân chèo thường thu được sử dụng cho ương nuôi ấu trùng cá trong hệ thống nuôi khác. Ở Nhật bản, nhiều loài giáp xác chân chèo đã được nghiên cứu nuôi sinh khối từ những năm 1970 tuy nhiên chỉ có 2 loài được lựa chọn và đưa vào nuôi theo hình thức bán thâm canh là *Tigriopus japonicus* và loài *Acartia tsuensis*. Loài *Tigriopus japonicus* được nuôi ngoài trời trong bể 200 m<sup>3</sup> với mật độ trung bình 1414 con/L; thức ăn là luân trùng, tảo *Nannochloropsis oculata*, men bánh mỳ và kết quả thu được tổng số 65,5 kg tương ứng với mức thu hàng ngày là 1,6 kg. Loài *Acartia tsuensis* được nuôi trong ao ngoài trời và trong bể 24 m<sup>3</sup> với mật độ trung bình 569 con/L; thức ăn là tảo *Nannochloropsis oculata* và một số tảo tự nhiên trong nước biển nhưng gặp khó khăn về sinh khối do hiện tượng ăn trứng và ấu trùng của các con trưởng thành [113]. Vấn đề lây lan bệnh ký sinh trùng từ giáp xác chân chèo trong hình thức nuôi bán thâm canh vẫn tiềm ẩn mối nguy cho ấu trùng cá nhưng có hạn chế hơn so với nguồn giáp xác chân chèo từ nuôi quảng canh.

Trước thực tế thiếu hụt nguồn cung cấp *Artemia* vào đầu những năm 1990s, nguồn copepod phân bố nhiều ở vùng ven bờ và đại dương. Copepod được cho ăn một số loài cá biển, ấu trùng cá có kích thước nhỏ và miệng nhỏ. Các luân trùng và *Artemia* bị ăn khó bởi ấu trùng cá nuôi nên nuôi thâm canh copepod đã được tập trung nghiên cứu phát triển. Đến nay, nhiều thử nghiệm đã đạt được thành công với hơn 60 loài giáp xác chân chèo. Hình thức nuôi thâm canh giáp xác chân chèo có nhiều ưu điểm hơn so với các hình thức khác là khả năng sản xuất ổn định quanh năm, kiểm soát được chất lượng copepod, cũng như chủ động được số lượng và kích cỡ đáp ứng cho ương nuôi ấu trùng cá [47]. Bên cạnh đó, sản xuất thâm canh không cần diện tích rộng như quảng canh hay bán thâm canh [114]. So với 2 bộ Cyclopoida, Harpacticoida, bộ Calanoida được tập trung nghiên cứu phát triển nuôi thâm canh nhiều hơn do ưu điểm về tập tính sống trôi nổi, phù hợp cho giai đoạn ấu trùng cá sống trôi nổi. Hơn 30 năm nỗ lực của các nhà

khoa học, quy trình nuôi thâm canh được thiết lập cho nhiều loài thuộc bộ Calanoida như *Acartia tonsa* [115], *Gladioferens imparipes* [103], *Acartia spp.* [88], *Bestiolina similis* [116], *Acartia gracilis* [117]...

Nuôi thâm canh các loài giáp xác chân chèo tiếp tục được các nhà khoa học nghiên cứu nhằm giải quyết các khó khăn hiện tại, hướng tới phát triển nuôi ở quy mô công nghiệp. Mô hình nuôi thâm canh copepod được Rayne và Rippingale (2001) thử nghiệm nuôi sinh sản trên loài *Gladioferens imparipes* với 2 phương pháp nuôi thu ấu trùng khác nhau. **1)** Một là hệ thống nuôi liên tục tự động thu ấu trùng bao gồm 2 bể 500 L nuôi copepod (1 bể nuôi con trưởng thành để đẻ ấu trùng và 1 bể nuôi từ ấu trùng lên trưởng thành hậu bị), 1 bể 200 L thu được lọc tổng số ấu trùng, 1 bể 500 L có hệ thống xử lý nước và tuần hoàn cấp nước lại cho các bể copepod nuôi. Nước cũ của con trưởng thành (500 L) thu được lọc các ấu trùng (200 L) và nước cũ lại cho chế độ tuần hoàn nước hoàn toàn tự động, được kiểm soát điều khiển bởi thiết bị điện tử có chương trình quản lý logic. Copepod được nuôi bằng tảo *Isochrysis galbana* với mật độ cho ăn khoảng 100.000 - 140.000 tế bào/ml/ngày. Nhiệt độ nước nuôi duy trì ở 23°C. Cứ 21 ngày nuôi thì tiến hành chuyển sang thu ấu trùng ở bể con trưởng thành mới. Bể con trưởng thành già được xả bỏ và vệ sinh để nuôi quần thể copepod hậu bị mới từ ấu trùng. Năng suất ấu trùng đạt được là  $439.000 \pm 23.000$  ấu trùng ở mỗi bể 500 L trong một ngày. Quy trình nuôi thâm canh này được kéo dài thời gian nuôi đến 420 ngày. **2)** Hai là hệ thống nuôi bán liên tục bao gồm 2 bể hình trụ nón (1000 L/bể) nuôi copepod sinh sản, kết nối với 1 bể 200 L dùng để thu ấu trùng. Định kỳ thu ấu trùng bằng hệ thống nước chảy nhằm thu ấu trùng và thay nước mới cho bể nuôi. Copepod được nuôi ở nhiệt độ 20°C và cho ăn bằng hỗn hợp 2 loài tảo *I. galbana* và *R. baltica* với tỷ lệ 3: 1, mật độ tảo khoảng 100.000 - 200.000 tế bào/ml/ngày. Cứ 21 ngày, toàn bộ copepod trong bể 1.000 L thu được chuyển ra ngoài để vệ sinh bể, sau đó chuyển lại bể nuôi tiếp. Kết quả thu được số lượng ấu trùng trung bình trong mỗi ngày là  $520.000 \pm 15.000$  ấu trùng/ngày ở mỗi bể 1000 L và thời gian nuôi của quy trình kéo dài đến 184 ngày nuôi.

#### **1.1.4. Những khó khăn trong nuôi giáp xác chân chèo**

Một số khó khăn trong nuôi copepod hiện nay liên quan chủ yếu đến yếu tố sinh học và yếu tố công nghệ nuôi [100]. Những khó khăn về mặt sinh học như lựa chọn được đối tượng giáp xác chân chèo phù hợp, đáp ứng đúng và đủ thức ăn cho nuôi copepod, mật



độ nuôi phù hợp, tập tính ăn trứng và ấu trùng... Trong khi những khó khăn về mặt công nghệ bao gồm công nghệ nuôi giáp xác chân chèo, kiểm soát các yếu tố môi trường nuôi, tuần hoàn nước và tự động hóa tất cả các khâu.

#### 1.1.4.1. *Khó khăn về mặt sinh học*

Copepod thích hợp sử dụng nuôi sinh khối và làm thức ăn cho ấu trùng cá biển? Đây là một câu hỏi mà các nhà khoa học liên tục nghiên cứu để tìm ra những loài giáp xác chân chèo tiềm năng. Đến nay có hơn 60 loài giáp xác chân chèo đã được phân lập và nuôi để làm thức ăn sống [118], nhưng việc lựa chọn được loài giáp xác chân chèo có thể nuôi ở quy mô công nghiệp, đáp ứng được nhu cầu cho việc ương nuôi ấu trùng cá biển thì cần xem xét nhiều khía cạnh của mỗi loài giáp xác chân chèo. Các tiêu chuẩn lựa chọn một loài giáp xác chân chèo phù hợp trở thành thức ăn sống có thể thay thế được luân trùng và *Artemia* là: nhịp sinh sản nhanh, kích cỡ các giai đoạn phù hợp với cỡ miệng ấu trùng cá, khả năng sống phân bố trong tầng nước để ấu trùng cá dễ bắt được, có giá trị dinh dưỡng cơ thể ở các giai đoạn phát triển đáp ứng nhu cầu của ấu trùng cá biển, sức sinh sản cao, không có tính ăn ấu trùng và trứng, có khả năng sinh trứng nghỉ, có khả năng chịu đựng được với các yếu tố môi trường, có khả năng nuôi được ở mật độ cao và quần thể có thể phát triển tăng sinh khối nhanh. Các Copepoda được xem xét đưa vào nuôi công nghiệp chủ yếu thuộc 3 bộ Calanoida, Cyclopoida, Harpacticoida. Tuy nhiên, rất khó tìm ra được một loài có đủ các tiêu chuẩn trên. Hầu hết các loài giáp xác chân chèo đủ tiêu chuẩn về kích cỡ môi và có thành phần dinh dưỡng đáp ứng cho ấu trùng cá biển. Các loài giáp xác chân chèo thuộc bộ Calanoida có những ưu điểm như: dễ phân lập; có khoảng 44 loài có khả năng sinh trứng nghỉ và đẻ được nhiều trứng từ 11 đến 50 trứng/ngày tương ứng tổng số trứng hơn 1.200 từ mỗi lần thụ tinh [118], trứng dễ thu và có thể bảo quản trong thời gian dài như trứng của *Acartia tonsa*; nhiều loài có thể thích nghi phát triển và sinh sản được trong khoảng rộng độ mặn và nhiệt độ. Tuy nhiên, khó khăn trong nuôi các loài thuộc bộ Calanoida là do chúng sống trôi nổi nên yêu cầu thức ăn phần lớn là các loài tảo phù du nhiều. Trong hệ thống nuôi giáp xác chân chèo thường sục khí nhẹ phần lớn tảo đưa vào khi chưa được ăn sẽ chìm xuống đáy làm giảm mật độ tảo lơ lửng trong nước. Do vậy, cần phải sản xuất lượng tảo đủ lớn để cung cấp liên tục vào hệ thống nuôi nhằm duy trì mật độ tảo theo yêu cầu của copepod. Nhóm Calanoida còn yêu cầu thể tích nuôi lớn và chất lượng nước tốt với hàm lượng khí độ

NH<sub>3</sub> thấp nên thường khó nuôi ở mật độ cao, đạt tối đa chỉ vài ngàn con/L. Trong khi các loài giáp xác chân chèo trong giống *Tisbe*, *Tigriopus*, *Euterpina*, *Nitokra* thuộc bộ Harpacticoida có thể đạt được sinh khối lớn do chúng dễ nuôi bằng nhiều loại thức ăn (tảo, thức ăn tổng hợp, các chất hữu cơ), khả năng sinh sản cao, mật độ có thể đạt tới 100.000 con/L, có khả năng sống và tăng trưởng trong khoảng rộng các yếu tố môi trường, chịu đựng được hàm lượng ôxy thấp, hàm lượng độc tố NH<sub>3</sub> cao hơn so với nhóm giáp xác chân chèo thuộc bộ Calanoida. Nhược điểm là phần lớn nhóm giáp xác chân chèo Harpacticoida mang trứng nên không thể tách trứng riêng mà chỉ có thể thu ấu trùng nở ra từ trứng. Thức ăn tổng hợp sử dụng để nuôi mật độ copepod cao có nguy cơ dẫn tới mang nhiều vi khuẩn có hại, dễ truyền nhiễm gây bệnh cho ấu trùng cá khi được cho ăn copepod. Ba là nhiều loài thuộc bộ Harpacticoida có đặc điểm phân bố ở đáy và gần đáy không phù hợp cho ương nuôi ấu trùng cá giai đoạn đầu.

Các loài giáp xác chân chèo trong giống Apocyclops thuộc bộ Cyclopoida cũng có thể nuôi ở mật độ cao tới 33.000 con/L, thời gian phát triển đến trưởng thành sinh sản ngắn khoảng 4 - 5 ngày với *Apocyclops royi* [111] nên có thể đạt sinh khối lớn. Nhóm Cyclopoida ăn tạp, chúng có thể ăn được tảo, men bánh mỳ, thức ăn tổng hợp, vật chất hữu cơ dễ nuôi hơn so với nhóm Calanoida. Tuy nhiên nuôi ở mật độ cao với thức ăn tổng hợp cũng có thể dẫn đến vấn đề mang mầm bệnh khi cho ấu trùng cá sử dụng. Các loài giáp xác chân chèo thuộc bộ Cyclopoida cũng chủ yếu mang trứng nên khó tách trứng được mà chỉ thu ấu trùng như nhóm Harpacticoida.

#### 1.1.4.2. Sản xuất tảo cung cấp cho nuôi giáp xác chân chèo

Sản xuất tảo phục vụ nuôi công nghiệp giáp xác chân chèo cũng là một khó khăn lớn. Đối với những loài giáp xác chân chèo ăn tảo thì việc cung cấp tảo, đủ về số lượng và đảm bảo về các thành phần dinh dưỡng cho sự phát triển và sinh sản tối ưu của giáp xác chân chèo ở quy mô công nghiệp, là một trong những thách thức [100]. Mỗi loài giáp xác chân chèo, mỗi giai đoạn phát triển yêu cầu mật độ tảo tối thiểu khác nhau ứng với các loài tảo có kích cỡ khác nhau để đảm bảo phát triển và sinh sản tối ưu. Tuy nhiên, những nghiên cứu cơ bản về thức ăn cho giáp xác chân chèo đáp ứng quy mô nuôi công nghiệp còn rất ít. Mật độ tảo yêu cầu cao hơn khi kích thước loài tảo sử dụng nhỏ hơn, để đảm bảo đủ lượng tảo theo khối lượng thức ăn cần thiết cho mỗi loài giáp xác chân chèo. Ví dụ như mật độ tảo yêu cầu, đáp ứng đủ cho giáp xác chân chèo *Acartia tonsa* ăn,

chỉ 10.000 tế bào/ml với các loài tảo *Thalassiosira* ( $> 12 \mu\text{m}$ ) và *Rhodomonas salina* (8 - 10  $\mu\text{m}$ ), trong khi yêu cầu cao hơn gấp 10 lần (100.000 tế bào/ml) đối với tảo *Isochrysis galbana* ( $< 5 \mu\text{m}$ ) [109]. Sản lượng trứng tỷ lệ thuận với mật độ tảo cho *Acartia tonsa* ăn, ở mật độ tảo tối đa giúp sinh được nhiều trứng hơn. Điều này cho thấy, tảo là yếu tố giới hạn quan trọng nhất đến năng suất trứng ở loài *A. tonsa* [119]. Bên cạnh đó, để duy trì được mật độ tảo tối đa theo nhu cầu của copepod thì cần có một lượng tảo nhiều hơn lượng tảo yêu cầu để cung cấp vào bể một cách liên tục nhằm bù lại lượng tảo bị ăn và bị lắng xuống đáy. Vì vậy, chi phí và nhân lực để sản xuất tảo ở quy mô lớn cũng tăng nhiều hơn. Sự tăng trưởng và sinh sản của giáp xác chân chèo cũng bị ảnh hưởng bởi thành phần dinh dưỡng của các loài tảo sử dụng, đặc biệt liên quan đến thành phần HUFA, các axit amin thiết yếu. Mỗi loài tảo lại có hàm lượng các axit béo không no cao phân tử khác nhau. Nghiên cứu thành phần dinh dưỡng của 15 loài tảo cho thấy, loài tảo *Dunaliella* và *Chlorella* không có EPA và DHA; loài tảo *Nannochloropsis oculata* có nhiều EPA và tảo *Tetraselmis sp* có EPA nhưng cả 2 lại không có DHA; tảo *Chatoceros muelleri* có nhiều EPA và ít DHA [120]. Loài tảo *Isochrysis galbana* lại có nhiều DHA và không có EPA [121]. Trong khi giáp xác chân chèo yêu cầu thức ăn có tỷ lệ DHA/EPA cao để có tăng trưởng và khả năng sinh sản tốt nhất [122]. Do đó, cần phải phối trộn hai hay nhiều loài tảo để nuôi giáp xác chân chèo nhằm đảm bảo kết quả nuôi tốt nhất. Hệ thống nuôi nhiều loài tảo ở quy mô lớn được thiết lập cùng lúc cũng là một khó khăn vì mỗi loài tảo yêu cầu những điều kiện tối ưu để phát triển khác nhau như môi trường dinh dưỡng, ánh sáng, nhiệt độ, pH, độ mặn...

#### 1.1.4.3. Mật độ nuôi giáp xác chân chèo

Giáp xác chân chèo cần được nuôi ở mật độ cao tối đa để đạt được một lượng sinh khối lớn nhất, đáp ứng đủ cho sản xuất giống hải sản, cũng là một khó khăn lớn. Trong khi mật độ nuôi luân trùng có thể đạt tới hơn 10.000 con/ml [123] thì mật độ nuôi các loài giáp xác chân chèo thuộc bộ Calanoida chỉ có thể ở mật độ cao đến 6 con/ml như loài *Acartia tonsa* [124] và nhiều nhất mới chỉ đạt được 100 con/ml như loài *Nitokra lacustris* [107]. Đây là một trong những thách thức cho nuôi thâm canh giáp xác chân chèo để phục vụ cho ương nuôi ấu trùng cá biển. Giáp xác chân chèo được nuôi ở mật độ cao thì tổng số trứng thu được sẽ nhiều hơn so với số trứng thu được khi nuôi giáp xác chân chèo ở mật độ nuôi thấp hơn [124]. Tuy nhiên, nuôi giáp xác chân chèo ở mật độ

cao thường kéo theo nhiều hệ quả xấu như tăng các sản phẩm thải từ quá trình trao đổi chất, sự tích lũy  $\text{NH}_3$  theo thời gian gây độc cho giáp xác chân chèo, làm suy giảm chất lượng nước trong bể nuôi, gây stress do tương tác vật lý giữa các cá thể, sự cạnh tranh không gian sống và thức ăn. Từ đó dẫn đến các hệ quả là tăng sự ăn thịt ấu trùng và trứng bởi con trưởng thành, copepod phát triển chậm, giảm khả năng sinh sản, giảm tỷ lệ nở và tỷ lệ sống thấp [125 - 132]. Để tăng năng suất thì cần tăng mật độ nuôi lên tối đa và cần thiết phải ứng dụng công nghệ nuôi giáp xác chân chèo phù hợp để có thể loại bỏ được các hệ quả xấu phát sinh từ nuôi copepod ở mật độ cao. Nhìn chung, đến nay giáp xác chân chèo vẫn được sử dụng ở hình thức bổ sung một phần trong khẩu phần ăn của ấu trùng cá mà chưa thay thế hoàn toàn được cho luân trùng và *Artemia* trong sản xuất thâm canh giống cá biển do gặp khó khăn về sản lượng khi nuôi ở mật độ cao.

#### 1.1.4.4. Tập tính ăn trứng và ấu trùng

Tập tính dữ ăn trứng và ấu trùng đồng loại cũng là một khó khăn trong nuôi sinh khối giáp xác chân chèo. Có một cơ chế điều khiển quần thể của một số loài giáp xác chân chèo là để đảm bảo sự tồn tại quần thể, con trưởng thành có thể ăn ngay cả trứng, ấu trùng của mình và của đồng loại, đặc biệt trong điều kiện quần thể đạt mật độ tối đa và trong điều kiện nguồn thức ăn hạn chế [133 - 135]. Trong nuôi thâm canh copepod, mật độ copepod cao thường hay thiếu hụt thức ăn nên dẫn đến sự cạnh tranh về thức ăn giữa các cá thể. Đồng thời, số lượng trứng và ấu trùng sinh ra nhiều hơn cũng dẫn đến tăng sự gặp gỡ giữa con trưởng thành với trứng và ấu trùng nên kích thích tính ăn thịt bản năng của loài. Nghiên cứu cho thấy tốc độ lọc ấu trùng của con trưởng thành tăng khi mật độ nuôi con trưởng thành tăng. Ví dụ như *Acartia sinjiensis* được nuôi ở mật độ 2.000 con trưởng thành/L cho kết quả tốc độ lọc ấu trùng cao gấp 3 lần so với nhóm nuôi ở mật độ 250 con/L trong 8 giờ thí nghiệm [136]. Khi thiếu thức ăn, loài *Calanus finmarchicus* có thể ăn tới 20% số lượng ấu trùng trong quần thể mỗi ngày [137]. Tương tự, mật độ tảo giảm làm tăng sự ăn trứng ở *Acartia tonsa* và tốc độ lọc trứng đạt cao nhất với số trứng bị ăn bởi mỗi con trưởng thành là hơn 20 trứng trong mỗi giờ nếu không có tảo. Bên cạnh đó, mật độ trứng tăng cao cũng là nguyên nhân làm tăng sự ăn trứng của ở loài *A. tonsa*, phần trăm trứng bị ăn tới 42% tổng số trứng ở nghiệm thức với mật độ 20.000 trứng/L và 240 con trưởng thành/L nước nuôi [128]. Do vậy, hiện tượng ăn trứng và ấu trùng thường xảy ra trong nuôi thâm canh copepod. Đây cũng chính là một trong những

khó khăn làm giảm sinh khối copepod, giảm sản lượng trứng và ấu trùng trong nuôi thâm canh copepod. Như vậy, để hạn chế được hiện tượng ăn trứng và ấu trùng trong nuôi thâm canh copepod thì cần phải cung cấp đủ lượng tảo cho copepod ăn, mật độ nuôi copepod trưởng thành phù hợp. Đồng thời, hệ thống nuôi cần thiết phải được thiết kế một cách tối ưu hóa cho việc tách triệt để trứng và ấu trùng ra khỏi bể nuôi copepod trưởng thành.

#### *1.1.4.5. Khó khăn về mặt công nghệ nuôi giáp xác chân chèo*

Công nghệ nuôi giáp xác chân chèo hiện nay chưa đạt tới mức tiên tiến như nuôi các đối tượng thủy sản khác nên sản xuất copepod vẫn chưa phát huy hết tiềm năng to lớn của mình. Xu hướng nuôi các đối tượng thủy sản hiện nay là thâm canh trong nhà với một hệ thống tự động hóa tất cả các khâu, tuần hoàn nước và kiểm soát được các yếu tố môi trường trong ngưỡng tối ưu và ổn định cho sự phát triển và sinh sản. Các yếu tố vô sinh trong môi trường nước nuôi như yếu tố vật lý và yếu tố hóa học đều có ảnh hưởng trực tiếp hoặc gián tiếp đến phát triển, sinh sản và tỷ lệ sống của các giai đoạn phát triển của copepod, từ đó ảnh hưởng đến năng suất trong nuôi công nghiệp. Các yếu tố được cho là ảnh hưởng lớn đến nuôi giáp xác chân chèo như yếu tố nhiệt độ [138, 139], độ mặn [140, 141], ánh sáng [142, 143], pH [144, 145], hàm lượng oxy hòa tan [146, 147], hàm lượng CO<sub>2</sub> hòa tan [148, 149], hàm lượng NH<sub>3</sub> hòa tan [126, 150]. Do vậy, việc kiểm soát các yếu tố vật lý, hóa học của môi trường nuôi ổn định và trong khoảng tối ưu cho giáp xác chân chèo là rất quan trọng và yêu cầu phải áp dụng các công nghệ hiện đại hiện đang sử dụng cho nuôi thâm canh các đối tượng thủy sản khác. Bên cạnh đó, yếu tố sinh vật như các động vật phù du khác với giáp xác chân chèo, ký sinh trùng có thể dễ dàng được loại bỏ bằng hệ thống lọc và các biện pháp khử trùng. Tuy nhiên, nhóm vi khuẩn thì luôn luôn xuất hiện từ nguồn thức ăn đưa vào bể nuôi hay sẵn có trong môi trường nước, có mối quan hệ gắn bó với giáp xác chân chèo trong hệ thống nuôi [151]. Xem xét về khía cạnh vi khuẩn trong nuôi các đối tượng thủy sản nói chung thì nhóm vi khuẩn cơ hội có thể trở thành tác nhân gây bệnh khi đối tượng nuôi có sức đề kháng yếu, cùng với các thay đổi bất lợi từ môi trường nuôi [152]. Vi khuẩn cơ hội được cho là nhóm vi khuẩn có tốc độ tăng sinh nhanh, thường phát triển phù hợp với điều kiện lượng vật chất hữu cơ nhiều như phân và thức ăn thừa có trong hệ thống nuôi. Ngược lại, nhóm vi khuẩn không cơ hội thường có tốc độ phát triển chậm và thích hợp với điều kiện

lượng vật chất hữu cơ ít. Chúng là nhóm vi khuẩn có lợi giúp ức chế nhóm vi khuẩn cơ hội nên giúp cá tăng trưởng tốt hơn, đạt tỷ lệ sống cao hơn [153 - 155]. Trong nuôi giáp xác chân chèo, tảo được cấp vào bể hay thức ăn tổng hợp cho copepod ăn thì phần tảo chết và thức ăn dư cùng với phân copepod có thể tạo ra một lượng lớn các vật chất hữu cơ, trở thành thức ăn cho sự phát triển nhanh của nhiều loài vi khuẩn cơ hội như *Vibrio spp.*, *Pseudomonas spp.*, *Acinetobacter spp.* và *Aeromonas spp.* [151]. Trong khi, nhóm vi khuẩn cơ dễ bùng phát mạnh ở điều kiện bể ương nuôi có lượng vật chất hữu cơ lớn kết hợp với nguồn nước có ít vi khuẩn như trong hệ thống nước chảy, sử dụng hệ thống lọc sinh học trong hệ thống tuần hoàn nước có thể chọn lọc và tạo ra một hệ vi khuẩn có lợi trong bể ương nuôi [152, 156]. Do vậy, việc ứng dụng công nghệ nuôi tuần hoàn nước với lọc sinh học cho nuôi công nghiệp copepod là cần thiết. Hơn nữa, việc nuôi thâm canh giáp xác chân chèo ở quy mô lớn sẽ không khả thi nếu không áp dụng công nghệ nuôi có tự động hóa các khâu. Chi phí sản xuất giáp xác chân chèo sẽ rất cao do yêu cầu nhiều nhân lực lao động hàng ngày cho nhiều khâu sản xuất như nuôi tảo, nuôi copepod, phân cỡ, thu trứng, lọc trứng, bảo quản trứng... [100]. Đến nay, việc thiết lập hệ thống tự động và tuần hoàn nước các khâu đã được phát triển và ứng dụng ở quy mô sản xuất lớn trên cá hồi [157, 158] nhưng mới chỉ áp dụng ở quy mô thí nghiệm với giáp xác chân chèo. Ý tưởng nuôi giáp xác chân chèo quy mô công nghiệp của Drillet và cộng sự (2011) với thiết kế hệ thống kết nối 4 khâu liên hoàn gồm: khâu sản xuất thức ăn, khâu tuần hoàn xử lý đảm bảo chất lượng nước tốt cho nuôi giáp xác chân chèo, khâu nuôi giáp xác chân chèo để sản xuất trứng hoặc ấu trùng, khâu lọc thu và bảo quản sản phẩm. Tất cả các khâu này sẽ được điều khiển tự động nhịp nhàng bằng hệ thống phần mềm trên máy tính. Như vậy, hệ thống nuôi tuần hoàn nước được kiểm soát tự động và kết nối tất cả các khâu, ngay cả kiểm soát và điều khiển ổn định chất lượng nước nhờ sự kết hợp của các đầu dò và phần mềm máy tính được lớn trong nuôi thâm canh quy mô lớn giáp xác chân chèo.

Giáp xác chân chèo thuộc 3 bộ Calanoida, Cyclopoida, Harpacticoida khác nhau lại có yêu cầu khác nhau về điều kiện tối ưu của chất lượng nước nuôi, nên cần thiết có các nghiên cứu cơ bản về ảnh hưởng của các yếu tố chất lượng nước tới từng loài giáp xác chân chèo cụ thể sử dụng để nuôi công nghiệp. Do vậy, quy trình công nghệ nuôi giáp xác chân chèo và hệ thống nuôi copepod cũng mang tính đặc thù cho từng loài cụ thể.

Đây cũng chính là một trong những khó khăn để phát triển nuôi công nghiệp copepod, đòi hỏi phải đầu tư nhiều thời gian và công sức của các nhà khoa học, người nuôi trồng thủy sản.

#### **1.1.5. Những tiến bộ, tiềm năng phát triển nuôi giáp xác chân chèo**

Từ những thách thức trong nuôi giáp xác chân chèo, các nhà khoa học đã từng bước tháo gỡ và đạt được những tiến bộ đáng kể trong nghiên cứu và sản xuất giáp xác chân chèo. Tiến bộ điển hình nhất trong nuôi thâm canh copepod làm thức ăn sống trong nuôi trồng thủy sản là phải kể đến thành công trong nuôi sinh khối và sản xuất trứng thâm canh loài *Acartia tonsa*. Loài *A. tonsa* là loài giáp xác chân chèo được nghiên cứu nuôi đầu tiên trên thế giới tại trường đại học công nghệ Danish Đan Mạch từ năm 1981 [96] mà còn là loài được nghiên cứu nhiều nhất, cũng như đạt đến công nghệ nuôi thâm canh quy mô và hiện đại nhất. Sarkisian và cộng sự (2019) đã thử nghiệm hệ thống nuôi thâm canh *A. tonsa* có thiết kế cải tiến là sự kết hợp các đơn vị nuôi con trưởng thành và sản xuất trứng đạt năng suất trung bình 22 triệu trứng/ngày. Hệ thống được thiết kế nuôi theo đợt gồm 3 giai đoạn: giai đoạn 1 là ấp nở trứng trong các bể 18 L; giai đoạn 2 là nuôi ấu trùng tới giai đoạn trưởng thành trong các bể 900 L và giai đoạn 3 là sản xuất trứng trong các bể 1.900 L. Tổng thời gian cho một chu kỳ toàn vòng đời khoảng 3 tuần: 2 ngày ấp nở; 12 ngày nuôi trưởng thành; 7 ngày sản xuất trứng [115]. Theo mô hình trên, sản lượng trứng có thể tăng gấp nhiều lần khi mở rộng quy mô sản xuất nuôi công nghiệp *A. tonsa*. Mô hình nuôi này mở ra tiềm năng ứng dụng và cải tiến phù hợp cho nuôi các loài giáp xác chân chèo khác.

Đảm bảo nguồn thức ăn cho nuôi công nghiệp loài *A. tonsa*, tại trường Đại học Công nghệ Danish Đan Mạch, Vũ Thị Thùy Minh và cộng sự (2015) tìm ra công nghệ nuôi sinh khối thích hợp cho loài tảo *Rhodomonas salina* và đạt kết quả nuôi được mật độ tảo cao, đáp ứng được nhu cầu dinh dưỡng của *A. tonsa*. *R. salina* là loài tảo được sử dụng phổ biến trong nuôi giáp xác chân chèo *A. tonsa*. Nghiên cứu thử nghiệm nuôi tảo *R. salina* trong hệ thống hiện đại với thiết kế là trụ kép (2 x 47 L), với điều kiện nuôi tiêu chuẩn về ánh sáng [159]. Kết quả cho năng suất tảo đạt 92,74 tỷ tế bào/ngày, đảm bảo cung cấp đủ thức ăn chất lượng đáp ứng đầy đủ thành phần các axit béo không no và các axit amin thiết yếu cho 1,24 triệu *A. tonsa* trưởng thành (mật độ nuôi 2500 con/L, trong bể nuôi 500 L), cho kết quả sinh sản ra được 17,11 triệu trứng/ngày. Hệ thống nuôi

tảo tiềm năng này có thể phát triển lên quy mô công nghiệp ứng dụng cho nhiều loài tảo khác để giải quyết khó khăn về nguồn thức ăn cho quy mô nuôi công nghiệp giáp xác chân chèo nói chung.

Các nghiên cứu thành công về việc bảo quản trứng của loài *A. tonsa* cũng đã mở ra một tiềm năng lớn đảm bảo tính sẵn có và tiện lợi cung cấp nguồn thức ăn sống chất lượng cao cho ương nuôi các đối tượng cá biển. Trứng *A. tonsa* có thể bảo quản ở điều kiện nhiệt độ 2 - 3°C tới 12 tháng với tỷ lệ nở thành công đạt hơn 70% [99]. Trứng nghỉ của copepod có thể đạt tỷ lệ nở hơn 80% khi được bảo quản ngay ở nhiệt độ 25°C trong thời gian tới 17 tháng [160]. Việc bảo quản phôi của nhiều loài giáp xác chân chèo cũng đã được nghiên cứu thành công [161]. Do vậy, trứng nghỉ của Copepoda nếu được sản xuất ở quy mô lớn đảm bảo về số lượng, chất lượng cũng như khả năng bảo quản và tỷ lệ nở tốt thì có thể thay thế hoàn toàn cho trứng *Artemia* và luân trùng trong nuôi trồng thủy sản. Đồng thời, một nghiên cứu gần đây chứng minh rằng việc sản xuất *A. tonsa* để sử dụng làm thức ăn cho ương nuôi ấu trùng cá biển là có hiệu quả kinh tế, giúp giảm chi phí trong sản xuất con giống [98, 162].

Suất phát từ tính hiệu quả và nhu cầu nguồn copepod cho ương nuôi ấu trùng cá biển, năm 2016 công ty C - Feed Na Uy xây dựng 1 nhà máy sản xuất *A. tonsa* ở quy mô công nghiệp đầu tiên trên thế giới tại Vanvikan Na Uy, từ thừa hưởng những thành tựu trong nghiên cứu về *A. tonsa* trên thế giới và trong 15 năm của cơ quan nghiên cứu nuôi trồng thủy sản - nghề cá SINTEF Na Uy. Đến nay nhà máy tiếp tục phát triển mở rộng quy mô sản xuất trứng cung cấp cho các thị trường trên toàn thế giới. Công ty C - Feed đã thử nghiệm sản phẩm *A. tonsa* trên nhiều loài cá biển và đem lại những kết quả khả quan như: tăng tỷ lệ sống cá ngừ vây xanh Đại Tây Dương hơn 10%, và giảm tỷ lệ dị hình từ 83% xuống còn 8%, tăng tỷ lệ sống hơn 16% và đạt tăng trưởng hơn 36% ở cá bơn.

Bên cạnh đó, một phát hiện quan trọng trên loài *Nitokra lacustris* (thuộc Bộ Harpacticoida) cũng mở ra một tiềm năng lớn về nuôi sinh khối copepod ở quy mô công nghiệp để có thể đáp ứng được một số lượng lớn thức ăn cho ương nuôi ấu trùng cá biển [107]. Loài *N. lacustris* có thể đáp ứng nhiều tiêu chuẩn của một loài giáp xác chân chèo tiềm năng cho nuôi công nghiệp như về kích thước nhỏ phù hợp cho ấu trùng cá ở thời điểm ăn đầu tiên với ấu trùng có chiều rộng chỉ 40  $\mu\text{m}$ , thời gian đạt trưởng thành sinh sản ngắn 10 - 12 ngày ở nhiệt độ 20°C, có khả năng thích nghi phát triển và sinh sản

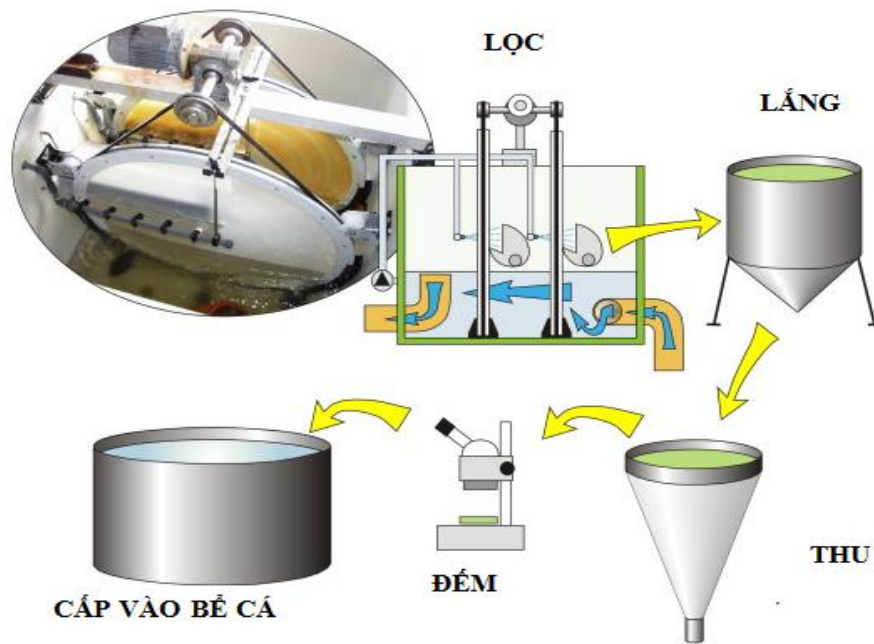


được với khoảng rộng về nhiệt độ (7 - 33°C), độ mặn (10 - 40‰) và chịu được hàm lượng oxy thấp và hàm lượng NH<sub>3</sub> cao. Đặc biệt thành phần dinh dưỡng cơ thể rất giàu HUFA, với tỷ lệ cao DHA/EPA đạt từ 3 đến 7 [85]. Loài giáp xác chân chèo này có thể nuôi được bằng thức ăn tổng hợp, thậm chí ngay cả khi thức ăn nuôi không có các HUFA cũng không ảnh hưởng đến khả năng sinh sản của loài (đạt tới 18 ấu trùng/cái trong một ngày). Trong thử nghiệm, loài Copepoda này có thể phát triển đạt tới mật độ 100 con/mL. Loài này cũng có tốc độ tăng trưởng quần thể nhanh đạt tới 15,3%/ngày nên có thể thu 1 phần 3 thể tích và phục hồi mật độ sau 3 ngày nuôi. Theo tính toán của Christopher và cộng sự (2012), phương pháp nuôi thâm canh theo đợt với 9 bể nuôi sinh khối (200 L/bể), mật độ đạt 43.000 con/L thì có thể cung cấp được 8,6 triệu con/ngày, đáp ứng được cho 23.000 ấu trùng cá bơn với mật độ cho ấu trùng cá là 2.000 con/L trong một ngày. Với mật độ cao, tốc độ phát triển nhanh, thành phần dinh dưỡng giàu DHA, loài *N. lacustris* có thể hướng tới phát triển ở quy mô công nghiệp sản xuất sinh khối lớn cung cấp các sản phẩm ở dạng sống, đông lạnh, khô hay trở thành nguồn nguyên liệu có giá trị cho sản xuất thức ăn công nghiệp cho các đối tượng thủy sản. Loài *N. lacustris* có thể được tiếp tục nghiên cứu sinh sản nhằm đạt tới một mức sản lượng tối đa trong nuôi sinh khối. Loài này cũng gợi mở cho các nhà khoa học tiếp tục tìm kiếm phát hiện các loài giáp xác chân chèo thuộc bộ Harpacticoida mới, có nhiều ưu điểm hơn nữa để đáp ứng cho sự phát triển nuôi trồng thủy sản.

#### **1.1.6. Sử dụng giáp xác chân chèo trong nuôi trồng thủy sản ở Việt Nam**

Nghề nuôi cá biển ở Việt Nam đang phát triển với nhiều đối tượng cá nuôi như cá chẽm, cá giò, cá chim, cá mú, cá bẹ, cá ngựa, cá khoang cỏ... Nguồn cung cấp con giống đáp ứng về số lượng và chất lượng có vai trò quan trọng thúc đẩy nghề nuôi cá biển Việt Nam phát triển. Việc sử dụng giáp xác chân chèo trong ương nuôi cá biển đã được chứng minh đem lại kết quả tăng tỷ lệ sống và tốc độ tăng trưởng hơn so với thức ăn truyền thống là luân trùng và *Artemia* [2, 3]. Các nghiên cứu về nuôi sinh khối và việc sử dụng giáp xác chân chèo trong nuôi trồng thủy sản ở Việt Nam còn rất ít. Giáp xác chân chèo chủ yếu được sử dụng cho ương nuôi ấu trùng các loài cá biển. Công nghệ ương nuôi cá biển ở Việt Nam dựa vào 2 phương pháp chính là bán thâm canh và thâm canh. Mặc dù 2 phương pháp ương cá biển khác nhau nhưng nguồn cung cấp copepod cho 2 phương pháp này vẫn chủ yếu từ phương pháp nuôi bán thâm canh copepod trong các ao lớn

ngoài trời và thu từ các ao nuôi tôm cá thương phẩm. Phương pháp ương nuôi cá biển bán thâm canh được triển khai trong các ao có diện tích từ vài trăm đến vài ngàn mét vuông. Ao sau khi được cải tạo kỹ, loại bỏ các địch hại của ấu trùng cá, được bón lót bằng phân hữu cơ như phân gà. Nước biển được cấp vào ao qua lưới lọc chỉ cho động vật phù du có kích cỡ nhỏ hơn 1000  $\mu\text{m}$  đi qua. Trong ao lắp đặt hệ thống sục khí hoặc quạt khí và được cấp nước vào từ từ tăng dần mực nước ao trong 3 đến 5 ngày để giúp các vật chất hữu cơ phân hủy, giải phóng dinh dưỡng cung cấp cho sự phát triển của tảo. Sau khoảng một tuần gây màu nước, kiểm tra quần thể copepod phát triển tốt thì đưa ấu trùng vào ao nuôi. Phương pháp nuôi copepod bán thâm canh trong ao cũng được làm tương tự như phương pháp trên. Ao nuôi copepod định kỳ bổ sung thêm phân hữu cơ hoặc bón thúc thêm bằng phân hóa học hay thức ăn tổng hợp. Nguồn copepod từ các ao nuôi bán thâm canh sẽ thu được và bổ sung vào ao ương cá. Tùy vào giai đoạn phát triển ấu trùng cá mà kích cỡ giáp xác chân chèo thu được và cấp vào cho phù hợp với cỡ miệng của ấu trùng cá. Với phương pháp ương cá thâm canh trong bể trong nhà, do nguồn copepod còn phụ thuộc vào tự nhiên, biến động theo mùa vụ nên copepod chỉ sử dụng như một phần bổ sung trong thành thức ăn. Giáp xác chân chèo thường được sử dụng ngay sau giai đoạn sử dụng luân trùng để thay thế một phần hoặc hoàn toàn cho ấu trùng *Artemia* như ở cá chẽm, cá bớp, cá chim. Một số loài cá có kích thước miệng nhỏ như cá mú, cá hồng bạc, cá bẹ vầu thường được cho ăn ấu trùng giáp xác chân chèo ở thời điểm ăn đầu tiên của ấu trùng cá hoặc sau khi sử dụng trứng và ấu trùng hàu. Khi ấu trùng cá lớn lên thì kích thước copepod cho ăn cũng tăng dần. Copepod có thể thu được và cấp đông để sử dụng trong ương nuôi cá. Copepod thu từ ao nuôi tôm được cấp đông bảo quản tới 50 ngày vẫn đảm bảo thành phần dinh dưỡng các HUFA, protein [94]. Tuy nhiên, nguồn giáp xác chân chèo này vẫn tiềm ẩn nguy cơ truyền nhiễm các tác nhân gây bệnh cho cá như ký sinh trùng hoặc vi khuẩn, vi rút có hại. Do vậy, cần thiết nghiên cứu nuôi sinh khối copepod để cung cấp nguồn copepod ổn định và chất lượng cho sản xuất giống các loài cá biển ở Việt Nam.



Hình 1.4. Sử dụng copepod từ ao cho ương nuôi ấu trùng cá [112]

## 1.2. Đặc điểm sinh học của loài *P. annandalei*

### 1.2.1. Hệ thống phân loại

Ngành: Arthropoda

Phân ngành: Crustacea

Lớp: Hexanauplia

Phân lớp: Copepoda

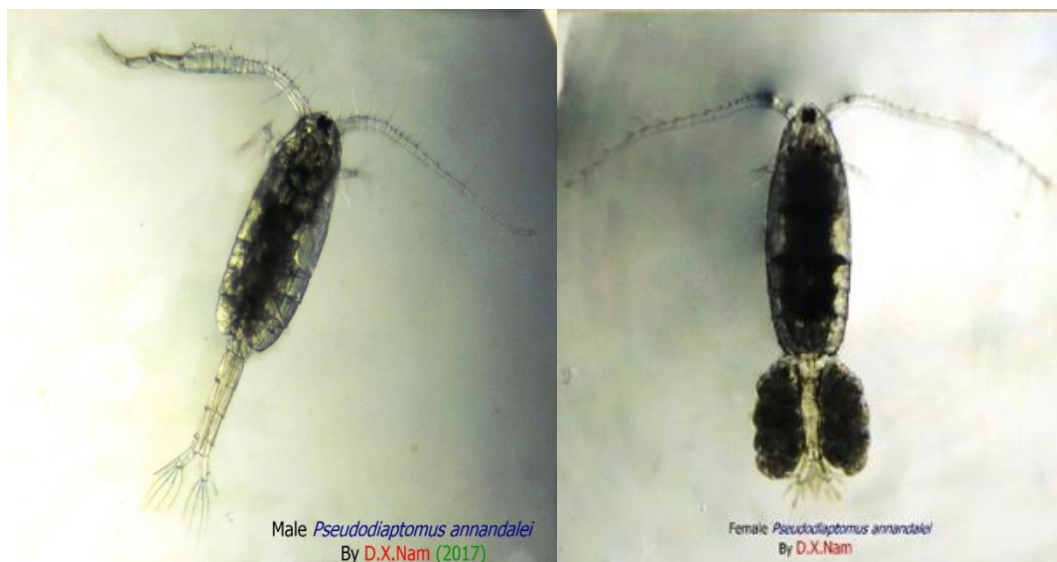
Bộ: Calanoida

Họ: Pseudodiaptomidae

Giống: Pseudodiaptomus

Loài: *P. annandalei* (Sewell, 1919)

Tên khác của loài này là *Schmackeria dubia*. Đến nay danh pháp hợp lệ đã thống nhất là *Pseudodiaptomus annandalei* [165].



Hình 1.5. Con trưởng thành loài *P. annandalei* (ảnh Đoàn Xuân Nam)

### 1.2.2. Đặc điểm phân bố

Loài *P. annandalei* xuất hiện quanh năm ở vùng Thái Bình Dương - Ấn Độ Dương, nhiệt đới tới cận nhiệt đới, vùng cửa sông tới vùng nước cận ven bờ. Loài phân bố ở vùng ven bờ khu vực Biển Đông, Indonesia, Malaysia, Philippin và Đài Loan [141]. Ở Việt Nam, loài phân bố ở vùng biển ven bờ [4]. Loài này thường chiếm ưu thế trong ao nuôi thủy sản lợ mặn [14] và có thể phát triển đến mật độ trên 100 con/L [167].

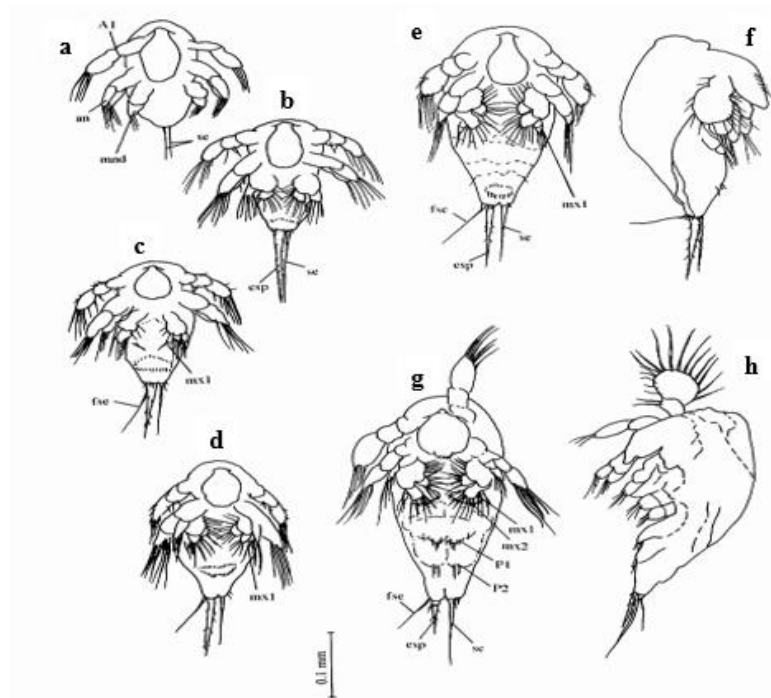
### 1.2.3. Đặc điểm hình thái

Theo mô tả của Nguyễn Văn Khôi (2001), các cá thể trưởng thành của loài *P. annandalei* ở Việt Nam có đặc điểm hình thái ngoài như sau:

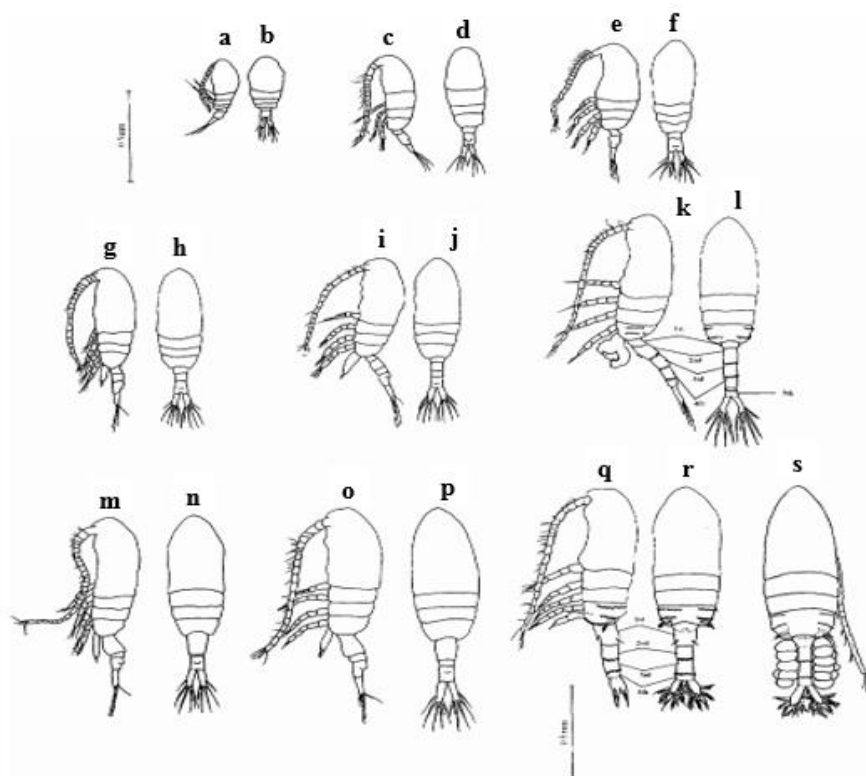
Con cái: Chiều dài toàn thân 1 - 1,2 mm, cơ thể hình trứng, trước trán tù, tai tròn. Phần trước đầu không thành hình tam giác như loài như *S. gordioides*. Mép sau 2 bên đốt ngực 2 - 3 có 5 - 6 gai nhỏ. Góc bên sau ngực tù tròn, 2 bên mép có 1 hàng răng nhỏ, số lượng 10 cái, đốt sinh dục dài, to, phần trước hơi rộng hơn phần sau, 2 bên có gai dạng móc câu cong về phía sau, mặt bụng có 1 gai nhỏ dạng mỏ chim. Mép sau đốt bụng có 2 - 3 cơ vòng răng nhỏ. Chạc đuôi ngắn chiều dài gấp 2,5 lần chiều rộng. Lông cứng chạc đuôi thứ 3 phình to ở gốc. râu 1 dài tới đốt bụng 3. Chân ngực V, đốt 2 rộng to, gần hình vuông, mép ngoài có 1 gai nhỏ, đốt 3 hình chữ nhật, mép đỉnh ngoài có 1 gai dài, mép đỉnh ngoài đốt đỉnh có 1 gai nhỏ, gai đỉnh nhỏ và dài.

Con đực: Chiều dài toàn thân 1 mm. Đầu ngực giống con cái nhưng nhỏ hẹp hơn. Góc bên sau ngực tù tròn, mép trong 2 bên có một gai nhỏ. Đốt bụng 1 ngắn, mép sau đốt bụng 2 - 4 có hàng răng nhỏ xếp vòng tròn. Phần gốc lông cứng chạc đuôi không phình to. râu 1 có 20 đốt, râu bên phải thành râu ôm, đốt 14 - 17 phình to, giữ đốt 18 và 19 có thể gấp lại, mép trước 2 đốt này có răng nhỏ. Chân ngực 5 không đối xứng: chân trái có lồi mép trong có đốt 2 rất thô, to, đỉnh thành lồi dạng ngón, mép trong đốt 3 có lồi hình tam giác, đỉnh lồi phân 2 chạc, đốt đỉnh có hình hạt đậu, gốc mép ngoài có 1 gai, gai đỉnh ngắn, chân phải ở gốc mép trong đốt 2 có 1 lồi gai thô, giữ mép lồi gai có 1 gai nhỏ, đốt 3 ngắn và nhỏ. Có lồi ở mép trong. Trên lồi này có 2 răng, đỉnh ngoài thành gai dài hướng về phía sau tới ba phần tư đốt thứ 3, đốt 4 to và dài. Đốt đỉnh biến thành gai dài, cong hình lưỡi liềm, gốc mép trong hơi lồi, trên lồi có 1 gai nhỏ [5].

Golez và cộng sự (2004) cũng mô tả chi tiết hình thái các giai đoạn phát triển khác của ấu trùng và con non, cũng như con đực và con cái trưởng thành [169]. Các giai đoạn này được phân biệt với nhau bởi nhiều đặc điểm. Các giai đoạn ấu trùng 1 - 6 được phân biệt với nhau bởi đặc điểm các phần phụ và hình dạng cơ thể, các giai đoạn con non 1 - 5 phân biệt với nhau bởi số cặp chân bơi, số đốt bụng. Từ giai đoạn con non 4 có thể phân biệt được giới tính. Con đực có số đốt bụng nhiều hơn con cái 1 đốt bụng và khác nhau ở kích thước đốt bụng đầu. Con đực trưởng thành, con cái còn khác nhau ở chân bơi thứ 5, ở con đực chân bơi thứ 5 dạng kim kẹp có vai trò cho quá trình giao phối. Ngoài ra còn có sự khác nhau về râu thứ nhất bên phải, con đực có dạng móc dùng để giữ con cái trong khi giao phối.



Hình 1.6. Các giai đoạn phát triển của ấu trùng *P. annandalei*: a (N1), b (N2), c (N3), d (N4), e và f (N5), g và h (N6) [169]



Hình 1.7. Các giai đoạn con non của *P. annandalei*: a, b (C1); c, d (C2); e, f (C3); g, h (C4 đực); i, j (C5 đực); k, l (con đực trưởng thành); m, n (C4 cái); o, p (C5 cái); q, r, s (con cái trưởng thành) [169]

#### 1.2.4. Vòng đời

Golez và cộng sự (2004) chỉ ra vòng đời của loài *P. annandalei* có 3 giai đoạn chính: giai đoạn ấu trùng (Naupli), giai đoạn con non (Copepodit) và giai đoạn con trưởng thành. Trong đó gồm có 6 giai đoạn ấu trùng từ ấu trùng 1 đến ấu trùng 6; có 5 giai đoạn con non từ copepodit 1 đến copepodit 5 và giai đoạn con trưởng thành. Thời gian phát triển các giai đoạn như nhau, trừ giai đoạn đầu ấu trùng rất ngắn. Các giai đoạn phát triển của loài *P. annandalei* trong nghiên cứu này chỉ được thực hiện ở nhiệt độ nuôi 25°C. Thí nghiệm về sự ảnh hưởng của nhiệt độ đến sự phát triển mới chỉ dừng lại nghiên cứu ở 1 thể hệ: ấu trùng mới nở được tách ra từ con cái mang trứng được nuôi ở nhiệt độ 25°C và thu được cần nhiệt độ trong 2 ngày (thực hiện tăng giảm 1°C trong 1 - 2 giờ (25 - 23 - 22; 25 - 28 - 31 - 33) đến các nghiệm thức nhiệt độ 20, 25, 28, 33°C để đánh giá các giai đoạn phát triển [169]. Tuổi thọ của loài giáp xác chân chèo này có thể đạt hơn 40 ngày tuổi khi nuôi ở độ mặn từ 5 đến 20‰ và ở điều kiện nhiệt độ là 25 - 28°C [170].

Sự phát triển của các giai đoạn trong vòng đời của loài *P. annandalei* có thể thay đổi khi loài này được nuôi ở nhiệt độ cao, như 34°C qua nhiều thể hệ. Đồng thời tuổi thọ của loài giáp xác chân chèo này cũng có thể thay đổi khi nuôi ở các độ mặn cao hơn hay thấp hơn độ mặn 20‰.

#### 1.2.5. Đặc điểm sinh sản

Loài *P. annandalei* trưởng thành có thể tham gia sinh sản sớm nhất từ ngày tuổi thứ 7 và dừng sinh sản ở khoảng 40 ngày tuổi. Khi trưởng thành con đực và con cái sẽ kết cặp sinh sản. Tập tính kết cặp sinh sản gồm 5 giai đoạn: tìm kiếm, gặp gỡ, đuổi bắt, bắt và giao phối. Khi thành thực, con đực không ngừng bơi tìm con cái dựa vào các tín hiệu hóa học và thủy động học do con cái tạo ra [171]. Trong điều kiện nước xáo trộn mạnh con đực rất khó có thể bơi nhanh bắt kịp con cái so với nước tĩnh, nơi con đực có tốc độ bơi gấp 2 lần con cái [172]. Với tỷ lệ đực: cái là 1: 1, cho thấy số lần bắt gặp giữa con đực và con cái *P. annandalei* nhiều nhất đạt tới 40 lần/giờ và giảm ít đi khi tỷ lệ đực và cái mất cân bằng. Tuy nhiên, tỷ lệ gặp gỡ thành công tăng khi tỷ lệ đực: cái tăng (số con đực tăng) và đạt tỷ lệ gặp gỡ cao nhất đạt 50% khi tỷ lệ đực: cái là 5: 1 [173].

Quá trình giao phối của loài *P. annandalei* được mô tả con đực sử dụng râu thứ nhất cong gập bên phải để móc vào con cái và bằng cách gài chân bơi thứ 5 kẹp vào phần

bụng con cái; tiếp theo sử dụng chân bơi thứ 5 bên trái giống dạng kim để chuyển một đến vài túi tinh vào cơ quan sinh dục ngoài của con cái ở đốt bụng thứ 2; sau cùng cặp đôi chìm dần xuống đáy. Sự kết cặp chuyển giao túi tinh kéo dài 10 giây đến 53 phút, trung bình 10 phút và tối đa 50% sự bắt cặp có thể dẫn tới giao phối thành công, do con cái có tập tính lựa chọn giao phối với con đực phù hợp [171]. Con cái sẽ đẻ trứng vào 2 bọc và sử dụng tinh trùng trong túi tinh để thụ tinh cho trứng. Đồng thời, con cái cần thiết có con đực giao phối định kỳ để có túi tinh thụ tinh và có tỷ lệ nở cao hơn 90% [141]. Những con cái được nuôi ghép cùng con đực với tỷ lệ 1: 1 (ở nhiệt độ 28°C) có thể đẻ được 9 mẻ trứng trong 11 ngày nuôi [169]. Con cái có thể sinh sản từ 4 đến 28 trứng/lần đẻ.

#### **1.2.6. Đặc điểm dinh dưỡng**

Trong tự nhiên, giáp xác chân chèo sống trong điều kiện có nhiều loại thức ăn khác nhau. Chúng sẽ lựa chọn loại thức ăn phù hợp nhằm đảm bảo nhu cầu dinh dưỡng và năng lượng cho quá trình phát triển và sinh sản [174]. Tùy vào các mùa khác nhau với thành phần thực vật phù du khác nhau mà giáp xác chân chèo có thể chuyển từ ăn thực vật sang ăn tạp [175, 176], ăn thêm cả các động vật phù du nhỏ khác như luân trùng và các tiêm mao trùng [13, 177, 178]. Loài *P. annandalei* thường ăn thực vật phù du và có thể chuyển sang ăn cả động vật nhỏ hơn khi cần thiết. Khi thức ăn trong nước nhiều, *P. annandalei* có thể đứng một chỗ lọc thức ăn. Tuy nhiên, khi mật độ thức ăn thấp chúng có thể chuyển sang bắt mồi chủ động hơn bằng cách di chuyển đến gần nguồn thức ăn rồi tạo ra các dòng xoáy nước xung quanh nhờ các phần phụ để gom bắt giữ đưa con mồi vào miệng rồi nuốt hoặc nhai nghiền thức ăn [13, 179].

Trong điều kiện nhân tạo *P. annandalei* có thể nuôi được bằng nhiều loài vi tảo như tảo *Isochrysis galbana* [180], *Tetraselmis chuii* [181], *Tetraselmis tetrathele* [169], *Skeletonema costatum* [182], *Chaetoceros debilis* [183]. Nghiên cứu cũng cho thấy khi thiếu tảo, *P. annandalei* cũng nuôi được bằng thức ăn là trứng luân trùng và các giai đoạn *Branchionus rotundiformis* [13] và tiêm mao trùng *Euplotes* sp. [184].

Thu mẫu trong ao nuôi tại Đài Loan cho thấy *P. annandalei* chiếm ưu thế khi nồng độ Chlorophyll a hơn 70 µg/L [14]. Nồng độ Chlorophyll a khoảng 90 µg/L được cho là đủ đầy cho loài sử dụng [84]. Tuy nhiên đến nay vẫn chưa có nghiên cứu nào chỉ ra được



mật độ tảo tối ưu và loài tảo thích hợp cho sự phát triển, sinh sản của loài *P. annandalei*, cũng như trong điều kiện nhiệt độ cao tới 34°C và 35°C.

### 1.3. Ảnh hưởng của biến đổi khí hậu lên giáp xác chân chèo

Dưới sự ảnh hưởng của biến đổi khí hậu và mùa vụ, các yếu tố môi trường nước thay đổi sẽ kéo theo sự thay đổi về sinh khối và thành phần loài của nhóm giáp xác chân chèo [185 - 189]. Nhiệt độ bề mặt nước biển tăng [190] trở thành một yếu tố điều khiển chính của sự thay đổi cấu trúc và chức năng của hệ sinh thái ven biển toàn cầu [191 - 193]. Ở hệ sinh thái biển nhiệt đới, nhiệt độ mặt nước biển tăng hơn 1°C qua 100 năm gần đây và tốc độ ấm lên được dự đoán nhanh gấp ba hoặc bốn lần vào cuối thế kỷ 21 [194, 195]. Vùng nước nông ven bờ ở vùng nhiệt đới đặc biệt có thể xảy ra nhiệt độ tăng cao quá mức trong điều kiện biến đổi khí hậu [196] được dự đoán sẽ ảnh hưởng tiêu cực đến các loài nhiệt đới đặc hữu [197, 198] và nhiều loài đã phải chịu đựng mức nhiệt độ đạt quá ngưỡng giới hạn trên [199]. Các loài sinh vật có thể phản ứng với sự ấm lên bằng cách thay đổi sự phân bố [200, 201], thay đổi vòng đời [202 - 204] hoặc thay đổi về đặc điểm hình thái như giảm kích thước cơ thể [205, 206]. Sự giảm về kích thước cơ thể đã được ghi nhận cùng với sự ấm lên của nhiệt độ ở thực vật phù du [207], động vật phù du [205, 208]. Điều này cũng phù hợp với những dự đoán theo quy luật Bergmann, các sinh vật vùng nhiệt đới có kích thước cơ thể nhỏ hơn so với nhóm sinh vật sống ở vĩ độ cao hơn [209]. Sự ấm lên cũng cho thấy tác động đến những chỉ số sinh học khác ở nhiều nhóm loài, hoặc là tích cực hoặc là tiêu cực, phụ thuộc vào mỗi nhóm loài khác nhau. Ở các vùng sinh thái nhiệt đới ven biển ở Ấn độ Dương, Thái bình Dương, loài *P. annandalei* rất phong phú [12, 210]. *P. annandalei* có vai trò quan trọng trong chuỗi thức ăn [13, 12]. Do vậy, bất cứ ảnh hưởng nào, do sự biến đổi khí hậu, tác động lên cơ thể và sinh sản của loài *P. annandalei* được dự đoán sẽ dẫn tới những hậu quả về mặt sinh thái, cụ thể ảnh hưởng lên mật độ tích tụ cao hơn như làm giảm nguồn thức ăn cho cá nhỏ [12].

Đến nay còn ít hiểu biết về các sinh vật nhiệt đới ven biển, đặc biệt những sinh vật làm thức ăn như giáp xác chân chèo, bị ảnh hưởng như thế nào bởi sự ấm lên quá mức của nhiệt độ nước, đặc biệt ảnh hưởng qua nhiều thế hệ phát triển. Nghiên cứu về ảnh hưởng của sự ấm lên của nước biển đến loài giáp xác chân chèo *P. annandalei* là cần thiết.

## 1.4. Nghiên cứu về loài *P. annandalei* trên thế giới và Việt Nam

### 1.4.1. Nghiên cứu ảnh hưởng của nhiệt độ và độ mặn

Loài *P. annandalei* là loài nhiệt đới và rộng muối nhưng cũng bị ảnh hưởng lớn bởi 2 yếu tố nhiệt độ và độ mặn [141, 170]. Một số kết quả từ những nghiên cứu về ảnh hưởng của nhiệt độ và độ mặn lên loài *P. annandalei* như sau:

Tỷ lệ sống và tuổi thọ của loài *P. annandalei* bị ảnh hưởng bởi yếu tố nhiệt độ và độ mặn. Loài phát triển quanh năm ứng nhiệt độ 20 - 32°C trong ao ngoài trời tại Đài Loan [211] và có tỷ lệ sống thấp nhất và tuổi thọ ngắn nhất ở 32°C [141]. Khoảng nhiệt độ tối ưu cho loài *P. annandalei* là 26 - 32°C [182].

Loài *P. annandalei* có khả năng sống được trong khoảng rộng độ mặn [170] nhưng độ mặn 5 - 15‰ cho tỷ lệ sống cao, và giảm dần khi độ mặn tăng từ 20‰, đạt tỷ lệ sống thấp nhất ở độ mặn 35‰; 15‰ cho là tối ưu cho sự sống của loài này (tỷ lệ sống đạt 98%) [170]. Nhiệt độ và độ mặn cũng như sự kết hợp của 2 yếu tố này cũng ảnh hưởng đến kích thước cơ thể con cái [211, 141].

Tuổi thành thực sinh sản lần đầu của *P. annandalei* bị ảnh hưởng bởi yếu tố nhiệt độ: khi nhiệt độ tăng copepod đạt tuổi thành thực sinh sản sớm hơn. Ở 18°C, *P. annandalei* đạt tuổi thành thực sinh sản lần đầu muộn ở ngày tuổi thứ 20 đến ngày tuổi thứ 28 [141], ngày tuổi thứ 20 khi nuôi ở 20°C [169] và thành thực sớm hơn từ ngày tuổi thứ 7 đến ngày tuổi thứ 13 ở nhiệt độ 25°C đến 33°C [169, 141, 170]. Tuy nhiên không có sự khác nhau về tuổi thành thực lần đầu (ngày tuổi thứ 8, 9) ở tất cả mức nhiệt độ từ thấp đến cao khi được nuôi ở độ mặn 30‰ [141].

Con trưởng thành nuôi ở các mức nhiệt độ và các độ mặn khác nhau là vòng đời khác nhau [141] và hầu hết con cái dừng sinh sản ở 45 ngày tuổi ở nhiệt độ nuôi 25 - 28°C [170]. Độ mặn cũng ảnh hưởng đến thời gian tham gia sinh sản của *P. annandalei*: ở độ mặn 10‰ và 20‰ con cái có khoảng thời gian sinh sản dài nhất [141]. Tuy nhiên ở độ mặn 15‰ con cái có khoảng thời gian sinh sản tốt nhất là 13 - 38 ngày tuổi, kéo dài hơn 10 ngày so với con cái nuôi ở các độ mặn 5, 10, 20‰ [170]. Khoảng cách thời gian giữa 2 lần đẻ chỉ bị ảnh hưởng bởi nhiệt độ, cụ thể nhiệt độ tăng thì khoảng thời gian giữa 2 lần đẻ giảm [141] hay ở nhiệt độ thấp con cái mang trứng lâu hơn so với nhiệt độ cao [169].

Sức sinh sản của loài này cũng bị ảnh hưởng bởi cả yếu tố nhiệt độ và độ mặn. Golez và cộng sự (2004) chỉ ra trong các mức nhiệt độ 15, 20, 25, 33°C thì ở nhiệt độ thấp hơn con cái đẻ ít trứng hơn so với ở nhiệt độ cao. Trái lại, theo nghiên cứu của Due và cộng sự (2011) *P. annandalei* nuôi ở độ mặn 15‰, thì ở nhiệt độ 25°C có tốc độ sinh sản trứng/ngày nhiều hơn so với ở nhiệt độ 30°C [141]. Theo Chen và cộng sự (2006) độ mặn cũng ảnh hưởng tới khả năng sinh sản của con cái trong 10 ngày thí nghiệm: ở độ mặn tăng dần từ 5‰ đến 15‰, số bọc trứng con cái đẻ ra tăng dần và đạt cao nhất ở độ mặn 15‰ ( $10,6 \pm 2,19$  cặp bọc trứng) và giảm dần khi độ mặn tăng cao hơn từ 15‰ đến 35‰, đạt thấp nhất ở 35‰ ( $3,6 \pm 0,98$  cặp bọc trứng). Tương ứng số ấu trùng sinh ra cũng tăng dần từ độ mặn 5‰ đến 15‰ và đạt cao nhất ở 15‰ ( $206 \pm 39,1$  ấu trùng/2 con cái/10 ngày) và giảm dần khi độ mặn tăng cao hơn 15‰ và đạt thấp nhất ở độ mặn 35‰ ( $0,2 \pm 0,45$  ấu trùng/2 con cái/10 ngày) [170]. Nghiên cứu của Berrend - Dur, Kumar và cộng sự (2011) cũng cho kết quả con cái trưởng thành nuôi ở độ mặn 30‰ có sức sinh sản thấp hơn so với con cái trưởng thành nuôi ở độ mặn 10‰ và 20‰.

Khả năng trứng được thụ tinh cũng bị ảnh hưởng bởi yếu tố độ mặn. Con cái ở độ mặn 15‰ có tần suất đẻ ra bọc trứng được thụ tinh cao hơn so với con cái ở độ mặn 5‰ và 25‰ ở cả 3 nghiệm thức nhiệt độ; 100% bọc trứng đều thụ tinh được thấy ở nghiệm thức độ mặn 15‰ và nhiệt độ 25°C [141].

Sự phát triển phôi và khả năng nở cũng bị ảnh hưởng bởi yếu tố nhiệt độ và độ mặn. Trong khoảng nhiệt độ (15 - 33°C) khi nhiệt độ nước tăng lên thời gian phát triển phôi giảm xuống [141]. Trứng nở được ở các nghiệm thức nhiệt độ từ 20 - 33°C trong vòng 24 giờ trừ nghiệm thức 15°C [169]. Độ mặn 15‰ con cái đẻ bọc trứng có tỷ lệ nở cao hơn so với con cái ở độ mặn 5‰ và 25‰ với cả 3 nghiệm thức nhiệt độ (20, 25, 30°C) [141]. Tương tự nghiên cứu bởi Chen và cộng sự (2006), tất cả bọc trứng nở ở các độ mặn 15‰ và 20‰, trong khi phôi chết và bọc trứng hỏng nhiều ở độ mặn 35‰. Tuổi con cái tăng cũng ảnh hưởng đến chất lượng trứng, càng về sau càng dễ đẻ ra nhiều bọc trứng hỏng [141].

Nghiên cứu cho thấy nhiệt độ và độ mặn cũng ảnh hưởng đến sự sai khác về chỉ tiêu sinh sản ở 2 thế hệ F1, F2 như kích thước bọc trứng (F2 lớn hơn so với thế hệ F1 ở tất cả nghiệm thức nhiệt độ và độ mặn), tỷ lệ nở thành công (F2 cao hơn F1 ở nghiệm thức độ mặn 15‰, 25‰ và 25°C), tốc độ đẻ trứng (F2 cao hơn F1 ở nghiệm thức độ mặn

15‰ và 25°C, 30°C), khoảng cách thời gian giữa 2 lần đẻ (F2 ngắn hơn F1 ở nghiệm thức độ mặn 15‰ và 25°C, 30°C) [141].

Nghiên cứu về đặc điểm sinh học được thực hiện bởi Vũ Ngọc Út và cộng sự (2014) chỉ ra một số đặc điểm sinh học của loài *P. annandalei* trong điều kiện nhiệt độ 27,5 - 28,5°C như: vòng đời, kích thước cơ thể và thời gian phát triển các giai đoạn, thời gian thành thực (12 - 18 ngày nuôi), thời gian phát triển phôi (20,5 - 27 giờ), nhịp sinh sản ( $30,54 \pm 9,75$  giờ), sức sinh sản ( $106 \pm 6$  trứng/cái trong đời) [1].

Nghiên cứu của Trương Sĩ Hải Trình (2016) trên *P. annandalei* cũng chỉ ra một số đặc điểm sinh học thông qua thu phân tích mẫu copepod trong thủy vực tự nhiên qua các tháng trong năm như kích thước con cái trưởng thành dao động từ 1,15 đến 1,38 mm, trung bình  $1,2 \pm 0,037$  mm, sức sinh sản dao động từ 13 đến 24 trứng/con cái trong lần đẻ. Tác giả cũng tiến hành thí nghiệm về sự ảnh hưởng của yếu tố nhiệt độ (20, 25, 28 và 33°C) đến tốc độ tăng trưởng của ấu trùng *P. annandalei* và sự ảnh hưởng của độ mặn (5, 10, 15 và 20‰ trong điều kiện nhiệt độ 26 - 28°C đến sự phát triển của ấu trùng và con trưởng thành [6].

Tất cả các nghiên cứu trên mới chỉ ra được sự ảnh hưởng của nhiệt độ đến loài *P. annandalei* trong khoảng thời gian ngắn từ 1 đến 2 thế hệ. Chưa có nghiên cứu nào cho thấy sự thích nghi nhiệt độ của loài này qua nhiều thế hệ hơn, đặc biệt chưa có công bố về loài này được nuôi ở nhiệt độ 34°C qua nhiều thế hệ. Trong khi đó, nhiệt độ nước trong ao nuôi vào mùa hè ở Khánh Hòa có thể tăng cao hơn 30°C và duy trì ở nhiệt độ này trong nhiều tháng mùa hè. Trong khoảng thời gian đó, *P. annandalei* có thể đã phát triển qua nhiều thế hệ và sự chọn lọc tự nhiên có thể dẫn đến hình thành nhiều dòng Copepoda này có khả năng thích ứng với nhiệt độ cao. Những dòng này có thể mang lại giá trị khi được phát triển nuôi làm thức ăn tươi sống cho nuôi trồng thủy sản thích ứng với điều kiện biến đổi khí hậu.

Nghiên cứu về ảnh hưởng của độ mặn cũng mới dừng lại ở việc đưa loài này vào các độ mặn khác nhau ở điều kiện nhiệt độ 25 - 28°C để đánh giá các chỉ tiêu sinh sản và phát triển [170] và cũng chưa có nghiên cứu nào về loài *P. annandalei* này khi được nuôi ở các độ mặn trong điều kiện nhiệt độ cao 34°C.

#### **1.4.2. Các nghiên cứu về đặc điểm dinh dưỡng**

Để nuôi được loài *P. annandalei* thì việc chỉ ra được mật độ tảo tối ưu là rất quan trọng. Hiện nay, những thông tin cơ bản về dinh dưỡng của loài giáp xác chân chèo này vẫn chưa có.

Để tìm ra mật độ tảo bão hòa cho giáp xác chân chèo thì phương pháp thích hợp thường được sử dụng qua nhiều thập kỷ [213 - 217]. Một số nghiên cứu sử dụng mật độ tảo tương đương với 500  $\mu\text{g C/L}$  [181] hoặc 500  $\mu\text{g chlorophylla/L}$  [182] để nuôi loài *P. annandalei*. Nghiên cứu về đặc điểm sinh học của loài chân mái chèo này được thực hiện bởi Vũ Ngọc Út và cộng sự (2014) cho thấy loài ăn lọc được cả 3 loài tảo *C. calcitrans*, *I. galbana* và *Dunaliella tertiolacta* nhưng tốc độ lọc cao nhất là tảo *I. galbana* [1]. Tuy nhiên, chúng ta lại không biết tốc độ dinh dưỡng của loài giáp xác chân chèo này thay đổi như thế nào ứng với các mật độ tảo thức ăn và ở điều kiện nhiệt độ khác nhau.

Một phương pháp đơn giản nhưng hiệu quả được sử dụng trong 50 năm qua để đánh giá tốc độ dinh dưỡng của giáp xác chân chèo là xác định số phân thải ra [218 - 223]. Phương pháp đánh giá nồng độ tảo bão hòa cho giáp xác chân chèo không yêu cầu trang thiết bị phức tạp và các hiểu biết về phân loại cũng như xác định mật độ tảo, đặc biệt khi một hỗn hợp nhiều loại thức ăn sử dụng cho giáp xác chân chèo như trong ao ngoài trời [16].

#### **1.4.3. Nghiên cứu về mật độ nuôi**

Nghiên cứu ở loài *P. annandalei* cho thấy mật độ con trưởng thành ảnh hưởng đến khả năng sản xuất trứng trong quần thể. Khi thí nghiệm với mật độ nuôi con trưởng thành từ 100 đến 1200 con/L thì cho kết quả: với mật độ nuôi từ 80 đến 270 con/L có số lượng con cái mang trứng đạt 30 - 40% trong quần thể so với tỷ lệ ban đầu là 2%, tỷ lệ này giảm khi mật độ tăng hơn 270 con/L và đạt thấp nhất ở mật độ cao nhất 1.200 con/L [181]. Sự có mặt của các ấu trùng (ở mật độ 200 - 1.600 ấu trùng/L) không ảnh hưởng đến tỷ lệ con cái mang trứng trong quần thể [181]. Nghiên cứu này tiến hành trong thời gian ngắn chỉ 3 ngày thí nghiệm và ít chỉ tiêu sinh sản để đánh giá đầy đủ về khả năng sinh sản của quần thể *P. annandalei* ở các mật độ nuôi khác nhau. Đồng thời đến nay cũng chưa có nghiên cứu nào về ảnh hưởng của mật độ ấu trùng và mật độ nuôi đến sự phát triển của quần thể, sinh trưởng và sinh sản của loài *P. annandalei*.

Do vậy, cần có nghiên cứu trong khoảng thời gian dài hơn để đánh giá đầy đủ về ảnh hưởng của mật độ lên phát triển, sinh trưởng và khả năng sinh sản, tỷ lệ sống trong quá trình nuôi nhằm cung cấp các thông số đầy đủ hơn phục vụ cho việc xây dựng quy trình nuôi sinh khối loài *P. annandalei*, đặc biệt trong điều kiện nhiệt độ cao.

#### **1.4.4. Nghiên cứu về nuôi sinh khối**

*P. annandalei* được cho là đối tượng thích hợp để nuôi sinh khối ở quy mô lớn do có nhiều ưu điểm như vòng đời từ ấu trùng mới nở đến giai đoạn con trưởng thành tham gia sinh sản ngắn, rộng nhiệt độ, rộng muối [170], khả năng chịu đựng được với nhiều yếu tố bất lợi như tác động cơ học xáo trộn, độ đục và hàm lượng khí độc  $\text{NH}_3$  cao [210]. Loài *P. annandalei* cũng đã được thử nghiệm nuôi thành công trong điều kiện nhân tạo. Nghiên cứu nuôi đầu tiên vào năm 1988 bởi Shiao, loài được nuôi bằng 3 loài tảo *Cryptomonas sp.*, *Tetraselmis sp.*, và *Isochrysis sp.*. Nghiên cứu tiếp theo được thực hiện bởi Chen (2002) thử nghiệm nuôi loài Copepoda này bằng dung dịch lên men (thành phần là bột tôm và bột cá chình...). Cả 2 nghiên cứu đều thực hiện ở quy mô thí nghiệm ở các thể tích nhỏ khoảng 500 ml [113]. Hơn nữa, đến nay hầu hết ở các nghiên cứu tiếp theo chủ yếu vẫn nuôi loài *P. annandalei* ở thể tích nhỏ để thực hiện các nghiên cứu về các đặc điểm sinh học và sinh thái [169, 170, 13, 173, 181, 182]. Tương tự, ở Việt Nam loài *P. annandalei* này cũng chỉ đang được nuôi trong phòng thí nghiệm để nghiên cứu về một số đặc điểm sinh học. Bên cạnh đó nguồn *P. annandalei* sử dụng để ương nuôi ấu trùng cá biển lại phụ thuộc hoàn toàn vào nguồn thu được trong hỗn hợp với nhiều loài giáp xác chân chèo khác từ các ao nuôi tôm, cua, cá ven biển như một sản phẩm phụ với nhiều nhược điểm.

Như vậy đến nay, vẫn chưa có công trình nghiên cứu nào về nuôi sinh khối *P. annandalei*, đặc biệt ở điều kiện nhiệt độ cao - 34°C ứng với sự biến đổi khí hậu như hiện nay.

## CHƯƠNG 2 - VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Đối tượng nghiên cứu

Giáp xác chân chèo *P. annandalei* (Sewell, 1919) thu được trong ao nuôi thủy sản (diện tích 5.000 m<sup>2</sup>, có độ sâu trung bình 1,2 m) tại trại thực nghiệm Cam Ranh (+11°49'26.5 N; +109°07'25.70 E), Viện Nuôi trồng Thủy sản, Trường Đại học Nha Trang. Độ mặn nước trong ao thu mẫu trong thời gian nghiên cứu là 19 – 22‰.

Mẫu *P. annandalei* trưởng thành thu được bằng vợt có mắt lưới 150 - 200 µm. Copepod được phân lập trong phòng thí nghiệm, bằng cách sử dụng ống pipet hút ra từng cá thể dưới kính hiển vi soi nổi. Copepod được nuôi thuần hóa về nhiệt độ và độ mặn tương ứng với từng thí nghiệm.

### 2.2. Phạm vi nghiên cứu

Nghiên cứu tập trung đánh giá ảnh hưởng của các yếu tố đến đặc điểm sinh trưởng và sinh sản của loài *P. annandalei*. Đồng thời nghiên cứu thử nghiệm nuôi thu sinh khối và sinh sản ấu trùng ở điều kiện nhiệt độ 30°C và 34°C.

### 2.3. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Các thí nghiệm được tiến hành từ năm 2017 đến năm 2019 tại trại thực nghiệm Cam Ranh, Viện Nuôi trồng Thủy sản, Trường Đại học Nha Trang, Cam Thịnh Đông, Cam Ranh, Khánh Hòa.

### 2.4. Hệ thống thí nghiệm

Các thí nghiệm được bố trí trong các phòng kín có hệ thống điều hòa nhiệt độ. *P. annandalei* trong các thí nghiệm được nuôi trong các vật chứa như bình thủy tinh 5 lít, chai thủy tinh 1 lít, lọ thủy tinh 125 ml, các vi nuôi gồm 12 giếng (thể tích là 4 ml), đĩa petri nhựa. Các vật dụng chứa nuôi copepod trên được đặt trong hệ thống các bể ổn nhiệt độ hình chữ nhật (thể tích là 200 L). Trong mỗi bể ổn nhiệt có 2 thiết bị điều khiển nhiệt độ và các vòi sục khí để xáo trộn đảm bảo nhiệt độ đồng đều mọi vị trí trong bể. Thí nghiệm nuôi sinh khối và nuôi thu ấu trùng được thực hiện trong các bể composit (200 L), đặt trong phòng kín có hệ thống điều hòa nhiệt độ. Nhiệt độ trong các bể được kiểm soát bởi thiết bị nhiệt độ.

## 2.5. Thiết kế thí nghiệm

### 2.5.1. Giáp xác chân chèo và tảo thí nghiệm

✓ *P. annandalei* sử dụng làm thí nghiệm:

*P. annandalei* thu được mẫu trong ao nuôi cá, nước ao có nhiệt độ từ 28°C đến 30°C và độ mặn 19 - 22‰. Con trưởng thành được phân lập dưới kính hiển vi soi nổi và được nuôi thuần hóa về nhiệt độ phòng thí nghiệm 30°C và độ mặn 20‰ trong một ngày (các thí nghiệm 1 → 5). Các bình thủy tinh nuôi copepod (5 L) được đặt trong các bể ổn nhiệt độ nước. Độ mặn 20‰ được chọn bởi thí nghiệm một. Độ mặn này ở trong khoảng thích hợp của loài *P. annandalei* [170] và gần loài này đang sống ở độ mặn nước ao tự nhiên. Độ mặn được giảm về 20‰ bằng cách nhỏ từ từ nước ngọt vào bình nuôi (có bố trí 1 vòi sục khí nhẹ) được điều chỉnh bằng van để điều chỉnh lưu lượng chảy vào và kiểm tra độ mặn liên tục để đảm bảo tốc độ giảm độ mặn khoảng 1‰/12 giờ. Các thí nghiệm 6 và 7 có độ mặn 15‰.

Nhóm copepod bố trí cho các nghiệm thức ở nhiệt độ 30°C, được nuôi ổn định ở nhiệt độ 30°C bằng cách kiểm soát nhiệt độ nước nuôi thông qua kiểm soát nhiệt độ nước trong bể chứa đặt bình nuôi nhờ các thiết bị điều chỉnh nhiệt độ nước ở 30°C. Sau đó, *P. annandalei* được nuôi thuần hóa tiếp về các nhiệt độ thí nghiệm là 25°C và 35°C (34°C) với tốc độ tăng và giảm nhiệt độ 2,5°C/ngày. Nhóm copepod bố trí cho các nghiệm thức ở nhiệt độ 35°C (34°C), được nuôi thuần hóa nhiệt độ bằng cách nâng nhiệt độ nước nuôi thông qua nâng nhiệt độ nước trong bể chứa đặt bình nuôi nhờ các thiết bị điều chỉnh nhiệt độ nước lên 35°C (34°C). Nhóm copepod bố trí cho các nghiệm thức ở nhiệt độ 25°C, được nuôi thuần hóa nhiệt độ bằng cách giảm nhiệt độ không khí trong phòng để giảm nhiệt độ nước nuôi trong các bình cũng như nước trong bể ổn nhiệt xuống tới 25°C nhờ hệ thống điều hòa nhiệt độ. Tổng thời gian thuần hóa là 3 ngày (tương ứng với 1/3 thời gian thế hệ của loài [169]). Điều kiện chiếu sáng là 12 sáng: 12 tối. Tiếp theo, copepod được bố trí các thí nghiệm chính thức (1 → 7).

✓ Loài tảo sử dụng làm thí nghiệm:

Ba loài tảo được sử dụng trong thí nghiệm là tảo *Chaetoceros muelleri*, *Isochrysis galbana*, *Tetraselmis chuii*. Ba loài tảo được lựa chọn bởi các trại sản xuất giống hải sản như thân mềm, tôm, cá biển.



Ba loài tảo thí nghiệm được nuôi theo phương pháp bán liên tục trong nước biển đã được khử trùng (độ mặn 25‰) và đã được bổ sung môi trường f/2 [226]. Hệ thống nuôi là các bình thủy tinh 5 lít, các bình nhựa 20 lít được đặt trong phòng có điều hòa kiểm soát ở nhiệt độ 25°C. Bình nuôi tảo được xáo trộn bằng vòi sục khí từ đáy để giữ cho tảo trôi nổi, sống phát triển. Chế độ chiếu sáng liên tục 24 giờ bằng đèn huỳnh quang (Phillip, 60 W). Khi tảo đạt mật độ thu, từ 3 đến 6 triệu tế bào/ml với tảo *C. muelleri*; từ 5 đến 7 triệu tế bào/ml với tảo *I. galbana* và 0,8 đến 1,5 triệu tế bào/ml với tảo *T. chuii*, thì tiến hành thu 20% thể tích nước của bình nuôi tảo và cấp bù lại bằng thể tích ban đầu bằng nước biển đã được xử lý tương ứng và đã được bổ sung môi trường f/2. Tảo thu từ phòng thí nghiệm ở các mật độ tảo trên được làm loãng bằng nước biển sạch tới các mật độ tảo của các thí nghiệm khác khi bố trí nuôi copepod.

#### **2.5.2. Nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ tảo (*C. muelleri*, *I. galbana*, *T. chuii*) và nhiệt độ (25°C, 30°C và 35°C) lên tốc độ lọc của con trưởng thành - Thí nghiệm 1**

Thí nghiệm này nhằm xác định được mức cho ăn với từng loài tảo ở mỗi nhiệt độ để có thể nuôi loài *P. annandalei*, cũng như làm cơ sở để sử dụng mật độ tảo cho ăn phù hợp cho các thí nghiệm tiếp theo.

*Thí nghiệm được thiết kế gồm: 9 nồng độ tảo (12,5, 25, 50, 100, 200, 400, 800, 1.600 và 3.200 µg C/L) × 3 nhiệt độ (25°C, 30°C và 35°C) × 2 giới tính (đực, cái) × 5 lần lặp = 270 đơn vị thí nghiệm*

Ba thí nghiệm riêng rẽ cho 3 loài tảo *C. muelleri*, *I. galbana* và *T. chuii*. Trong mỗi thí nghiệm, 4 con đực trưởng thành hoặc con cái trưởng thành ở mỗi đơn vị thí nghiệm được nuôi ở 1 trong 9 nồng độ tảo (12,5, 25, 50, 100, 200, 400, 800, 1.600 và 3.200 µg C/L) kết hợp với 3 nhiệt độ (25°C, 30°C và 35°C) trong 6 giờ. Mỗi nghiệm thức có 5 lần lặp, ứng với 270 đơn vị thí nghiệm (chai thủy tinh 125 ml). Tất cả là 810 đơn vị thí nghiệm cho cả 3 thí nghiệm.

Sự chuyển đổi từ mức nồng độ tảo (nồng độ cacbon µg C/L) sang mật độ tảo (tế bào/mL) dựa theo nghiên cứu của McKinnon và cộng sự (2003) cho tảo *C. muelleri* (9,2 pg C/tế bào) và tảo *T. chuii* (89,9 pg C/tế bào) [53] và theo Berggreen và cộng sự (1988) cho tảo *I. galbana* (25,9 pg C/tế bào) [227] (Bảng 2.1). Công thức quy đổi:

$$\text{Mật độ tảo (tb/mL)} = \frac{\text{Nồng độ tảo (µg C/L)} \times 1000}{\text{Khối lượng tế bào tảo (pg C/tb)}} \quad (1)$$

Bảng 2.1. Khối lượng tế bào tảo và mật độ của 3 loài tảo cho ăn (mức 800 µg C/L)

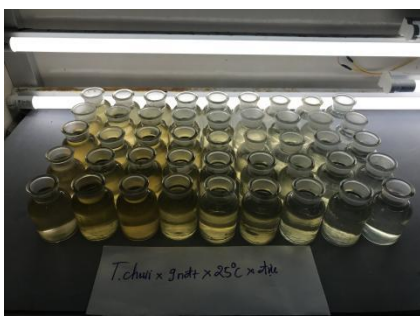
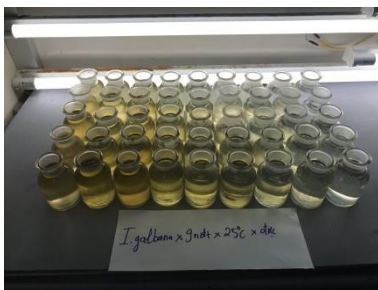
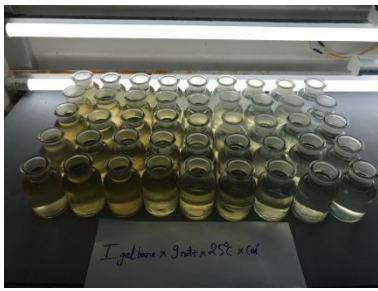
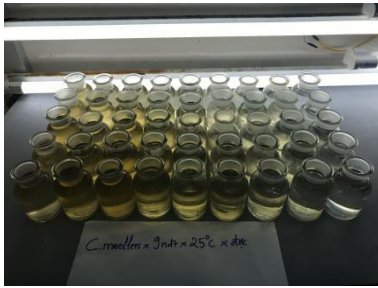
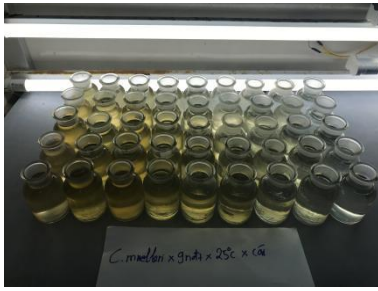
| Loài tảo           | Khối lượng tế bào tảo<br>(pg C/tb) | Mật độ<br>(tb/mL) | Tài liệu tham khảo          |
|--------------------|------------------------------------|-------------------|-----------------------------|
| <i>I. galbana</i>  | 25,9                               | 30.888            | Berggreen và cộng sự (1988) |
| <i>C. muelleri</i> | 9,2                                | 86.957            | McKinnon và cộng sự (2003)  |
| <i>T. chuii</i>    | 89,9                               | 8.899             |                             |

Bảng 2.2. Nồng độ tảo cho ăn và quy đổi ra mật độ tảo thực tế

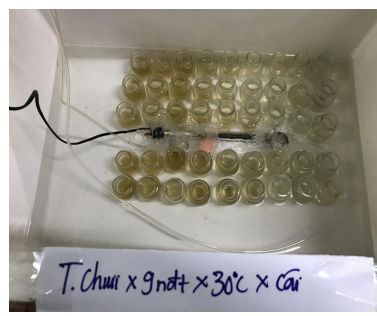
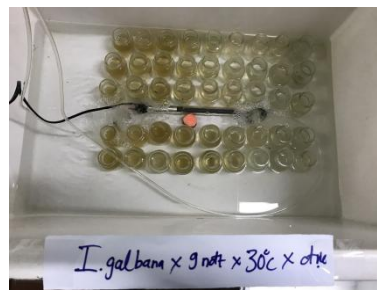
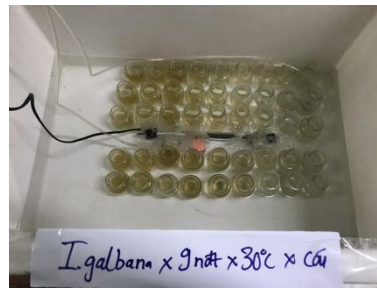
| Nồng độ tảo (µg C/L)   | 12,5 | 25   | 50   | 100   | 200   | 400   | 800   | 1600   | 3200   |
|------------------------|------|------|------|-------|-------|-------|-------|--------|--------|
| Mật độ tảo (tế bào/mL) |      |      |      |       |       |       |       |        |        |
| <i>I. galbana</i>      | 483  | 965  | 1931 | 3861  | 7722  | 15444 | 30888 | 61776  | 123552 |
| <i>C. muelleri</i>     | 1359 | 2717 | 5435 | 10869 | 21739 | 43478 | 86957 | 173913 | 347826 |
| <i>T. chuii</i>        | 139  | 278  | 556  | 1112  | 2225  | 4449  | 8899  | 17798  | 35595  |

Phương pháp được mô tả bởi Kiørboe và cộng sự (2018) [217] trước khi bố trí thí nghiệm chính. Phương pháp như sau: *P. annandalei* được giữ trong nước sạch không thức ăn qua đêm để làm trống ruột; tiếp theo các nhóm gồm 4 con trưởng thành được nuôi trong nước có các nồng độ tảo thiết kế trong 4 giờ. Phương pháp này đảm bảo *P. annandalei* ăn đầy ruột vài lần trong thời gian này [224], và không bị đói [225], nhằm tránh suất hiện tập tính phản ứng mạnh với thức ăn khi bị đói. Cuối cùng những con trưởng thành này được chuyển vào một chai thủy tinh có nước mới với nồng độ tảo tương ứng với nồng độ tảo thí nghiệm. Tổng số hạt phân thải ra bởi 4 cá thể trong mỗi bình trong 6 giờ nuôi thu được và đếm. Thí nghiệm 1 được nuôi giới hạn thời gian là 6 giờ bởi vì trong thí nghiệm trước đã thử nghiệm quan sát thấy sự phân hủy của hạt phân sau 24 giờ, đặc biệt ở điều kiện nhiệt độ lớn hơn 30°C.

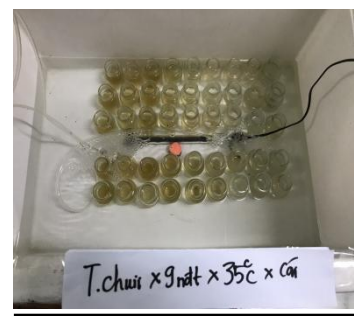
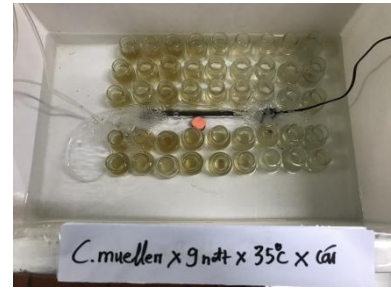
25°C

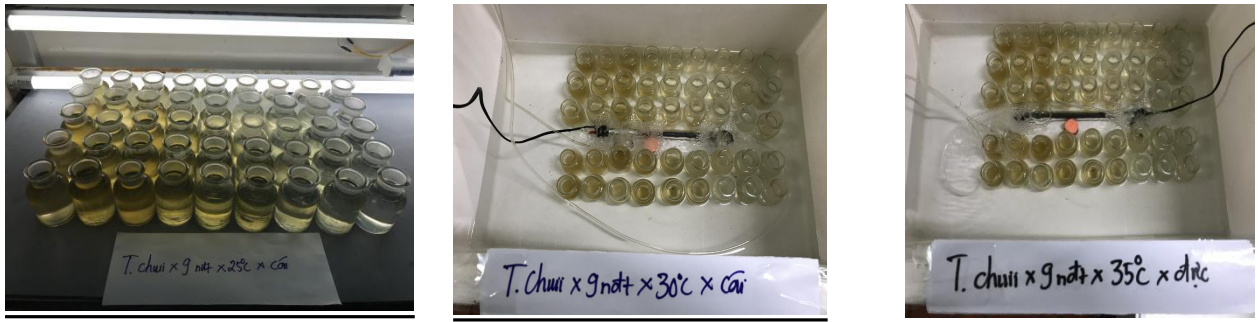


30°C



35°C





Hình 2. 1. Loài tảo (*C. muelleri*, *I. galbana* và *T. chuii*), nhiệt độ (25°C, 30°C và 35°C), con cái và con đực

**2.5.3. Nghiên cứu ảnh hưởng sự cho ăn 3 loài tảo khác nhau (*C. muelleri*, *I. galbana*, *T. chuii*) lên sinh trưởng và sinh sản của *P. annandalei* ở nhiệt độ 30°C và 34°C**  
**- Thí nghiệm 2**

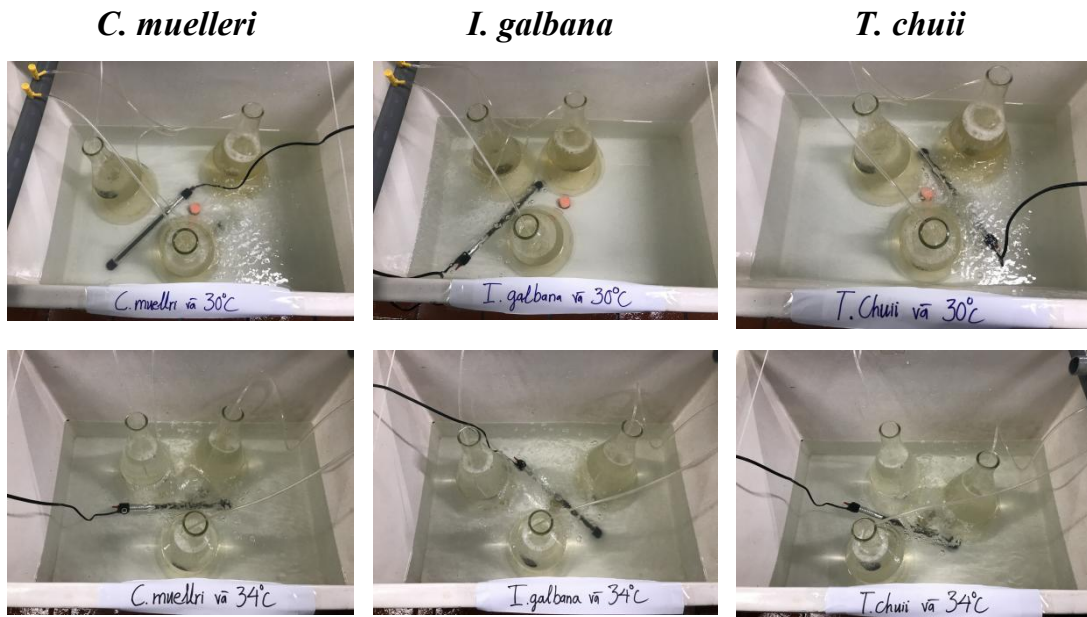
Thí nghiệm này nhằm xác định được loài tảo phù hợp để nuôi loài *P. annandalei* ở điều kiện nhiệt độ thường 30°C và nhiệt độ cao 34°C (ứng với điều kiện biến đổi khí hậu), cũng như làm cơ sở để sử dụng loài tảo cho các thí nghiệm tiếp theo.

✓ **Thí nghiệm 2.1: Ảnh hưởng tương tác của nhiệt độ với sự cho ăn 3 loài tảo khác nhau lên các giai đoạn phát triển**

Thí nghiệm được thiết kế gồm: 3 loài tảo (*C. muelleri*, *I. galbana* và *T. chuii*) × 2 nhiệt độ (30°C và 34°C) × 3 lần lặp = 18 đơn vị thí nghiệm

Bố trí 500 con cái mang 2 bọc trứng vào mỗi bình thủy tinh (5 L nước độ mặn 20‰). Các 18 bình (mỗi bình có 1 vòi sục khí nhẹ) được đặt trong các bể (hình chữ nhật) ổn nhiệt ở điều kiện nhiệt độ tương ứng 30°C và 34°C. Sau 30 giờ, các con cái thu được bằng vợt lọc mắt lưới 200 µm. Các ấu trùng được giữ lại nước cũ trong các bình. Copepod được nuôi cho ăn các loài tảo, cho tới khi tất cả con trưởng thành bằng. Trong 3 ngày nuôi đầu không thay nước do giai đoạn ấu trùng ban đầu dễ bị tổn thương và chết trong quá trình lọc và thay nước. Các bình thay 30% lượng nước vào từ ngày thứ 4 đến ngày thứ 11, rồi cấp lại nước sạch có cùng điều kiện nhiệt độ, độ mặn 20‰, cấp 1 lần/ngày. Điều kiện ương nuôi như nhiệt độ, chế độ chiếu sáng, độ mặn tương tự như điều kiện thí nghiệm. Thu mẫu với 300 ml trong mỗi bình nuôi, từ ngày đầu tiên cho tới khi quần thể đạt con trưởng thành hoàn toàn, 1 lần/ngày vào 8 giờ. Mẫu thu được bằng vợt lọc mắt lưới 25 µm. Các mẫu được xác định các giai đoạn phát triển.





Hình 2. 2. *C. muelleri*, *I. galbana* và *T. chuii*, nhiệt độ (30°C và 34°C), các giai đoạn phát triển.

✓ **Thí nghiệm 2.2: Ảnh hưởng tương tác của nhiệt độ với sự cho ăn 3 loài tảo khác nhau lên tỷ lệ sống, sức sinh sản, tỷ lệ nở thành công, số ấu trùng/Cái và tổng số ấu trùng/Cái (10 ngày) của *P. annandalei***

Thí nghiệm được thiết kế gồm: 3 loài tảo (*C. muelleri*, *I. galbana* và *T. chuii*)  $\times$  2 nhiệt độ (30°C và 34°C)  $\times$  5 lần lặp = 30 đơn vị thí nghiệm.

Các con cái mang 2 bọc trứng được sinh sản các ấu trùng trong các bình thủy tinh chứa 5 L nước tương tự như ở thí nghiệm 2.1. Sau 30 giờ, các con cái thu được bằng vợt lọc mắt lưới 200  $\mu$ m và chỉ giữ lại nước có ấu trùng. Ấu trùng thu được và bố trí số lượng 500 con cho mỗi đơn vị thí nghiệm (một bình thủy tinh chứa 1 L nước, độ mặn 20‰). 30 bình thủy tinh được đặt trong các bể ổn nhiệt độ có 1 thiết bị nhiệt độ kiểm soát ở 30°C và 34°C. Copepod được cho ăn các loài tảo, cho tới khi quần thể đạt giai đoạn trưởng thành hoàn toàn.

Các con trưởng thành được sử dụng để đánh giá các chỉ tiêu như tỷ lệ sống con trưởng thành, sức sinh sản/lần đẻ, tỷ lệ nở thành công (giếng nuôi 3 ml), số ấu trùng/Cái (lọ thủy tinh 125 ml) ở mỗi nghiệm thức. Điều kiện ương nuôi như nhiệt độ, chế độ chiếu sáng, độ mặn tương tự như điều kiện thí nghiệm.

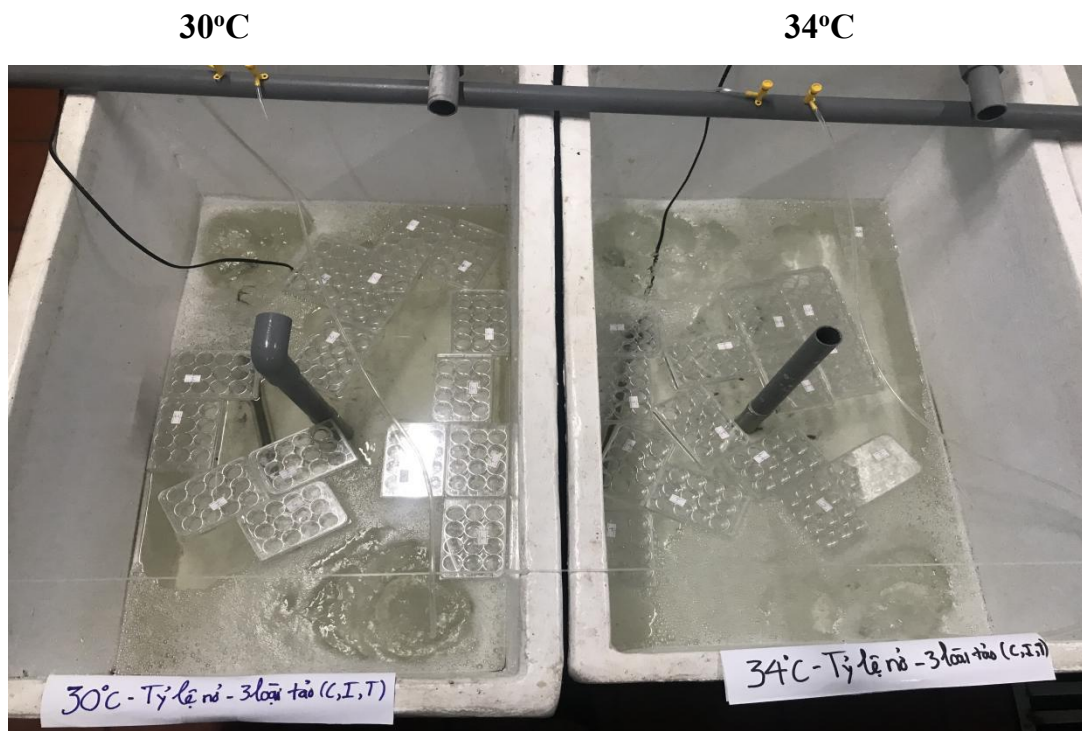
Đồng thời thí nghiệm được bố trí 10 con cái và 10 con đực vào mỗi bình thủy tinh chứa 1 L nước, độ mặn 20‰. 30 bình thủy tinh được đặt trong các bể ổn nhiệt độ có 2

thiết bị nhiệt độ kiểm soát ở 30°C và 34°C. Các mẫu (1 lần/ngày) thu được các ấu trùng và đánh giá tổng số ấu trùng/Cái trong 10 ngày.

Các thí nghiệm 2.1 và 2.2: Thức ăn nuôi copepod là mật độ tảo của 3 loài tảo *C. muelleri* (87.000 tb/mL), *I. galbana* (31.000 tb/mL) và *T. chuii* (9.000 tb/mL), cấp ăn 1 lần/ngày vào 9 giờ.



Hình 2. 3. *C. muelleri*, *I. galbana* và *T. chuii*, nhiệt độ (30°C và 34°C), tổng số ấu trùng/Cái (10 ngày) của *P. annandalei*



Hình 2. 4. *C. muelleri*, *I. galbana* và *T. chuii*, nhiệt độ (30°C và 34°C), tỷ lệ nở thành công của *P. annandalei*.



Hình 2. 5. *C. muelleri*, *I. galbana* và *T. chuii*, nhiệt độ (30°C và 34°C), số ấu trùng/cái của *P. annandalei*.

#### 2.5.4. Nghiên cứu ảnh hưởng của điều kiện nhiệt độ cao (34°C) đến sinh trưởng và sinh sản của loài *P. annandalei* qua 3 thế hệ - Thí nghiệm 3

Thí nghiệm này nhằm đánh giá ảnh hưởng của điều kiện biến đổi khí hậu, nhiệt độ nước nuôi là 34°C đến *P. annandalei* và so sánh ở điều kiện nhiệt độ bình thường 30°C. Nhiệt độ 30°C làm đối chứng vì gần với nhiệt độ đo được ở nơi loài *P. annandalei* phân bố nhiều. Nhiệt độ 34°C được cho là nhiệt độ cao thường xảy ra trong thời điểm mùa hè hay là mức nhiệt độ cao có thể xảy ra trong tương lai do sự ấm lên của nhiệt độ nước bề mặt do biến đổi khí hậu.

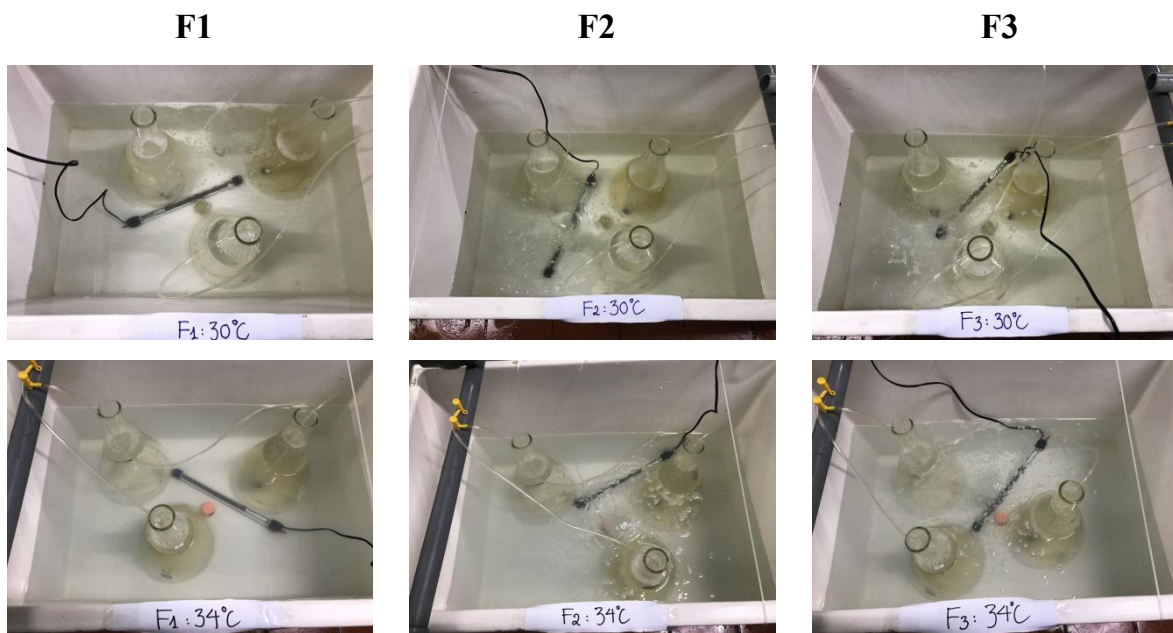
*Thí nghiệm được thiết kế gồm: 2 nhiệt độ (30°C và 34°C) × 3 lần lặp = 6 đvtn*

Tương ứng với 2 nghiệm thức cho mỗi thế hệ (F1, F2, F3). Mỗi nghiệm thức có 3 lần lặp là các bình thủy tinh (5 L), được chứa 1.500 con trưởng thành/bình (mật độ 300 con/L). Nuôi các thế hệ F1, F2 và F3: *P. annandalei* thu được cần hóa về nhiệt độ thí nghiệm 30°C và 34°C trong 3 ngày trước khi đưa chúng vào nhiệt độ thí nghiệm để sinh sản tạo ấu trùng bắt đầu thế hệ F1. Để bắt đầu cho thế hệ F1, 600 con cái (mang 2 bọc trứng/cái) được phân lập và phân bố ngẫu nhiên vào 6 chai thủy tinh (1 L) với lượng nước biển sạch (3 bình cho mỗi nhiệt độ). Trong các chai được đặt trong các bể ổn nhiệt độ ở 30°C và 34°C. Copepod được cho ăn tảo *I. galbana* (mật độ tảo 31.000 tb/mL), cấp ăn 1 lần/ngày vào 9 giờ. Sau khi ấp nở trong 30 giờ, ước tính khoảng 90% trứng nở, ấu trùng thu được (khoảng 1.500 ấu trùng/chai) để bắt đầu nuôi trong mỗi bình 5 L (3 bình cho mỗi nhiệt độ). Trong các bình (1 vôi sục khí nhẹ/bình) được đặt trong các bể ổn



nhệt độ ở 30°C và 34°C. Các bình thay 30% lượng nước vào từ ngày thứ 4 đến ngày thứ 11, rồi cấp lại nước sạch có cùng điều kiện nhiệt độ, độ mặn 20‰, cấp 1 lần/ngày. Điều kiện ương nuôi như nhiệt độ, chế độ chiếu sáng, độ mặn tương tự như điều kiện thí nghiệm. Khi F1 đạt giai đoạn trưởng thành và thu được toàn bộ con trưởng thành bằng mắt lưới 200  $\mu\text{m}$ . Con trưởng thành được cho phép chúng tiếp tục sinh sản tạo ấu trùng F2 trong 30 giờ. Ấu trùng F2 thu được và bố trí khoảng 1.500 ấu trùng cho mỗi bình để bắt đầu cho thế hệ. Thế hệ F3 được tạo ra từ thế hệ F2 tương tự như cách trên.

Các con trưởng thành ở các thế hệ được sử dụng để đánh giá các chỉ tiêu như giai đoạn phát triển, kích thước copepod, sức sinh sản/lần đẻ, sức sinh sản đặc trưng, tỷ lệ nở thành công (giếng nuôi 3 ml), số ấu trùng/Cái (lọ thủy tinh 125 ml), số ấu trùng đặc trưng ở mỗi nghiệm thức. Điều kiện ương nuôi như nhiệt độ, chế độ chiếu sáng, độ mặn tương tự như điều kiện thí nghiệm.



Hình 2. 6. Thế hệ (F1, F2, F3), nhiệt độ (30°C và 34°C)

#### 2.5.5. Nghiên cứu ảnh hưởng của 3 nhiệt độ (25°C, 30°C và 34°C) lên sinh trưởng và sinh sản của *P. annandalei* - Thí nghiệm 4

Thí nghiệm này nhằm xác định được nhiệt độ thích hợp để nuôi sinh khối và sinh sản loài *P. annandalei*.

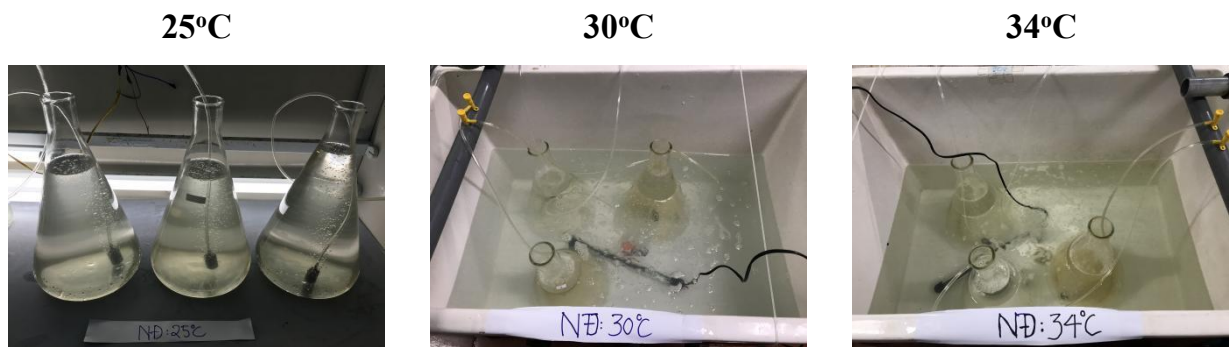
##### ✓ Thí nghiệm 4.1: Ảnh hưởng của 3 nhiệt độ lên các giai đoạn phát triển

Thí nghiệm được thiết kế gồm: 3 nhiệt độ (25°C, 30°C và 34°C)  $\times$  3 lần lặp = 9 đvtn.



Bố trí 500 con cái mang 2 bọc trứng vào mỗi bình thủy tinh 5 L nước có độ mặn 20‰ với 1 vòi sục khí nhẹ. Trong các bình 5 L (1 vòi sục khí nhẹ/bình) được đặt trong các bể ổn nhiệt độ ở 30°C, 34°C trong phòng - số 1 và các nghiệm thức ở 25°C trong phòng - số 2 có hệ thống điều hòa nhiệt độ. Sau 30 giờ, các con cái thu được bằng vợt lọc mắt lưới 200 µm và chỉ giữ lại nước có ấu trùng trong các bình. Quần thể được nuôi cho tới khi tất cả đạt giai đoạn trưởng thành. Các bình thay 30% lượng nước vào từ ngày thứ 4 đến ngày thứ 11 (1 lần/ngày), rồi cấp lại nước sạch có cùng điều kiện các nhiệt độ, độ mặn 20‰.

Thu mẫu với 300 ml trong mỗi bình nuôi, từ ngày đầu tiên cho tới khi quần thể đạt con trưởng thành hoàn toàn, 1 lần/ngày vào 8 giờ. Mẫu thu được bằng vợt lọc mắt lưới 25 µm. Các mẫu được xác định các giai đoạn phát triển và đo kích thước copepod, tốc độ sinh trưởng chiều dài đặc trưng.



Hình 2. 7. Nhiệt độ (25°C, 30°C và 34°C), các giai đoạn phát triển, đo kích thước copepod, tốc độ sinh trưởng chiều dài đặc trưng của *P. annandalei*.

✓ **Thí nghiệm 4.2: Ảnh hưởng của 3 nhiệt độ lên sức sinh sản/lần đẻ, tỷ lệ nở thành công và số ấu trùng/Cái**

Thí nghiệm được thiết kế gồm: 3 nhiệt độ (25°C, 30°C và 34°C)  $\times$  5 lần lặp = 15 đvtn

Các con cái mang trứng sinh sản ấu trùng tương tự như thí nghiệm 4.1. Bố trí 500 ấu trùng vào mỗi bình thủy tinh 1 L nước nuôi tương ứng 15 bình thủy tinh. Ở nhiệt độ 30°C và 34°C, các bình thủy tinh nuôi được đặt trong các bể ổn nhiệt độ có 2 thiết bị nhiệt độ. Trong khi nhiệt độ 25°C, các bình thủy tinh nuôi được đặt trong phòng kín có điều hòa. Quần thể được nuôi cho tới khi trưởng thành. Các con trưởng thành được sử dụng để đánh giá các chỉ tiêu như sức sinh sản/lần đẻ, tỷ lệ nở thành công, số ấu trùng/Cái.

✓ **Thí nghiệm 4.3: Ảnh hưởng của nhiệt độ lên tổng số ấu trùng/Cái trong 10 ngày và tuổi thọ của *P. annandalei***

*Thí nghiệm được thiết kế gồm: 3 nhiệt độ (25, 30 và 34°C) × 5 lần lặp = 15 đvtn*

Đồng thời thí nghiệm được bố trí 10 con cái và 10 con đực được vào mỗi bình thủy tinh chứa 1 L nước, độ mặn 20‰, tương ứng tổng số 15 đơn vị thí nghiệm (nguồn con đực và con cái trưởng thành từ ngày thứ 12, thí nghiệm 4.2). Các con trưởng thành sống được đưa vào nuôi trong 1 bình thủy tinh mới có nước sạch mới tương ứng ở các nghiệm thức và được cấp tảo cho ăn. Ở nhiệt độ 30°C và 34°C, các bình thủy tinh nuôi được đặt trong các bể ổn nhiệt độ có 2 thiết bị nhiệt độ. Trong khi nhiệt độ 25°C, các bình thủy tinh nuôi được đặt trong phòng kín có điều hòa.

Các ấu trùng thu được 1 lần/ngày. Các mẫu thu được các ấu trùng và đánh giá tổng số ấu trùng/Cái trong 10 ngày.

*Thí nghiệm tuổi thọ được thiết kế gồm: 3 nhiệt độ (25, 30 và 34°C) × 2 giới tính (đực, cái) × 5 lần lặp = 30 đvtn*

Ngày thứ 22, các con đực và con cái sống còn lại trong mỗi đơn vị thí nghiệm (thí nghiệm tổng số ấu trùng/Cái) được tách con đực và con cái nuôi riêng 1 bình thủy tinh (0,5 L). Ở nhiệt độ 30°C và 34°C, các bình thủy tinh nuôi được đặt trong các bể ổn nhiệt độ có 2 thiết bị nhiệt độ. Trong khi nhiệt độ 25°C, các bình thủy tinh nuôi được đặt trong phòng kín có điều hòa.

Số con đực và con cái được xác định 1 lần/ngày cho tới khi toàn bộ copepod chết hết để đánh giá tuổi thọ của con đực và con cái.

Tất cả các thí nghiệm: Thức ăn nuôi *P. annandalei* là tảo *I. galbana* với lượng cho ăn là mật độ tảo 31.000 tb/mL, cấp ăn 1 lần/ngày vào 9 giờ.

**2.5.6. Nghiên cứu khả năng chịu sốc độ mặn và sự tương tác của độ mặn với nhiệt độ lên sinh trưởng và sinh sản của *P. annandalei* - Thí nghiệm 5**

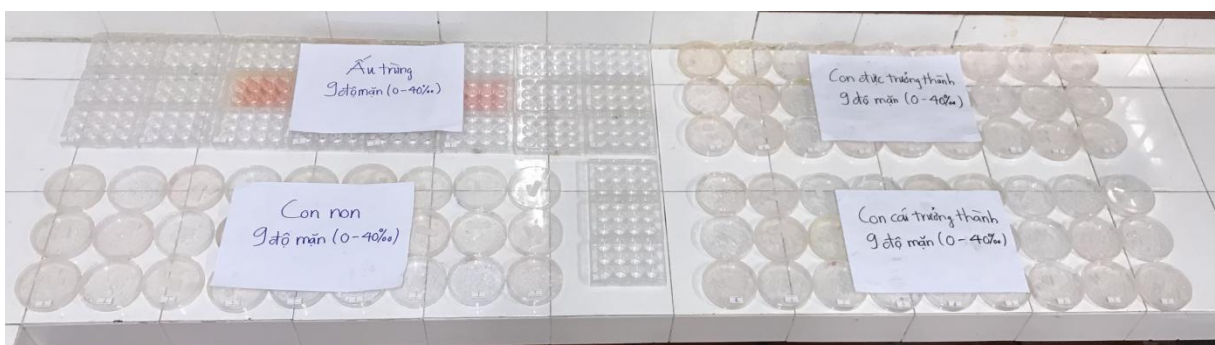
Thí nghiệm này nhằm đánh giá khả năng chịu sốc độ mặn của các giai đoạn phát triển của *P. annandalei* để có cơ sở khi ta sử dụng trực tiếp *P. annandalei* để nuôi các đối tượng thủy sản ở các mức độ mặn khác nhau. Đồng thời thí nghiệm nhằm xác định được độ mặn thích hợp để nuôi sinh khối và sinh sản loài *P. annandalei* ở nhiệt độ 30°C và 34°C.

✓ **Thí nghiệm 5.1: Ảnh hưởng của sốc độ mặn từ 20‰ vào các độ mặn từ 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40‰ đến tỷ lệ sống của *P. annandalei* sau 24 giờ, 48 giờ và tỷ lệ nở thành công, số ấu trùng/Cái**

Thí nghiệm được thiết kế giống nhau cho 4 nhóm copepod: 9 độ mặn (0, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40‰)  $\times$  3 lần lặp = 27 đơn vị thí nghiệm

Bố trí 1000 con cái mang 2 bọc trứng vào mỗi bình nhựa (20 L) nước có độ mặn 20‰ với 1 vôi sục khí nhẹ. Sau 30 giờ, các con cái thu được bằng vợt lọc mắt lưới 200  $\mu$ m và chỉ giữ lại nước có ấu trùng trong 1 bể (100 L). Quần thể được nuôi cho tới khi tất cả đạt giai đoạn trưởng thành và cấp 1 lần/ngày tảo *I. galbana* (mật độ tảo 31.000 tb/mL). Trong bể lắp đặt 1 vôi sục khí nhẹ và 30% lượng nước vào từ ngày thứ 4 đến ngày thứ 10, rồi cấp lại nước sạch có cùng điều kiện nhiệt độ 29 - 30°C, độ mặn 20‰, cấp 1 lần/ngày.

Các giai đoạn của nhóm ấu trùng (N4 - N6), nhóm con non (C2 - C4) và nhóm con trưởng thành (con đực và con cái) bố trí thí nghiệm vào các ngày nuôi thứ 2, 5 và 10. Nhóm copepod được bố trí vào các nghiệm thức (trong 48 giờ) sốc 9 độ mặn (0, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40‰). Mỗi đơn vị thí nghiệm có 10 cá thể tương ứng tổng số 270 cá thể ở mỗi nhóm. Nhóm các ấu trùng được đưa vào các giếng nuôi (3 ml nước). Các nhóm con non, con đực và con cái trưởng thành được nuôi đưa vào các đĩa petri nhựa có 10 ml nước. Copepod không cho ăn trong 48 giờ thí nghiệm. Các đĩa petri được đặt trên bàn trong phòng thí nghiệm, nhiệt độ là 29 - 30°C. Copepod được đánh giá tỷ lệ sống tại thời điểm 24 giờ và 48 giờ.



Hình 2. 8. Các độ mặn từ 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40‰ đến tỷ lệ sống của *P. annandalei* sau 24 giờ, 48 giờ

*Thí nghiệm được thiết kế gồm: 9 độ mặn (0, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40‰) × 3 lần lặp = 27 đơn vị thí nghiệm*

Các con trưởng thành thu được vào ngày nuôi thứ 12, độ mặn 20‰ để bố trí tỷ lệ nở thành công và xác định số ấu trùng/Cái. Mỗi đơn vị thí nghiệm gồm 12 cái mang 2 bọc trứng, mỗi con cái được nuôi trong 1 giếng nuôi chứa 3 ml nước có độ mặn tương ứng với mỗi nghiệm thức từ 0 đến 40‰. Copepod được cho ăn tảo *I. galbana* 1 lần với mật độ tảo khoảng 31.000 tb/mL. Các vỉ nuôi được đặt trên bàn trong phòng thí nghiệm có nhiệt độ là 29 - 30°C. Sau 30 giờ nuôi, các mẫu được xác định tỷ lệ nở thành công và số ấu trùng/Cái.

✓ ***Thí nghiệm 5.2: Ảnh hưởng đồng thời của 2 yếu tố độ mặn và nhiệt độ đến kích thước trưởng thành, sức sinh sản, tỷ lệ nở thành công, số ấu trùng/Cái và tổng số ấu trùng/Cái trong 10 ngày***

*Thí nghiệm được thiết kế: 2 nhiệt độ (30°C và 34°C) × 7 độ mặn (5, 10, 15, 20, 25, 30, 35‰) × 5 lần lặp = 70 đơn vị thí nghiệm*

Con trưởng thành được nuôi thuần về nhiệt độ (30°C và 34°C) và độ mặn (5 - 35‰) thí nghiệm trong 3 ngày đến 4 ngày. Sau đó, các cái mang trứng được phân lập cho sinh sản. 30 con cái mang trứng được nuôi trong 1 bình thủy tinh (1 L), tổng số 70 bình thủy tinh. Sau 30 giờ, các con cái thu được bằng vợt lọc mắt lưới 200 µm và chỉ giữ lại nước có ấu trùng trong mỗi bình thủy tinh tương ứng với mỗi đơn vị thí nghiệm. Các bình thủy tinh chứa ấu trùng được đặt trong các bể ổn nhiệt độ có 2 thiết bị nhiệt độ ở 30°C và 34°C. Copepod được cho ăn 1 lần/ngày bằng tảo *C. muelleri* với mật độ tảo 87.000 tb/mL vào 9 giờ. Copepod được nuôi cho tới khi tất cả các cá thể phát triển đến giai đoạn trưởng thành ở ngày thứ 13. Các con trưởng thành được sử dụng để đánh giá các chỉ tiêu như kích thước cá thể đực và cái trưởng thành; sức sinh sản; tỷ lệ nở thành công và số ấu trùng/Cái.

Các thí nghiệm 5.2: Nước có độ mặn từ 5‰ đến 30‰ sẽ được pha từ nước biển sạch có độ mặn 33‰ với nước ngọt 0‰; nước có độ mặn 35‰ có được từ phơi nắng nước biển 33‰. Nhiệt độ thí nghiệm được kiểm soát bằng các thiết bị nhiệt độ đặt trong các bể ổn nhiệt có chứa nước và được theo dõi ngày.



30°C



34°C

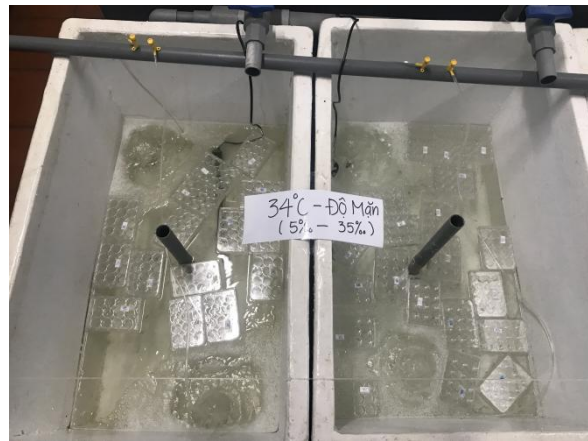


Hình 2. 9. Các độ mặn(5 - 35‰) và nhiệt độ (30°C và 34°C) đến kích thước trưởng thành, sức sinh sản, tỷ lệ nở thành công và số ấu trùng/Cái.

30°C



34°C



Hình 2. 10. Các độ mặn(5 - 35‰) và nhiệt độ (30°C và 34°C) đến tỷ lệ nở thành công.

30°C



34°C



Hình 2. 11. Các độ mặn (5 - 35‰) và nhiệt độ (30°C và 34°C) đến số ấu trùng/Cái

*Thí nghiệm tổng số ấu trùng/Cái được thiết kế gồm: 2 nhiệt độ (30°C và 34°C) × 7 độ mặn (5, 10, 15, 20, 25, 30, 35‰) × 5 lần lặp = 70 đơn vị thí nghiệm*

Đồng thời thí nghiệm được bố trí 10 con cái và 10 con đực được vào mỗi bình thủy tinh chứa 1 L nước, nhiệt độ (30°C và 34°C) và độ mặn (5 - 35‰), tương ứng tổng số 70 bình thủy tinh (nguồn con đực và con cái trưởng thành từ ngày thứ 15, thí nghiệm 5.2). Các con trưởng thành sống được đưa vào nuôi trong 1 bình thủy tinh mới có nước sạch mới tương ứng ở các nghiệm thức và được cấp tảo *C. muelleri* với mật độ tảo 87.000 tb/mL, cấp ăn 1 lần/ngày vào lúc 9 giờ. Các mẫu thu được các ấu trùng (1 lần/ngày) để đánh giá tổng số ấu trùng/Cái trong 10 ngày vào lúc 8 giờ.

#### **2.5.7. Nghiên cứu ảnh hưởng của mật độ ấu trùng ban đầu và mật độ con trưởng thành ban đầu lên sinh trưởng và sinh sản của *P. annandalei* ở nhiệt độ 30°C và 34°C - Thí nghiệm 6**

Thí nghiệm này nhằm xác định được mật độ ấu trùng nuôi ban đầu, mật độ con trưởng thành nuôi ban đầu để nuôi sinh khối hay nuôi sinh sản loài *P. annandalei* ở 2 điều kiện nhiệt độ 30°C và 34°C.

##### **❖ Thí nghiệm 6.1: Ảnh hưởng tương tác của nhiệt độ với mật độ ấu trùng ban đầu đến sự phát triển và sinh sản của *P. annandalei***

*Thí nghiệm được thiết kế gồm: 4 mật độ ấu trùng ban đầu (500, 1.000, 1.500, 2.000 con/L) × 2 nhiệt độ (30°C và 34°C) × 5 lần lặp = 40 đơn vị thí nghiệm*

Con trưởng thành được nuôi thuần về nhiệt độ (30°C và 34°C) và độ mặn (15‰) thí nghiệm trong 3 ngày đến 4 ngày. Sau đó, các cái mang trứng được phân lập cho sinh sản, bố trí 40 bình thủy tinh, mỗi bình thủy tinh chứa 100 con cái mang 2 bọc trứng. Các cái mang được nuôi bằng tảo *C. muelleri* với khoảng 87.000 tb/mL, cấp 1 lần/ngày. Ở nhiệt độ 30°C và 34°C, các bình thủy tinh nuôi được đặt trong các bể ổn nhiệt độ có 2 thiết bị nhiệt độ. Trong khi nhiệt độ 25°C, các bình thủy tinh nuôi được đặt trong phòng kín có điều hòa. Sau 30 giờ, các con cái thu được bằng vợt lọc mắt lưới 200 µm và ấu trùng lọc mắt lưới 25 µm trong 1 xô (5 L) ở 30°C và 1 xô (5 L) ở 34°C. Ấu trùng được đưa vào các bình thủy tinh 1 L nước nuôi (độ mặn 15‰) bằng phương pháp định lượng thể tích, tương ứng với 4 mật độ ấu trùng ban đầu (500, 1.000, 1.500, 2.000 ấu trùng/L). Copepod được nuôi tảo *C. muelleri* với mật độ tảo 87.000 tb/mL, 1 lần/ngày cho mật độ 500 ấu trùng/L và mật độ tảo được gấp 2, 3, 4 lần tương ứng cho các mật độ 1.000, 1.500, 2.000

ấu trùng/L. Mỗi chai nuôi được bố trí một vòi sục khí nhẹ. Trong 3 ngày nuôi đầu không thay nước do giai đoạn ấu trùng ban đầu dễ bị tổn thương và chết trong quá trình lọc và thay nước. Copepod được thay 100% lượng nước mới vào ngày 4, 6, 8. Toàn bộ copepod lọc được và chuyển sang 1 bình thủy tinh nước mới tương ứng với mỗi nghiệm thức. Lúc 10 ngày, số lượng copepod được sử dụng để đánh giá các chỉ tiêu như phần trăm con trưởng thành trong quần thể ở ngày thứ 10, tỷ lệ sống, kích thước con trưởng thành, tốc độ sinh trưởng và sức sinh sản.



Hình 2. 12. Các mật độ ấu trùng ban đầu (500, 1.000, 1.500, 2.000 con/L) và nhiệt độ (30°C và 34°C) đến phần trăm con trưởng thành, tỷ lệ sống, kích thước con trưởng thành, tốc độ sinh trưởng và sức sinh sản.

**❖ Thí nghiệm 6.2: Ảnh hưởng tương tác của nhiệt độ với mật độ con trưởng thành lên số ấu trùng/Cái và tổng số ấu trùng/Quần thể trong 10 ngày**

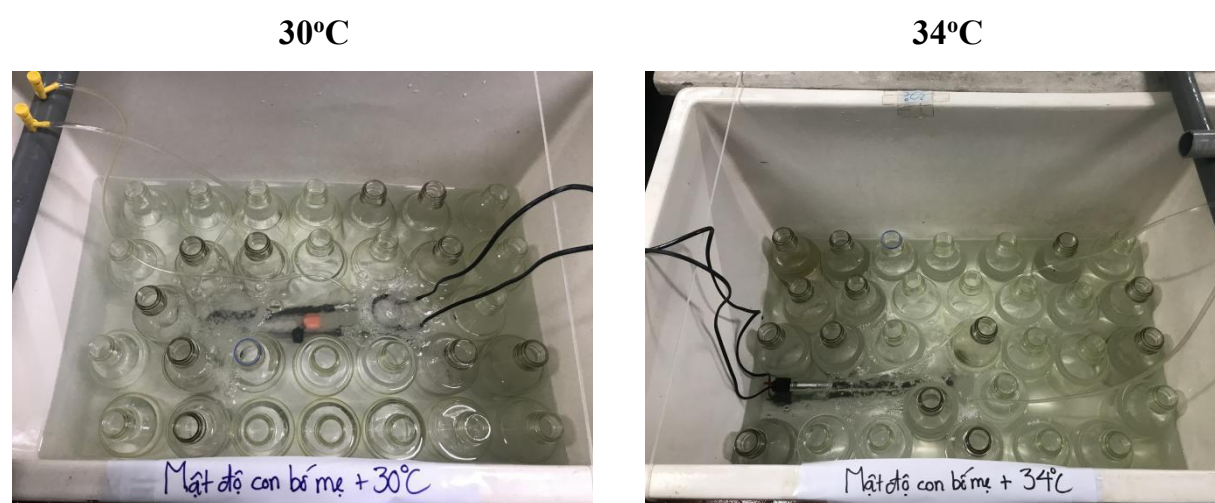
*Thí nghiệm được thiết kế gồm: 6 mật độ con trưởng thành ban đầu (100, 200, 400, 600, 800, 1.000 con/L)  $\times$  2 nhiệt độ (30°C và 34°C)  $\times$  5 lần lặp = 60 đơn vị thí nghiệm*

Con trưởng thành được nuôi thuần về nhiệt độ (30°C và 34°C) và độ mặn (15‰) thí nghiệm trong 3 ngày đến 4 ngày. Sau đó, các con cái mang trứng được phân lập cho sinh sản, bố trí 60 bình thủy tinh (độ mặn 15‰), mỗi bình thủy tinh chứa có 50 con cái mang 2 bọc trứng. Các cái mang được nuôi bằng tảo *C. muelleri* với khoảng 87.000 tb/mL, cấp 1 lần/ngày. Sau 30 giờ, các con cái thu được bằng vợt lọc mắt lưới 200  $\mu$ m và chỉ giữ lại nước có ấu trùng trong mỗi bình thủy tinh (1 L) tương ứng với mỗi đơn vị thí nghiệm. Ở nhiệt độ 30°C và 34°C, các bình thủy tinh chứa ấu trùng được đặt trong các bể ổn nhiệt độ có 2 thiết bị nhiệt độ và được nuôi cho tới khi các con trưởng thành ở 12 ngày tuổi.



Toàn bộ con trưởng thành được lọc thu với mắt lưới 200  $\mu\text{m}$  trong 1 xô (5 L) ở 30°C và 1 xô (5 L) ở 34°C. Tỷ lệ đực: cái của quần thể *P. annandalei* là 1: 1,2. Các con trưởng thành được đưa vào nuôi trong các bình thủy tinh (độ mặn 15‰) bằng phương pháp định lượng thể tích, tương ứng với 6 mật độ (100, 200, 400, 600, 800, 1.000 con/L) ở 2 nhiệt độ. Các con trưởng thành được siphong và thu được các ấu trùng. Ở nhiệt độ 30°C và 34°C, các con trưởng thành sống được đưa vào nuôi trong bình thủy tinh mới (nước sạch mới) tương ứng ở các nghiệm thức trong các bể ổn nhiệt độ có 2 thiết bị nhiệt độ. Copepod được cho ăn tảo *C. muelleri*, cấp ăn 1 lần/ngày vào lúc 9 giờ với lượng là mật độ tảo: 87.000 tb/mL (100 - 200 con/L), 130.000 tb/mL (400 - 600 con/L) và 217.000 tb/mL (800 - 1.000 con/L).

Các mẫu thu được ấu trùng (1 lần/ngày) để đánh giá số ấu trùng/Cái (ngày thứ 1 và ngày thứ 10) và tổng số ấu trùng/Quần thể trong 10 ngày. Đồng thời ngày thứ 10, thu được toàn bộ con trưởng thành còn sống để đánh giá tỷ lệ sống con trưởng thành trong 10 ngày nuôi.



Hình 2. 13. Các con trưởng thành ban đầu (100, 200, 400, 600, 800, 1.000 con/L) và nhiệt độ (30°C và 34°C) đến số ấu trùng/Cái (ngày thứ 1 và ngày thứ 10) và tổng số ấu trùng/Quần thể trong 10 ngày.

#### **2.5.8. Nghiên cứu thử nghiệm nuôi sinh khối và nuôi thu ấu trùng của *P. annandalei* ở nhiệt độ 30°C và 34°C - Thí nghiệm 7**

Thí nghiệm này nhằm xác định được nuôi sinh khối của quần thể theo thời gian, thu được tổng số copepod và tổng số ấu trùng ở các tỷ lệ thu hoạch là phù hợp cho nuôi sinh khối hay nuôi sinh sản loài *P. annandalei* ở 2 điều kiện nhiệt độ 30°C và 34°C.



❖ **Thí nghiệm 7.1: Thử nghiệm nuôi sinh khối ở nhiệt độ 30°C và 34°C**

Thí nghiệm được thiết kế gồm: 2 nhiệt độ (30°C và 34°C)  $\times$  3 lần lặp = 6 đvtn

Mật độ 50 con trưởng thành/L được bố trí 6 bể (200 L/bể, độ mặn 15‰). Sau 48 giờ, các con trưởng thành thu được bằng vợt lọc mắt lưới 200  $\mu$ m và chỉ giữ lại nước có ấu trùng trong 6 bể. Ấu trùng được nuôi trong cùng điều kiện nhiệt độ 30°C và 34°C cho tới khi quần thể đạt trưởng thành. Ngày thứ 12, các con trưởng thành được lọc (mắt lưới 200  $\mu$ m) và bố trí vào 6 bể nuôi (200 L/bể, độ mặn 15‰) với mật độ ban đầu là 100 con trưởng thành/L tương đương với 2 nghiệm thức nhiệt độ 30°C và 34°C. Trong mỗi bể bố trí 1 thiết bị nhiệt độ và 1 vòi sục khí nhẹ. Các bể copepod thay 30% nước sạch có cùng điều kiện nhiệt độ, độ mặn, 1 lần/2 ngày.

Các mẫu thu được copepod (1 lần/2 ngày vào lúc 8 giờ) để đánh giá mật độ copepod (con/L) và copepod của các giai đoạn phát triển (ấu trùng, con non, con trưởng thành: con/L) trong mỗi bể. Đồng thời đánh giá tốc độ tăng trưởng quần thể khi đạt mật độ tối đa. Thời gian của thí nghiệm có 30 ngày (tương ứng 15 lần thu).



Hình 2. 14. Nuôi sinh khối ở nhiệt độ (30°C và 34°C)

❖ **Thí nghiệm 7.2: Thử nghiệm nuôi thu sinh khối ở các tỷ lệ thu hoạch: 10%, 20%, 30%, 40% và 50%**

Thí nghiệm được thiết kế gồm: 2 nhiệt độ (30°C và 34°C) × 5 tỷ lệ thu hoạch (10%, 20%, 30%, 40% và 50%) × 3 lần lặp = 30 đvtn

Mật độ 50 con trưởng thành/L được bố trí 30 bể (200 L/bể, độ mặn 15‰). Sau 48 giờ, các con trưởng thành thu được bằng vợt lọc mắt lưới 200 µm và chỉ giữ lại nước có ấu trùng trong 30 bể. Ấu trùng được nuôi trong cùng điều kiện nhiệt độ 30°C và 34°C cho tới khi quần thể đạt trưởng thành. Ngày thứ 12, các con trưởng thành được lọc (mắt lưới 200 µm) và bố trí vào 30 bể nuôi (200 L/bể, độ mặn 15‰) với mật độ ban đầu là 100 con trưởng thành/L tương đương với 2 nghiệm thức nhiệt độ 30°C và 34°C. Mỗi bể nuôi được bố trí 1 thiết bị nâng nhiệt để kiểm soát nhiệt độ và kết hợp 1 vòi sục khí nhẹ. Thời gian của thí nghiệm có 34 ngày. Các mẫu thu được copepod (1 lần/3 ngày vào lúc 8 giờ) với 5 tỷ lệ thu hoạch (10 - 50%) để đánh giá số lượng copepod và tổng số copepod trong mỗi bể.

30°C



34°C



Hình 2. 15. Nuôi thu sinh khối ở các tỷ lệ thu hoạch (10% - 50%), 30°C và 34°C.

❖ **Thí nghiệm 7.3: Thử nghiệm nuôi sinh sản ấu trùng ở các tỷ lệ thu hoạch: 25%, 50%, 75%, 100%**

Thí nghiệm được thiết kế gồm: 2 nhiệt độ (30°C và 34°C) × 4 tỷ lệ thu hoạch (25%, 50%, 75% và 100%) × 3 lần lặp = 24 đvtn

Mật độ 50 con trưởng thành/L được bố trí 12 bể (200 L/bể, độ mặn 15‰). Sau 48 giờ, các con trưởng thành thu được bằng vợt lọc mắt lưới 200 µm và chỉ giữ lại nước có ấu trùng trong 12 bể. Ấu trùng được nuôi trong cùng điều kiện nhiệt độ 30°C và 34°C cho

tới khi quần thể đạt trưởng thành. Ngày thứ 12, các con trưởng thành được lọc (mắt lưới 200  $\mu\text{m}$ ) và bố trí vào 24 bể nuôi (100 L/bể, độ mặn 15‰) với mật độ ban đầu là 100 con trưởng thành/L tương đương với 2 nghiệm thức nhiệt độ 30°C và 34°C. Mỗi bể nuôi được bố trí 1 thiết bị nâng nhiệt để kiểm soát nhiệt độ và kết hợp 1 vòi sục khí nhẹ. Thời gian của thí nghiệm có 30 ngày. Các mẫu thu được ấu trùng (1 lần/2 ngày vào lúc 8 giờ) với 4 tỷ lệ thu hoạch (25 - 100%) để đánh giá số lượng ấu trùng và tổng số ấu trùng trong mỗi bể.

Cả 3 thí nghiệm (7.1, 7.2, 7.3): *P. annandalei* được cho ăn tảo *C. muelleri* với mật độ tảo khoảng 87.000 tb/mL, cấp ăn 1 lần/ngày vào lúc 9 giờ.



Hình 2. 16. Nuôi sinh sản ấu trùng ở các tỷ lệ thu hoạch (25%, 50%, 75%, 100%) ở nhiệt độ 30°C và 34°C.

### 2.5.9. Các chỉ tiêu đánh giá, phương pháp thu và phân tích mẫu

#### 2.5.9.1. Các chỉ tiêu đánh giá

- A. Số phân thải ra (PP) và số phân thải ra đặc trưng (SPP)
- B. Kích thước con trưởng thành
- C. Phần trăm giai đoạn phát triển
- D. Tốc độ sinh trưởng đặc trưng -  $\text{SGR}_L$
- E. Tỷ lệ sống copepod
- F. Súc sinh sản/lần đẻ
- G. Tỷ lệ nở thành công
- H. Số ấu trùng/Cái
- I. Tổng số ấu trùng/Cái trong 10 ngày

- J.** Sức sinh sản đặc trưng
- K.** Tuổi thọ của con đực và con cái
- L.** Tổng số ấu trùng/Quần thể
- M.** Mật độ copepod và mật độ copepod của các giai đoạn
- N.** Tốc độ tăng trưởng
- O.** Số lượng copepod và tổng số copepod
- P.** Số lượng ấu trùng và tổng số ấu trùng

#### **2.5.9.2. Phương pháp thu và phân tích mẫu**

##### **A: Số phân thải ra (PP) và số phân thải ra đặc trưng (SPP)**

Sau 6 giờ nuôi ở các mật độ tảo và các nhiệt độ thí nghiệm, toàn bộ nước trong lọ thủy tinh được lắc nhẹ và lọc qua lọc có lưới 25  $\mu\text{m}$ . Con trưởng thành được kiểm tra tỷ lệ sống trước khi cố định mẫu bằng lugol (5%) trong các đĩa petri. Trong 6 giờ thí nghiệm, các con trưởng thành được quan sát thấy không bị chết. Các hạt phân được chuyển vào trong mỗi đĩa petri khác và cũng được cố định bằng lugol (5%).

Tất cả các hạt phân được đếm dưới kính hiển vi soi nổi. Sau đó, 100 hạt phân ngẫu nhiên ở mỗi nghiệm thức được đo chiều dài (Cd) và chiều rộng (Cr) dưới kính hiển vi (với độ phóng đại 10 lần) để tính toán thể tích phân đặc trưng trong mỗi kết hợp của giới tính  $\times$  nhiệt độ  $\times$  loài tảo (Bảng 3.4). Thể tích hạt phân đặc trưng được sử dụng để tính khả năng thải phân đặc trưng.



Hình 2. 17. Hạt phân được đo chiều dài và chiều rộng bằng kính hiển vi soi nổi (Olympus SZ61).



Số hạt phân thải ra (PP) là tổng số hạt phân thải ra bởi mỗi cá thể *P. annandalei* trong một ngày và số hạt phân thải ra đặc trưng (SPP) là tổng thể tích phân khớp với kích cỡ khác nhau của con đực và con cái *P. annandalei*. Số liệu được khớp với mô hình [220] (tương ứng phương trình 2 và 3).

$$PP = \frac{(PP_{\max}) \cdot d}{K_m + d} \quad (2)$$

Trong đó, PP là tổng số hạt phân thải ra mỗi ngày bởi một *P. annandalei*,  $PP_{\max}$  là số hạt phân tối đa được thải ra bởi mỗi ngày bởi một *P. annandalei*,  $d$  là nồng độ tảo ( $\mu\text{g C/L}$ ),  $K_m$  là hằng số nửa bão hòa.

$$SPP = \frac{(SPP_{\max}) \cdot d}{K_m + d} \quad (3)$$

Trong đó, SPP là tổng thể tích của số hạt phân thải ra mỗi ngày bởi một *P. annandalei*,  $SPP_{\max}$  là thể tích hạt phân tối đa được thải ra bởi mỗi ngày bởi một *P. annandalei*,  $d$  là nồng độ tảo ( $\mu\text{g C/L}$ ),  $K_m$  là hằng số nửa bão hòa.

Số hạt phân thải ra đặc trưng là tổng thể tích các hạt phân được thải ra bởi mỗi con trong một ngày. Thể tích hạt phân được tính dựa vào chiều dài và chiều rộng (hạt phân hình trụ tròn, nên áp dụng công thức tính thể tích hình trụ tròn) [218]. Thể tích trung bình từ mỗi nghiệm thức của giới tính  $\times$  nhiệt độ  $\times$  loài tảo (Bảng 3.4) được sử dụng để tính toán SPP. Do kích cỡ con cái bằng 1,23 lần kích thước con đực và hiệu chỉnh sự khác nhau giữa 2 giới tính bằng cách nhân SPP của con đực với hằng số 1,23.

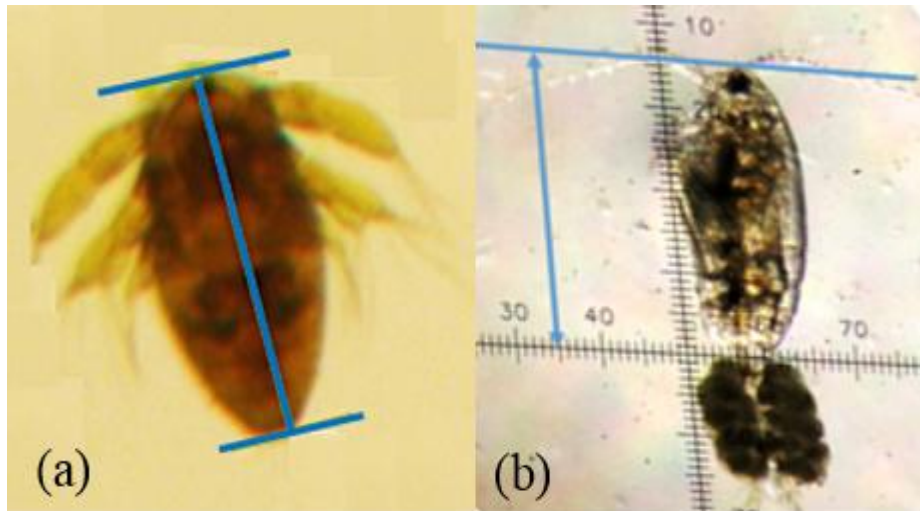
### **B: Kích thước con trưởng thành**

Kích thước con trưởng thành được đo ngẫu nhiên cho với 100 con đực, 100 con cái và 100 ấu trùng (Naupli 1) ở mỗi nghiệm thức. Các mẫu được lọc trên mắt lưới 25  $\mu\text{m}$ . Một mẫu lọc được copepod và chuyển vào 1 đĩa petri và cố định bằng lugol (5%). Kích thước được đo bằng kính hiển vi soi nổi (Olympus SZ61) có gắn thước đo trên thị kính: Kích thước của con non và con trưởng thành được tính từ đỉnh đầu đến hết phần đầu ngực. Kích thước của ấu trùng được tính từ phần đầu cho đến phần gai đuôi.

Sau đó kích thước trên được quy đổi ra kích thước thực tế (với độ chính xác là 10  $\mu\text{m}$ ):

$$\text{Kích thước copepod } (\mu\text{m}) = \frac{n \times 1000}{TC} \quad (4)$$

Trong đó:  $n$  là số vạch ứng với kích thước *P. annandalei* trên kính hiển vi soi nổi ở cùng vật kính;  $TC$  là số vạch ứng với thước chuẩn (1000  $\mu\text{m}$ ) trên kính hiển vi soi nổi ở cùng vật kính:  $1000 \mu\text{m} = TC$



Hình 2. 18. Phương pháp đo kích thước ấu trùng (a), con non và trưởng thành (b)

### C: Phần trăm giai đoạn phát triển

Trước khi thu mẫu, sục khí được tăng mạnh lên để xáo trộn trong 1 phút để đảm bảo có sự phân bố đều copepod trong bình. Để chỉ ra sự phát triển của quần thể, thu được 1 mẫu (300 ml/mẫu) trong 1 bình (5 L nước copepod) của các nghiệm thức, thu được 1 lần/ngày vào cùng thời điểm (8 giờ). Giai đoạn các giai đoạn của ấu trùng, con non và con trưởng thành trong mẫu được xác định cho tới khi toàn bộ cá thể trong quần thể đạt con trưởng thành hoàn toàn.

Các mẫu được lọc trên mắt lưới 25  $\mu\text{m}$ . Một mẫu lọc được copepod và chuyển vào 1 đĩa petri và cố định bằng lugol (5%). Một mẫu được xác định số lượng của giai đoạn và thành phần các giai đoạn phát triển bằng kính hiển vi soi nổi (Olympus SZ61) dựa theo Golez và cộng sự (2004) [169]. Tổng số copepod bằng tất cả số lượng của giai đoạn trong mỗi mẫu.

$$\text{Phần trăm giai đoạn (\%)} = \frac{\text{số lượng của giai đoạn}}{\text{Tổng số copepod}} \times 100 \quad (5)$$

### D: Tốc độ sinh trưởng chiều dài đặc trưng - $\text{SGR}_L$

Tốc độ sinh trưởng đặc trưng ( $\text{SGR}_L$ ) theo chiều dài được tính theo công thức:

$$\text{SGR (\%/ngày)} = \frac{\text{Ln}L_2 - \text{Ln}L_1}{t_2 - t_1} \times 100 \quad (6)$$

Trong đó  $L_1$  là kích thước trung bình của ấu trùng giai đoạn N1,  $L_2$  là kích thước trung bình con trưởng thành đực và cái (**B**: phương trình 4);  $t_1$  là ngày đầu tiên nuôi từ giai đoạn ấu trùng ( $t_1 = 1$ ),  $t_2$  là thời gian đạt trưởng thành.

#### **E: Tỷ lệ sống copepod**

Tỷ lệ sống đến giai đoạn trưởng thành được xác định số lượng con trưởng thành sống khi quần thể đạt trưởng hoàn toàn, chia cho số lượng ấu trùng nuôi ban đầu. Các mẫu được lọc trên mắt lưới 25  $\mu\text{m}$ . Một mẫu lọc được con trưởng thành và chuyển vào 1 đĩa petri và cố định bằng lugol (5%). Các mẫu được xác định số lượng của con trưởng thành bằng kính hiển vi soi nổi.

$$\text{Tỷ lệ sống (\%)} = \frac{\text{số lượng con trưởng thành}}{\text{Số lượng ấu trùng ban đầu}} \times 100 \quad (7)$$

#### **F: Sức sinh sản/lần đẻ**

Sức sinh sản/lần đẻ được định nghĩa là số lượng trứng trong 2 bọc trứng/con cái. Con cái mang trứng được đo ngẫu nhiên cho với 50 - 100 con cái/đơn vị thí nghiệm (1 bình thủy tinh). Một mẫu lọc được con cái trưởng thành và chuyển vào 1 đĩa petri và cố định bằng formol (5%). 5 lần lặp cho mỗi nghiệm thức. Hai bọc trứng/con cái được rạch mở ra bằng kim dưới kính hiển vi soi nổi và đếm số lượng trứng trong 2 bọc trứng.

$$\text{Sức sinh sản (Số trứng/cái)} = \frac{\text{số lượng trứng}}{1 \text{ con cái}} \quad (8)$$

#### **G: Tỷ lệ nở thành công**

Tỷ lệ nở thành công được xác định là số 1 cho con cái có trứng nở ra ấu trùng và số 0 cho con cái không có trứng nào nở ra ấu trùng. 12 con cái mang 2 bọc trứng được bố trí vào mỗi đơn vị thí nghiệm ứng với mỗi vĩ nuôi (12 giếng): 1 con cái/giếng được chứa 3 ml nước sạch nuôi và tảo cho ăn tương ứng. Các vĩ nuôi này được đặt trong bể ổn nhiệt tương ứng với nhiệt độ thí nghiệm. 5 lần lặp cho mỗi nghiệm thức. Sau 30 giờ, các con cái (số 1) được kiểm tra sự nở dưới kính hiển vi soi nổi.

$$\text{Tỷ lệ nở thành công (\%)} = \frac{\text{số lượng con cái}}{12} \times 100 \quad (9)$$

### H: Số ấu trùng/Cái

Số ấu trùng nở ra từ mỗi con cái được tính bằng tổng số ấu trùng chia cho số lượng 10 con cái (2 bọc trứng/con cái) ở mỗi đơn vị thí nghiệm (mỗi lọ thủy tinh 125 ml nước sạch). 5 lần lặp cho mỗi nghiệm thức. Sau 30 giờ, mỗi mẫu lọc được các ấu trùng trên mắt lưới 25  $\mu\text{m}$  và chuyển vào mỗi đĩa petri và cố định bằng lugol (5%) trước khi đếm số lượng ấu trùng dưới kính hiển vi soi nổi.

$$\text{Số ấu trùng/Cái} = \frac{\text{Số lượng ấu trùng}}{10} \quad (10)$$

### I: Tổng số ấu trùng/Cái trong 10 ngày

Các con trưởng thành và ấu trùng được lọc thu vào 1 lần/ngày vào lúc 8 giờ. Các con trưởng thành thu được trên mắt lưới 200  $\mu\text{m}$ . Các con trưởng thành chết được loại bỏ và chuyển con trưởng thành sống sang mỗi bình thủy tinh (1 L) có nước nuôi mới tương ứng với các nhiệt độ và độ mặn 20‰. Các ấu trùng thu được trên mắt lưới 25  $\mu\text{m}$  và chuyển vào mỗi đĩa petri, cố định bằng lugol (5%). Mỗi mẫu được xác định số lượng ấu trùng/Cái bằng kính hiển vi soi nổi. Tổng số ấu trùng/Cái được tính toán từ bởi mỗi đơn vị thí nghiệm trong 10 ngày.

$$\text{Tổng số ấu trùng/Cái} = \frac{\text{Số lượng ấu trùng}}{\text{Số lượng con cái sống}} \quad (11)$$

### J: Sức sinh sản đặc trưng

Sinh khối của con cái *P. annandalei* được tính toán dựa vào công thức của Rayner và cộng sự (2015) [14].

$$C = 2,19 \times 10^{-9} \times L^{3,136} \quad (12)$$

Trong đó C là sinh khối tính trên đơn vị cacbon ( $\mu\text{g C}$ ) và L là chiều dài con cái ( $\mu\text{m}$ ) (10 – 34 con cái phụ thuộc vào số lượng trong mẫu thu) (B - Kích thước).

Để xác định sức sinh sản, 9 - 13 con cái/bình được rạch mở ra bằng kim dưới kính hiển vi soi nổi và đếm số lượng trứng trong 2 bọc trứng/cái (F - Sức sinh sản).

Sức sinh sản đặc trưng ( $\mu\text{g C}$  trứng/ $\mu\text{g C}$  con cái) được chỉ ra bằng cách tính dựa vào khối lượng mỗi trứng là 0,067  $\mu\text{g C}$ /trứng *P. annandalei* theo Grønning và cộng sự (2019) [167] và sinh khối của con cái (phương trình 12).

$$\text{Sức sinh sản đặc trưng} = \frac{\text{Số lượng trứng} \times 0,067}{\text{Sinh khối của con cái}} \quad (13)$$



### **K: Tuổi thọ của con đực và con cái**

Con đực và con cái nuôi riêng và thu được 1 lần/ngày vào lúc 9 giờ, con trưởng thành chết được loại bỏ và chuyển con đực và con cái sống sang mỗi bình thủy tinh riêng có nước nuôi mới tương ứng với 3 nhiệt độ và độ mặn 20‰.

Copepod được xác định hàng ngày cho tới khi chết hoàn toàn copepod để xác định tuổi thọ của con đực và con cái ở các nhiệt độ thí nghiệm 4.3.

### **L: Tổng số ấu trùng/Quần thể trong 10 ngày**

Các mẫu thu được các ấu trùng/bình thủy tinh (1 lần/ngày vào lúc 8 giờ) và mỗi mẫu lọc được các ấu trùng với mắt lưới 25  $\mu\text{m}$  và chuyển vào mỗi đĩa petri và cố định bằng lugol (5%) trước khi đếm số lượng ấu trùng dưới kính hiển vi soi nổi. Tổng số ấu trùng bằng số lượng ấu trùng/ngày trong 10 ngày.

### **M: Mật độ copepod và mật độ copepod của các giai đoạn**

Thu mẫu xác định mật độ copepod (con/L) và mật độ copepod các giai đoạn (con/L) phát triển trong 6 bể, 1 lần/2 ngày (ngày 2, 4, 6,..., 30) vào lúc 8 giờ. Đậy kín bể bằng bạt đen, tăng sục khí mạnh trong 1 phút để đảm bảo copepod phân bố đều trong bể. Thu được 3 mẫu nước/bể, 1 mẫu là 1 L nước. Mỗi mẫu lọc được copepod với mắt lưới 25  $\mu\text{m}$ . Copepod được đưa vào mỗi đĩa petri và cố định bằng lugol (5%). Mẫu được xác định các giai đoạn phát triển được phân biệt thông qua các đặc điểm trên cơ thể và sự hình thành các phần phụ, thay đổi về hình thái cơ thể (ấu trùng, con non, con trưởng thành) dựa theo mô tả của Golez và cộng sự (2004).

Đếm mật độ copepod = mật độ ấu trùng + mật độ con non + mật độ con trưởng thành.

Tổng số mật độ mỗi giai đoạn của 3 mẫu cộng lại.

$$\text{Mật độ mỗi giai đoạn trung bình} = \frac{\text{Tổng số mật độ mỗi giai đoạn}}{3} \quad (14)$$

### **N: Tốc độ tăng trưởng**

Tốc độ tăng trưởng của quần thể (r) được tính theo công thức của Krebs (1985) được sử dụng bởi Diana Chilmawatia và Sumintoa (2016)[228]:

$$r = \frac{\ln N_t - \ln N_0}{t} \quad (15)$$

Trong đó,  $t$  là thời gian (ngày) mà quần thể đạt mật độ copepod tối đa  $N_t$ ;  $N_0$  mật độ copepod ban đầu của quần thể.

#### **O: Số lượng copepod và tổng số copepod**

Copepod được nuôi sinh khối (các bể - 200 L) như giống thí nghiệm 7.1. Đậy kín bể bằng bạt đen, tăng sục khí mạnh (1 phút) để đảm bảo copepod phân bố đều trong bể. Ngày thứ 16 (mẫu đầu = ngày 1), các mẫu thu lọc với 5 tỷ lệ thu hoạch (10% - 50%) trong các bể vào lúc 8 giờ. Tiếp theo, các mẫu thu lọc (1 lần/3 ngày: ngày 4, 7, 10, ..., 34) với 5 tỷ lệ thu hoạch. Nước mẫu được lọc được các tỷ lệ thu hoạch với mắt lưới 25  $\mu\text{m}$ . Copepod mẫu được đưa vào mỗi đĩa petri và cố định bằng lugol (5%). Số lượng copepod được đếm dưới kính hiển vi soi nổi. Tổng số copepod của 12 lần thu cộng lại.

#### **P: Số lượng ấu trùng và tổng số ấu trùng**

Copepod được nuôi sinh khối (các bể - 100 L), mật độ con trưởng thành 100/L ban đầu. Đậy kín bể bằng bạt đen, tăng sục khí mạnh (1 phút) để đảm bảo copepod phân bố đều trong bể. Các mẫu thu lọc 1 lần/2 ngày (ngày 2, 4, 16,...,30) với 5 tỷ lệ thu hoạch (25%, 50%, 75%, 100%) vào lúc 8 giờ. Con trưởng thành và con non được lọc trả lại bể cũ bằng lọc có kích thước mắt lưới 100  $\mu\text{m}$ . Toàn bộ ấu trùng/bể được thu với mắt lưới 25  $\mu\text{m}$ . Toàn bộ ấu trùng/bể được cô lại đưa vào thể tích nước là 1 L. Thu 3 mẫu (10 mL/mẫu) để đếm số lượng ấu trùng. Các ấu trùng mẫu được đưa vào mỗi đĩa petri và cố định bằng lugol (5%). Số lượng ấu trùng được đếm dưới kính hiển vi soi nổi. Tổng số ấu trùng của 3 mẫu cộng lại sử dụng để quy đổi ra số lượng ấu trùng trung bình:

$$\text{Số lượng ấu trùng trung bình} = \frac{\text{Tổng số ấu trùng}}{3} \times 100 \text{ (mL)} \quad (16)$$

Tổng số ấu trùng của các lần thu cộng lại (5 lần thu đầu, 5 lần thu thứ 2, 5 lần thu thứ 3, tổng 15 lần thu).

## **2.6. Phương pháp phân tích và xử lý số liệu**

Trong thí nghiệm 1: Phân tích phương sai đa yếu tố (Three-way ANOVAs) được sử dụng để cho các ảnh hưởng của nhiệt độ, nồng độ tảo và sự tương tác của chúng lên PP và SPP của con đực và con cái. Những mô hình này, nồng độ tảo, nhiệt độ và giới tính được cho là yếu tố cố định. Tất cả các phân tích được chạy trên phần mềm Statistica v.13.1 (StatSoft Inc., Tulsa, OK, USA).

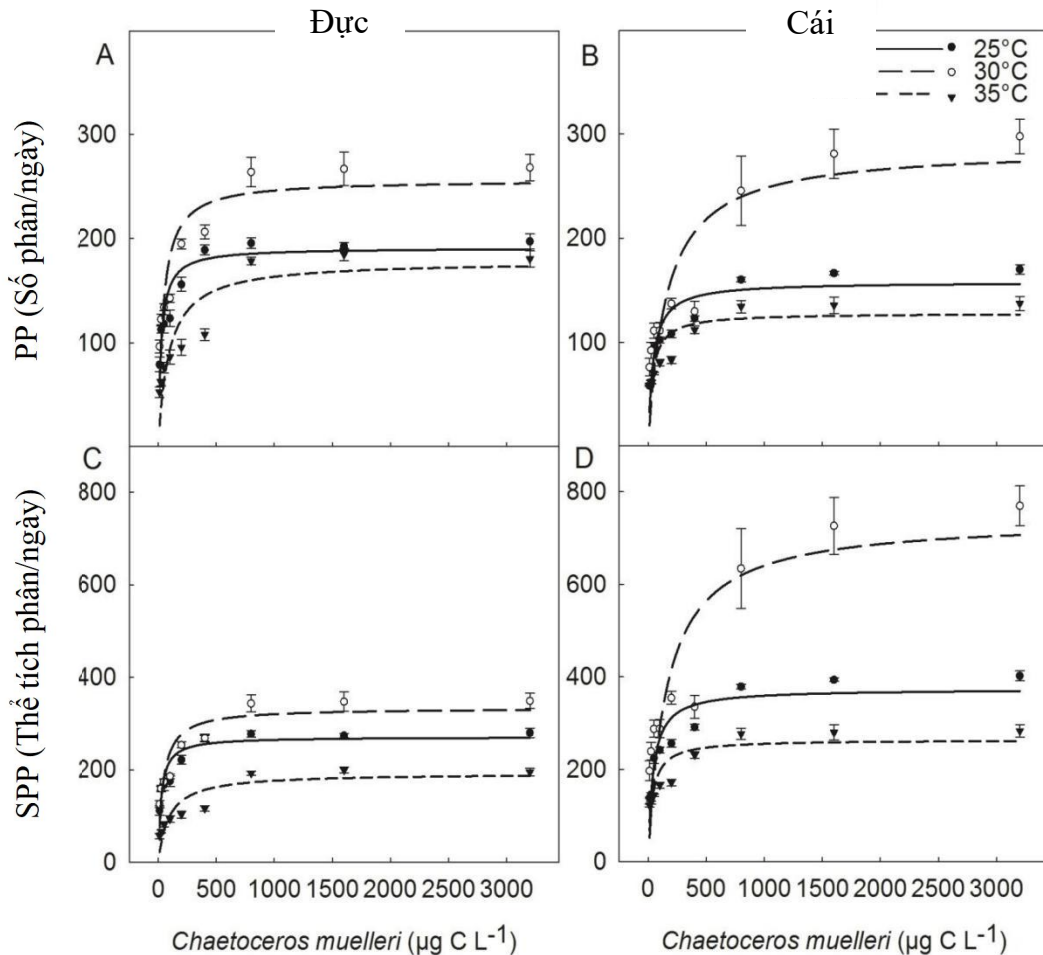
Trong thí nghiệm 3: Các phân tích khác được xem xét nếu  $P < 0,05$ . Tất cả các phân tích thống kê được thực hiện trong phần mềm SAS 9.4 (SAS Institute Inc., Cary, NC, United States). Số liệu được trình bày trong hình là Means + SEs.

Trong các thí nghiệm còn lại (thí nghiệm 2, 4, 5, 6, 7): Số liệu về kích thước các giai đoạn phát triển của *P.annandalei* được trình bày dưới dạng giá trị trung bình  $\pm$  độ lệch chuẩn (Mean  $\pm$  SD). Các số liệu về tỷ lệ sống, sức sinh sản, tỷ lệ nở, số ấu trùng nở ra và số ấu trùng sinh ra, tuổi thọ được trình bày dưới dạng giá trị trung bình  $\pm$  sai số chuẩn (Mean  $\pm$  SE). Tất cả các số liệu được xử lý bằng phần mềm Microsoft excel 2010 và phần mềm SPSS version 22 với phân tích phương sai một yếu tố, đa yếu tố (Phân tích phương sai đa yếu tố (Two-way ANOVAs)) và so sánh Duncan với mức ý nghĩa  $P < 0,05$ .

### CHƯƠNG 3 - KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

#### 3.1. Ảnh hưởng của nồng độ tảo (*C. muelleri*, *I. galbana*, *T. chuii*) và nhiệt độ (25°C, 30°C và 35°C) lên tốc độ lọc của *P. annandalei* trưởng thành.

##### 3.1.1. Loài tảo *Chaetoceros muelleri*



Hình 3.1. Ảnh hưởng của nồng độ tảo *Chaetoceros muelleri* (µg C/L), nhiệt độ và giới tính lên PP và SPP của *P. annandalei*. Giá trị biểu diễn: Trung bình  $\pm$  sai số chuẩn (TB  $\pm$  SE). Các chữ cái khác nhau a, b, c thể hiện sai khác có ý nghĩa thống kê ( $P < 0,05$ ) giữa các nhiệt độ 25°C, 30°C, 35°C.

Ở cả con đực và con cái, PP của *P. annandalei* được cho ăn bằng tảo *I. galbana* thể hiện đường cong tiêu biểu về phản ứng chức năng với nồng độ tảo (Hình 3.2 và Bảng 3.2). PP và SPP của con đực khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở 3 nhiệt độ, nhưng con cái thể hiện sự tăng PP, PP cực đại và SPP, SPP cực đại khi nhiệt độ tăng từ 25°C đến 30°C. PP, PP cực đại và SPP, SPP cực đại thấp hơn ở nhiệt độ 35°C so với ở 2 nhiệt độ 25°C và 30°C (Nhiệt độ  $\times$  Giới tính, Bảng 3.2 và 3.5). PP của con đực cao hơn 27% so với con cái, nhưng SPP của con cái cao hơn khoảng 50% so với SPP của con đực (ảnh hưởng chính bởi giới tính, Bảng 3.2) do sự khác biệt về kích thước hạt phân giữa con cái

và con đực (Bảng 2.1, phần phương pháp nghiên cứu). PP cực đại và SPP cực đại đạt từ nồng độ tảo là 400  $\mu\text{g C/L}$  (15.500 tb/mL) cho loài tảo *I. galbana* ở tất cả nhiệt độ nuôi.

Số phân thải ra - PP tăng cùng với sự tăng nồng độ tảo *C. muelleri* cho tới khi đạt PP cực đại (Hình 3.1 a, b), nhưng sự tăng PP phụ thuộc vào nhiệt độ (Bảng 3.1). PP và PP cực đại cao nhất ở nhiệt độ 30°C, thấp hơn ở 25°C và thấp nhất ở 35°C (Thức ăn  $\times$  Nhiệt độ, Bảng 3.1 và 3.5, Hình 3.1 a, b); xu hướng của PP như nhau ở tất cả các nồng độ tảo *C. muelleri*. Sự chênh lệch của PP lớn nhất ở nồng độ tảo *C. muelleri* từ 800 đến 3.200  $\mu\text{g C/L}$  (mật độ tảo: 87.000 - 348.000 tb/mL) (Thức ăn  $\times$  Nhiệt độ), đặc biệt ở con cái (Thức ăn  $\times$  Nhiệt độ  $\times$  Giới tính). Nhìn chung, con đực thải ra nhiều phân hơn con cái là 17% (151 hạt phân từ mỗi con đực và 126 hạt phân từ mỗi con cái) và xu hướng này thể hiện rõ nhất ở nhiệt độ 25°C (Nhiệt độ  $\times$  Giới tính).

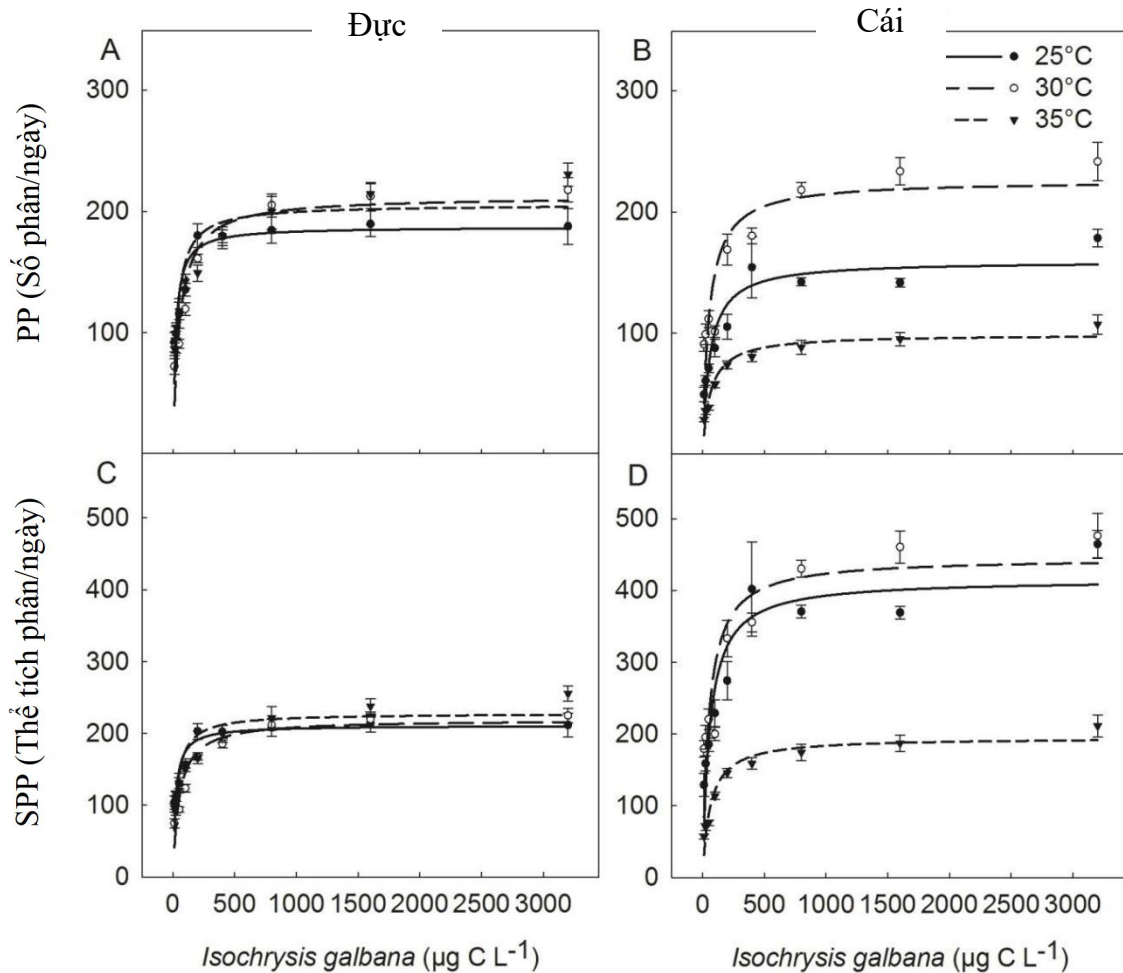
Bảng 3.1. Phân tích phương sai đa yếu tố (Three-way ANOVAs), ảnh hưởng của nồng độ tảo *Chaetoceros muelleri* và nhiệt độ lên PP và SPP của *P. annandalei*. Giá trị *P* in đậm thể hiện khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $P < 0,05$ ).

| <i>Chaetoceros muelleri</i>                  | Ảnh hưởng lên PP |          |                  | Ảnh hưởng lên SPP |          |                  |
|----------------------------------------------|------------------|----------|------------------|-------------------|----------|------------------|
|                                              | <i>df1, df2</i>  | <i>F</i> | <i>P</i>         | <i>df1, df2</i>   | <i>F</i> | <i>P</i>         |
| Thức ăn                                      | 8. 216           | 227,59   | <b>&lt;0,001</b> | 8. 216            | 161,18   | <b>&lt;0,001</b> |
| Nhiệt độ                                     | 2. 216           | 310,76   | <b>&lt;0,001</b> | 2. 216            | 387,30   | <b>&lt;0,001</b> |
| Giới tính                                    | 1. 216           | 115,98   | <b>&lt;0,001</b> | 1. 216            | 430,55   | <b>&lt;0,001</b> |
| Thức ăn $\times$ Giới tính                   | 8. 216           | 2,88     | <b>0,0046</b>    | 8. 216            | 17,27    | <b>&lt;0,001</b> |
| Thức ăn $\times$ Nhiệt độ                    | 16. 216          | 11,62    | <b>&lt;0,001</b> | 16. 216           | 14,68    | <b>&lt;0,001</b> |
| Giới tính $\times$ Nhiệt độ                  | 2. 216           | 5,45     | <b>0,005</b>     | 2. 216            | 54,36    | <b>&lt;0,001</b> |
| Thức ăn $\times$ Nhiệt độ $\times$ Giới tính | 16. 216          | 4,65     | <b>&lt;0,001</b> | 16. 216           | 7,50     | <b>&lt;0,001</b> |

SPP tương tự như PP, ngoại trừ sự ảnh hưởng chính của giới tính và sự tương tác của giới tính với nồng độ tảo và nhiệt độ (Bảng 3.1, 3.5, Hình 3.1 c, d). Kích thước phân của con cái lớn gấp 2 lần kích thước phân của con đực. Do vậy, con đực có SPP thấp hơn SPP con cái là 35%. Sự chênh lệch về SPP giữa 2 giới tính lớn nhất ở 30°C. Sự tăng SPP ở nhiệt độ 30°C thể hiện rõ ở nồng độ tảo từ 400 đến 3.200  $\mu\text{g C/L}$  (43.500 - 348.000 tb/mL) đối với con đực và từ 800 đến 3.200  $\mu\text{g C/L}$  (87.000 - 348.000 tb/mL) đối với con cái và xu hướng này rõ ràng hơn ở con cái (Thức ăn  $\times$  Nhiệt độ  $\times$  Giới tính). Như vậy, PP cực đại và SPP cực đại của con đực đạt ở nồng độ tảo từ 400  $\mu\text{g C/L}$  (43.500

tb/mL) cho loài tảo *C. muelleri* ở tất cả nhiệt độ nuôi. Trong khi với con cái ăn tảo *C. muelleri* từ 800  $\mu\text{g C/L}$  ( 87.000 tb/mL).

### 3.1.2. Loài tảo *Isochrysis galbana*



Hình 3.2. Ảnh hưởng của nồng độ tảo *Isochrysis galbana* ( $\mu\text{g C/L}$ ), nhiệt độ và giới tính lên PP và SPP của *P. annandalei*. Giá trị biểu diễn: Trung bình  $\pm$  sai số chuẩn ( $TB \pm SE$ ). Các chữ cái khác nhau a, b, c thể hiện sai khác có ý nghĩa thống kê ( $P < 0,05$ ) giữa các nhiệt độ 25°C, 30°C, 35°C.

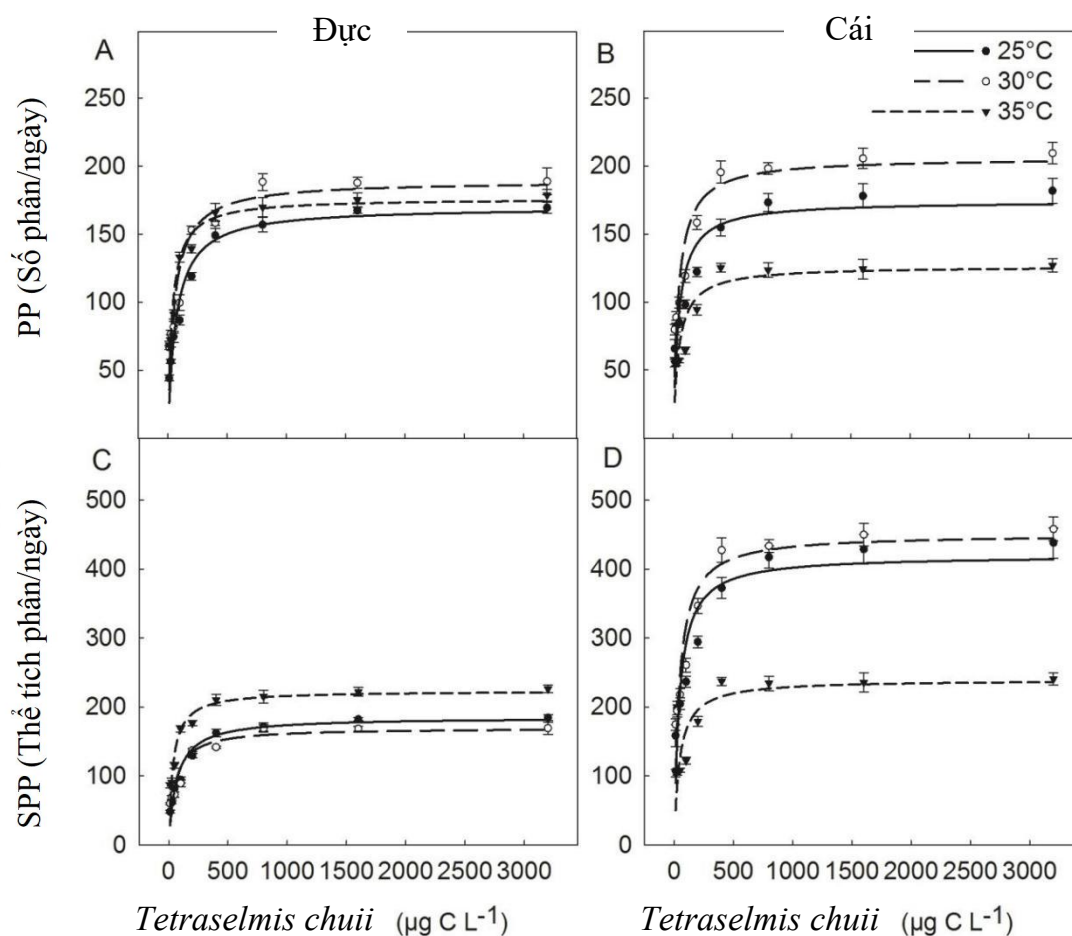
Ở cả con đực và con cái, PP của *P. annandalei* được cho ăn bằng tảo *I. galbana* thể hiện đường cong tiêu biểu về phản ứng chức năng với nồng độ tảo (Hình 3.2 và Bảng 3.2). PP và SPP của con đực khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở 3 nhiệt độ, nhưng con cái thể hiện sự tăng PP, PP cực đại và SPP, SPP cực đại khi nhiệt độ tăng từ 25°C đến 30°C. PP, PP cực đại và SPP, SPP cực đại thấp hơn ở nhiệt độ 35°C so với ở 2 nhiệt độ 25°C và 30°C (Nhiệt độ  $\times$  Giới tính, Bảng 3.2 và 3.5). PP của con đực cao hơn 27%

so với con cái, nhưng SPP của con cái cao hơn khoảng 50% so với SPP của con đực (ảnh hưởng chính bởi giới tính, Bảng 3.2) do sự khác biệt về kích thước hạt phân giữa con cái và con đực (Bảng 2.1, phần phương pháp nghiên cứu). PP cực đại và SPP cực đại đạt từ nồng độ tảo là 400  $\mu\text{g C/L}$  (15.500 tb/mL) cho loài tảo *I. galbana* ở tất cả nhiệt độ nuôi.

Bảng 3.2. Phân tích phương sai đa yếu tố (Three-way ANOVAs), ảnh hưởng của nồng độ tảo *Isochrysis galbana* và nhiệt độ lên PP và SPP của *P. annandalei*. Giá trị *P* in đậm thể hiện khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $P < 0,05$ ).

| <i>Isochrysis galbana</i>                    | Ảnh hưởng lên PP |          |                  | Ảnh hưởng lên SPP |          |                  |
|----------------------------------------------|------------------|----------|------------------|-------------------|----------|------------------|
|                                              | <i>df1, df2</i>  | <i>F</i> | <i>P</i>         | <i>df1, df2</i>   | <i>F</i> | <i>P</i>         |
| Thức ăn                                      | 8.216            | 180,59   | <b>&lt;0,001</b> | 8.216             | 144,94   | <b>&lt;0,001</b> |
| Nhiệt độ                                     | 2.216            | 112,46   | <b>&lt;0,001</b> | 2.216             | 158,96   | <b>&lt;0,001</b> |
| Giới tính                                    | 1.216            | 305,76   | <b>&lt;0,001</b> | 1.216             | 358,07   | <b>&lt;0,001</b> |
| Thức ăn $\times$ Giới tính                   | 8.216            | 1,42     | 0,19             | 8.216             | 13,23    | <b>&lt;0,001</b> |
| Thức ăn $\times$ Nhiệt độ                    | 16.216           | 4,69     | <b>&lt;0,001</b> | 16.216            | 4,15     | <b>&lt;0,001</b> |
| Giới tính $\times$ Nhiệt độ                  | 2.216            | 161,50   | <b>&lt;0,001</b> | 2.216             | 224,27   | <b>&lt;0,001</b> |
| Thức ăn $\times$ Nhiệt độ $\times$ Giới tính | 16.216           | 2,86     | <b>&lt;0,001</b> | 16.216            | 4,62     | <b>&lt;0,001</b> |

### 3.1.3. Loài tảo *Tetraselmis chuii*



Hình 3.3. Ảnh hưởng của nồng độ tảo *Tetraselmis chuii* ( $\mu\text{g C/L}$ ), nhiệt độ và giới tính lên PP và SPP của *P. annandalei*. Giá trị biểu diễn: Trung bình  $\pm$  sai số chuẩn ( $TB \pm SE$ ). Các chữ cái khác nhau a, b, c thể hiện sai khác có ý nghĩa thống kê ( $P < 0,05$ ) giữa các nhiệt độ 25°C, 30°C, 35°C.

Xu hướng của PP và SPP của con cái trưởng thành được cho ăn tảo *T. chuii* tương tự như PP và SPP ở những con cái được cho ăn tảo *I. galbana*. PP, PP cực đại và SPP, SPP cực đại cao nhất ở 30°C, thấp hơn ở 25°C và thấp nhất ở nhiệt độ 35°C (Hình 3.3, Bảng 3.3 và 3.5). Tuy nhiên, con đực được cho ăn tảo *T. chuii* có PP tăng khi nhiệt độ tăng từ 25°C đến 30°C và giữ nguyên mức không thay đổi khi nhiệt độ tăng tới 35°C, trong khi SPP của con đực không khác nhau giữa 25°C và 30°C, nhưng tăng cao hơn ở 35°C. PP cực đại và SPP cực đại từ ở nồng độ tảo từ 400  $\mu\text{g C/L}$  (4.500 tb/mL) cho loài tảo *T. chuii* ở tất cả nhiệt độ nuôi.



Bảng 3.3. Phân tích phương sai đa yếu tố (Three-way ANOVAs), ảnh hưởng của nồng độ tảo *Tetraselmis chuii* và nhiệt độ lên PP và SPP của *P. annandalei*. Giá trị *P* in đậm thể hiện khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $P < 0,05$ ).

| <i>Tetraselmis chuii</i>       | Ảnh hưởng lên PP         |          |                  | Ảnh hưởng lên SPP        |          |                  |
|--------------------------------|--------------------------|----------|------------------|--------------------------|----------|------------------|
|                                | <i>df</i> 1, <i>df</i> 2 | <i>F</i> | <i>P</i>         | <i>df</i> 1, <i>df</i> 2 | <i>F</i> | <i>P</i>         |
| Thức ăn                        | 8.216                    | 513,80   | <b>&lt;0,001</b> | 8.216                    | 386,03   | <b>&lt;0,001</b> |
| Nhiệt độ                       | 2.216                    | 171,35   | <b>&lt;0,001</b> | 2.216                    | 169,84   | <b>&lt;0,001</b> |
| Giới tính                      | 1.216                    | 6,72     | <b>0,010</b>     | 1.216                    | 276,9    | <b>&lt;0,001</b> |
| Thức ăn × Giới tính            | 8.216                    | 3,34     | <b>0,0013</b>    | 8.216                    | 37,40    | <b>&lt;0,001</b> |
| Thức ăn × Nhiệt độ             | 16.216                   | 5,68     | <b>&lt;0,001</b> | 16.216                   | 5,03     | <b>&lt;0,001</b> |
| Giới tính × Nhiệt độ           | 2.216                    | 188,07   | <b>&lt;0,001</b> | 2.216                    | 639,20   | <b>&lt;0,001</b> |
| Thức ăn × Nhiệt độ × Giới tính | 16.216                   | 2,79     | <b>&lt;0,001</b> | 16.216                   | 7,78     | <b>&lt;0,001</b> |

Bảng 3.4. Thể tích hạt phân của *P. annandalei* theo giới tính, nhiệt độ và loài tảo

| Loài tảo           | Giới tính | Nhiệt độ (°C) | Thể tích (x10 <sup>5</sup> μm <sup>3</sup> ) | SE   |
|--------------------|-----------|---------------|----------------------------------------------|------|
| <i>C. muelleri</i> | Đực       | 25            | 1,15                                         | 0,05 |
|                    |           | 30            | 1,06                                         | 0,08 |
|                    |           | 35            | 0,88                                         | 0,06 |
|                    | Cái       | 25            | 2,37                                         | 0,13 |
|                    |           | 30            | 2,58                                         | 0,10 |
|                    |           | 35            | 2,06                                         | 0,10 |
| <i>I. gallbana</i> | Đực       | 25            | 0,92                                         | 0,05 |
|                    |           | 30            | 0,84                                         | 0,06 |
|                    |           | 35            | 0,90                                         | 0,07 |
|                    | Cái       | 25            | 2,60                                         | 0,12 |
|                    |           | 30            | 1,97                                         | 0,09 |
|                    |           | 35            | 1,97                                         | 0,08 |
| <i>T. chuii</i>    | Đực       | 25            | 0,89                                         | 0,05 |
|                    |           | 30            | 0,73                                         | 0,05 |
|                    |           | 35            | 1,03                                         | 0,07 |
|                    | Cái       | 25            | 2,41                                         | 0,13 |
|                    |           | 30            | 2,19                                         | 0,10 |
|                    |           | 35            | 1,90                                         | 0,12 |

Bảng 3.5. Tổng hợp các mô hình khớp với số liệu về PP và SPP

| Loài tảo          | Giới tính | Nhiệt độ (°C) | PP <sub>max</sub><br>TB (SE) | K <sub>m</sub><br>TB (SE) | R <sup>2</sup> | SPP <sub>max</sub><br>TB (SE) | K <sub>m</sub><br>TB (SE) | R <sup>2</sup> |
|-------------------|-----------|---------------|------------------------------|---------------------------|----------------|-------------------------------|---------------------------|----------------|
| <i>C.muelleri</i> | Đực       | 25            | 1,91e+2(0,09e+2)             | 0,24e+2(0,06e+2)          | 0,87           | 2,71e+2(0,12e+2)              | 0,24e+2(0,06e+2)          | 0,87           |
|                   |           | 30            | 2,56e+2(0,16e+2)             | 0,41e+2(0,12e+2)          | 0,85           | 3,33e+2(0,21e+2)              | 0,41e+2(0,12e+2)          | 0,85           |
|                   |           | 35            | 1,78e+2(0,17e+2)             | 0,92e+2(0,37e+2)          | 0,80           | 1,92e+2(0,18e+2)              | 0,92e+2(0,37e+2)          | 0,80           |
|                   | Cái       | 25            | 1,58e+2(0,10e+2)             | 0,40e+2(0,12e+2)          | 0,86           | 3,73e+2(0,23e+2)              | 0,40e+2(0,12e+2)          | 0,86           |
|                   |           | 30            | 2,87e+2(0,37e+2)             | 1,57e+2(0,77e+2)          | 0,74           | 7,41e+2(0,95e+2)              | 1,57e+2(0,77e+2)          | 0,74           |
|                   |           | 35            | 1,28e+2(0,09e+2)             | 0,35e+2(0,13e+2)          | 0,76           | 2,63e+2(0,19e+2)              | 0,35e+2(0,13e+2)          | 0,76           |
| <i>I. galbana</i> | Đực       | 25            | 1,87e+2(0,07e+2)             | 0,21e+2(0,04e+2)          | 0,90           | 2,11e+2(0,08e+2)              | 0,21e+2(0,04e+2)          | 0,90           |
|                   |           | 30            | 2,12e+2(0,11e+2)             | 0,52e+2(0,12e+2)          | 0,91           | 2,19e+2(0,11e+2)              | 0,52e+2(0,12e+2)          | 0,91           |
|                   |           | 35            | 2,06e+2(0,11e+2)             | 0,30e+2(0,09e+2)          | 0,85           | 2,28e+2(0,12e+2)              | 0,30e+2(0,09e+2)          | 0,85           |
|                   | Cái       | 25            | 1,60e+2(0,10e+2)             | 0,58e+2(0,17e+2)          | 0,88           | 4,15e+2(0,27e+2)              | 0,58e+2(0,17e+2)          | 0,88           |
|                   |           | 30            | 2,26e+2(0,18e+2)             | 0,52e+2(0,19e+2)          | 0,79           | 4,45e+2(0,35e+2)              | 0,52e+2(0,19e+2)          | 0,79           |
|                   |           | 35            | 0,99e+2(0,05e+2)             | 0,62e+2(0,13e+2)          | 0,94           | 1,95e+2(0,09e+2)              | 0,62e+2(0,13e+2)          | 0,94           |
| <i>T. chuii</i>   | Đực       | 25            | 1,70e+2(0,07e+2)             | 0,66e+2(0,11e+2)          | 0,96           | 1,85e+2(0,07e+2)              | 0,66e+2(0,11e+2)          | 0,96           |
|                   |           | 30            | 1,89e+2(0,10e+2)             | 0,52e+2(0,13e+2)          | 0,90           | 1,70e+2(0,09e+2)              | 0,52e+2(0,13e+2)          | 0,90           |
|                   |           | 35            | 1,76e+2(0,06e+2)             | 0,35e+2(0,06e+2)          | 0,95           | 2,24e+2(0,08e+2)              | 0,35e+2(0,06e+2)          | 0,95           |
|                   | Cái       | 25            | 1,74e+2(0,11e+2)             | 0,44e+2(0,13e+2)          | 0,86           | 4,20e+2(0,25e+2)              | 0,44e+2(0,13e+2)          | 0,86           |
|                   |           | 30            | 2,06e+2(0,10e+2)             | 0,42e+2(0,11e+2)          | 0,90           | 4,51e+2(0,23e+2)              | 0,42e+2(0,11e+2)          | 0,90           |
|                   |           | 35            | 1,26e+2(0,09e+2)             | 0,45e+2(0,16e+2)          | 0,80           | 2,40e+2(0,17e+2)              | 0,45e+2(0,16e+2)          | 0,80           |

### 3.1.4. Thảo luận

Đây là nghiên cứu đầu tiên khảo sát về ảnh hưởng của giới tính và nhiệt độ lên tốc độ lọc của *P. annandalei*, sử dụng 3 loài tảo thường được sử dụng trong nuôi trồng thủy sản. Trong phần dưới, về những ảnh hưởng của nồng độ tảo, nhiệt độ và giới tính, cũng như sự tương tác của 3 yếu tố này lên sự thải phân và tiềm năng ứng dụng trong nuôi trồng thủy sản.

#### a) Sự thải phân của *P. annandalei* ở các nồng độ tảo khác nhau:

Như dự đoán, PP và SPP của *P. annandalei* cho ăn tảo *C. muelleri*, *I. galbana* và *T. chuii* tăng nhanh tỷ lệ thuận với tăng nồng độ tảo cho tới khi đạt PP tối đa và SPP tối đa. Mức độ nửa bão hòa của tảo *C. muelleri* (con đực  $K_m = (0,24 - 0,92) \times 10^2 \mu\text{g C/L}$  và con cái,  $K_m = (0,35 - 1,57) \times 10^2 \mu\text{g C/L}$ ), tảo *I. galbana* (con đực,  $K_m = (0,21 - 0,52) \times 10^2 \mu\text{g C/L}$  và con cái,  $K_m = (0,52 - 0,62) \times 10^2 \mu\text{g C/L}$ ) và tảo *T. chuii* (con đực,  $K_m = (0,35 - 0,66) \times 10^2 \mu\text{g C/L}$  và con cái  $K_m = (0,42 - 0,45) \times 10^2 \mu\text{g C/L}$ ) trong giá trị quan sát được ở các loài giáp xác chân chèo khác như tổng hợp (Bảng 3) trong nghiên cứu của Hasen và cộng sự (1997) [220].

Khi khớp vào mô hình, PP cực đại và SPP cực đại đạt ở nồng độ tảo là  $400 \mu\text{g C/L}$  cho cả 2 loài tảo *I. galbana* và *T. chuii* ở tất cả nhiệt độ nuôi. Tương tự được quan sát ở con đực ăn tảo *C. muelleri* và những kết quả này tương đồng với kết quả trên loài giáp xác chân chèo *A. tonsa* được cho ăn tảo *Rhodomonas salina* [227]. Chỉ duy nhất trường hợp con cái ăn tảo *C. muelleri* thấy mức bão hòa cao đáng kể tới  $800 \mu\text{g C/L}$ . Có thể, điều này liên quan đến nhu cầu năng lượng nhiều hơn của con cái cho sự sinh sản [229] trong khi năng lượng từ tảo *C. muelleri* có thể thấp hơn so với tảo *I. galbana* và tảo *T. chuii* [53].

Xây dựng quy trình nuôi sinh khối *P. annandalei* thông qua cung cấp thông tin cơ bản về nồng độ tảo tối ưu cho nuôi loài này ở khoảng nhiệt độ đặc trưng của vùng biển ven bờ Đông Nam Á.

#### b) Ảnh hưởng của nhiệt độ

Trong các nghiên cứu trước đây [230 - 232] cho thấy nhiệt độ ảnh hưởng tới hầu hết các loài sinh vật biển. Kết quả từ con cái cho thấy sự tăng của PP, PP cực đại, SPP và SPP cực đại khi nhiệt độ tăng từ  $25^\circ\text{C}$  tới  $30^\circ\text{C}$  và sự thải phân giảm ở nhiệt độ  $35^\circ\text{C}$ . Kết quả này phù hợp với kết quả trong các nghiên cứu trước, khoảng nhiệt độ từ

32°C đến 36°C là ngoài khoảng thích hợp cho loài *P. annandalei* [182]. Quả thực, sự hô hấp của *P. annandalei* thể hiện giá trị  $Q_{10}$  là 4,44 ở nhiệt độ 32 - 36°C và  $Q_{10}$  là 2,01 ở nhiệt độ 26 - 32°C [182]. Sự tăng PP và SPP khi nhiệt độ tăng từ 25°C đến 30°C có thể là kết quả của sự tăng tốc độ trao đổi chất [232 - 234]. Sự thải phân giảm mạnh ở 35°C có thể là kết quả của ảnh hưởng xấu của nhiệt độ cao tới sinh lý của loài *P. annandalei* [235], từ đó có thể dẫn tới giảm sức sinh sản ở con cái. Một số nghiên cứu cho thấy số lượng phân thải ra tỷ lệ thuận với khả năng sinh trứng của giáp xác chân chèo như *Centropages typicus* [236], *Calanus finmarchicus* [237], *Acartia omorii* [238], *Acartia tonsa* [222]. Ở động vật phù du, ước tính có 2 phần 3 lượng cacbon từ nguồn thức ăn được ăn vào sẽ được đồng hóa vào cơ thể sinh vật và 1 phần 3 lượng cacbon còn lại trong thức ăn sẽ được thải ra theo phân [239, 240]. Như vậy, số phân có thể là một chỉ số quan trọng để đánh giá điều kiện môi trường hay thức ăn có phù hợp cho sự phát triển và sinh sản của copepod hay không?

Con đực trưởng thành cho thấy không ổn định về PP và SPP với các loài tảo ở các nhiệt độ khác nhau. Con đực ăn tảo *I. galbana* không có sự khác nhau về PP và SPP giữa các nhiệt độ. Tuy nhiên con đực ở 35°C ăn tảo *C. muelleri* và tảo *T. chuii* thể hiện 2 xu hướng trái ngược nhau: một là thấp hơn PP và cao hơn SPP so với ở nghiệm thức nhiệt độ thấp hơn (25°C và 30°C). Sự ảnh hưởng làm giảm PP và SPP ở nhiệt độ 35°C chỉ xảy ra đối với con đực ăn tảo *C. muelleri* nhưng không xảy ra đối với 2 loài tảo còn lại. Điều này, vẫn chưa thể giải thích được về cơ chế dẫn tới kết quả trên và cần thiết có những nghiên cứu trong tương.

Điều kiện nhiệt độ cao thường xảy ra ở các ao nuôi thủy sản ngoài trời như đôi khi có những ngày nhiệt độ  $\geq 35^\circ\text{C}$  vào mùa hè tại Cam Ranh. Nhiệt độ cao cũng được dự đoán sẽ xảy ra thường xuyên hơn trong tương lai do sự ấm lên của trái đất [241, 242]. Do vậy, cần thiết có để tránh nhiệt độ cao trong hệ thống nuôi sinh khối *P. annandalei*.

#### c) Giới tính - SPP

Mặc dù con đực thải ra số phân nhiều hơn con cái 17 - 27%, nhưng do kích thước hạt phân của con đực lại nhỏ hơn so với kích thước hạt phân của con cái, nên dẫn đến SPP và SPP cực đại của con cái lớn hơn so với SPP và SPP cực đại của con đực. Những kết quả của thí nghiệm 1 tương tự như trong các nghiên cứu trước đây, cho thấy tốc độ lọc thức ăn của con cái cao hơn so với con đực ở một số loài giáp xác chân

chèo như *Oithona nana*, *Temora longicornis*, *Centropages hamatus* [243]. SPP của con cái cao hơn rõ ràng ở nồng độ tảo cao hơn, ở cả 3 loài tảo. Kết quả này tương tự như quan sát của Gréve và cộng sự (2017) [290], cho rằng con cái luôn có tốc độ lọc cao hơn con đực, không phân biệt hình thức ăn và loại con mồi. Mặc dù nghiên cứu của Gréve và cộng sự (2017) cho rằng các dạng chính của tốc độ lọc cao hơn ở con cái so với con đực biến mất khi khớp với sự khác biệt về kích thước cơ thể. Tuy nhiên SPP của con cái *P. annandalei* vẫn cao hơn nhiều so với SPP của con đực. SPP của con đực thấp hơn có thể được giải thích bởi sự khác nhau về chức năng sinh học giữa 2 giới tính [229].

### **3.2. Ảnh hưởng sự cho ăn 3 loài tảo khác nhau lên sinh trưởng và sinh sản của loài *P. annandalei* ở nhiệt độ 30°C và 34°C.**

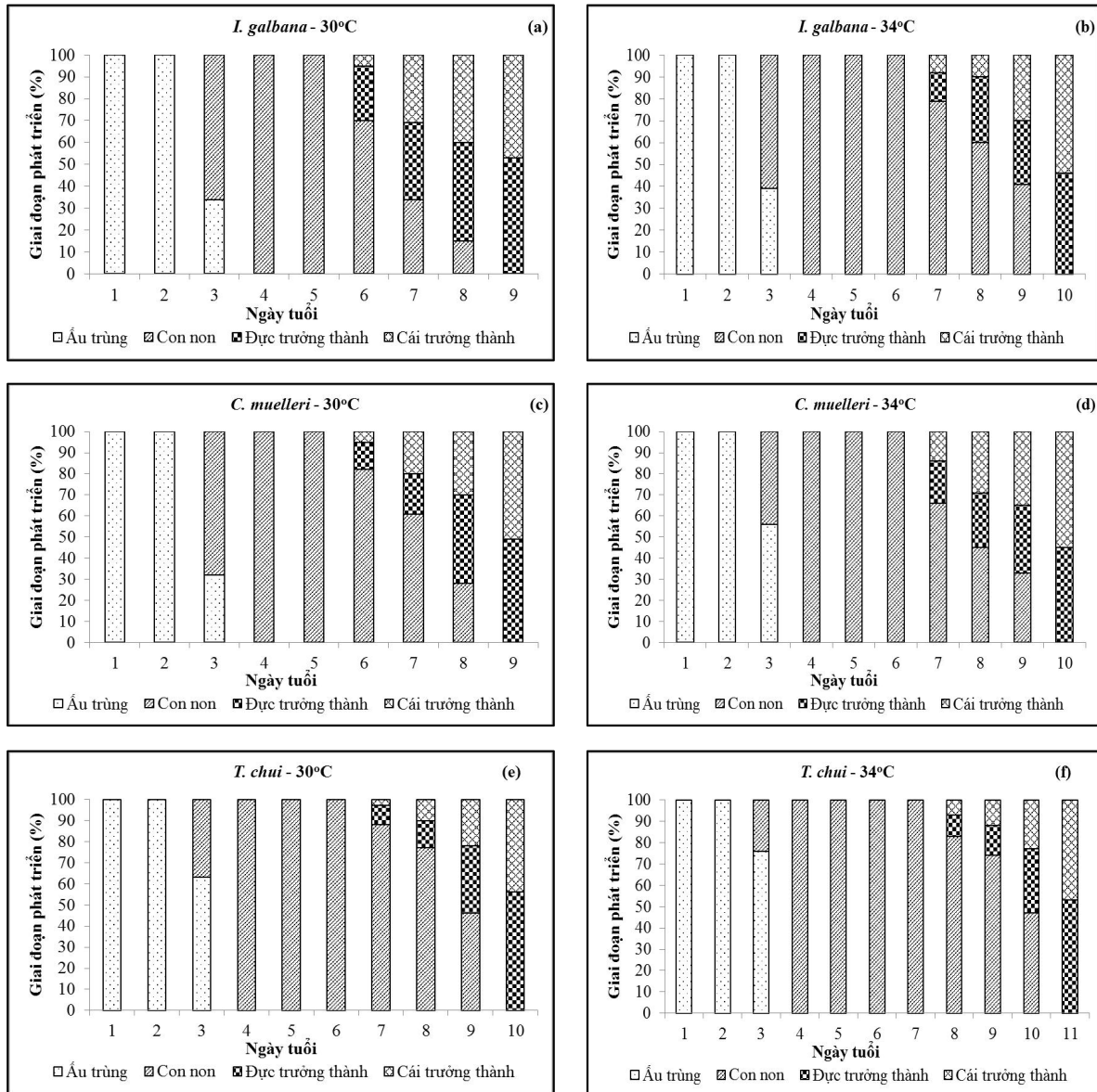
#### **3.2.1. Ảnh hưởng tương tác của nhiệt độ với sự cho ăn 3 loài tảo khác nhau lên các giai đoạn phát triển**

Quần thể *P. annandalei* ở 30°C phát triển nhanh hơn 1 ngày so với sự phát triển của quần thể được cho ăn ở 34°C với cả 3 loài tảo. Quần thể được cho ăn bằng tảo *I. galbana* và tảo *C. muelleri* phát triển tương đương nhau và nhanh hơn 1 ngày so với quần thể được nuôi bằng tảo *T. chuii* ở cả 2 nhiệt độ 30°C và 34°C (Hình 3.4).

Giai đoạn ấu trùng đều chỉ kéo dài đến hết 3 ngày tuổi sau khi nở và giai đoạn con non bắt đầu xuất hiện trong ngày thứ 3, không kể nhiệt độ và loài tảo cho ăn. Ở nhiệt độ 30°C, giai đoạn con non kéo dài đến ngày thứ 8 ứng với 2 quần thể được nuôi bằng tảo *I. galbana* (còn 15%), tảo *C. muelleri* (còn 28%) và đến ngày thứ 9 ở quần thể được cho ăn bằng tảo *T. chuii* (còn 46%) (Hình 3.4 a, c, e). Ở nhiệt độ 34°C, giai đoạn con non kéo dài đến ngày thứ 9 ứng với 2 quần thể được nuôi bằng tảo *I. galbana* (còn 41%), tảo *C. muelleri* (còn 33%) và đến ngày thứ 10 ở quần thể nuôi bằng tảo *T. chuii* (còn 47%) (Hình 3.4 b, d, f).

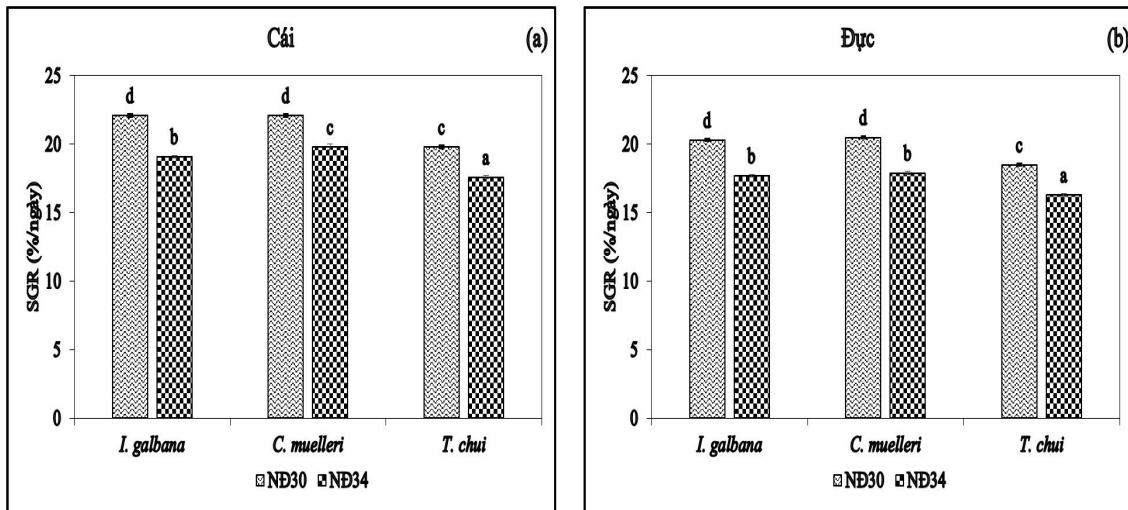
Ở nhiệt độ 30°C, quần thể được nuôi bằng loài tảo *I. galbana* hay tảo *C. muelleri* xuất hiện giai đoạn trưởng thành từ ngày tuổi thứ 6 sớm hơn 1 ngày so với quần thể được cho ăn bằng tảo *T. chuii*. Ở nhiệt độ 34°C, quần thể xuất hiện giai đoạn trưởng thành muộn hơn 1 ngày so với quần thể nuôi ở nhiệt độ 30°C, tương ứng với 3 loài tảo. Ở nhiệt độ 30°C, quần thể hoàn toàn trưởng thành ở 9 ngày tuổi khi được cho ăn bằng tảo *I. galbana* hoặc tảo *C. muelleri* và hoàn toàn con trưởng thành ở ngày thứ 10 khi

được cho ăn tảo *T. chuii*. Tương tự ở nhiệt độ 34°C, quần thể trưởng thành hoàn toàn muộn hơn 1 ngày so với quần thể cho ăn ở nhiệt độ 30°C ở cả 3 loài tảo (Hình 3.4).



Hình 3.4. Giai đoạn phát triển copepod của 3 loài tảo khác nhau và 2 nhiệt độ.

Tốc độ sinh trưởng đặc trưng của con đực và con cái được cho ăn tảo khác nhau ở nhiệt độ 30°C cao hơn so với tốc độ sinh trưởng đặc trưng của con đực và con cái cho ăn tảo ở nhiệt độ 34°C (Hình 3.5 a, b,  $P < 0,05$ ). Ở cả 2 nhiệt độ 30°C và 34°C, tốc độ sinh trưởng đặc trưng copepod được cho ăn tảo *I. galbana* hoặc *C. muelleri* cao hơn so với tảo *T. chuii* (Hình 3.5 a, b,  $P < 0,05$ ). Riêng con cái ở nhiệt độ 34°C, tốc độ sinh trưởng đặc trưng cao nhất khi được cho ăn tảo *C. muelleri* (Hình 3.5 a,  $P < 0,05$ ).



Hình 3.5. Tốc độ sinh trưởng đặc trưng (chiều dài) của con cái (a), con đực (b) trưởng thành. Giá trị biểu diễn: Trung bình  $\pm$  sai số chuẩn ( $TB \pm SE$ ). Các chữ cái khác nhau thể hiện sai khác có ý nghĩa thống kê ( $P < 0,05$ ) giữa 3 loài tảo ở 30°C, 34°C.

### 3.2.2. Ảnh hưởng tương tác của nhiệt độ với sự cho ăn 3 loài tảo khác nhau lên tỷ lệ sống, sức sinh sản, tỷ lệ nở thành công, số ấu trùng/Cái và tổng số ấu trùng/Cái trong 10 ngày của *P. annandalei*

Bảng 3.6 cho thấy nhiệt độ ảnh hưởng đến tỷ lệ sống, sức sinh sản, tỷ lệ nở thành công, số ấu trùng/Cái và tổng số ấu trùng/Cái trong 10 ngày của *P. annandalei* ( $P < 0,05$ , Bảng 3.6). Tuy nhiên, 3 loài tảo và sự tương tác của nhiệt độ với 3 loài tảo khác nhau lại không ảnh hưởng đến các thông số này ( $P > 0,05$ , Bảng 3.6). Copepod cho ăn 3 loài tảo khác nhau có kết quả về các thông số ở nhiệt độ 30°C cao hơn so với ở nhiệt độ 34°C ( $P < 0,05$ , Hình 3.6). Cụ thể ở nhiệt độ 30°C có tỷ lệ sống trung bình cao hơn 23% (Hình 3.6 a), sức sinh sản trung bình nhiều hơn 3,5 trứng/Cái (Hình 3.6 b), tỷ lệ nở thành công trung bình cao hơn 20% (Hình 3.6 c) và số lượng ấu trùng nhiều hơn 5,7 ấu trùng/Cái (Hình 3.6 d) so với ở nhiệt độ 34°C.

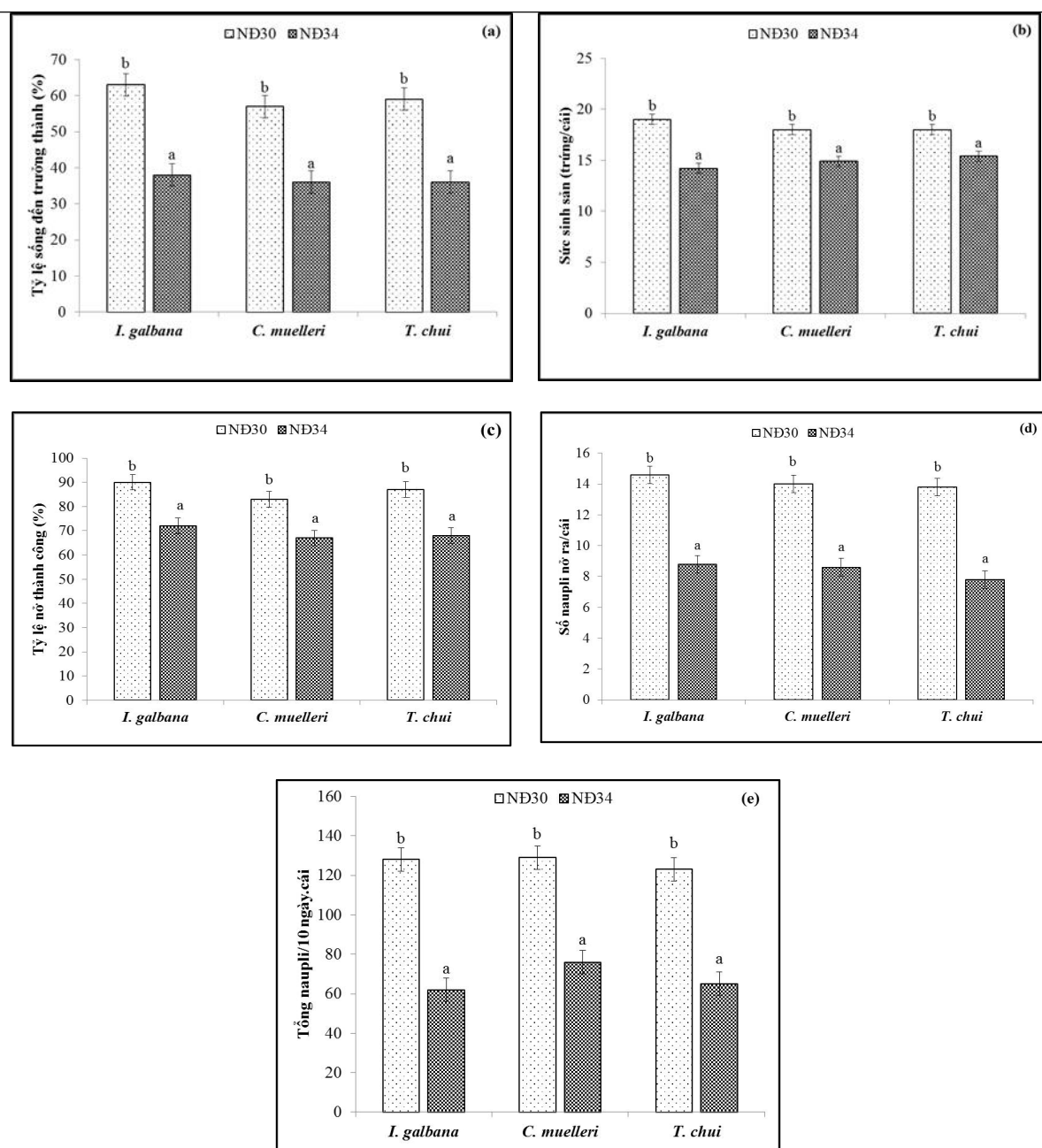
Đồng thời, tổng số ấu trùng/Cái trong 10 ngày ở nhiệt độ 30°C cũng nhiều hơn khoảng 50% so với ở nhiệt độ 34°C (Hình 3.6 e).

Ở cùng nhiệt độ, copepod được cho ăn 3 loài tảo khác nhau có kết quả về tỷ lệ sống và các chỉ tiêu sinh sản là tương đương nhau, khác biệt không có ý nghĩa thống kê giữa các 3 loài tảo thí nghiệm ( $P > 0,05$ , Hình 3.6).

Bảng 3.6. Phân tích phương sai đa yếu tố (Two-way ANOVAs): ảnh hưởng của 3 loài tảo khác nhau, 2 nhiệt độ lên tỷ lệ sống, sức sinh sản, tỷ lệ nở thành công, số ấu trùng/Cái và tổng số ấu trùng/Cái trong 10 ngày của *P. annandalei*. Giá trị *P* in đậm thể hiện khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $P < 0,05$ ).

| Yếu tố ảnh hưởng    | Chỉ tiêu             | df | F       | P                |
|---------------------|----------------------|----|---------|------------------|
| Nhiệt độ            | Tỷ lệ sống           | 1  | 83,516  | <b>&lt;0,001</b> |
|                     | Sức sinh sản         | 1  | 91,351  | <b>&lt;0,001</b> |
|                     | Tỷ lệ nở thành công  | 1  | 56,754  | <b>&lt;0,001</b> |
|                     | Số ấu trùng/Cái      | 1  | 152,495 | <b>&lt;0,001</b> |
|                     | Tổng số ấu trùng/Cái | 1  | 143,464 | <b>&lt;0,001</b> |
| Loài tảo            | Tỷ lệ sống           | 2  | 1,072   | 0,358            |
|                     | Sức sinh sản         | 2  | 0,721   | 0,487            |
|                     | Tỷ lệ nở thành công  | 2  | 0,745   | 0,486            |
|                     | Số ấu trùng/Cái      | 2  | 1,258   | 0,302            |
|                     | Tổng số ấu trùng/Cái | 2  | 0,968   | 0,394            |
| Nhiệt độ × Loài tảo | Tỷ lệ sống           | 2  | 0,221   | 0,804            |
|                     | Sức sinh sản         | 2  | 3,342   | <b>0,037</b>     |
|                     | Tỷ lệ nở thành công  | 2  | 0,188   | 0,830            |
|                     | Số ấu trùng/Cái      | 2  | 0,144   | 0,866            |
|                     | Tổng số ấu trùng/Cái | 2  | 0,864   | 0,441            |





Hình 3.6. Ảnh hưởng của 3 loài tảo, 2 nhiệt độ lên tỷ lệ sống (a), sức sinh sản (b), tỷ lệ nở (c), số ấu trùng/Cái (d) và tổng số ấu trùng/Cái trong 10 ngày (e). Giá trị biểu diễn: Trung bình  $\pm$  sai số chuẩn ( $TB \pm SE$ ). Các chữ cái khác nhau trên các cột thể hiện sai khác có ý nghĩa thống kê ( $P < 0,05$ ) giữa 3 loài tảo ở nhiệt độ  $30^{\circ}\text{C}$  và  $34^{\circ}\text{C}$ .

### 3.2.1. Thảo luận

Nghiên cứu này nhằm lựa chọn ra loài tảo thích hợp trong 3 loài tảo phổ biến sử dụng trong các trại sản xuất giống ở Việt Nam để nuôi loài *P. annandalei*.

So với *P. annandalei* được cho ăn tảo ở nhiệt độ  $34^{\circ}\text{C}$ , copepod cho ăn tảo ở nhiệt độ  $30^{\circ}\text{C}$  cho kết quả: sự phát triển nhanh hơn và tỷ lệ sống đến trưởng thành, cùng các

chỉ tiêu sinh sản cao hơn. Điều này có thể được giải thích do nhiệt độ 30°C nằm trong khoảng nhiệt độ tối ưu cho sự phát triển và sinh sản của loài *P. annandalei*, trong khi nhiệt độ 34°C là ngoài khoảng thích hợp trên của loài này [182]. Các thảo luận sâu hơn sẽ được trình bày trong phần thảo luận trong nghiên cứu về ảnh hưởng của nhiệt độ ở thí nghiệm 3 và 4 tiếp theo. Phần thảo luận này được tập trung về ảnh hưởng của các loài tảo khác nhau làm thức ăn bởi loài *P. annandalei*.

Copepod được cho ăn 2 loài tảo khác nhau (*I. galbana* và *C. muelleri*) có tốc độ sinh trưởng đặc trưng cao hơn và phát triển đạt trưởng thành sớm hơn so với quần thể được cho ăn tảo *T. chuii*. Do sự phát triển của giai đoạn ấu trùng, được cho ăn 3 loài tảo khác nhau, đều kết thúc ở ngày nuôi thứ 3 nên sự phát triển chậm của quần thể được cho là liên quan đến sự phát triển chậm ở các giai đoạn con non. Nghiên cứu cho thấy giai đoạn con non của loài *Pseudocalanus elongatus* có sự phát triển khác nhau khi được cho ăn các loài tảo khác nhau [244]. Điều này có thể liên quan đến đặc điểm sinh trưởng của giai đoạn con non và đặc điểm của các loài tảo khác nhau làm thức ăn copepod. Các giai đoạn phát triển của copepod có khả năng bắt và ăn mỗi khác nhau với các loại thức ăn khác nhau [245]. Ở giai đoạn con non, đặc biệt những giai đoạn đầu, khả năng di chuyển tìm kiếm thức ăn cũng như khả năng lọc ăn của chúng còn hạn chế so với giai đoạn con trưởng thành. Phần lớn chúng vẫn chủ yếu lọc các tế bào tảo lơ lửng trong tầng nước để ăn và yêu cầu có nhiều thức ăn lơ lửng trong tầng nước để đáp ứng cho việc ăn, cung cấp đủ năng lượng cho quá trình phát triển. Loài tảo *T. chuii* có khối lượng tế bào lớn hơn nhiều so với 2 loài tảo *I. galbana* hay *C. muelleri* (Bảng 2.2) và thí nghiệm này cho thấy tảo *T. chuii* có xu hướng chìm xuống đáy nhanh hơn so với 2 tảo *I. galbana*, *C. muelleri*. Mật độ tảo *T. chuii* lơ lửng trong tầng nước có xu hướng giảm đi nhanh hơn so với 2 loài tảo *I. galbana* hay *C. muelleri*, cụ thể là mật độ tảo *T. chuii* có khoảng 9.000 tb/mL bằng 10% của mật độ tảo *C. muelleri* và 30% của mật độ tảo *I. galbana*.

Mặc dù sự phát triển có chậm hơn khi copepod được cho ăn tảo *T. chuii* nhưng tỷ lệ sống đến giai đoạn con trưởng thành của quần thể lại tương đương nhau ở các nghiệm thức. Mật độ copepod của các quần thể là tương đương nhau ở các ngày nuôi. Cho thấy, 3 loài tảo khác nhau này đều phù hợp để nuôi loài *P. annandalei*.

Thành phần dinh dưỡng của loài tảo khác nhau làm thức ăn và số lượng tảo cho ăn

có vai trò quan trọng ảnh hưởng đến sự sinh sản của copepod. Nghiên cứu trên các Copepoda khác được cho ăn các loài tảo khác nhau do copepod ảnh hưởng đến sức sinh sản [246], tỷ lệ nở và số lượng ấu trùng [245, 247]. Đồng thời, các mật độ tảo khác nhau có ảnh hưởng cho copepod trưởng thành đẻ số lượng ấu trùng khác nhau [119]. Nghiên cứu cho thấy, khả năng sinh sản của loài *Acartia tonsa* tăng tỷ lệ thuận với sự tăng nồng độ tảo tới mức tối đa [248, 249]. Bên cạnh đó, các loài tảo khác nhau có thành phần sinh hóa khác nhau. Trong khi thành phần các amino axit tương đồng ở các nhóm tảo nhưng thành phần và hàm lượng các axit béo là khác nhau ở mỗi nhóm tảo [250]. Một số thành phần axit béo khác nhau của 3 loài tảo khác nhau như DHA và EPA: tảo *Tetraselmis sp* chỉ có EPA nhưng không có DHA; tảo *C. muelleri* có nhiều EPA và ít DHA [120]; tảo *I. galbana* lại có nhiều DHA nhưng không có EPA [121]. Nghiên cứu trước cho thấy, trứng copepod có thành phần lipid cao [251], nên lipid được cho là quan trọng đến khả năng sinh sản của copepod [252, 253]. Giáp xác chân chèo thường có nhu cầu cao thành phần các axit béo không no như DHA và EPA trong thức ăn cho sự sinh sản tối ưu [122]. Ảnh hưởng của các loài tảo làm thức ăn phù hợp đến khả năng sinh sản copepod [244]. Ví dụ, loài *Temora longicornis* có sức sinh sản cao khi cho ăn bằng những loài tảo có nhiều HUFA như *Thalassiosira weissflogii*, *Isochrysis sp.* và *Phaeocystis globosa* [254].

Trái lại, nghiên cứu này cho thấy các kết quả về các chỉ số sinh sản (sức sinh sản, tỷ lệ nở thành công, số ấu trùng/Cái, tổng số ấu trùng/Cái trong 10 ngày) lại tương đương nhau và sai khác không có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức 3 loài tảo khác nhau. Sự không khác nhau các chỉ số sinh sản này có thể được giải thích liên quan đến số lượng tảo làm cho ăn và sự khả năng tự tổng hợp hay chuyển hóa tạo ra các HUFA trong cơ thể của loài *P. annandalei*. Các nghiệm thức của 3 loài tảo khác nhau làm thức ăn phù hợp nồng độ tảo từ 800  $\mu\text{g C/L}$  - mức thức ăn đủ cho các con trưởng thành đến đáp ứng đủ năng lượng cho sự sinh sản copepod. Hơn nữa, nghiên cứu trên cho thấy *P. annandalei* vẫn có hàm lượng DHA cao trong cơ thể cho dù chỉ được nuôi bằng tảo *T. chuii*, loài tảo này không có DHA [84]. *P. annandalei* được cho là có khả năng tự chuyển hóa tổng hợp được các HUFA như DHA và EPA từ axit béo linolenic (18:3 $\omega$ 3) trong thức ăn tảo như một số loài Copepoda khác [85] mà *P. annandalei* vẫn có thể đáp ứng đủ nhu cầu cao các HUFA cho sự sinh sản khi được

nuôi bằng các loại tảo thiếu hụt thành phần các HUFA. Nghiên cứu trước loài *A. tonsa* không ảnh hưởng khả năng sinh sản khi được ăn các loài tảo có thành phần các HUFA [255]. Các loài tảo không ảnh hưởng thành phần các HUFA của loài *P. annandalei*. Trong thí nghiệm này, *P. annandalei* được nuôi bằng 3 loài tảo khác nhau cho sinh sản ấu trùng là tương đương nhau.

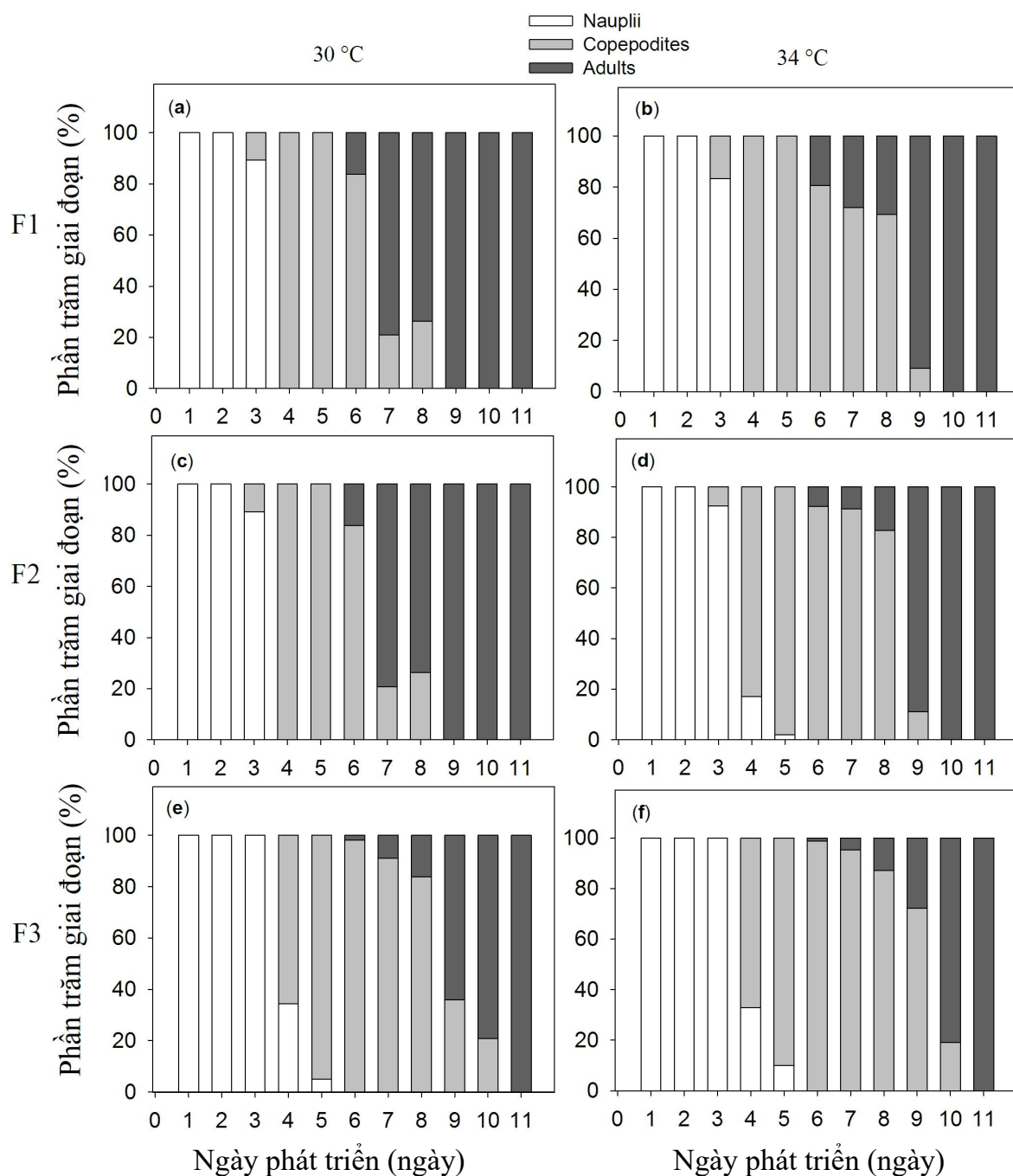
Các kết quả nghiên cứu này cho thấy không có sự khác nhau giữa các nghiệm thức về 3 loài tảo khác nhau làm thức ăn, nên có thể dự đoán nếu có phối trộn 3 loài tảo này làm thức ăn cho *P. annandalei* thì cũng cho kết quả tương tự như cho được ăn riêng từng loài tảo (thí nghiệm 2). Tuy nhiên để có kết luận chính xác cần phải có nghiên cứu cụ thể. Bên cạnh đó, việc sử dụng một loài tảo trong nuôi copepod cũng đơn giản hơn và giảm chi phí về nhân lực, không gian hơn so với nuôi nhiều loài tảo.

Qua nghiên cứu này được đề xuất sử dụng 2 loài tảo *I. galbana*, *C. muelleri* để nuôi loài *P. annandalei*. Loài tảo *I. galbana* phù hợp cho các thí nghiệm ở quy mô phòng thí nghiệm và thể tích nhỏ. Trong nuôi sinh khối loài *P. annandalei* ở thể tích lớn thì nên sử dụng loài tảo *C. muelleri* do loài tảo này có khả năng phát triển tốt hơn loài *I. galbana* trong các điều kiện nuôi ở thể tích lớn và ngoài trời.

### **3.3. Ảnh hưởng của điều kiện nhiệt độ cao (34°C) đến sinh trưởng và sinh sản của loài *P. annandalei* qua 3 thế hệ**

#### **3.3.1. Sự phát triển quần thể qua 3 thế hệ tại nhiệt độ 30°C và 34°C.**

Ở thế hệ F1 và F2, *P. annandalei* cho thấy không có sự khác nhau về giai đoạn phát triển ấu trùng giữa nhiệt độ 30°C và 34°C (Hình 3.7 a, b, c, d). Giai đoạn ấu trùng kéo dài từ ngày 1 đến ngày thứ 3. Trái lại, giai đoạn con non kéo dài hơn khoảng 2 ngày ở nhiệt độ 34°C so với ở nhiệt độ 30°C (Hình 3.7 a, b, c, d). Giai đoạn trưởng thành ở thế hệ F1, F2 bắt đầu từ ngày thứ 7 ở nhiệt độ 30°C và ở ngày thứ 9 ở nhiệt độ 34°C, với hơn 50% con trưởng thành trong quần thể (Hình 3.7 a,b,c,d). Thời gian phát triển giai đoạn ấu trùng ở thế hệ F3 kéo dài hơn so với thế hệ F1 và F2. Tương tự, giai đoạn con non cũng kéo dài hơn và copepod đạt con trưởng thành vào ngày thứ 9 ở nhiệt độ 30°C và ngày thứ 10 ở nhiệt độ 34°C (Hình 3.7 e, f).

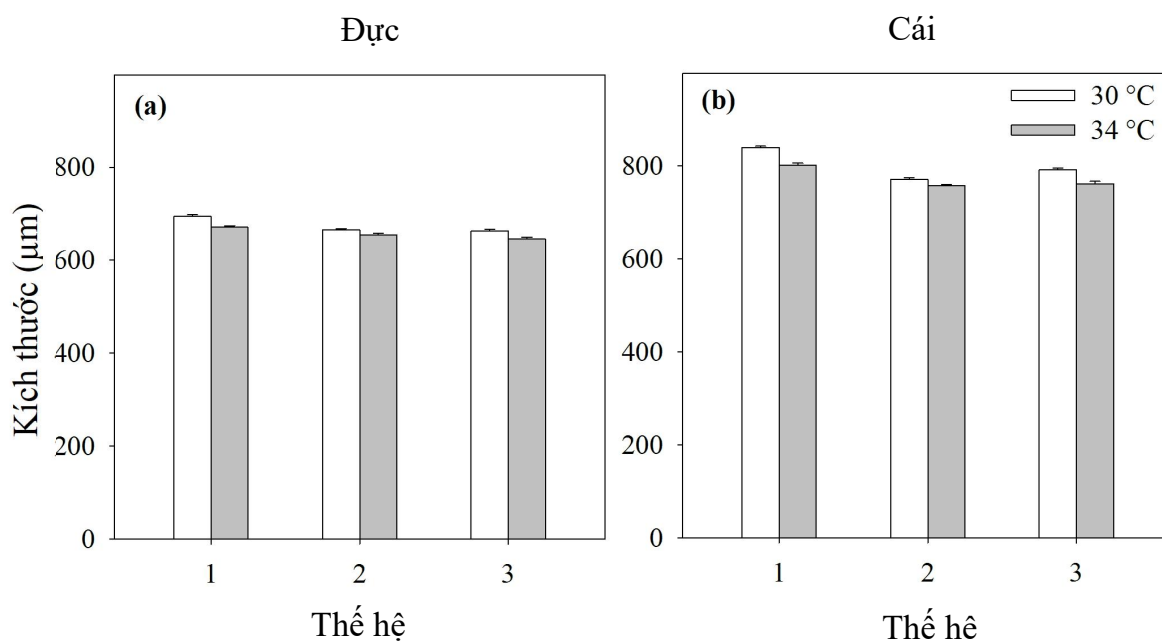


Hình 3.7. Sự phát triển quần thể *P. annandalei* ở nhiệt độ 30°C và 34°C.

### 3.3.2. Kích thước con trưởng thành

Ở cả con đực và con cái, kích thước trưởng thành của *P. annandalei* nhỏ hơn khi nuôi ở nhiệt độ 34°C (ảnh hưởng bởi nhiệt độ). Với con đực, kích thước trưởng thành ở 34°C trên 3 thế hệ không khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $P > 0,05$ , tương tác của nhiệt độ với thế hệ, Bảng 3.7, Hình 3.8 a). Với con cái, kích thước ở 34°C giảm so với con

cái 30°C và ở thể hệ F1 hơn so với thể hệ F2, F3 (tương tác của nhiệt độ × thể hệ, Bảng 3.7, Hình. 3.8 b). Ở cả con đực và con cái ở 30°C, kích thước F1 lớn hơn so với F2 và F3. Ở cả con đực và con cái ở 34°C cho thấy không có khác biệt có ý nghĩa thống kê ở 2 thể hệ F2 và F3. Ở nhiệt độ 30°C, kích thước cái F3 lớn hơn so với F2.



Hình 3.8. Kích thước con trưởng thành: con đực (a), con cái (b) ở 30°C và 34°C ở 3 thể hệ. *Giá trị biểu diễn: Trung bình ± sai số chuẩn (TB ± SE).*

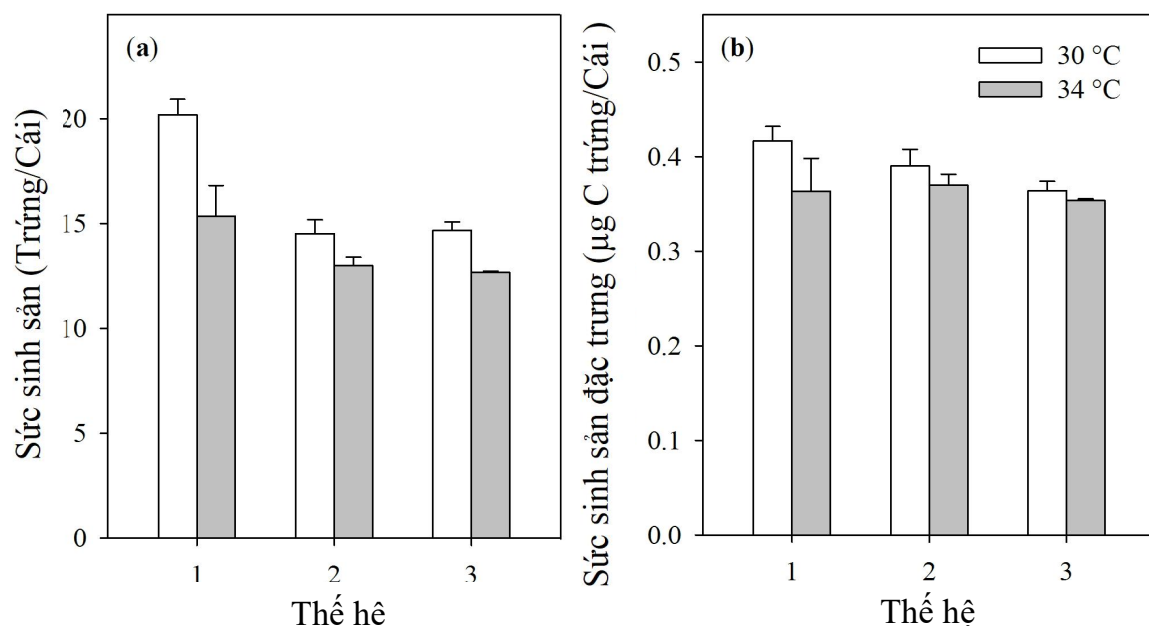
Bảng 3.7. Ảnh hưởng của nhiệt độ và thể hệ lên kích thước con trưởng thành. *Giá trị P in đậm thể hiện khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $P < 0,05$ ).*

| Yếu tố ảnh hưởng  | Con Đực  |       |                  | Con Cái  |        |                  |
|-------------------|----------|-------|------------------|----------|--------|------------------|
|                   | df1, df2 | F     | P                | df1, df2 | F      | P                |
| Nhiệt độ          | 1.540    | 32,45 | <b>&lt;0,001</b> | 1. 500   | 65,48  | <b>&lt;0,001</b> |
| Thế hệ            | 2.539    | 35,29 | <b>&lt;0,001</b> | 2. 500   | 137,17 | <b>&lt;0,001</b> |
| Nhiệt độ × Thế hệ | 2.539    | 1,64  | 0,19             | 2. 500   | 5,82   | <b>0,0032</b>    |

### 3.3.3. Sức sinh sản của *P. annandalei*

Số lượng trứng trong 2 bọc trứng của con cái ở nhiệt độ 34°C ít hơn so với số lượng trứng của con cái ở nhiệt độ 30°C (Bảng 3.8, Hình 3.9). Sức sinh sản lớn hơn ở thể hệ F1 so với 2 thể hệ F2, F3 nhưng sai khác không có ý nghĩa thống kê giữa 2 thể hệ F2 và F3 (ảnh hưởng chính của thể hệ và tương tác của nhiệt độ với thể hệ, Bảng 3.8, Hình 3.9 a). Ảnh hưởng riêng rẽ của nhiệt độ và thể hệ lên sức sinh sản rõ ràng khi sức sinh sản được tính toán cho kích thước của con cái (sức sinh sản đặc trưng,

Bảng 3.8, Hình 3.9 b). Ở nhiệt độ 30°C, sức sinh sản đặc trưng của con cái giảm sau mỗi thế hệ (ảnh hưởng chính của thế hệ, Bảng 3.8, Hình 3.9 b). Sự tương tác giữa nhiệt độ và thế hệ lên sức sinh sản đặc trưng không rõ ràng (Bảng 3.8).



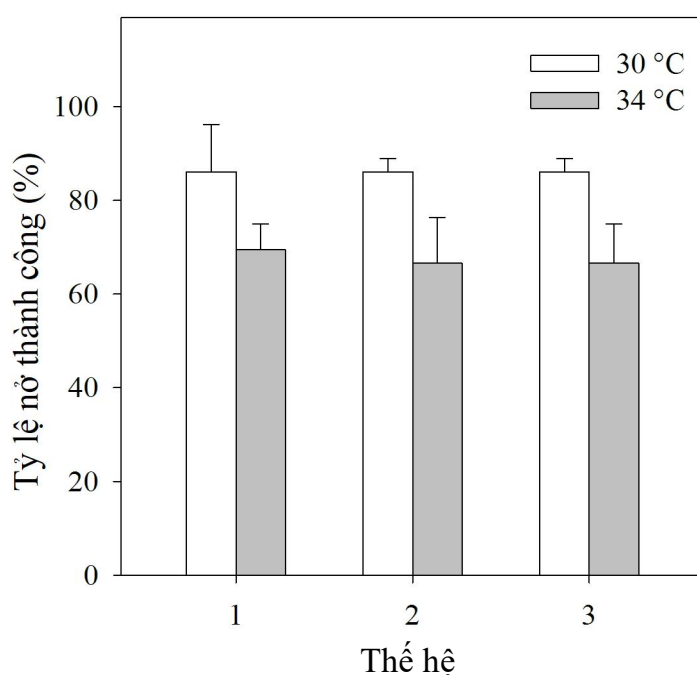
Bảng 3.8. Ảnh hưởng của nhiệt độ và thế hệ lên sức sinh sản và sức sinh sản đặc trưng của *P. annandalei*. Giá trị *P* in đậm thể hiện khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $P < 0,05$ ).

| Yếu tố ảnh hưởng  | Sức sinh sản    |          |                  | Sức sinh sản đặc trưng |          |               |
|-------------------|-----------------|----------|------------------|------------------------|----------|---------------|
|                   | <i>df1, df2</i> | <i>F</i> | <i>P</i>         | <i>df1, df2</i>        | <i>F</i> | <i>P</i>      |
| Nhiệt độ          | 1. 191          | 61,45    | <b>&lt;0,001</b> | 1.191                  | 9,98     | <b>0,0019</b> |
| Thế hệ            | 2. 191          | 54,17    | <b>&lt;0,001</b> | 2.191                  | 3,81     | <b>0,024</b>  |
| Nhiệt độ × Thế hệ | 2. 191          | 8,80     | <b>&lt;0,001</b> | 2.191                  | 2,22     | 0,11          |

Hình 3.9. Sức sinh sản (a) và sức sinh sản đặc trưng (b) của *P. annandalei* ở 30°C và 34°C qua 3 thế hệ. Giá trị biểu diễn: Trung bình  $\pm$  sai số chuẩn ( $TB \pm SE$ ).

### 3.3.4. Tỷ lệ nở thành công

Tỷ lệ nở thành công là 70% ở nhiệt độ 34°C, khoảng 20% thấp hơn so với tỷ lệ nở thành công ở nhiệt độ 30°C và không phụ thuộc vào thế hệ (Bảng 3.9, Hình 3.10).



Hình 3.10. Tỷ lệ nở thành công của *P. annandalei* ở 30°C và 34°C qua 3 thế hệ.

Giá trị biểu diễn: Trung bình  $\pm$  sai số chuẩn ( $TB \pm SE$ ).

Bảng 3.9. Ảnh hưởng của nhiệt độ và thế hệ lên tỷ lệ nở thành công của *P. annandalei*.

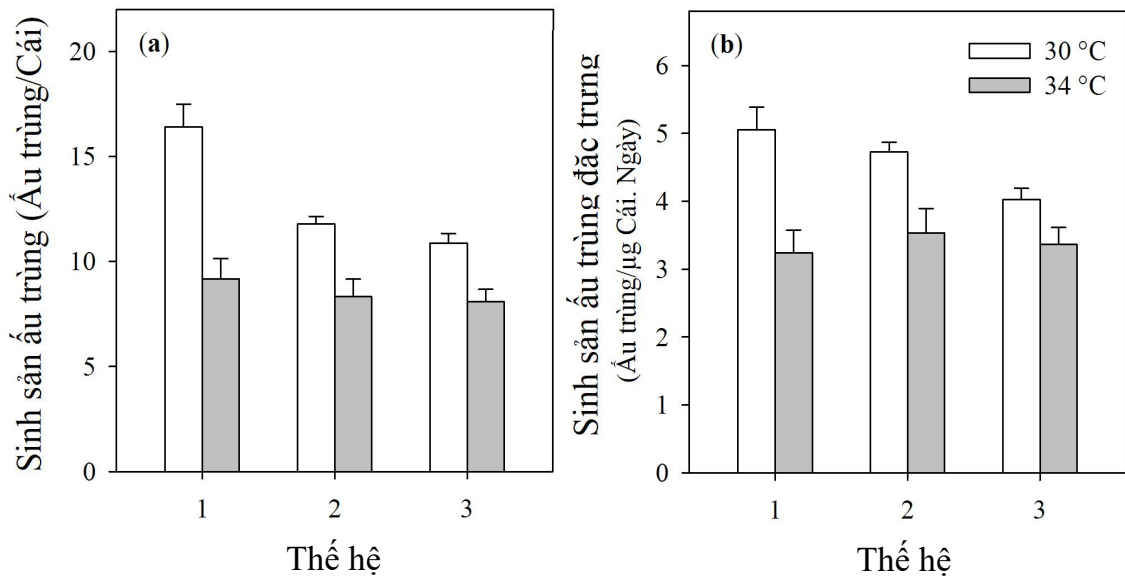
Giá trị *P* in đậm thể hiện khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $P < 0,05$ ).

| Yếu tố ảnh hưởng         | Tỷ lệ nở                 |          |               |
|--------------------------|--------------------------|----------|---------------|
|                          | <i>df</i> 1, <i>df</i> 2 | <i>F</i> | <i>P</i>      |
| Nhiệt độ                 | 1. 210                   | 9,90     | <b>0,0019</b> |
| Thế hệ                   | 2. 210                   | 0,02     | 0,99          |
| Nhiệt độ $\times$ Thế hệ | 2. 210                   | 0,02     | 0,99          |

### 3.3.5. Số ấu trùng/Cái

Số ấu trùng/Cái ở nhiệt độ 34°C thấp hơn so với số ấu trùng/Cái ở nhiệt độ 30°C (ảnh hưởng chính bởi nhiệt độ, Bảng 3.10, Hình 3.11). Sự khác nhau về số ấu trùng sinh ra ở nhiệt độ 30°C thể hiện rõ hơn ở thế hệ F1 so với ở 2 thế hệ F2, F3 (tương tác nhiệt độ với thế hệ, Bảng 3.10, Hình 3.11 a, b). Số ấu trùng/Cái ở thế hệ F1 nhiều hơn so với số ấu trùng/Cái ở 2 thế hệ F2 và F3, trong khi không có sự khác nhau có ý nghĩa thống kê ở 2 thế hệ sau. Không có ảnh hưởng của thế hệ và sự tương tác của thế hệ với nhiệt độ lên ấu trùng sinh ra khi khốp các ấu trùng sinh ra với sinh khối của con cái trưởng thành (Bảng 3.10, Hình 3.11 a, b).





Hình 3.11. Số ấu trùng/Cái (a) và số ấu trùng/Cái đặc trưng (b) của *P. annandalei* ở 30°C và 34°C ở 3 thể hệ. Giá trị biểu diễn: Trung bình  $\pm$  sai số chuẩn ( $TB \pm SE$ ).

Bảng 3.10. Ảnh hưởng của nhiệt độ và thể hệ lên số ấu trùng/Cái và số ấu trùng/Cái đặc trưng. Giá trị *P* in đậm thể hiện khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $P < 0,05$ ).

| Yếu tố ảnh hưởng         | Sinh sản ấu trùng        |          |                  | Sinh sản ấu trùng đặc trưng |          |                  |
|--------------------------|--------------------------|----------|------------------|-----------------------------|----------|------------------|
|                          | <i>df</i> 1, <i>df</i> 2 | <i>F</i> | <i>P</i>         | <i>df</i> 1, <i>df</i> 2    | <i>F</i> | <i>P</i>         |
| Nhiệt độ                 | 1.24                     | 52,79    | <b>&lt;0,001</b> | 1. 24                       | 29,21    | <b>&lt;0,001</b> |
| Thể hệ                   | 2.24                     | 10,85    | <b>&lt;0,001</b> | 2. 24                       | 1,72     | 0,20             |
| Nhiệt độ $\times$ Thể hệ | 2.24                     | 4,97     | <b>0,016</b>     | 2. 24                       | 2,17     | 0,14             |

### 3.3.6. Thảo luận

#### a) Sự phát triển và kích thước

Sự giảm kích thước cơ thể do điều kiện nhiệt độ nước ấm lên là một hiện tượng trong các hệ sinh thái thủy sinh [205, 206, 208, 207, 256, 257] nhưng đây là ghi nhận đầu tiên trên loài *P. annandalei*, loài động vật phù du quan trọng trong môi trường nhiệt đới ven biển. Sự phát triển nhanh hơn tốc độ tăng trưởng do nhiệt độ tăng có thể giải thích cho sự giảm kích thước trưởng thành của nhiều loài giáp xác chân chèo [258, 259]. Nghiên cứu gần đây cũng cho kết quả tương tự, con trưởng thành loài *P. incisus* có kích thước, sinh khối thấp hơn khi nuôi ở nhiệt độ 34°C so với con trưởng thành nuôi ở nhiệt độ 30°C [260, 261]. Do sự phát triển đạt trưởng thành của loài *P. incisus* nuôi ở nhiệt độ 34°C nhanh hơn so với nuôi ở nhiệt độ 30°C [261]. Tuy nhiên điều này

không giải thích trường hợp loài *P. annandalei* của nghiên cứu này, ở nhiệt độ 34°C thời gian phát triển dài hơn so với sự phát triển ở nhiệt độ 30°C. Nhiệt độ cao hơn nhiệt độ tối ưu làm cho năng lượng sử dụng cho trao đổi chất nhiều hơn như tăng sự hô hấp [182], tăng năng lượng cho các chức năng sinh học như tăng điều tiết protein sốc nhiệt [235], một cơ chế phổ biến được sử dụng bởi nhiều loài động vật để đối phó với stress nhiệt độ [262] bằng cách thay đổi hướng sử dụng làm giảm năng lượng cho tăng trưởng và phát triển. Hơn nữa, năng lượng lấy từ thức ăn cũng giảm dưới điều kiện nhiệt độ cao như tốc độ lọc thức ăn của *P. annandalei* giảm đáng kể ở nhiệt độ 35°C so với ở nhiệt độ 30°C.

Nhìn chung, kích thước trưởng thành của thế hệ F1 lớn hơn so với kích thước trưởng thành của 2 thế hệ F2 và F3, không kể nhiệt độ. Ấu trùng sử dụng để bắt đầu thế hệ F1 được tạo ra từ đàn copepod cái từ tự nhiên với thời gian thuần hóa là 3 ngày (khoảng 1 phần 3 thời gian thế hệ) có thể không đủ tác động lên F1, cho thấy kích thước  $F_0 > F_1 - 30^\circ\text{C} > F_2 - 30^\circ\text{C}$ . Điều kiện nuôi trong phòng thí nghiệm cũng góp phần làm thay đổi kích thước con trưởng thành của *P. annandalei* ở nghiệm thức đối chứng qua các thế hệ. Con cái F3 - 30°C cho thấy tăng kích thước trưởng thành so với con cái F2 - 30°C, cho thấy sự thích nghi với điều kiện nuôi khác. Tuy nhiên, điều này không thay đổi sự phát hiện chung về ảnh hưởng của nhiệt độ, làm giảm kích thước của *P. annandalei* qua 3 thế hệ. Sự giảm kích thước thành thực có thể có những hệ quả sinh thái như giảm kích thước trưởng thành tỷ lệ thuận với tốc độ lọc thức ăn [263] và sự sinh sản [208]. Những kết quả trong nghiên cứu này được củng cố cho điều trên như cho thấy con cái nhỏ hơn thể hiện sinh sản ít ấu trùng hơn ở nhiệt độ 34°C.

#### b) Sức sinh sản

Sức sinh sản thấp hơn ở nhiệt độ 34°C so với ở nhiệt độ 30°C, giống với quan sát trên một số loài Copepoda khác như loài *Pseudodiaptomus incisus* [261], *P. pelagicus* [264] và *Tigriopus californicus* [265]. Tương tự, cho thấy sức sinh sản và khả năng sinh trứng của các loài giáp xác chân chèo biển có thể tỷ lệ thuận với kích thước con cái [266, 267]. Không những kích thước con cái *P. annandalei* ở nhiệt độ 34°C có thể góp phần dẫn tới kết quả sức sinh sản thấp hơn, mà ảnh hưởng của nhiệt độ lên sức sinh sản vẫn còn rõ ràng sau khi quy đổi sức sinh sản trên sinh khối của con cái ra sức sinh sản đặc trưng. Có cho rằng sự hình thành và phát triển trứng có thể bị chi phối

bởi sự ảnh hưởng của yếu tố nhiệt độ lên sinh lý cơ thể copepod. Loài *P. incisus* cũng có sức sinh sản thấp hơn ở nhiệt độ 34°C so với nhiệt độ 30°C nhưng không phải do kích thước ở tuổi trưởng thành nhỏ hơn mà được cho là do sự giảm ăn của con trưởng thành ở nhiệt độ cao hơn nên làm giảm nguồn vật chất cung cấp cho sự sinh sản của *P. incisus* [261].

c) Tỷ lệ nở thành công

Tỷ lệ nở của *P. annandalei* ở nhiệt độ 30°C (đôi trứng) cao (80 - 90%), tương tự như ở các nghiên cứu trước [222, 268], trong khi tỷ lệ nở thành công của *P. annandalei* là 70% ở nhiệt độ 34°C. Nghiên cứu cho thấy, nhiệt độ nước tăng có thể làm giảm tỷ lệ nở thành công ở *Calanus finmarchicus*, tỷ lệ nở thành công không bị ảnh hưởng trong khoảng nhiệt độ từ 6°C đến 19°C, nhưng bị giảm tới 25% ở nhiệt độ 22°C và không có các trứng nở ở nhiệt độ 25°C [269]. Tỷ lệ nở kém còn có thể do sự dự trữ vật chất ở con cái thấp [270]. Sự dự trữ ở con cái thấp có thể giải thích cho tỷ lệ nở thấp ở *P. annandalei* vì chúng giảm ăn ở nhiệt độ 34°C so với ở nhiệt độ 30°C. Hơn nữa, nhiệt độ cao 34°C có thể tác động tiêu cực lên sự phát triển phôi, làm giảm tỷ lệ nở thành công. Các nghiên cứu trước cho thấy sự ảnh hưởng trực tiếp của nhiệt độ cao lên tỷ lệ sống của phôi của loài *Pseudodiaptomus incisus* [261, 260], cũng như ở một số loài khác như nhện [271] và cá biển [272].

d) Số ấu trùng/Cái

Các kết quả của sức sinh sản, tỷ lệ nở thấp hơn ở nhiệt độ 34°C là tác nhân gây ra số ấu trùng/Cái thấp hơn so với nhiệt độ 30°C. Kết quả này cũng được thấy giống như trên loài *P. incisus* [260]. Nhiệt độ 30°C, tỷ lệ nở thành công và số ấu trùng sinh ra như nhau, cho thấy không có sự thích nghi phát triển với nhiệt độ qua 3 thế hệ. Sức sinh sản và sức sinh sản đặc trưng của con cái ở nhiệt độ 30°C (đôi trứng) giảm sau mỗi thế hệ, tương tự như kết quả với sức sinh sản đặc trưng. Một số nghiên cứu cho thấy ảnh hưởng qua 3 thế hệ [273, 274]. Sự ảnh hưởng nhiều thế hệ này có thể với trường hợp *P. annandalei* trong điều kiện phòng thí nghiệm.

Nhiều nghiên cứu trước cho thấy sự thuần hóa nhanh hoặc sự thích nghi nhanh của nhiều loài sinh vật biển nhiệt đới với sự ấm lên của trái đất như cá *Acanthochromis polyacanthus* [275], thì lại không phải là trường hợp với loài *P. annandalei*. Cho rằng loài này không có khả năng thích nghi với sự ấm lên chỉ qua 3 thế hệ. Nghiên cứu

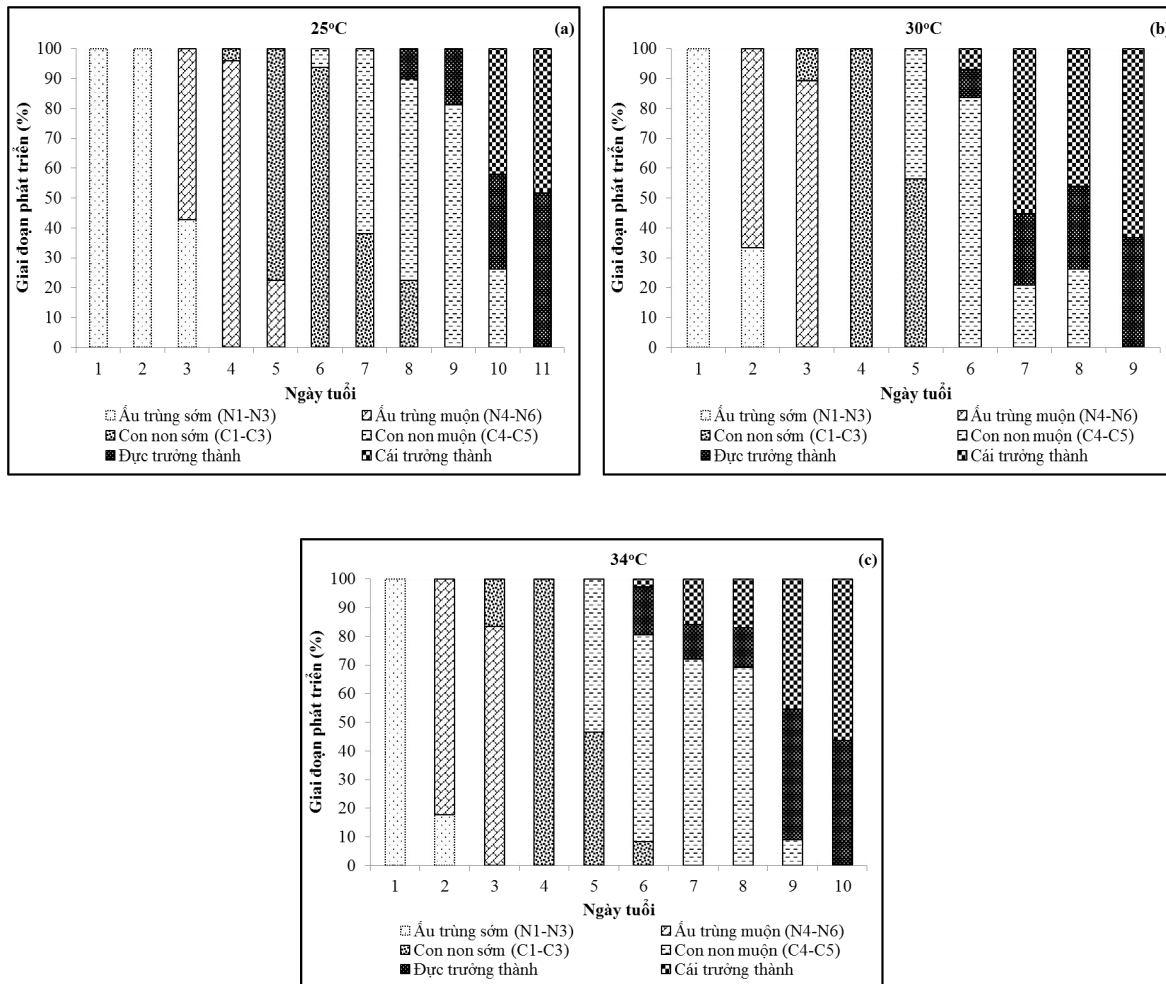
trước đó ở vùng biển ven bờ nông Đông Nam Á cho thấy sự ấm lên cùng với những tác động xấu của con người đã tác động những loài giáp xác chân chèo nhỏ như *Oithona simplex*, *Hemicyclops sp.*, *Pseudomacrochiron sp.* và *Microsetellator vegica* hay làm giảm kích thước như trường hợp của loài *Pseudodiaptomus bowmani*, cùng giống với loài *P. annandalei* [276]. Trong khi tác động này sẽ trở lên phức tạp hơn với nhiều yếu tố tác động khác, đặc biệt chất lượng và số lượng thức ăn, sự ấm lên có thể làm thay đổi mạnh tới cấu trúc, chức năng và động lực của chuỗi thức ăn. Điều này đã được quan sát ở vùng đa dạng sinh học cận nhiệt đới trên trái đất [277].

### **3.4. Ảnh hưởng của nhiệt độ lên sinh trưởng và sinh sản của *P. annandalei***

#### **3.4.1. Phát triển quần thể và sinh trưởng của *P. annandalei* ở 25°C, 30°C và 34°C**

Quần thể ở nhiệt độ 30°C phát triển đến giai đoạn trưởng thành nhanh hơn so với quần thể ở 34°C và chậm nhất ở nhiệt độ 25°C (Hình 3.12). Giai đoạn ấu trùng ở 2 nhiệt độ 30°C, 34°C chỉ kéo dài đến hết 3 ngày sau khi nở, trong khi ở nhiệt độ 25°C giai đoạn ấu trùng kéo dài đến ngày thứ 5 (còn 22%). Giai đoạn con non xuất hiện từ ngày thứ 3 kéo dài đến ngày thứ 8 (còn 26%) với nhiệt độ 30°C và từ ngày thứ 3 kéo đến ngày thứ 9 (còn 9%) ở nhiệt độ 34°C. Trong khi ở nhiệt độ 25°C, giai đoạn con non bắt đầu xuất hiện từ ngày thứ 4 chỉ với 4% và kéo dài đến ngày thứ 10 (vẫn còn 26%). Quần thể xuất hiện giai đoạn trưởng thành từ ngày thứ 6 ở cả 2 nhiệt độ 30°C và 34°C, muộn hơn 2 ngày ở ngày thứ 8 với nhiệt độ 25°C. Quần thể hoàn toàn trưởng thành ở 9 ngày tuổi với nhiệt độ 30°C, sớm hơn 1 ngày so với ở nhiệt độ 34°C (10 ngày tuổi) và sớm hơn 2 ngày so với quần thể nuôi ở nhiệt độ 25°C (11 ngày tuổi).

Kết quả đo kích thước ở bảng 3.11 cho thấy nhiệt độ có ảnh hưởng tới kích thước *P. annandalei* ở các giai đoạn phát triển. Kích thước của giai đoạn ấu trùng 1 và ấu trùng 2 sai khác nhưng không có ý nghĩa thống kê ( $P > 0,05$ ) giữa các nhiệt độ. Từ giai đoạn ấu trùng 3 đến giai đoạn con non 4, kích thước *P. annandalei* ở 2 nhiệt độ 30°C và 34°C nhỏ hơn so với ở nhiệt độ 25°C ( $P < 0,05$ ). Kích thước của các giai đoạn C5 và con trưởng thành giảm dần khi nhiệt độ tăng từ 25°C đến 34°C và sai khác có ý nghĩa thống kê giữa các nhiệt độ với nhau ( $P < 0,05$ ). Nhiệt độ 30°C, tốc độ sinh trưởng đặc trưng (%/ngày) của *P. annandalei* đạt cao nhất ở con cái (23%/ngày) và ở con đực (22%/ngày). Tốc độ sinh trưởng thấp hơn ở nhiệt độ 34°C và thấp nhất ở nhiệt độ 25°C ( $P < 0,05$ , Bảng 3.11).



Hình 3.12. Sự phát triển quần thể ở nhiệt độ 25°C (a), 30°C (b) và 34°C (c).

Bảng 3.11. Kích thước (μm) các giai đoạn phát triển và tốc độ sinh trưởng của *P. annandalei* ở nhiệt độ 25°C, 30°C và 34°C.

| Giai đoạn | Nhiệt độ 25°C           |        | Nhiệt độ 30°C           |        | Nhiệt độ 34°C           |        |
|-----------|-------------------------|--------|-------------------------|--------|-------------------------|--------|
|           | (11 ngày)               |        | (9 ngày)                |        | (10 ngày)               |        |
| N1        | 118 ± 12,6 <sup>a</sup> | (n=14) | 122 ± 13,7 <sup>a</sup> | (n=19) | 119 ± 11,8 <sup>a</sup> | (n=16) |
| N2        | 170 ± 20,0 <sup>a</sup> | (n=29) | 167 ± 17,1 <sup>a</sup> | (n=48) | 168 ± 16,3 <sup>a</sup> | (n=32) |
| N3        | 207 ± 16,9 <sup>b</sup> | (n=29) | 194 ± 16,1 <sup>a</sup> | (n=24) | 187 ± 16,8 <sup>a</sup> | (n=24) |
| N4        | 260 ± 25,1 <sup>b</sup> | (n=12) | 241 ± 13,9 <sup>a</sup> | (n=29) | 237 ± 19,4 <sup>a</sup> | (n=37) |
| N5        | 285 ± 11,3 <sup>b</sup> | (n=13) | 267 ± 17,4 <sup>a</sup> | (n=23) | 268 ± 26,1 <sup>a</sup> | (n=33) |
| N6        | 294 ± 14,4 <sup>b</sup> | (n=19) | 280 ± 23,4 <sup>a</sup> | (n=24) | 286 ± 18,8 <sup>a</sup> | (n=15) |
| C1        | 316 ± 33,1 <sup>b</sup> | (n=19) | 289 ± 17,2 <sup>a</sup> | (n=27) | 290 ± 16,3 <sup>a</sup> | (n=11) |
| C2        | 402 ± 28,8 <sup>b</sup> | (n=21) | 329 ± 19,7 <sup>a</sup> | (n=10) | 322 ± 17,5 <sup>a</sup> | (n=11) |
| C3        | 490 ± 55,9 <sup>b</sup> | (n=19) | 381 ± 23,8 <sup>a</sup> | (n=40) | 371 ± 18,9 <sup>a</sup> | (n=27) |

|                        |                                |                                 |                                 |
|------------------------|--------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|
| C4                     | 556 ± 65,5 <sup>b</sup> (n=21) | 508 ± 37,2 <sup>a</sup> (n=59)  | 489 ± 49,1 <sup>a</sup> (n=57)  |
| C5                     | 635 ± 55,9 <sup>c</sup> (n=28) | 600 ± 32,4 <sup>b</sup> (n=29)  | 551 ± 92,5 <sup>a</sup> (n=53)  |
| Đực TT                 | 695 ± 51,8 <sup>b</sup> (n=63) | 681 ± 42,6 <sup>b</sup> (n=200) | 662 ± 40,1 <sup>a</sup> (n=214) |
| Cái TT                 | 877 ± 56,6 <sup>c</sup> (n=58) | 790 ± 70,1 <sup>b</sup> (n=262) | 773 ± 60,6 <sup>a</sup> (n=193) |
| SGR <sub>L</sub> - cái | 20 ± 0,1 <sup>a</sup>          | 23 ± 0,1 <sup>c</sup>           | 21 ± 0,1 <sup>b</sup>           |
| SGR <sub>L</sub> - đực | 18 ± 0,1 <sup>a</sup>          | 22 ± 0,1 <sup>c</sup>           | 19 ± 0,1 <sup>b</sup>           |

*Các số liệu biểu diễn: Trung bình ± Độ lệch số chuẩn (TB ± SD); riêng SGR<sub>L</sub> (%/ngày) biểu diễn: Trung bình ± sai số chuẩn (TB ± SE). Ký hiệu chữ cái khác nhau trên cùng một hàng thể hiện sai khác có ý nghĩa thống kê ( $P < 0,05$ ).*

### 3.4.2. Tỷ lệ sống, sức sinh sản và tỷ lệ nở thành công, số ấu trùng/Cái

Qua bảng 3.12 cho thấy nhiệt độ ảnh hưởng đến các tỷ lệ sống, sức sinh sản, tỷ lệ nở thành công, số ấu trùng/Cái. Hai nhiệt độ 25°C, 30°C cho kết quả các thông số trên cao hơn so với nghiệm thức nhiệt độ 34°C sai khác có ý nghĩa thống kê ( $P < 0,05$ ). Các thông số như tỷ lệ sống đến giai đoạn trưởng thành, tỷ lệ nở thành công, số ấu trùng/Cái khác biệt không có ý nghĩa thống kê giữa 2 nghiệm thức nhiệt độ 25°C và 30°C ( $P > 0,05$ ). Sức sinh sản trung bình cao nhất ở nhiệt độ 25°C (22,5 trứng/lần đẻ) và giảm ở 30°C (19,6 trứng/lần đẻ) và thấp nhất ở 34°C (14,5 trứng/lần đẻ) ( $P < 0,05$ ).

Bảng 3.12. Ảnh hưởng của nhiệt độ lên tỷ lệ sống, sức sinh sản, tỷ lệ nở thành công và số ấu trùng/Cái *P. annandalei*.

| Thông số            | Nhiệt độ 25°C            | Nhiệt độ 30°C            | Nhiệt độ 34°C            |
|---------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| Tỷ lệ sống          | 56,8 ± 1,70 <sup>b</sup> | 57,8 ± 3,99 <sup>b</sup> | 36,3 ± 4,09 <sup>a</sup> |
| Sức sinh sản        | 22,5 ± 0,97 <sup>c</sup> | 19,6 ± 0,44 <sup>b</sup> | 14,5 ± 0,61 <sup>a</sup> |
| Tỷ lệ nở thành công | 83,3 ± 2,64 <sup>b</sup> | 91,7 ± 4,56 <sup>b</sup> | 63,3 ± 2,04 <sup>a</sup> |
| Số ấu trùng/Cái     | 16,4 ± 2,74 <sup>b</sup> | 16,4 ± 1,02 <sup>b</sup> | 9,2 ± 0,96 <sup>a</sup>  |

*Số liệu biểu diễn: Trung bình ± sai số chuẩn (TB ± SE). Ký hiệu chữ cái khác nhau trên cùng một hàng thể hiện sai khác có ý nghĩa thống kê ( $P < 0,05$ ).*

### 3.4.3. Tổng số ấu trùng/Cái trong 10 ngày và tuổi thọ của *P. annandalei*

Bảng 3.13 cho thấy, nhiệt độ ảnh hưởng đến tổng số ấu trùng được sinh ra trong 10 ngày và tuổi thọ của loài *P. annandalei*. Tổng số ấu trùng được sinh ra bởi mỗi con cái trong 10 ngày cao nhất ở nhiệt độ 30°C (trung bình 178 ấu trùng/Cái), tiếp theo là ở nhiệt độ 25°C (101,6 ấu trùng/Cái) và thấp nhất ở 34°C (78,4 ấu trùng/Cái) ( $P < 0,05$ ).

Kết quả nghiên cứu cũng cho thấy tuổi thọ của con đực và con cái là tương đương nhau ở từng mức nhiệt độ. Tuổi thọ của các con đực và con cái giảm khi nhiệt độ tăng: tuổi thọ trung bình 43 - 44 ngày tuổi ở 25°C, ngắn hơn là 38 - 39 ngày ở 30°C và ngắn nhất với 32 ngày tuổi ở 34°C ( $P < 0,05$ , Bảng 3.13).

Bảng 3.13. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến sinh sản và tuổi thọ của *P. annandalei*.

| Thông số                     | Nhiệt độ 25°C             | Nhiệt độ 30°C             | Nhiệt độ 34°C            |
|------------------------------|---------------------------|---------------------------|--------------------------|
| Tổng số ấu trùng/Cái 10 ngày | 101,6 ± 3,74 <sup>b</sup> | 178,0 ± 7,90 <sup>c</sup> | 78,4 ± 4,67 <sup>a</sup> |
| Tuổi thọ con đực             | 43,2 ± 0,58 <sup>c</sup>  | 38,8 ± 1,59 <sup>b</sup>  | 32,0 ± 0,71 <sup>a</sup> |
| Tuổi thọ con cái             | 44,0 ± 0,55 <sup>c</sup>  | 38,2 ± 1,39 <sup>b</sup>  | 32,0 ± 0,55 <sup>a</sup> |

Số liệu biểu diễn: Trung bình ± sai số chuẩn ( $TB \pm SE$ ). Ký hiệu chữ cái khác nhau trên cùng một hàng thể hiện sai khác có ý nghĩa thống kê ( $P < 0,05$ ).

#### 3.4.4. Thảo luận

Nhiệt độ ảnh hưởng rõ ràng tới sự phát triển của quần thể *P. annandalei*. Nhiệt độ 30°C nằm trong khoảng nhiệt độ tối ưu cho sự phát triển của loài *P. annandalei*, từ 26°C đến 32°C [182] nên kết quả cho thấy ở nhiệt độ 30°C quần thể phát triển đạt con trưởng thành sớm hơn so với 2 nhiệt độ 25°C và 34°C. Copepoda thuộc nhóm động vật biến nhiệt nên nhiệt độ cơ thể bị ảnh hưởng bởi nhiệt độ môi trường nước. Do vậy, các quá trình trao đổi chất trong cơ thể cũng bị ảnh hưởng bởi nhiệt độ nước, trong khoảng nhiệt độ thích hợp thì khi nhiệt độ tăng thì quá trình trao đổi chất tăng, đồng nghĩa quá trình phát triển nhanh hơn. Điều này có thể giải thích tại sao quần thể nuôi ở 2 nhiệt độ 30°C và 34°C phát triển nhanh hơn so với nhiệt độ 25°C. Kết quả này cũng tương đồng với nghiên cứu của Golez và cộng sự (2004), Chen và cộng sự (2006) và Beyrend - Dur và cộng sự (2011) cho rằng, copepod nuôi ở nhiệt độ thấp hơn thì thời gian phát triển để đạt tới trưởng thành thành thực dài hơn. Cụ thể con trưởng thành sinh sản ở ngày tuổi thứ 7 (ở nhiệt độ 33°C) và kéo dài đến ngày tuổi thứ 13 (ở nhiệt độ 25°C), trưởng thành có thể bị kéo dài từ 20 ngày đến 28 ngày tuổi khi nuôi ở nhiệt độ 18 - 20°C [169, 170, 141]. Nghiên cứu trên loài *P. pelagicus* trong khoảng nhiệt độ từ 24°C đến 34°C cũng cho thấy thời gian phát triển từ ấu trùng đến giai đoạn trưởng thành giảm từ 12,8 ngày xuống 8 ngày nuôi [278]. Tương tự, loài *P. incisus* ở độ mặn 20‰, khi nhiệt độ tăng từ 26°C đến 34°C, sự phát triển đạt con trưởng thành sớm hơn từ 4 đến 6 ngày [261]. Tuy nhiên loài *P. incisus* phát triển nhanh hơn ở nhiệt độ 34°C

so với nhiệt độ 30°C [261], ngược với kết quả trong nghiên cứu này trên loài *P. annandalei*. Thực tế và quan sát, thí nghiệm cho thấy có sự phân bố của cả 2 loài Copepoda này nhưng loài *P. incisus* chiếm ưu thế hơn so với loài *P. annandalei* vào mùa hè khi nhiệt độ nước ao cao, đôi khi hơn nhiệt độ 34°C. Như vậy có thể loài *P. incisus* chịu đựng được nhiệt độ cao tốt hơn so với loài *P. annandalei*.

Kích thước con trưởng thành có xu hướng giảm khi nhiệt độ tăng. Nghiên cứu của Trương Sỹ Hải Trình (2016) cũng cho thấy xu hướng tương tự trên cùng loài *P. annandalei* [6]. Trong cũng cho thấy con đực và con cái trưởng thành nuôi ở nhiệt độ 30°C có kích thước lớn hơn so với ở nhiệt độ 34°C. Kết quả được cho thấy tương tự như trên loài *P. incisus*, con trưởng thành có kích thước giảm khi nuôi ở nhiệt độ tăng từ 26°C đến 34°C ở các độ mặn 15 - 20‰ [261], hay kích thước nhỏ hơn ở nhiệt độ 34°C so với kích thước ở nhiệt độ 30°C [260]. Có thể trong khoảng nhiệt độ thích hợp của loài *P. annandalei* khi nhiệt độ tăng lên dẫn tới sự phát triển đạt con trưởng thành sớm hơn là nguyên nhân dẫn tới kích thước trưởng thành và sinh sản nhỏ hơn ở nhiệt độ 30°C so với nhiệt độ 25°C. Đồng thời nhiệt độ 34°C là ngoài khoảng thích hợp trên của loài *P. annandalei* nên cũng có thể dẫn tới việc sử dụng nhiều hơn nguồn năng lượng hơn cho quá trình trao đổi chất (ví dụ như hô hấp) thay vì tập trung cho quá trình tăng trưởng nên dẫn tới kích thước copepod ở nhiệt độ 34°C nhỏ hơn so với nhiệt độ 30°C. Tuy nhiên, khi xét về tốc độ sinh trưởng ta thấy xu hướng tốc độ sinh trưởng tương đồng với sự phát triển của quần thể. Do copepod phát triển đạt con trưởng thành ở nhiệt độ 34°C sớm hơn so với copepod ở 25°C nên tốc độ sinh trưởng của con trưởng thành ở nhiệt độ 34°C lại cao hơn so với con trưởng thành ở nhiệt độ 25°C. Trong khi, copepod đạt con trưởng thành sớm nhất ở nhiệt độ 30°C thì tốc độ sinh trưởng đạt giai đoạn trưởng thành cũng là cao nhất so với các nhiệt độ 25°C, 34°C.

Nghiên cứu trên ở 3 thể hệ loài *P. annandalei* cũng cho thấy kết quả tương đồng là copepod nuôi ở nhiệt độ 34°C, nhiệt độ ngoài ngưỡng thích hợp trên của loài này, cho kết quả về các chỉ tiêu sinh sản như sức sinh sản, tỷ lệ nở, số ấu trùng/Cái thấp hơn so với copepod nuôi ở nhiệt độ 30°C. Nghiên cứu trên loài *P. pelagicus* cũng cho kết quả sinh sản kém nhất ở nhiệt độ 34°C [278]. Tương tự, loài *P. incisus* nuôi ở nhiệt độ 34°C cũng cho kết quả thấp hơn về sức sinh sản, tỷ lệ nở, khả năng sinh ấu trùng trong đời so với loài *P. incisus* nuôi ở nhiệt độ 30°C [260]. Mặc dù nuôi ở nhiệt độ 25°C,



*P. annandalei* có sức sinh sản cao hơn so với ở nhiệt độ 30°C nhưng số lượng ấu trùng được sinh ra bởi mỗi con cái lại cao hơn ở nhiệt độ 30°C. Số lượng ấu trùng được sinh ra không chỉ liên quan đến sức sinh sản, tỷ lệ nở mà còn bị chi phối bởi tốc độ sinh sản như nhịp sinh sản trung bình là 34 giờ ở nhiệt độ 25°C. Theo quan sát, con cái có thời gian giữa 2 lần sinh sản là dài hơn ở nhiệt độ 25°C so với ở nhiệt độ 30°C nên dẫn tới tổng số bọc trứng là ít hơn trong 10 ngày. Những điều này lý giải tại sao *P. annandalei* nuôi ở nhiệt độ 30°C lại có khả năng sinh sản ra nhiều ấu trùng hơn so với ở các nhiệt độ 25°C, 34°C. Tuổi thọ của con đực và con cái của loài *P. annandalei* giảm khi nhiệt độ tăng. Tương tự như trong nghiên cứu của Beyrend - Dur và cộng sự (2011), tác giả cũng chỉ ra trong khoảng nhiệt độ thí nghiệm từ 18°C đến 32°C, tuổi thọ của *P. annandalei* ngắn hơn khi nhiệt độ tăng dần [141]. Tương tự, loài *P. incisus* nuôi ở 34°C cũng có tuổi thọ ngắn hơn so với ở nhiệt độ 30°C [260].

Như vậy, việc chỉ ra nhiệt độ thích hợp 30°C cho phát triển và khả năng sinh ấu trùng của *P. annandalei* trong nghiên cứu này là bước đầu để tối ưu hóa nuôi sinh khối và sinh sản ấu trùng ở quy mô lớn hơn. Đồng thời cũng cần thiết kiểm soát tốt yếu tố nhiệt độ trong nuôi sinh khối và trong nuôi sinh sản ấu trùng để tránh bị ảnh hưởng tiêu cực bởi nhiệt độ cao hay nhiệt độ thấp hơn nhiệt độ tối ưu.

### **3.5. Khả năng chịu sốc độ mặn và sự tương tác của độ mặn với nhiệt độ lên đặc điểm sinh học và sinh sản của *P. annandalei***

#### **3.5.1. Ảnh hưởng của sốc các độ mặn lên tỷ lệ sống của các giai đoạn, tỷ lệ nở và số ấu trùng/Cái**

Độ mặn và các giai đoạn phát triển, cũng như sự tương tác của 2 yếu tố này là những yếu tố chính ảnh hưởng đến tỷ lệ sống của *P. annandalei* khi bị sốc các độ mặn ( $P < 0,001$ , Bảng 3.14). Ngoài ra yếu tố thời gian sốc các độ mặn cũng ảnh hưởng đến tỷ lệ sống ( $P < 0,05$ ), tuy nhiên sự tương tác của thời gian sốc với các yếu tố khác lại không ảnh hưởng đến tỷ lệ sống của các giai đoạn phát triển copepod ( $P > 0,05$ , Bảng 3.14).

Kết quả (Hình 3.13 a) cho thấy 100% ấu trùng chết tại thời điểm 24 giờ ở các độ mặn 0, 5, 10, 35, 40‰ và tại thời điểm 48 giờ ở các độ mặn 15, 25, 30‰. Ở độ mặn 20‰, giai đoạn ấu trùng có tỷ lệ sống cao đạt 90% và 80% tương ứng với thời điểm 24 giờ và 48 giờ, sai khác có ý nghĩa thống kê với tất cả các độ mặn còn lại ( $P < 0,05$ ).

Tỷ lệ sống của giai đoạn con non đạt hơn 60% ở các độ mặn 20, 25, 30‰ và sai khác không có ý nghĩa thống kê giữa 3 nghiệm thức này ( $P > 0,05$ , Hình 3.13 b). Tỷ lệ sống của con non thấp hơn ở những nghiệm thức độ mặn 10, 15, 35, 40‰ và 100% chết ở độ mặn 0‰ tại thời điểm 24 giờ. Tại thời điểm 48 giờ, 100% con non chết ở các độ mặn 5‰ và 40‰, tỷ lệ sống trung bình 6,7% ở các độ mặn 10‰ và 35‰. Tỷ lệ sống con non tại thời điểm 24 giờ ở độ mặn 15‰ thấp hơn so với ở độ mặn 20‰ ( $P < 0,05$ ), nhưng lại sai khác không có ý nghĩa thống kê với nghiệm thức độ mặn 25‰, 30‰ ( $P > 0,05$ ). Tỷ lệ sống trung bình của con non tại thời điểm 48 giờ thấp hơn so với tỷ lệ sống tại thời điểm 24 giờ ở các độ mặn từ 5‰ đến 40‰ (Hình 3.13 b).

Con đực trưởng thành có tỷ lệ sống cao ở các độ mặn từ 5‰ đến 30‰ đạt tỷ lệ sống từ 80% tại cả 2 thời điểm 24 giờ và 48 giờ (Hình 3.13 c), sai khác không có ý nghĩa thống kê giữa các độ mặn này ( $P > 0,05$ ). Tỷ lệ sống thấp hơn ở các độ mặn 35‰ và 40‰, sai khác có ý nghĩa thống kê với nhau và với các độ mặn còn lại ( $P < 0,05$ ). Con đực chết hoàn toàn ở độ mặn 0‰ ngay tại thời điểm 24 giờ. Tỷ lệ sống trung bình của con đực trưởng thành tại thời điểm 48 giờ giảm ở các độ mặn 5, 10, 30, 35, 40‰.

Con cái trưởng thành đạt tỷ lệ sống 100% ở thời điểm 48 giờ ở các độ mặn từ 10‰ đến 30‰, thấp hơn đạt 86,7% ở độ mặn 5‰ và 90% ở độ mặn 35‰ (Hình 3.13 d). Tỷ lệ sống sai khác không có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức độ mặn từ 5‰ đến 35‰, ở cả 2 thời điểm 24 giờ và 48 giờ ( $P > 0,05$ ). Tỷ lệ sống đạt thấp hơn ở độ mặn 40‰ (40%) và 0‰ (0%). Đồng thời tỷ lệ sống ở 2 độ mặn 40‰ và 0‰ sai khác có ý nghĩa thống kê với nhau và với các nghiệm thức độ mặn còn lại ( $P < 0,05$ ). Tỷ lệ sống con cái trưởng thành như nhau tại 2 thời điểm 24 giờ và 48 giờ cả tất cả các độ mặn (Hình 3.13 d). Sự tương tác 2 yếu tố độ mặn - giai đoạn copepod có ảnh hưởng tới tỷ lệ sống copepod nhưng sự tương tác của 3 yếu tố độ mặn - thời gian sốc - giai đoạn lại không ảnh hưởng đến tỷ lệ sống copepod (Bảng 3.14).

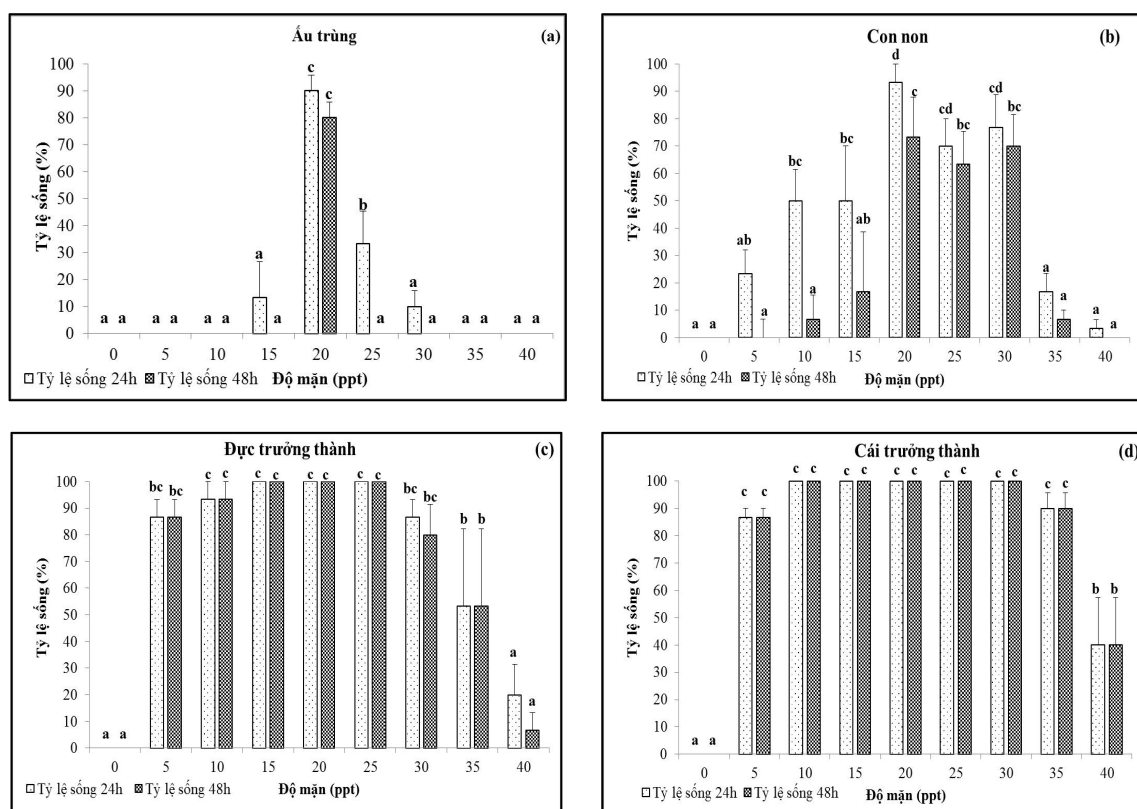
Kết quả về ảnh hưởng của sốc độ mặn đến sinh sản cho thấy tỷ lệ nở của trứng bị ảnh hưởng khi chuyển từ độ mặn 20‰ vào các độ mặn khác mà không qua thuần độ mặn (Hình 3.14 a). Tỷ lệ con cái có trứng nở ra ấu trùng đạt cao nhất ở các độ mặn 20, 25, 30‰ với 95 - 97%, sai khác không có ý nghĩa thống kê giữa 3 nghiệm thức độ mặn này ( $P > 0,05$ ), sai khác có ý nghĩa thống kê với các nghiệm thức độ mặn còn lại

( $P < 0,05$ ). Tỷ lệ nở bằng 0% ở 2 độ mặn 0‰ và 40‰. Các độ mặn 10‰ và 15‰ có tỷ lệ nở đạt 75 - 78%. Các độ mặn 5‰ và 35‰ có tỷ lệ nở trung bình thấp hơn đạt lần lượt là 42% và 28%, sai khác có ý nghĩa thống kê với nhau và với các nghiệm thức độ mặn khác ( $P < 0,05$ ). Số ấu trùng nở ra còn sống/Cái bị ảnh hưởng bởi sốc các độ mặn (Hình 3.14 b). Số lượng ấu trùng trung bình nở ra còn sống cao nhất đạt 15 - 16 ấu trùng/Cái ở 2 độ mặn 20‰ và 25‰, sai khác không có ý nghĩa thống kê với nhau ( $P > 0,05$ ), nhưng lại sai khác có ý nghĩa thống kê với các độ mặn còn lại ( $P < 0,05$ ).

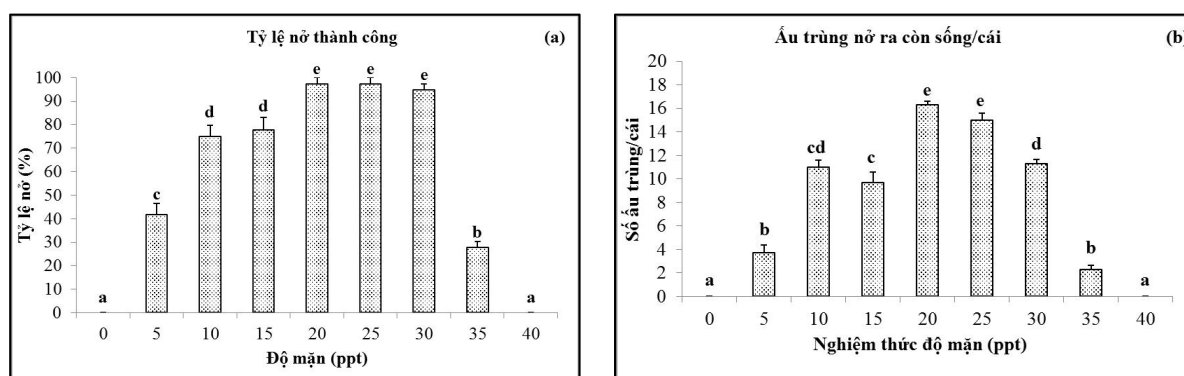
Bảng 3.14. Phân tích phương sai đa yếu tố (Two-way ANOVAs): ảnh hưởng của độ mặn, thời gian sốc, giai đoạn phát triển đến tỷ lệ sống của *P. annandalei*. Giá trị  $P$  in đậm thể hiện khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $P < 0,05$ ).

| Ảnh hưởng lên tỷ lệ sống (%)       | <i>df</i> | <i>F</i> | <i>P</i>          |
|------------------------------------|-----------|----------|-------------------|
| Độ mặn                             | 8         | 88,069   | <b>&lt;0,001</b>  |
| Thời gian sốc                      | 1         | 7,177    | <b>0,008</b>      |
| Giai đoạn                          | 3         | 229,236  | <b>&lt; 0,001</b> |
| Độ mặn × Thời gian sốc             | 8         | 0,256    | 0,979             |
| Độ mặn × Giai đoạn                 | 24        | 11,303   | <b>&lt; 0,001</b> |
| Thời gian sốc × Giai đoạn          | 3         | 1,800    | 0,150             |
| Độ mặn × Thời gian sốc × Giai đoạn | 24        | 0,470    | 0,983             |

Ở các độ mặn 10, 15, 30‰, số lượng ấu trùng trung bình được sinh ra còn sống thấp hơn đạt 10 - 11 ấu trùng/Cái. Ở độ mặn 35‰, số lượng ấu trùng trung bình được sinh ra còn sống thấp nhất đạt 2 ấu trùng/Cái, sai khác không có ý nghĩa thống kê với độ mặn 5‰ (4 ấu trùng/Cái) ( $P > 0,05$ ), nhưng lại sai khác có ý nghĩa thống kê với các độ mặn còn lại ( $P < 0,05$ ). Toàn bộ trứng không có nở ở 2 độ mặn 0‰ và 40‰.



Hình 3.13. Ảnh hưởng của sức độ mặn đến tỷ lệ sống các giai đoạn phát triển: a) ấu trùng, b) con non, c) con đực trưởng thành, d) con cái trưởng thành *P. annandalei*. Số liệu biểu diễn: Trung bình  $\pm$  sai số chuẩn ( $TB \pm SE$ ). Các chữ cái khác nhau trên các cột thể hiện sai khác có ý nghĩa thống kê ( $P < 0,05$ ).



Hình 3.14. Ảnh hưởng của sức độ mặn lên tỷ lệ nở (a) và số ấu trùng nở ra còn sống/Cái (b). Số liệu biểu diễn: Trung bình  $\pm$  sai số chuẩn ( $TB \pm SE$ ). Các chữ cái khác nhau trên các cột thể hiện sai khác có ý nghĩa thống kê ( $P < 0,05$ ).

### 3.5.2. Ảnh hưởng của độ mặn và nhiệt độ lên sinh trưởng và sinh sản

Kết quả trình bày ở cho thấy độ mặn và nhiệt độ cũng như sự tương tác của 2 yếu tố này đều ảnh hưởng đến một số đặc điểm sinh trưởng và sinh sản của loài *P. annandalei* (Bảng 3.15).

Ở cùng độ mặn, kích thước trung bình và tốc độ sinh trưởng đặc trưng của con cái và con đực trưởng thành ở nhiệt độ 30°C lớn hơn so với con cái và con đực trưởng thành ở nhiệt độ 34°C. Con cái và con đực trưởng thành có kích thước trung bình và tốc độ sinh trưởng đặc trưng nhỏ nhất ở độ mặn 35‰ ở cả 2 nhiệt độ. Con đực trưởng thành ở các độ mặn từ 10‰ đến 25‰ có kích thước trung bình và tốc độ sinh trưởng đặc trưng lớn hơn so với các độ mặn còn lại. Con cái trưởng thành có kích thước trung bình và tốc độ sinh trưởng đặc trưng lớn nhất ở độ mặn 15‰ (Bảng 3.16).

Sức sinh sản trung bình ở nhiệt độ 30°C (13 - 17 trứng/Cái) cao hơn so với sức sinh sản của con cái ở nhiệt độ 34°C (12 - 13 trứng/Cái) cùng độ mặn. Ở nhiệt độ 30°C, sức sinh sản cao nhất ở độ mặn 15‰ và sai khác có ý nghĩa thống kê với các độ mặn còn lại ( $P < 0,05$ ). Ở nhiệt độ 34°C, sức sinh sản trung bình ở các độ mặn 15‰, 20‰ và 25‰ cao hơn so với các độ mặn còn lại, nhưng chỉ có khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các độ mặn 20‰ và 35‰ ( $P < 0,05$ ) (Bảng 3.16). Nhiệt độ, độ mặn và sự tương tác của 2 yếu tố này ảnh hưởng đến kích thước con đực, con cái trưởng thành và sức sinh sản copepod (Bảng 3.15).

Tỷ lệ nở thành công trung bình ở nhiệt độ 30°C (78 - 97%) luôn cao hơn so với tỷ lệ nở ở nhiệt độ 34°C (68 - 89%) cùng độ mặn. Các độ mặn 15, 20, 25‰, tỷ lệ nở trung bình cao hơn ở nhiệt độ 30°C. Các độ mặn 15, 20‰, tỷ lệ nở trung bình cao hơn so với các độ mặn còn lại ở nhiệt độ 34°C (Bảng 3.16). Tỷ lệ nở thành công trung bình thấp nhất ở độ mặn 35‰. Số ấu trùng/Cái trung bình (5,3 - 10,7 ấu trùng/Cái) ở nhiệt độ 30°C nhiều hơn so với số ấu trùng/Cái trung bình (4 - 8 ấu trùng/Cái) ở nhiệt độ 34°C cùng độ mặn. Ở nhiệt độ 30°C, số ấu trùng/Cái trung bình cao tại các độ mặn 10, 15, 20‰, khác biệt có ý nghĩa thống kê với các độ mặn còn lại ( $P < 0,05$ ). Trong khi ở nhiệt độ 34°C, số ấu trùng/Cái trung bình cao nhất ở 2 độ mặn 15, 20‰ và khác biệt có ý nghĩa thống kê với các độ mặn 5, 10, 30, 35‰ ( $P < 0,05$ ). Số ấu trùng/Cái trung bình thấp nhất ở độ mặn 35‰ ở cả 2 nhiệt độ (Bảng 3.16).

Tổng số ấu trùng sinh ra bởi mỗi con cái trong 10 ngày ở nhiệt độ 30°C (92 - 157 ấu trùng) nhiều hơn so với ở nhiệt độ 34°C (40 - 87 ấu trùng) trong cùng điều kiện độ mặn (Bảng 3.16). Hai độ mặn 10‰ và 15‰, số lượng ấu trùng sinh ra nhiều nhất và khác biệt có ý nghĩa thống kê với các độ mặn còn lại ở cả 2 nhiệt độ ( $P < 0,05$ ). Số lượng ấu trùng thấp nhất ở độ mặn 35‰ ở cả 2 nhiệt độ (Bảng 3.16).

Bảng 3.15. Phân tích phương sai đa yếu tố (Two-way ANOVAs): ảnh hưởng của độ mặn và nhiệt độ lên kích thước, SGR<sub>L</sub> của con đực và con cái trưởng thành, tỷ lệ nở thành công, số ấu trùng/Cái và tổng số ấu trùng/Cái trong 10 ngày.  
*Giá trị P in đậm thể hiện khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $P < 0,05$ ).*

| <b>Yếu tố ảnh hưởng</b> | <b>Các thông số</b>           | <b>df</b> | <b>F</b> | <b>P</b>         |
|-------------------------|-------------------------------|-----------|----------|------------------|
| Nhiệt độ                | Kích thước đực                | 1         | 427,428  | <b>&lt;0,001</b> |
|                         | Kích thước cái                | 1         | 179,347  | <b>&lt;0,001</b> |
|                         | SGR <sub>L</sub> đực          | 1         | 6598,527 | <b>&lt;0,001</b> |
|                         | SGR <sub>L</sub> cái          | 1         | 3627,606 | <b>&lt;0,001</b> |
|                         | Sức sinh sản                  | 1         | 325,507  | <b>&lt;0,001</b> |
|                         | Tỷ lệ nở thành công           | 1         | 13,567   | <b>0,01</b>      |
|                         | Số ấu trùng/Cái               | 1         | 40,111   | <b>&lt;0,001</b> |
|                         | Tổng số ấu trùng /Cái 10 ngày | 1         | 1489,649 | <b>&lt;0,001</b> |
| Độ mặn                  | Kích thước đực                | 6         | 22,960   | <b>&lt;0,001</b> |
|                         | Kích thước cái                | 6         | 6,115    | <b>&lt;0,001</b> |
|                         | SGR <sub>L</sub> đực          | 6         | 21,943   | <b>&lt;0,001</b> |
|                         | SGR <sub>L</sub> cái          | 6         | 6,223    | <b>&lt;0,001</b> |
|                         | Sức sinh sản                  | 6         | 13,049   | <b>&lt;0,001</b> |
|                         | Tỷ lệ nở thành công           | 6         | 5,493    | <b>0,01</b>      |
|                         | Số ấu trùng/Cái               | 6         | 20,898   | <b>&lt;0,001</b> |
|                         | Tổng số ấu trùng /Cái 10 ngày | 6         | 82,031   | <b>&lt;0,001</b> |
| Nhiệt độ × Độ mặn       | Kích thước đực                | 6         | 4,393    | <b>&lt;0,001</b> |
|                         | Kích thước cái                | 6         | 3,410    | <b>0,03</b>      |
|                         | SGR <sub>L</sub> đực          | 6         | 3,733    | <b>0,001</b>     |
|                         | SGR <sub>L</sub> cái          | 6         | 3,202    | <b>0,004</b>     |
|                         | Sức sinh sản                  | 6         | 10,822   | <b>&lt;0,001</b> |
|                         | Tỷ lệ nở thành công           | 6         | 0,378    | 0,887            |
|                         | Số ấu trùng/Cái               | 6         | 2,843    | <b>0,027</b>     |
|                         | Tổng số ấu trùng /Cái 10 ngày | 6         | 3,218    | <b>0,009</b>     |

### 3.5.3. Thảo luận

Thử nghiệm về sốc các độ mặn nhằm đánh giá được khả năng sống sót của *P. annandalei* khi môi trường nước nuôi thay đổi đột ngột hoặc khi copepod được sử dụng để làm thức ăn cho ấu trùng các đối tượng thủy sản ở các độ mặn nuôi khác nhau. Thí nghiệm này cũng có ý nghĩa để dự báo mật độ và khả năng thu sinh khối của *P. annandalei* trong các ao nuôi khu vực miền Trung, nơi thường xuyên bị ảnh hưởng bởi mưa lũ trong những tháng mùa mưa. Khi đó, độ mặn trong các ao nuôi có thể giảm nhanh và duy trì ở độ mặn thấp trong nhiều ngày. Mặc dù, *P. annandalei* là loài rộng muối nhưng vẫn không thể sống sót khi đưa vào nước ngọt, thể hiện tỷ lệ sống bằng 0% ở tất cả các giai đoạn. Nghiên cứu sốc các độ mặn loài *Eurytemora affinis* trưởng thành (loài rộng muối) từ độ mặn đang sống là 15‰ vào nước ngọt 0‰ cho tỷ lệ chết lên đến hơn 70% ngay trong 1 giờ thí nghiệm đầu tiên [279]. Khả năng chịu đựng được sốc các độ mặn của con cái trưởng thành tốt hơn so với con đực trưởng thành *P. annandalei* giống như trong nghiên cứu của Chen và cộng sự (2006) [170]. Tuy nhiên khác là trong nghiên cứu của Chen, con cái vẫn sống ở độ mặn 0‰ (tỷ lệ sống 26,73%) tại thời điểm 48 giờ. Giai đoạn trưởng thành có khả năng chịu đựng với sự thay đổi độ mặn tốt hơn so với giai đoạn con non và ấu trùng. Kết quả cho thấy ấu trùng không thể chịu đựng được sự thay đổi độ mặn ở mức từ 5‰ trong khoảng thời gian dài đến 48 giờ. Điều này cho thấy khả năng điều tiết áp suất thẩm thấu của ấu trùng kém, có thể cơ quan cho chức năng điều tiết áp suất thẩm thấu chưa phát triển ở giai đoạn đầu và chỉ phát triển hoàn thiện ở giai đoạn lớn hơn và trưởng thành. Quá trình điều tiết áp suất thẩm thấu ở copepod cũng tiêu tốn một phần năng lượng nên làm giảm phần năng lượng dành cho các quá trình quan trọng khác [280]. Khi bị sốc các độ mặn, copepod cũng tiêu tốn thêm nhiều năng lượng hơn do tăng hoạt động hô hấp [281]. Kết quả ấu trùng chết khi bị sốc các độ mặn có thể do bản thân nguồn dự trữ năng lượng trong cơ thể ấu trùng không đủ để đáp ứng cho hoạt động điều tiết áp suất thẩm thấu. Ngược lại, giai đoạn copepod trưởng thành có nhiều năng lượng dự trữ hơn và có khả năng điều tiết áp suất thẩm thấu tốt hơn nên có thể sống sót tốt hơn trong điều kiện thay đổi các độ mặn với khoảng từ 5‰ đến 15‰. Nghiên cứu trên loài *Acartia tonsa* và *A. clausi* cũng cho thấy con trưởng thành có khả năng chịu đựng được sốc các độ mặn tốt [282]. Kết quả con đực trưởng thành *P. annandalei* có tỷ lệ

sống thấp hơn so với con cái khi sốc các độ mặn 5, 10, 35, 40‰. Có thể do con đực trưởng thành có kích thước nhỏ hơn so với kích thước của con cái và năng lượng dự trữ của con đực ít hơn so với năng lượng của con cái mà con đực còn thường di chuyển nhiều hơn so với con cái nên tiêu hao nhiều năng lượng hơn cho cả quá trình vận động và quá trình điều tiết áp suất thẩm thấu, dễ bị chết hơn so với con cái khi bị sốc độ mặn. Do vậy, việc thuần độ mặn ở *P. annandalei* đối với các giai đoạn ấu trùng và con non, đặc biệt với giai đoạn ấu trùng thì cần thời gian dài hơn với mức tăng hay giảm đơn vị độ mặn nhỏ hơn.

Kết quả cho thấy ở các độ mặn từ 10‰ đến 30‰, tỷ lệ nở thành công và số ấu trùng/Cái cao. Do con cái có khả năng chịu đựng và điều tiết áp suất thẩm thấu tốt ở sốc các độ mặn này, tỷ lệ sống của con cái đạt 100%. Có thể copepod cái điều tiết được áp suất thẩm thấu của môi trường dịch trong bọc trứng tương đồng với môi trường nước bên ngoài. Đồng thời, phôi nằm trong bọc trứng cũng có cơ chế nào đó điều chỉnh phù hợp với môi trường bên ngoài giúp giảm sự ảnh hưởng hơn đến quá trình nở của trứng. Tỷ lệ nở thành công và số ấu trùng nở ra nhiều khi đưa con cái mang bọc trứng vào các độ mặn 25‰ và 30‰. Điều này cho thấy việc sử dụng loài *P. annandalei* làm thức ăn cho ương nuôi ấu trùng cá biển là phù hợp.

Mặc dù, nghiên cứu này cho thấy loài *P. annandalei* có thể sống và sinh sản được ở điều kiện độ mặn từ 5‰ đến 35‰ ở các nhiệt độ 30°C, 34°C nhưng các kết quả về kích thước trưởng thành, tốc độ sinh trưởng đặc trưng, tỷ lệ nở thành công, số ấu trùng/Cái và tổng số ấu trùng/Cái trong 10 ngày ở nhiệt độ 30°C lại cao hơn so với các chỉ tiêu của copepod ở nhiệt độ 34°C. Trong các thí nghiệm trên, copepod được nuôi ở độ mặn 20‰ đều cho kết quả về các chỉ tiêu trên ở nhiệt độ 30°C cao hơn so với ở nhiệt độ 34°C. Trong nghiên cứu của Chen và cộng sự (2006) ở nhiệt độ 25°C - 28°C, cũng cho thấy độ mặn thích hợp nhất cho sinh sản và phát triển của loài *P. annandalei* là 15‰ và kém nhất là độ mặn 35‰. Nghiên cứu này cũng thể hiện các kết quả về các chỉ tiêu sinh trưởng và sinh sản cao nhất ở độ mặn 15‰ và thấp nhất ở độ mặn 35‰ trong cả 2 nhiệt độ 30°C và 34°C. Tương tự, sự phát triển, sinh khối, sức sinh sản, khả năng sinh ấu trùng của loài *P. incisus* cũng tốt nhất ở các độ mặn 15‰, 20‰ so với các độ mặn hơn 15‰ và cao hơn 20‰ ở nhiệt độ từ 26°C đến 34°C [261]. Hai loài Copepoda này nuôi ở các độ mặn từ 35‰ đều cho thấy bị giảm sức sinh sản, tỷ lệ nở,



khả năng sinh ấu trùng. Thực tế theo quan sát, khi độ mặn trong nước ao tăng cao hơn 35‰ vào mùa hè số lượng *P. annandalei* giảm và không còn thấy khi độ mặn từ 40‰ kết hợp với nhiệt độ 35°C. Như vậy, mức độ mặn 35‰ được cho là gần với mức chịu đựng trên của loài nên cho các kết quả đều thấp nhất. Nghiên cứu của Trương Sĩ Hải Trình ở điều kiện nhiệt độ 30°C cũng chỉ ra tỷ lệ sống ấu trùng cao nhất ở độ mặn 15‰ [6]. Sức sinh sản, tỷ lệ nở và khả năng sinh sản của *P. annandalei* cũng cao hơn ở độ mặn 15‰ so với ở 2 độ mặn 5‰ và 25‰ trong các nhiệt độ thí nghiệm 20°C, 25°C và 30°C [141]. Nghiên cứu này, cũng như của Beyrend - Dur và cộng sự (2011), đều cho rằng sự kết hợp của độ mặn và nhiệt độ ảnh hưởng đến sức sinh sản và khả năng sinh sản của loài *P. annandalei*. Yếu tố độ mặn ở cả 2 thí nghiệm này đều ảnh hưởng tới sức sinh sản và khả năng sinh sản. Trong khi ở nghiên cứu của Beyrend - Dur và cộng sự (2011), họ cho rằng nhiệt độ riêng lẻ không ảnh hưởng đến sức sinh sản, khác với thí nghiệm này và thí nghiệm 3 qua 3 thể hệ là nhiệt độ riêng lẻ vẫn ảnh hưởng đến sức sinh sản của *P. annandalei*. Sự khác nhau này có thể do khác nhau về các mức nhiệt độ nghiên cứu giữa 2 thí nghiệm. Ở nghiên cứu khác của Thủy và cộng sự (2020), yếu tố nhiệt độ (26 - 34°C) và độ mặn (5 - 40‰), cũng như sự tương tác của 2 yếu tố này đều ảnh hưởng tới sinh khối, sức sinh sản, tỷ lệ nở và khả năng sinh sản của loài *P. incisus* [261]. Như vậy, nhiệt độ và độ mặn hay sự tương tác của 2 yếu tố này là quan trọng đối với nuôi sinh khối và nuôi sinh sản ấu trùng. Do vậy, sự kết hợp của nhiệt độ 30°C và độ mặn 15‰ được cho là thích hợp để phát triển nuôi sinh khối và nuôi sinh sản ấu trùng của loài *P. annandalei* ở quy mô lớn.

Bảng 3.16. Phân tích One - way ANOVA: ảnh hưởng của độ mặn lên kích thước và  $SGR_L$  của con trưởng thành, tỷ lệ nở, số ấu trùng/Cái và số ấu trùng sinh ra trong 10 ngày/cái ở 2 điều kiện nhiệt độ nuôi 30°C và 34°C.

| Thông số           | 5‰                      | 10‰                     | 15‰                     | 20‰                     | 25‰                     | 30‰                     | 35‰                    |
|--------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|------------------------|
| S - Đực 30°C       | 738±3,1 <sup>ab</sup>   | 747±4,3 <sup>b</sup>    | 752±4,1 <sup>b</sup>    | 754±5,3 <sup>b</sup>    | 772±5,2 <sup>c</sup>    | 738±7,5 <sup>ab</sup>   | 725±5,9 <sup>a</sup>   |
| S - Đực 34°C       | 693±2,4 <sup>b</sup>    | 720±3,6 <sup>e</sup>    | 712±4,3 <sup>de</sup>   | 699±2,7 <sup>bc</sup>   | 707±4,0 <sup>cd</sup>   | 678±4,3 <sup>a</sup>    | 670±3,3 <sup>a</sup>   |
| S - Cái 30°C       | 842±7,1 <sup>ab</sup>   | 832±6,5 <sup>a</sup>    | 871±8,8 <sup>c</sup>    | 832±5,6 <sup>a</sup>    | 860±8,8 <sup>bc</sup>   | 847±8,1 <sup>bc</sup>   | 823±7,3 <sup>a</sup>   |
| S - Cái 34°C       | 801±6,3 <sup>c</sup>    | 790±3,8 <sup>bc</sup>   | 802±3,1 <sup>c</sup>    | 799±6,1 <sup>c</sup>    | 775±7,0 <sup>ab</sup>   | 807±9,1 <sup>c</sup>    | 769±10,1 <sup>a</sup>  |
| $SGR_L$ - Đực 30°C | 22,7±0,05 <sup>ab</sup> | 22,8±0,07 <sup>b</sup>  | 22,9±0,07 <sup>b</sup>  | 23,0±0,09 <sup>b</sup>  | 23,3±0,09 <sup>c</sup>  | 22,7±0,14 <sup>ab</sup> | 22,5±0,11 <sup>a</sup> |
| $SGR_L$ - Đực 34°C | 19,5±0,04 <sup>b</sup>  | 19,9±0,06 <sup>e</sup>  | 19,8±0,07 <sup>de</sup> | 19,6±0,04 <sup>bc</sup> | 19,7±0,06 <sup>cd</sup> | 19,2±0,07 <sup>a</sup>  | 19,1±0,05 <sup>a</sup> |
| $SGR_L$ - Cái 30°C | 24,3±0,11 <sup>ab</sup> | 24,2±0,10 <sup>a</sup>  | 24,7±0,13 <sup>c</sup>  | 24,2±0,09 <sup>a</sup>  | 24,6±0,13 <sup>bc</sup> | 24,4±0,12 <sup>ab</sup> | 24,1±0,11 <sup>a</sup> |
| $SGR_L$ - Cái 34°C | 21,1±0,09 <sup>c</sup>  | 20,1±0,05 <sup>bc</sup> | 21,1±0,04 <sup>c</sup>  | 21,1±0,09 <sup>c</sup>  | 20,7±0,10 <sup>ab</sup> | 21,1±0,13 <sup>c</sup>  | 20,6±0,15 <sup>a</sup> |
| F 30°C             | 14±0,2 <sup>a</sup>     | 16±0,3 <sup>c</sup>     | 17±0,4 <sup>d</sup>     | 15±0,3 <sup>b</sup>     | 15±0,3 <sup>bc</sup>    | 15±0,3 <sup>b</sup>     | 13±0,3 <sup>a</sup>    |
| F 34°C             | 12±0,2 <sup>ab</sup>    | 12±0,2 <sup>ab</sup>    | 13±0,2 <sup>ab</sup>    | 13±0,2 <sup>b</sup>     | 13±0,2 <sup>ab</sup>    | 12±0,2 <sup>ab</sup>    | 12±0,2 <sup>a</sup>    |
| HS 30°C            | 83±0,0 <sup>ab</sup>    | 83±4,9 <sup>ab</sup>    | 97±2,7 <sup>c</sup>     | 89±5,7 <sup>bc</sup>    | 92±4,9 <sup>bc</sup>    | 83±4,9 <sup>ab</sup>    | 78±2,7 <sup>a</sup>    |
| HS 34°C            | 78±2,7 <sup>ab</sup>    | 78±2,7 <sup>ab</sup>    | 86±3,0 <sup>b</sup>     | 89±3,0 <sup>b</sup>     | 80±2,7 <sup>ab</sup>    | 80±2,7 <sup>ab</sup>    | 69±5,7 <sup>a</sup>    |
| N 30°C             | 6,3±0,33 <sup>ab</sup>  | 10±1,00 <sup>c</sup>    | 10,7±0,33 <sup>c</sup>  | 10±0,58 <sup>c</sup>    | 8±0,58 <sup>b</sup>     | 6,3±0,67 <sup>ab</sup>  | 5,3±0,33 <sup>a</sup>  |
| N 34°C             | 5±0,00 <sup>ab</sup>    | 6±0,58 <sup>bc</sup>    | 8±0,58 <sup>d</sup>     | 7,7±0,67 <sup>d</sup>   | 7,3±0,33 <sup>cd</sup>  | 6±0,58 <sup>bc</sup>    | 4±0,00 <sup>a</sup>    |
| N10 - 30°C         | 125±2,4 <sup>c</sup>    | 152±1,4 <sup>ef</sup>   | 157±3,0 <sup>f</sup>    | 146±1,9 <sup>e</sup>    | 138±3,8 <sup>d</sup>    | 110±2,7 <sup>b</sup>    | 92±3,6 <sup>a</sup>    |
| N10 - 34°C         | 60±3,2 <sup>b</sup>     | 87±5,9 <sup>c</sup>     | 85±1,8 <sup>c</sup>     | 68±4,8 <sup>b</sup>     | 70±2,0 <sup>b</sup>     | 48±2,6 <sup>a</sup>     | 40±2,2 <sup>a</sup>    |

Số liệu biểu diễn: Trung bình ± sai số chuẩn (TB ± SE). Ký hiệu S là kích thước,  $SGR_L$  là tốc độ sinh trưởng chiều dài, F là sức sinh sản; HS là tỷ lệ nở thành công; N là số ấu trùng/Cái, N10 là tổng số ấu trùng/Cái trong 10 ngày. Ký hiệu chữ cái khác nhau trên cùng một hàng thể hiện sai khác có ý nghĩa thống kê ( $P < 0,05$ ).

### 3.6. Ảnh hưởng của mật độ ấu trùng và mật độ con trưởng thành nuôi ban đầu lên sinh trưởng và sinh sản của *P. annandalei* ở nhiệt độ 30°C và 34°C

#### 3.6.1. Ảnh hưởng tương tác của nhiệt độ với mật độ ấu trùng ban đầu đến sự phát triển và sinh sản của *P. annandalei*

##### a) Tỷ lệ sống của con trưởng thành và phần trăm giai đoạn của con trưởng thành ở ngày thứ 10

Kết quả phân tích phương sai đa yếu tố cho thấy nhiệt độ, mật độ ấu trùng ban đầu và sự tương tác của 2 yếu tố này đều ảnh hưởng tới tỷ lệ sống và phần trăm giai đoạn của con trưởng thành trong quần thể ở ngày thứ 10 (Bảng 3.17).

Tỷ lệ sống của quần thể ở nhiệt độ 30°C cao hơn so với tỷ lệ sống của quần thể ở nhiệt độ 34°C và khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa 2 nhiệt độ ở tất cả mật độ ấu trùng ban đầu nuôi ( $P < 0,05$  Bảng 3.17, Hình 3.15). Tỷ lệ sống ở nhiệt độ 34°C thấp hơn từ 20% đến 24% (ở mật độ 500 - 1.000 ấu trùng/L) và từ 6% đến 10% (ở mật độ 1.500 - 2.000 ấu trùng/L) so với tỷ lệ sống nuôi ở nhiệt độ 30°C và ở mật độ ấu trùng ban đầu tương ứng (Hình 3.15).

Đồng thời tỷ lệ sống của quần thể giảm khi mật độ nuôi ban đầu tăng từ 500 đến 2.000 ấu trùng/L, khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức mật độ ở cả 2 nhiệt độ 30°C và 34°C ( $P < 0,05$ , Hình 3.15). Mật độ 500 ấu trùng/L có tỷ lệ sống cao nhất đạt 63,3% (nhiệt độ 30°C) và 39% (nhiệt độ 34°C), cao hơn gấp 4 lần so với tỷ lệ sống của quần thể với mật độ 2.000 ấu trùng/L, 15,4% ở nhiệt độ 30°C và 9,6% ở nhiệt độ 34°C.

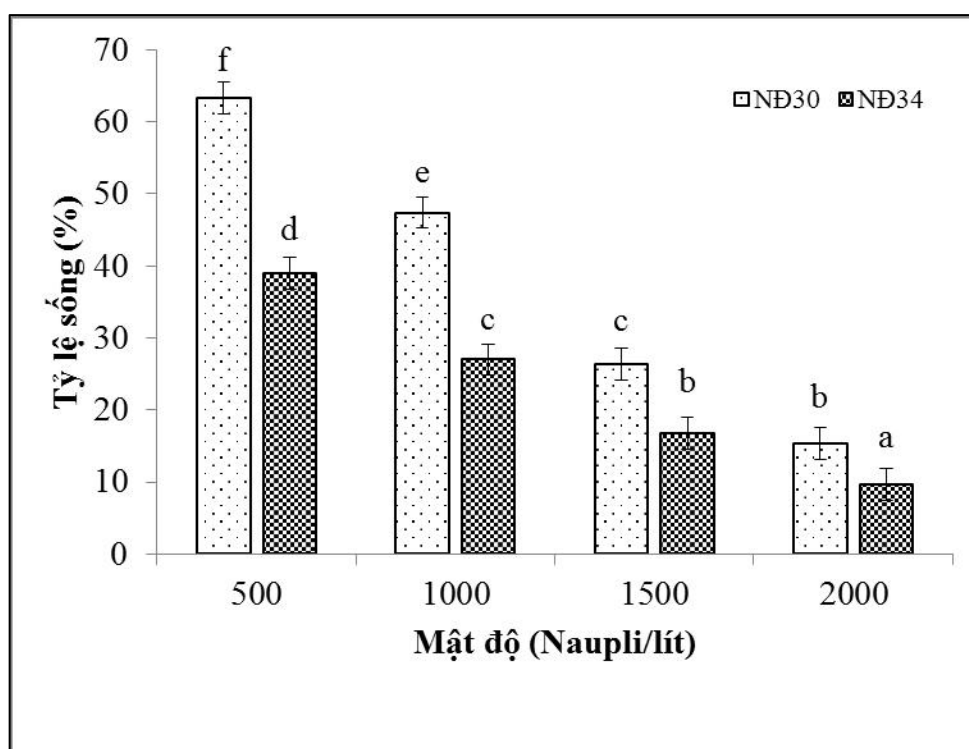
Hình 3.17 cho thấy quần thể phát triển đạt trưởng thành 100% khi nuôi ở 2 mật độ ban đầu 500 ấu trùng/L và 1.000 ấu trùng/L ở 2 nhiệt độ 30°C và 34°C ( $P > 0,05$ ). Sự phát triển của quần thể ở 2 mật độ 500 ấu trùng/L và 1.000 ấu trùng/L nhanh hơn so với quần thể ở 2 mật độ 1.500 ấu trùng/L và 2.000 ấu trùng/L, khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $P < 0,05$ ). Quần thể nuôi ở mật độ 1.500 ấu trùng/L có tỷ lệ con trưởng thành trong quần thể nhiều hơn khác biệt có ý nghĩa thống kê so với quần thể nuôi ở mật độ 2.000 ấu trùng/L ở cả 2 nhiệt độ 30°C và 34°C ( $P < 0,05$ ). Đồng thời ở các nghiệm thức mật độ 1.500 ấu trùng/L và 2.000 ấu trùng/L, tỷ lệ con trưởng thành ở nhiệt độ 30°C nhiều hơn so với quần thể nuôi ở nhiệt độ 34°C, khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $P < 0,05$ ).

Như vậy, ở nhiệt độ 34°C quần thể *P. annandalei* phát triển chậm hơn và tỷ lệ sống thấp hơn khi nuôi ở mật độ ấu trùng ban đầu từ 1.500 đến 2.000 ấu trùng/L. Mật độ 500 ấu trùng/L ban đầu cho tỷ lệ sống của quần thể cao nhất và phát triển trưởng thành hoàn toàn vào ngày thứ 10 ở 2 nhiệt độ 30°C và 34°C.

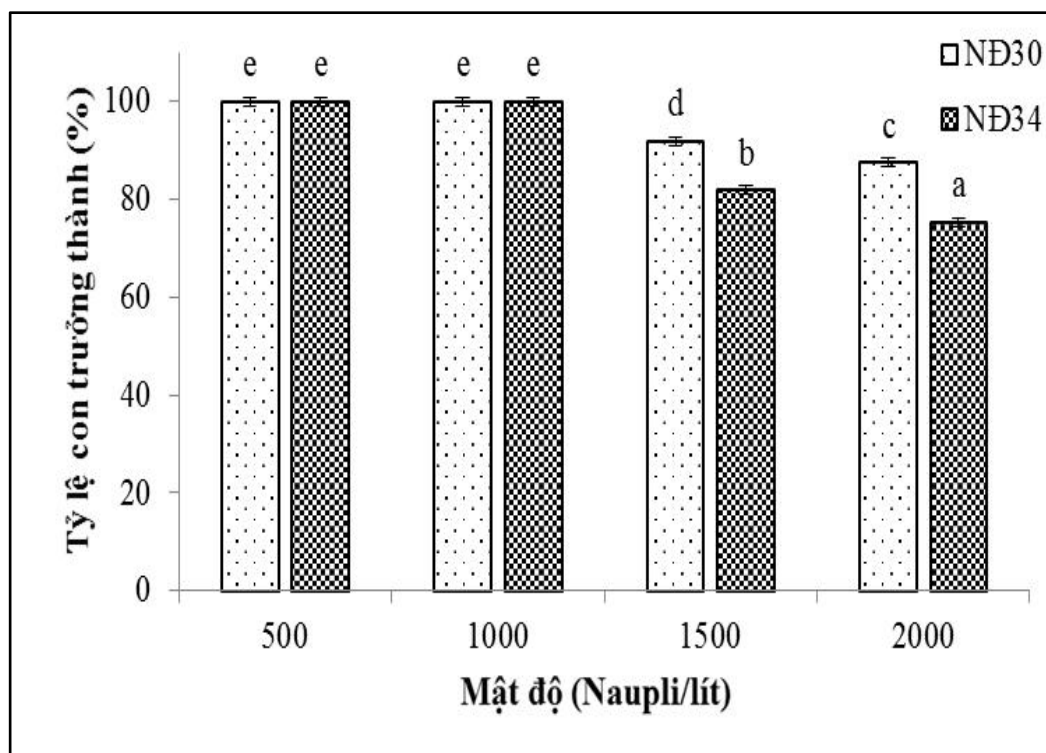
Bảng 3.17. Phân tích phương sai đa yếu tố (Two-way ANOVAs): ảnh hưởng của nhiệt độ và mật độ ấu trùng lên tỷ lệ sống và phần trăm con trưởng thành ở ngày thứ 10.

Giá trị *P* in đậm thể hiện khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $P < 0,05$ ).

| <i>Yếu tố ảnh hưởng</i> | <i>Các thông số</i> | <i>df</i> | <i>F</i> | <i>P</i>         |
|-------------------------|---------------------|-----------|----------|------------------|
| Nhiệt độ                | Tỷ lệ sống          | 1         | 94,170   | <b>&lt;0,001</b> |
|                         | Phần trăm giai đoạn | 1         | 78,478   | <b>&lt;0,001</b> |
| Mật độ                  | Tỷ lệ sống          | 3         | 121,239  | <b>&lt;0,001</b> |
|                         | Phần trăm giai đoạn | 3         | 228,898  | <b>&lt;0,001</b> |
| Nhiệt độ × Mật độ       | Tỷ lệ sống          | 3         | 8,091    | <b>&lt;0,001</b> |
|                         | Phần trăm giai đoạn | 3         | 26,673   | <b>&lt;0,001</b> |



Hình 3.15. Ảnh hưởng của nhiệt độ và mật độ ấu trùng ban đầu lên tỷ lệ sống *P. annandalei* ở ngày thứ 10. Số liệu biểu diễn: Trung bình  $\pm$  sai số chuẩn ( $TB \pm SE$ ). Các chữ cái khác nhau thể hiện sai khác có ý nghĩa thống kê ( $P < 0,05$ ).



Hình 3.16. Ảnh hưởng của nhiệt độ và mật độ lên phần trăm con trưởng thành trong quần thể ở ngày thứ 10. Số liệu biểu diễn: Trung bình  $\pm$  sai số chuẩn ( $TB \pm SE$ ). Các chữ cái khác nhau thể hiện sai khác có ý nghĩa thống kê ( $P < 0,05$ ).

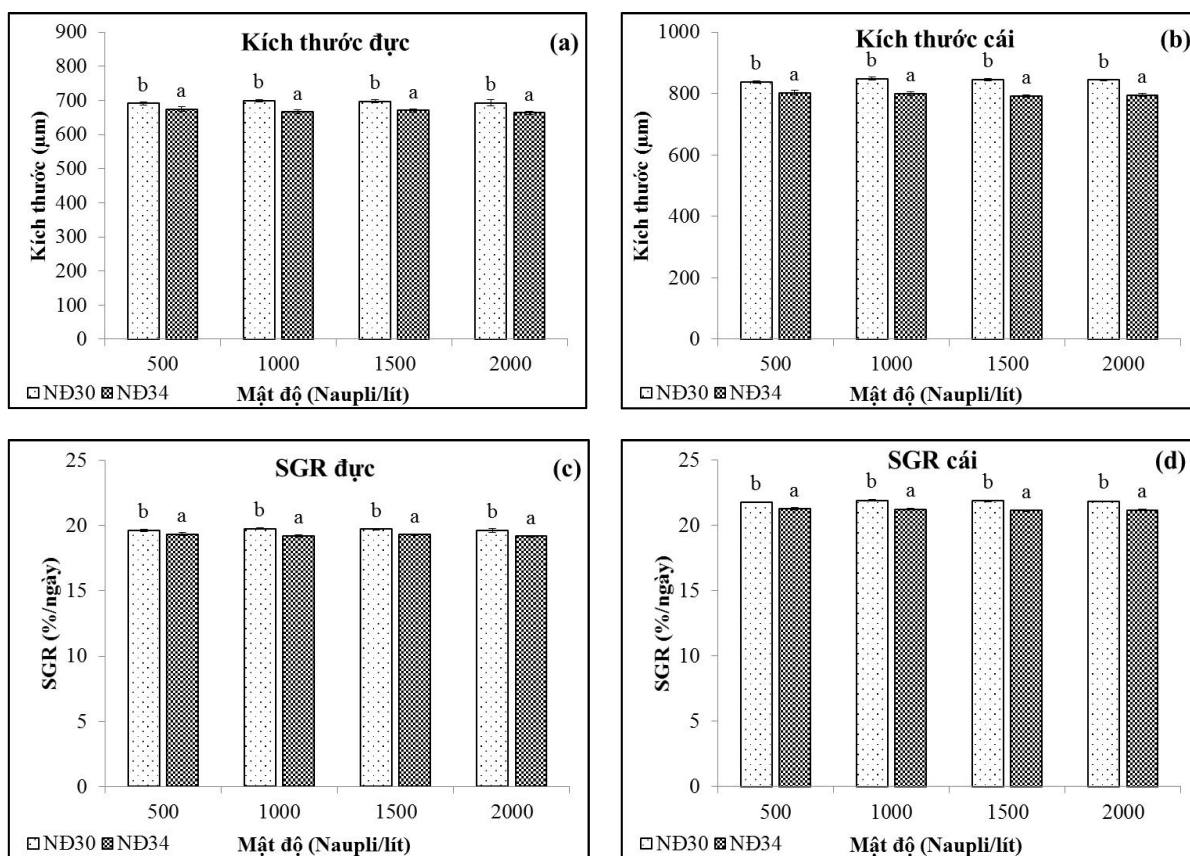
b) Tốc độ sinh trưởng đặc trưng, kích thước và sức sinh sản của *P. annandalei*

Kết quả cho thấy nhiệt độ có ảnh hưởng đến kích thước và tốc độ sinh trưởng của con đực, con cái trưởng thành ( $P < 0,05$ , Bảng 3.18). Tuy nhiên, mật độ và sự tương tác của nhiệt độ với mật độ ấu trùng lại không ảnh hưởng đến kích thước và tốc độ sinh trưởng của cả 2 con cái và con đực trưởng thành ( $P > 0,05$ , Bảng 3.18). Kích thước và tốc độ sinh trưởng copepod ở nhiệt độ 30°C lớn hơn so với kích thước và tốc độ sinh trưởng copepod ở nhiệt độ 34°C ( $P < 0,05$ , Bảng 3.18, Hình 3.17). Ở cả 2 nhiệt độ, kích thước con đực ở các mật độ từ 500 đến 2.000 ấu trùng/L sai khác không có ý nghĩa thống kê ( $P > 0,05$ , Hình 3.17 a). Kết quả tương tự với kích thước con cái và tốc độ sinh trưởng của con đực và con cái ( $P > 0,05$ , Hình 3.17 b, c, d). Kết quả bảng 3.18 cũng cho thấy nhiệt độ ảnh hưởng đến sức sinh sản ( $P < 0,05$ ). Tuy nhiên mật độ ấu trùng ban đầu và sự tương tác của nhiệt độ với mật độ lại không ảnh hưởng đến sức sinh sản ( $P > 0,05$ ). Ở nhiệt độ 30°C, sức sinh sản cao hơn sai khác có ý nghĩa thống kê so với sức sinh sản ở nhiệt độ 34°C ( $P < 0,05$ , Hình 3.18). Ở nhiệt độ 34°C, sức sinh sản thấp hơn 30% so với sức sinh sản ở nhiệt độ 30°C. Các mật độ từ 500 đến 2.000 ấu

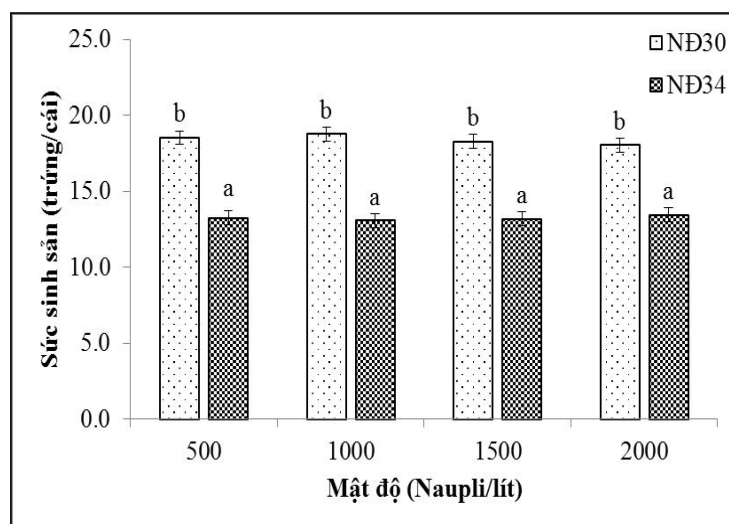
trùng/L, sức sinh sản của con cái tương đương nhau và không sai khác có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức mật độ ấu trùng ban đầu ở cả 2 nhiệt độ 30°C và 34°C ( $P > 0,05$ , Hình 3.18). Như vậy, các mật độ 500, 1000 ấu trùng/L ban đầu là thích hợp để nuôi sinh khối *P. annandalei* ở nhiệt độ 30°C, 34°C.

Bảng 3.18. Phân tích phương sai đa yếu tố (Two-way ANOVAs): ảnh hưởng nhiệt độ và mật độ ấu trùng ban đầu lên kích thước, tốc độ sinh trưởng, sức sinh sản ở ngày thứ 10. Giá trị  $P$  in đậm thể hiện khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $P < 0,05$ ).

| <i>Yếu tố ảnh hưởng</i> |                      | <i>df</i> | <i>F</i> | <i>P</i>         |
|-------------------------|----------------------|-----------|----------|------------------|
| Nhiệt độ                | Kích thước con đực   | 1         | 44,651   | <b>&lt;0,001</b> |
|                         | Kích thước con cái   | 1         | 168,462  | <b>&lt;0,001</b> |
|                         | SGR <sub>L</sub> đực | 1         | 43,275   | <b>&lt;0,001</b> |
|                         | SGR <sub>L</sub> cái | 1         | 168,865  | <b>&lt;0,001</b> |
|                         | Sức sinh sản         | 1         | 264,191  | <b>&lt;0,001</b> |
| Mật độ                  | Kích thước con đực   | 3         | 0,420    | 0,739            |
|                         | Kích thước con cái   | 3         | 0,477    | 0,698            |
|                         | SGR <sub>L</sub> đực | 3         | 0,593    | 0,620            |
|                         | SGR <sub>L</sub> cái | 3         | 0,412    | 0,744            |
|                         | Sức sinh sản         | 3         | 0,091    | 0,965            |
| Nhiệt độ × Mật độ       | Kích thước con đực   | 3         | 0,772    | 0,510            |
|                         | Kích thước con cái   | 3         | 1,290    | 0,278            |
|                         | SGR <sub>L</sub> đực | 3         | 0,725    | 0,538            |
|                         | SGR <sub>L</sub> cái | 3         | 1,080    | 0,357            |
|                         | Sức sinh sản         | 3         | 0,533    | 0,660            |



Hình 3.17. Ảnh hưởng của nhiệt độ và mật độ ấu trùng ban đầu lên kích thước và SGR<sub>L</sub> của *P. annandalei* đực và cái trưởng thành. Số liệu biểu diễn: Trung bình  $\pm$  sai số chuẩn (TB  $\pm$  SE). Các chữ cái khác nhau trên các cột thể hiện sai khác có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức mật độ ( $P < 0,05$ ).



Hình 3.18. Ảnh hưởng của nhiệt độ và mật độ ấu trùng ban đầu lên sức sinh sản. Số liệu biểu diễn: Trung bình  $\pm$  sai số chuẩn (TB  $\pm$  SE). Các chữ cái khác nhau trên các cột thể hiện sai khác có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức mật độ ( $P < 0,05$ ).

### 3.6.2. Ảnh hưởng của mật độ con trưởng thành ban đầu đến số ấu trùng sinh ra và tỷ lệ sống của quần thể trưởng thành

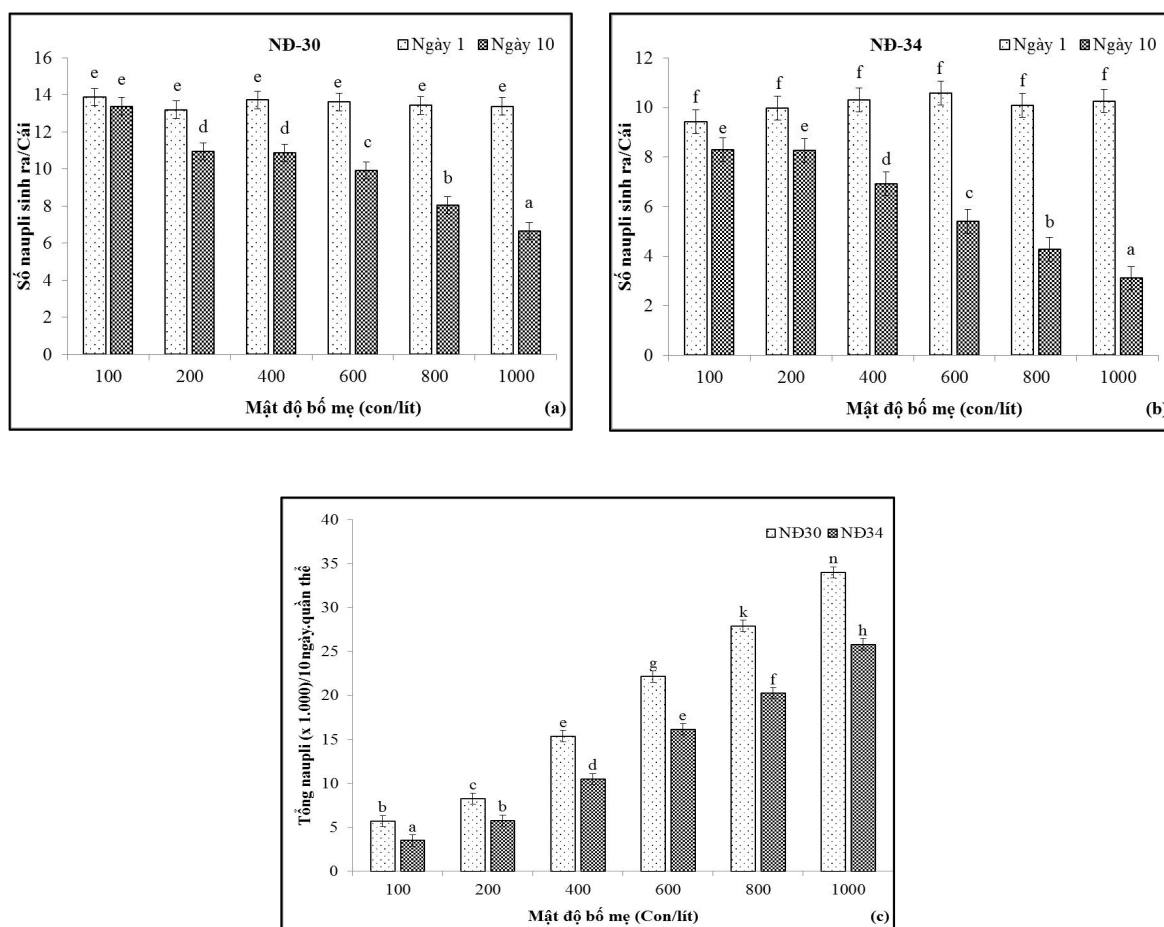
Bảng 3.19 cho thấy mật độ con trưởng thành và ngày nuôi, cũng như sự tương tác của 2 yếu tố này đều ảnh hưởng số ấu trùng/Cái trong 1 ngày ( $P < 0,001$ ). Số lượng ấu trùng trung bình được sinh ra từ mỗi con cái ở ngày thứ 1 tương đương nhau ở tất cả các nghiệm thức mật độ con trưởng thành ở cả 2 nhiệt độ ( $P < 0,05$ , Hình 3.19 a, b). Số lượng ấu trùng được sinh ra bởi mỗi con cái ở nhiệt độ 30°C nhiều hơn 3 đến 4 ấu trùng so với ở nhiệt độ 34°C trong ngày thứ 1. Ngày thứ 10, các mật độ con trưởng thành từ mật độ con trưởng thành từ 100 đến 1.000 con/L giảm dần ở cả 2 nhiệt độ ( $P < 0,05$ , Hình 3.19 a, b). Số lượng ấu trùng ở ngày thứ 10 giảm nhiều nhất ở mật độ con trưởng thành 1.000 con/L, giảm 50% ở nhiệt độ 30°C và giảm 70% ở nhiệt độ 34°C so với số lượng ấu trùng sinh ra ở ngày thứ 1 ( $P < 0,05$ , Hình 3.19 a, b). Chỉ riêng, nghiệm thức mật độ con trưởng thành 100 con/L ở nhiệt độ 30°C là số lượng ấu trùng khác biệt không có ý nghĩa thống kê giữa ngày thứ 1 và 10 ( $P < 0,05$ , Hình 3.19 a). Như vậy, khả năng sinh sản của *P. annandalei* giảm dần khi mật độ con trưởng thành tăng và theo thời gian trong 10 ngày nuôi, ngoại trừ mật độ 100 con trưởng thành/L.

Bảng 3.19 cũng cho thấy nhiệt độ và mật độ con trưởng thành hay sự tương tác của 2 yếu tố này đều ảnh hưởng tổng số ấu trùng sinh ra trong 10 ngày ( $P < 0,001$ ). Tổng số ấu trùng sinh ra bởi quần thể nuôi ở điều kiện nhiệt độ 30°C, nhiều hơn 24 - 38% so với tổng số ấu trùng được sinh ra bởi quần thể nuôi ở điều kiện nhiệt độ 34°C tùy mỗi nghiệm thức mật độ ( $P < 0,001$ , Hình 3.19 c). Tổng số ấu trùng sinh ra tăng tỷ lệ thuận với mật độ con trưởng thành nuôi ban đầu từ 100 đến 1.000 con/L ( $P < 0,05$ , Hình 3.19 c). Tổng số ấu trùng sinh ra bởi quần thể trưởng thành ở mật độ con trưởng thành 1.000 con/L gấp 6 lần (ở 30°C) và 7,4 lần (ở 34°C) so với số ấu trùng sinh ra bởi quần thể có mật độ con trưởng thành ban đầu là 100 con/L ở nhiệt độ tương ứng. Như vậy, mật độ 1.000 con/L để tổng số ấu trùng cao nhất.

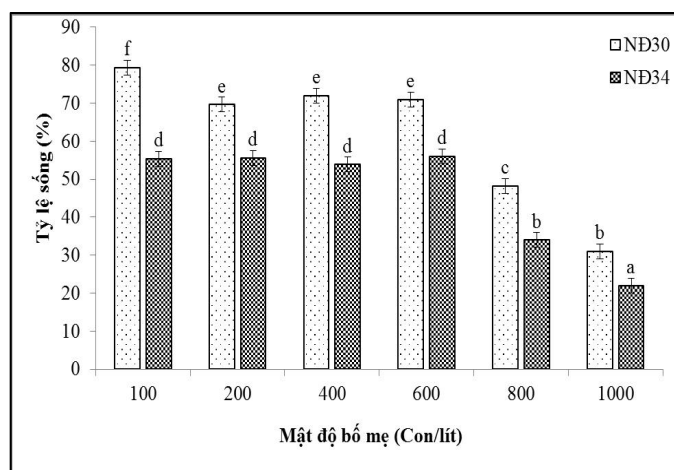
Kết quả tỷ lệ sống ở ngày thứ 10 của thí nghiệm sinh sản cho thấy nhiệt độ và mật độ con trưởng thành ban đầu, cũng như sự tương tác của nhiệt độ với mật độ con trưởng thành đều ảnh hưởng đến tỷ lệ sống của quần thể trưởng thành ( $P < 0,05$ , Bảng 3.19). Tỷ lệ sống của quần thể nuôi ở nhiệt độ 30°C cao hơn từ 14% đến 24% (ở mật độ con trưởng thành từ 100 đến 600 con/L) và từ 9% đến 14% (ở mật độ con trưởng



thành từ 800 đến 1.000 con/L) so với tỷ lệ sống của quần thể nuôi ở nhiệt độ 34°C ở các mật độ tương ứng. Ở cả 2 nhiệt độ, tỷ lệ sống ở 2 mật độ con trưởng thành 800 con/L và 1.000 con/L giảm hơn 20% so với các nghiệm thức mật độ con trưởng thành còn lại. Tỷ lệ sống có khác biệt rõ ở mật độ con trưởng thành từ 600 đến 1.000 con/L ở cả 2 nhiệt độ ( $P < 0,05$ , Hình 3.20). Trong khi, mật độ con trưởng thành từ 100 đến 600 con/L có tỷ lệ sống tương đương nhau, dao động trong khoảng từ 70% đến 79% (nhiệt độ 30°C) và từ 54% đến 56% (nhiệt độ 34°C). Tỷ lệ sống trung bình cao nhất đạt 79% ở mật độ 100 con trưởng thành/L và nhiệt độ 30°C.



Hình 3.19. Số ấu trùng/Cái ở ngày thứ 1 và 10 ở nhiệt độ 30°C (a), 34°C (b) và tổng số ấu trùng thu được từ quần thể trong 10 ngày (c). Số liệu biểu diễn: Trung bình  $\pm$  sai số chuẩn ( $TB \pm SE$ ). Ký hiệu chữ cái khác nhau trên các cột thể hiện sai khác có ý nghĩa thống kê ( $P < 0,05$ ) giữa các nghiệm thức mật độ.



Hình 3.20. Ảnh hưởng của nhiệt độ và mật độ trưởng thành ban đầu lên tỷ lệ sống của quần thể trưởng thành ở ngày nuôi thứ 10. Số liệu biểu diễn: Trung bình  $\pm$  sai số chuẩn ( $TB \pm SE$ ). Ký hiệu chữ cái khác nhau trên các cột thể hiện sai khác có ý nghĩa thống kê ( $P < 0,05$ ) giữa các nghiệm thức mật độ.

Bảng 3.19. Phân tích phương sai đa yếu tố (Two - way ANOVAs): Ảnh hưởng của nhiệt độ và mật độ con trưởng thành lên tổng số ấu trùng/10 ngày của quần thể và tỷ lệ sống; ảnh hưởng mật độ con trưởng thành và ngày nuôi lên trung bình số ấu trùng/Cái ở ngày thứ 1 và 10. Giá trị  $P$  in đậm thể hiện khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $P < 0,05$ ).

| Yếu tố ảnh hưởng          |                          | df | F       | P                |
|---------------------------|--------------------------|----|---------|------------------|
| Mật độ                    | Số ấu trùng/Cái ở 30°C   | 5  | 14,151  | <b>&lt;0,001</b> |
|                           | Số ấu trùng/Cái ở 34°C   | 5  | 8,450   | <b>&lt;0,001</b> |
| Ngày nuôi                 | Số ấu trùng/Cái ở 30°C   | 1  | 172,429 | <b>&lt;0,001</b> |
|                           | Số ấu trùng/Cái ở 34°C   | 1  | 224,645 | <b>&lt;0,001</b> |
| Mật độ $\times$ Ngày nuôi | Số ấu trùng/Cái ở 30°C   | 5  | 11,054  | <b>&lt;0,001</b> |
|                           | Số ấu trùng/Cái ở 34°C   | 5  | 12,987  | <b>&lt;0,001</b> |
| Yếu tố ảnh hưởng          |                          | df | F       | P                |
| Nhiệt độ                  | Tổng số ấu trùng/10 ngày | 1  | 202,933 | <b>&lt;0,001</b> |
|                           | Tỷ lệ sống trưởng thành  | 1  | 197,171 | <b>&lt;0,001</b> |
| Mật độ                    | Tổng số ấu trùng/10 ngày | 5  | 481,442 | <b>&lt;0,001</b> |
|                           | Tỷ lệ sống trưởng thành  | 5  | 142,870 | <b>&lt;0,001</b> |
| Nhiệt độ $\times$ Mật độ  | Tổng số ấu trùng/10 ngày | 5  | 7,909   | <b>&lt;0,001</b> |
|                           | Tỷ lệ sống trưởng thành  | 5  | 3,170   | <b>0,015</b>     |

### 3.6.3. Thảo luận

Kết quả ở thí nghiệm này, cũng như ở các nội dung nghiên cứu trước trong luận án đều cho thấy quần thể *P. annandalei* nuôi ở nhiệt độ 34°C có sự phát triển chậm hơn, tỷ lệ sống thấp hơn và khả năng sinh sản thấp hơn so với ở nhiệt độ 30°C. Trong phần này, mật độ ấu trùng và con trưởng thành được chủ yếu tập trung thảo luận. Mật độ copepod là một yếu tố quan trọng ảnh hưởng đến sự sinh trưởng, tỷ lệ sống và sinh sản của quần thể giáp xác chân chèo do liên quan đến sự cạnh tranh nguồn thức ăn, không gian sống và chất thải từ quá trình trao đổi chất làm giảm chất lượng nước...

Kết quả nghiên cứu cho thấy mật độ ấu trùng ban đầu ảnh hưởng rõ ràng tới sự phát triển của quần thể *P. annandalei*. Sự phát triển của quần thể ở các mật độ ấu trùng 1.500 và 2.000 con/L chậm hơn so với các quần thể nuôi ở 2 mật độ ấu trùng 500 và 1.000 con/L. Nghiên cứu trên loài *A. tonsa* cũng cho thấy quần thể phát triển trưởng thành nhanh hơn ở mật độ nuôi thấp hơn. Khi nuôi ở 2 mật độ ấu trùng 500 và 1.000 con/L thì quần thể *A. tonsa* đạt trưởng thành hoàn toàn vào ngày thứ 14 - 16, trong khi quần thể nuôi ở mật độ ấu trùng 2.000 con/L đạt trưởng thành muộn hơn ở ngày thứ 27 [283].

Tỷ lệ sống của quần thể *P. annandalei* cũng thấp hơn khi copepod nuôi ở các mật độ ấu trùng ban đầu cao và mật độ con trưởng thành ban đầu cao. Tương tự, loài *A. tonsa* cũng có tỷ lệ sống giảm rõ ràng khi tăng mật độ copepod nuôi [124]. Theo dõi thấy ở nghiệm thức mật độ ấu trùng ban đầu từ 1000 con/L chết nhiều ở ngày thứ 4, đặc biệt chết nhiều hơn ở nhiệt độ 34°C. Để đảm bảo lượng thức ăn cung cấp đủ cho copepod thì sự tăng mật độ tảo thức ăn cho copepod theo tăng mật độ copepod. Đồng thời mật độ tảo *C. muelleri* thức ăn sử dụng trong thí nghiệm lại được rút ra từ thí nghiệm trên con trưởng thành (mức cho ăn là 800  $\mu\text{g C/L}$ ). Theo quan sát, mật độ tảo thức ăn đưa vào được cho là thừa so với nhu cầu của giai đoạn ấu trùng và con non sớm đặc biệt thấy rõ ở 2 mật độ 1.500 ấu trùng/L và 2.000 ấu trùng/L. Bên cạnh đó từ ngày thứ 2, 3, copepod lại không thay nước vì tránh ảnh hưởng đến giai đoạn ấu trùng và con non mới. Giai đoạn ấu trùng và con non mới trong các ngày nuôi đầu này có thể nhạy cảm hơn với mức gây độc của hàm lượng  $\text{NH}_3$  trên. Nghiên cứu khác cũng cho thấy, hàm lượng oxy thấp [147] và hàm lượng  $\text{NH}_3$  cao [150] ảnh hưởng lớn tới tỷ lệ sống của giáp xác chân chèo. Đồng thời mật độ tảo thức ăn được điều chỉnh lại cho

phù hợp với mật độ copepod. Mật độ *P. annandalei* trong ao, tại khu vực thu mẫu nghiên cứu, thường ít hơn 50 con trưởng thành/L [167] và ít hơn 500 con/L (tổng số của tất cả các giai đoạn) nên mật độ từ 800 con trưởng thành được cho là mật độ cao với loài *P. annandalei*. Mật độ copepod cao làm giảm không gian sống của con trưởng thành do tác động vật lý giữa các cá thể trong quần thể nên ảnh hưởng tới sức khỏe của con trưởng thành. Đồng thời, thao tác lọc thu con trưởng thành và chuyển bình mới để thu ấu trùng trong thí nghiệm cũng có thể là nguyên nhân thứ 2 ảnh hưởng đến một phần tỷ lệ sống của *P. annandalei*. Hậu quả của sự cộng gộp 2 yếu tố do tương tác vật lý giữa các cá thể và tổn thương do tác động vật lý của thao tác lọc thu ấu trùng, có thể dẫn tới tỷ lệ sống thấp hơn ở 2 nghiệm thức mật độ trưởng thành 800 con/L và 1.000 con/L. Trong thí nghiệm về các mật độ con trưởng thành được thay nước mới 100% một lần/ngày nên các yếu tố môi trường thuận lợi cho sự phát triển, sinh sản copepod và được cho là không phải là nguyên nhân gây chết ở các mật độ trưởng thành 800 con/L và 1.000 con/L. Nghiên cứu cũng cho thấy, loài *Acartia sinjiensis* chết đáng kể khi các mật độ con trưởng thành tăng từ 125 đến 1.000 con/L ở [129].

Phân tích cho thấy các mật độ ấu trùng ban đầu không ảnh hưởng đến sức sinh sản của con trưởng thành ở ngày thứ 10. Mặc dù các mật độ con trưởng thành ban đầu khác nhau nhưng do có tỷ lệ sống giảm ở các mật độ cao trong những ngày nuôi ban đầu nên dẫn đến mật độ thực tế copepod trong các bình thủy tinh ở các nghiệm thức mật độ copepod lại không khác nhau nhiều ở ngày thứ 6 đến 10. Do vậy có thể các điều kiện đáp ứng cho sự sinh sản của những con trưởng thành là như nhau nên con cái phát triển thành thực sinh sản với sức sinh sản tương đương nhau.

Số lượng ấu trùng sinh ra tính cho mỗi con cái ở ngày nuôi đầu ở mật độ con trưởng thành từ 100 đến 1.000 con/L là tương đương nhau, mặc dù số lượng con cái khác nhau trong các nghiệm thức mật độ. Nguyên nhân là do tỷ lệ con cái mang trứng như nhau khi bố trí vào các nghiệm thức mật độ và từ cùng một quần thể ban đầu. Qua thời gian nuôi, số lượng ấu trùng sinh ra bởi mỗi con cái giảm rõ ràng ở ngày thứ 10 so với số ấu trùng sinh ra bởi mỗi con cái ở ngày thứ 1. Khả năng sinh sản của quần thể giảm khi mật độ trưởng thành từ 200 đến 1000 trưởng thành/L (ở ngày thứ 10). Khả năng sinh sản cũng giảm đáng kể khi tăng mật độ copepod ở một số loài giáp xác chân chèo như loài *A. tonsa* khi mật độ copepod tăng từ 100 đến 2.500 con/L [124] hay loài

*Paracyclopina nana* khi tăng mật độ copepod từ 1.000 đến 10.000 con/L [284] và loài *Parvocalanus crassirostris* khi tăng mật độ nuôi từ 250 đến 8.000 con/L [285]. Khi xem xét tổng số ấu trùng thu được trong 10 ngày thì số lượng ấu trùng tăng tỷ lệ thuận với các mật độ trưởng thành nuôi ban đầu. Tương tự như trong nghiên cứu trên loài *A. tonsa*, số lượng trứng sinh ra bởi mỗi con cái giảm đáng kể ở ngày thứ 5 so với ngày thứ 1 nhưng tổng số trứng sinh ra tích lũy tăng theo các mật độ copepod từ 100 đến 2.500 con/L [124]. Tổng số ấu trùng cũng thu được nhiều khi mật độ con trưởng thành và giai đoạn gần trưởng thành tăng ở loài *Bestiolina similis* [286]. Trong quá trình nuôi, theo quan sát thấy số lượng ấu trùng sinh ra bởi quần thể có mật độ cao giảm nhanh. Nghiên cứu trên cùng loài *P. annadalei* cho thấy, tỷ lệ con cái mang trứng trong quần thể giảm nhanh khi mật độ trưởng thành tăng từ 200 đến 1.000 con/L [181]. Mặt khác, ở mật độ cao và không gian hẹp nên có thể gây sốc dẫn tăng tính dữ, ăn ấu trùng sinh

ra [287] như ở loài *Acartia sinjiensis* [129]. Con cái *P. annadalei* lại cần con đực định kỳ giao phối để có thể đẻ và nở ra ấu trùng nhiều và quá trình giao phối cũng cần có không gian để thực hiện [172]. Bên cạnh đó, hiện tượng tăng nồng độ amonia thường liên quan đến nuôi ở mật độ cao làm giảm sức sinh sản và khả năng sống của các trứng [288]. Phân tích cho thấy việc sinh sản ra số ấu trùng/Cái của các mật độ con trưởng thành (từ 100 đến 1000 con/L) không phải nguyên nhân gây giảm số ấu trùng/Cái. Do vậy, mật độ trưởng thành cao cũng có thể là nguyên nhân ảnh hưởng tới quá trình giao phối của *P. annadalei* nên dẫn tới làm giảm tỷ lệ thụ tinh thành công và không gian hẹp, từ đó giảm số lượng ấu trùng sinh ra/Cái khi mật độ con trưởng thành tăng từ 100 đến 1.000 con/L.

Như vậy, 2 mật độ 500 con ấu trùng/L ban đầu và mật độ 100 con trưởng thành/L đầu ban là phù hợp, ổn định để bố trí cho nuôi sinh khối loài *P. annadalei* trong thời gian dài. Mật độ con trưởng thành 1000 con/L phù hợp nuôi sinh sản, tổng số ấu trùng đạt cao ở thời gian (10 ngày) để cho ương nuôi ấu trùng cá biển.

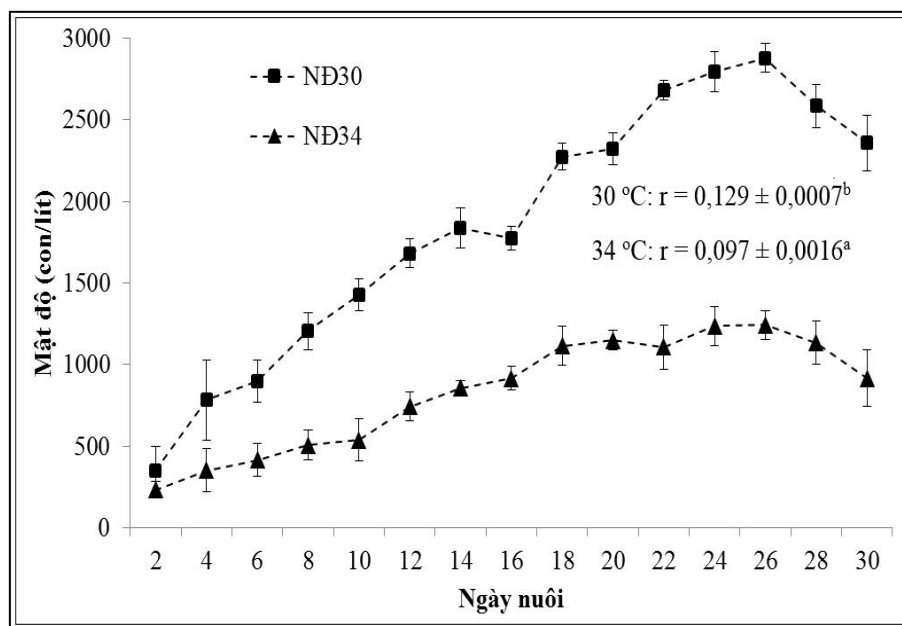
### **3.7. Nuôi sinh khối và nuôi thu ấu trùng *P. annadalei* ở nhiệt độ 30°C và 34°C**

#### **3.7.1. Mật độ copepod của quần thể nuôi sinh khối**

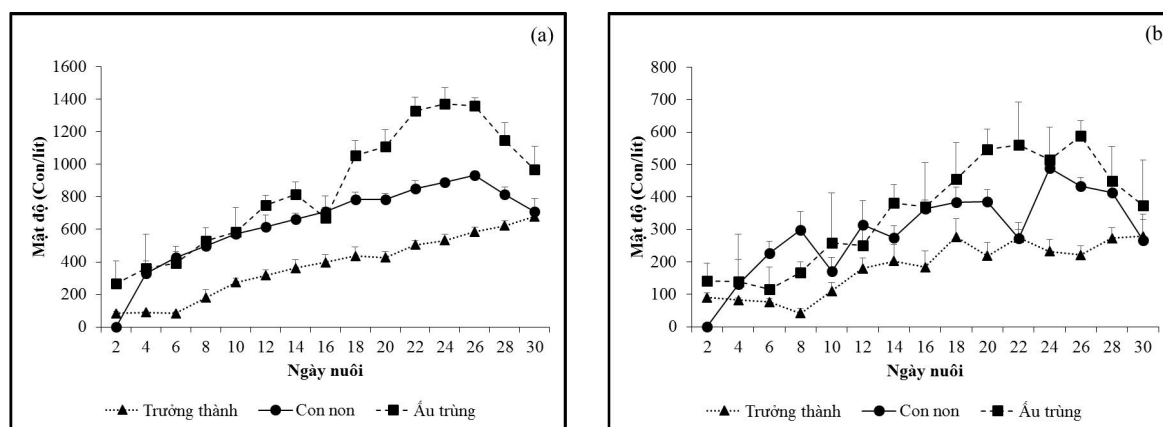
Kết quả nuôi sinh khối trong 30 ngày nuôi từ mật độ 100 con trưởng thành/L ban đầu cho thấy, mật độ copepod tăng dần qua các ngày nuôi (Hình 3.21). Mật độ copepod của quần thể ở nhiệt độ 34°C thấp hơn so với mật độ copepod của quần thể ở

30°C qua các ngày nuôi. Sau 10 ngày nuôi, mật độ copepod trung bình tăng nhanh đạt 1428 con/L ở nhiệt độ 30°C, cao hơn gấp 2,65 lần so với mật độ copepod ở nhiệt độ 34°C ở cùng ngày nuôi. Quần thể đều đạt mật độ copepod trung bình cao nhất vào ngày thứ 26 ở nhiệt độ 30°C. Quần thể nuôi đạt mật độ copepod trung bình cao nhất là 1.242 con/L ở nhiệt độ 34°C và chỉ bằng 43% so với mật độ copepod ở nhiệt độ 30°C. Tốc độ tăng trưởng quần thể nuôi sinh khối ở nhiệt độ 30°C cũng cao hơn 25% so với tốc độ tăng trưởng của quần thể nuôi ở nhiệt độ 34°C ( $P < 0,001$ ). Sau khi đạt mật độ copepod cao nhất, mật độ copepod giảm dần ở cả 2 nhiệt độ.

Mật độ copepod của các giai đoạn (ấu trùng, con non và con trưởng thành) cũng có xu hướng tăng dần qua các ngày nuôi (Hình 3.22). Mật độ con trưởng thành đạt gấp 2 lần so với mật độ con trưởng thành ban đầu ở ngày thứ 8 với nhiệt độ 30°C và chậm hơn ở ngày thứ 14 với nhiệt độ 34°C. Mật độ con trưởng thành đạt cao nhất là 679 con/L ở nhiệt độ 30°C và 279 con/L ở nhiệt độ 34°C vào ngày nuôi thứ 30. Ở nhiệt độ 30°C, mật độ giai đoạn ấu trùng và con non tăng đạt cao nhất vào ngày nuôi thứ 26 tương ứng 1.361 ấu trùng/L và 934 con non/L (Hình 3. 22 a). Tương tự, ở nhiệt độ 34°C, mật độ giai đoạn ấu trùng đạt cao nhất cũng vào ngày thứ 26 với 588 ấu trùng/L nhưng con non lại tăng đạt cao nhất vào ngày thứ 24 với mật độ 490 con non/L (Hình 3. 22 b).



Hình 3.21. Mật độ copepod nuôi sinh khối qua các ngày nuôi ở nhiệt độ 30°C và 34°C.  
Số liệu biểu diễn: Trung bình  $\pm$  độ lệch chuẩn ( $TB \pm SD$ ).



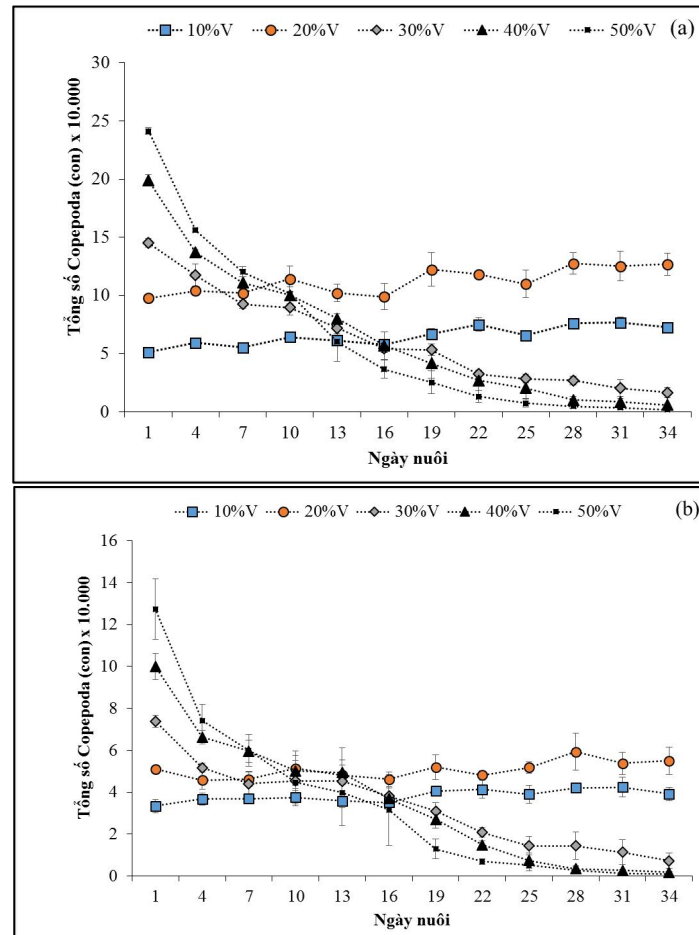
Hình 3.22. Mật độ các giai đoạn phát triển (ấu trùng, con non, con trưởng thành) trong quần thể nuôi sinh khối qua các ngày nuôi ở nhiệt độ 30°C (a) và 34°C (b).

Số liệu biểu diễn: Trung bình  $\pm$  độ lệch chuẩn (TB  $\pm$  SD).

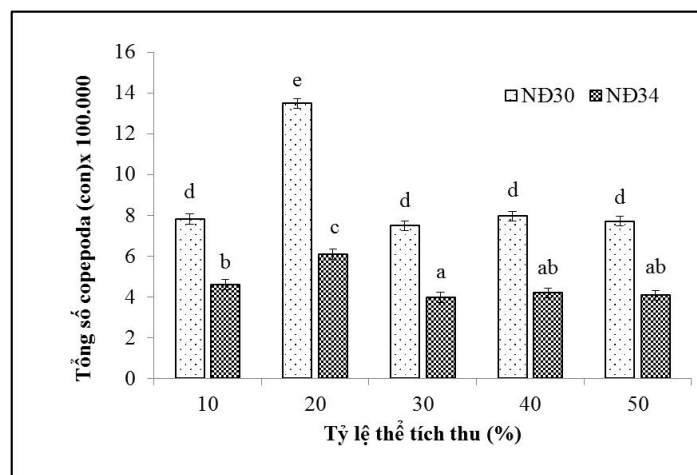
### 3.7.2. Tổng số copepod thu được với 5 tỷ lệ thu hoạch (10%, 20%, 30%, 40%, 50%V)

Khi quần thể đạt mật độ copepod khoảng 2.200 con/L ở nhiệt độ 30°C và 1.100 con/L ở nhiệt độ 34°C vào lúc ngày thứ 18 (được rút ra từ thí nghiệm 7.1) tiến hành thu sinh khối ở các tỷ lệ thu hoạch khác nhau từ 10% đến 50% thể tích nước trong bể nuôi sinh khối. Nhiệt độ và tỷ lệ thu hoạch cũng như sự tương tác của 2 yếu tố này đều ảnh hưởng đến tổng số copepod thu được qua các ngày nuôi ( $P < 0,05$ , Bảng 3.20).

Tổng số copepod ở nhiệt độ 30°C cao hơn khoảng từ 70% đến 90% của 4 tỷ lệ thu hoạch 10%, 30%, 40%, 50% và tỷ lệ thu hoạch 20% cao nhất đến hơn 121% hơn so với tổng số copepod ở nhiệt độ 34°C tương ứng các tỷ lệ thu hoạch từ 10% đến 50% (Hình 3.24). Ở các tỷ lệ thu hoạch khác nhau cũng thu được tổng số copepod khác nhau. Ở nhiệt độ 30°C, nghiệm thức với tỷ lệ thu hoạch 20% cho tổng số thu được cao nhất, nhiều hơn 70% hơn so với các tỷ lệ thu hoạch còn lại ( $P < 0,05$ , Hình 3.24). Ở nhiệt độ 30°C với các tỷ lệ thu hoạch 10%, 30%, 40%, 50%, tổng số copepod thu được là tương đương nhau, đạt khoảng 748.000 đến 796.000 copepod trong bể ( $P > 0,05$ , Hình 3.24). Ở nhiệt độ 34°C, tỷ lệ thu hoạch 20% cũng cho tổng số copepod cao nhất, cao hơn 30% so với các tỷ lệ thu hoạch còn lại ( $P < 0,05$ , Hình 3.24). Bên cạnh đó, tổng số copepod thu được ở các tỷ lệ thu hoạch 30%, 40%, 50% là tương đương nhau, đạt khoảng 400.000 copepod ( $P > 0,05$ , Hình 3.23). Tương tự, các tỷ lệ thu hoạch 10%, 40%, 50% cũng thu được tổng số copepod tương đương nhau ( $P > 0,05$ , Hình 3.24).



Hình 3.23. Tổng số copepod thu được ở các ngày nuôi tương ứng với các tỷ lệ thu hoạch từ 10% đến 50% ở nhiệt độ 30°C (a) và 34°C (b).  
Số liệu biểu diễn: Trung bình  $\pm$  độ lệch chuẩn ( $TB \pm SD$ ).



Hình 3.24. Tổng số copepod được thu được với các tỷ lệ thu hoạch từ 10% đến 50% ở nhiệt độ 30°C và 34°C. Số liệu biểu diễn: Trung bình  $\pm$  sai số chuẩn ( $TB \pm SE$ ).  
Ký hiệu chữ cái khác nhau trên các cột thể hiện sai khác có ý nghĩa thống kê ( $P < 0,05$ ) giữa các nghiệm thức tỷ lệ thu hoạch.



Khi xem xét tổng số copepod thu được qua 34 ngày, các tỷ lệ thu hoạch 30%, 40%, 50% có tổng số copepod giảm nhanh rõ ràng theo thời gian nuôi ở cả 2 nhiệt độ 30°C và 34°C (Hình 3.23). Trái lại, các tỷ lệ thu hoạch 10% và 20% có tổng số copepod thu được ổn định và tăng dần theo thời gian nuôi ở nhiệt độ 30°C và 34°C (Hình 3.23 a, b). Tỷ lệ thu hoạch 20% thu được tổng số copepod cao hơn từ 1,5 đến 2 lần so với tổng số copepod thu được ở tỷ lệ thu hoạch 10% ở các ngày nuôi.

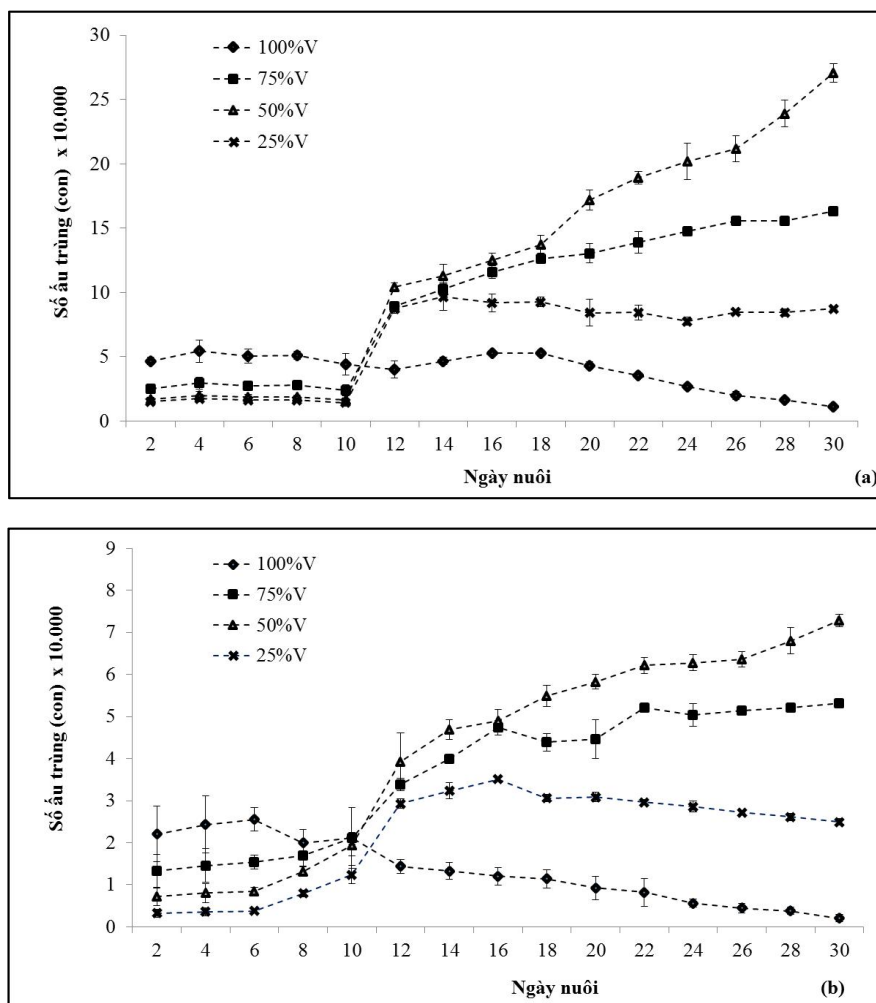
Bảng 3.20. Phân tích phương sai đa yếu tố (Two - way ANOVAs): Ảnh hưởng của nhiệt độ và tỷ lệ thu hoạch lên tổng số copepod thu được trong toàn thời gian nuôi sinh khối. *Giá trị P in đậm thể hiện khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $P < 0,05$ ).*

| <i><b>Yếu tố ảnh hưởng</b></i> | <i><b>df</b></i> | <i><b>F</b></i> | <i><b>P</b></i>  |
|--------------------------------|------------------|-----------------|------------------|
| Nhiệt độ                       | 1                | 798,356         | <b>&lt;0,001</b> |
| Tỷ lệ thu hoạch                | 4                | 101,117         | <b>&lt;0,001</b> |
| Nhiệt độ × Tỷ lệ thu hoạch     | 4                | 26,123          | <b>&lt;0,001</b> |

### **3.7.3. Tổng số ấu trùng thu được với các tỷ lệ thu hoạch (25%, 50%, 75%, 100%V)**

Tổng số ấu trùng thu được ổn định trong 10 ngày nuôi đầu tiên và tăng cao hơn ở các ngày nuôi sau đó ở các nghiệm thức thu 25% đến 75% thể tích nước trong bể với cả 2 nhiệt độ 30°C và 34°C (Hình 3.25). Từ ngày thứ 12 đến ngày thứ 30, tổng số ấu trùng tăng nhanh ở 2 nghiệm thức 50% và 75% ở cả 2 nhiệt độ 30°C và 34°C. Nghiệm thức 75%, tổng số ấu trùng thu được thấp hơn so với nghiệm thức 50% từ ngày thứ 12 đến ngày thứ 30. Nghiệm thức 25%, tổng số ấu trùng thu được ổn định ở nhiệt độ 30°C và có xu hướng giảm dần từ ngày thứ 18 đến ngày thứ 30 ở nhiệt độ 34°C. Với nghiệm thức 100%, tổng số ấu trùng thu được ổn định ở nhiệt độ 30°C cho tới ngày thứ 18, giảm dần từ ngày thứ 18 đến ngày thứ 30 (Hình 3.25 a). Đồng thời ở nhiệt độ 34°C, tổng số ấu trùng thu được ở nghiệm thức 100% thể tích giảm dần từ ngày thứ 12 đến ngày thứ 30 (Hình 3.25 b).

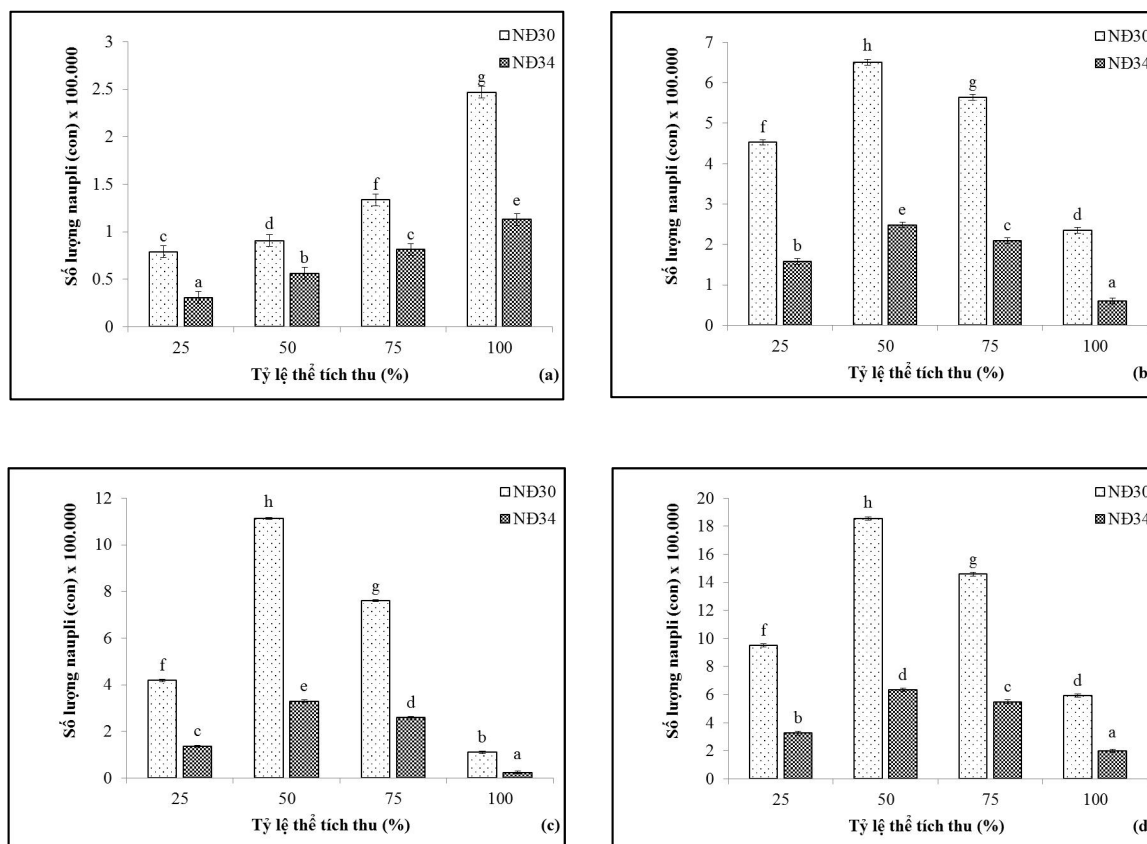
Nhiệt độ và tỷ lệ thu hoạch thu được cũng như sự tương tác của 2 yếu tố này đều ảnh hưởng tới tổng số ấu trùng thu được từ quần thể qua các ngày nuôi ( $P < 0,001$ , Bảng 3.21). Tổng số ấu trùng thu được từ quần thể ở nhiệt độ 30°C cao hơn so với quần thể nuôi ở nhiệt độ 34°C qua 30 ngày nuôi ở tất cả các nghiệm thức (Hình 3.25).



Hình 3.25. Tổng số ấu trùng thu với các tỷ lệ thu hoạch qua các ngày nuôi ở nhiệt độ 30°C (a), 34°C (b). Số liệu biểu diễn: Trung bình  $\pm$  độ lệch chuẩn (TB  $\pm$  SD).

Trong 10 ngày nuôi đầu tiên (ứng 5 lần thu đầu), tổng số ấu trùng thu được tăng và tỷ lệ thuận với nghiệm thức từ 25% đến 100% ở cả 2 nhiệt độ 30°C và 34°C (Hình 3.26 a). Tổng số ấu trùng thu được ở nghiệm thức 100% đạt cao nhất: trung bình 246.854 ấu trùng/lần thu (ở 30°C); 113.067 ấu trùng/lần thu (ở 34°C), cao hơn 3,1 lần (ở 30°C) và 3,7 lần (ở 34°C) so với nghiệm thức 25% ( $P < 0,05$ , Hình 3.26 a). Tổng số ấu trùng thu được ở 2 nghiệm thức 25% và 50% khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở nhiệt độ 30°C ( $P > 0,05$ ). Ở các ngày nuôi tiếp theo, nghiệm thức 50% có tổng số ấu trùng thu được cao nhất, tiếp theo là nghiệm thức 75% và thấp nhất là nghiệm thức 100% ở cả 2 nhiệt độ 30°C và 34°C ( $P < 0,05$ , Hình 3.26 b, c). Tương tự, khi xem xét tổng số ấu trùng thu được qua cả 30 ngày ở nghiệm thức 50% cao nhất, tiếp theo là nghiệm thức 75% và thấp nhất là nghiệm thức thu 100% ở cả 2 nhiệt độ 30°C và 34°C ( $P < 0,05$ , Hình 3.26 d). Tổng số ấu trùng thu được trong 30 ngày nuôi ở nghiệm thức

50% đạt 1.854.360 ấu trùng (ở 30°C) và 633.955 ấu trùng (ở 34°C), tương ứng cao hơn 3,13 lần (ở 30°C) và cao hơn 3,2 lần (ở 34°C) so với nghiệm thức 100% (Hình 3.26 d).



Hình 3.26. Ảnh hưởng của nhiệt độ và tỷ lệ thu hoạch lên tổng số ấu trùng thu được qua 30 ngày nuôi, (a) 5 lần thu đầu, (b) 5 lần thu thứ 2, (c) 5 lần thu thứ 3, (d) tổng 15 lần thu tổng số ấu trùng. Số liệu biểu diễn: Trung bình  $\pm$  sai số chuẩn ( $TB \pm SE$ ). Ký hiệu chữ cái khác nhau trên các cột thể hiện sai khác có ý nghĩa thống kê ( $P < 0,05$ ) giữa các nghiệm thức tỷ lệ thu.

Bảng 3.21. Phân tích phương sai đa yếu tố (Two - way ANOVAs): Ảnh hưởng của nhiệt độ và tỷ lệ thu hoạch lên tổng số ấu trùng. Giá trị  $P$  in đậm thể hiện khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $P < 0,05$ ).

| Yếu tố ảnh hưởng     |                                      | df | F         | P      |
|----------------------|--------------------------------------|----|-----------|--------|
| Nhiệt độ (°C)        | Tổng số ấu trùng của 5 lần thu đầu   | 1  | 235,378   | <0,001 |
|                      | Tổng số ấu trùng của 5 lần thu thứ 2 | 1  | 3924,278  | <0,001 |
|                      | Tổng số ấu trùng của 5 lần thu thứ 3 | 1  | 14107,042 | <0,001 |
|                      | Tổng số ấu trùng của 15 lần thu      | 1  | 8570,374  | <0,001 |
| Tỷ lệ thu hoạch (%)  | Tổng số ấu trùng của 5 lần thu đầu   | 3  | 158,704   | <0,001 |
|                      | Tổng số ấu trùng của 5 lần thu thứ 2 | 3  | 710,858   | <0,001 |
|                      | Tổng số ấu trùng của 5 lần thu thứ 3 | 3  | 6633,597  | <0,001 |
|                      | Tổng số ấu trùng của 15 lần thu      | 3  | 1972,350  | <0,001 |
| Nhiệt độ × Tỷ lệ t/h | Tổng số ấu trùng của 5 lần thu đầu   | 3  | 26,514    | <0,001 |
|                      | Tổng số ấu trùng của 5 lần thu thứ 2 | 3  | 100,740   | <0,001 |
|                      | Tổng số ấu trùng của 5 lần thu thứ 3 | 3  | 1854,441  | <0,001 |
|                      | Tổng số ấu trùng của 15 lần thu      | 3  | 441,403   | <0,001 |

#### 3.7.4. Thảo luận

*P. annandalei* nuôi sinh khối ở nhiệt độ 34°C có kết quả thấp hơn so với nhiệt độ 30°C. Từ các thí nghiệm trước cho thấy, ở nhiệt độ 34°C *P. annandalei* có tỷ lệ sống, sinh trưởng và sinh sản kém hơn so với ở nhiệt độ 30°C.

Từ mật độ con trưởng thành 100/L ban đầu, ở 2 nhiệt độ 30°C và 34°C quần thể đều đạt mật độ copepod trung bình cao nhất ở 26 ngày nuôi. Quần thể có thể sinh sản phát triển đạt tới mật độ copepod tối đa 2.880 con/L (1361 ấu trùng/L, 934 con non/L, 585 trưởng thành/L) ở nhiệt độ 30°C và đạt 1.243 con/L (588 ấu trùng/L, 434 con non/L, 221 trưởng thành/L) ở nhiệt độ 34°C. Mật độ nuôi sinh khối này cao hơn so với mật độ *P. annandalei* của Grønning và cộng sự (2019) thu mẫu trong ao nuôi thủy sản tại trại Cam Ranh [167] hay cao hơn so với trong ao nuôi thủy sản tại Đài Loan [14]. Tuy nhiên, mật độ *P. annandalei* tối đa trong nghiên cứu này vẫn thấp hơn so với mật độ copepod tối đa đạt được trong nuôi sinh khối của một số loài giáp xác chân chèo khác trong điều kiện nhân tạo. Ví dụ như loài *Acartia southwelli* có thể đạt mật độ copepod cao nhất 7.615 con/L (4.185 ấu trùng/L, 2.145 con non/L và 1.285 con trưởng

thành/L) và loài *A. centrura* đạt mật độ copepod cao nhất 6.403 con/L (3.547 ấu trùng/L, 1.714 con non/L, 1.142 con trưởng thành/L) [289]. Tiêu biểu là loài *Nitokra lacustris* có thể sinh sản ở mật độ 43.000 con/L [85] và đạt cực đại tới khoảng 100.000 con/L [107]. Sự khác nhau về mật độ copepod tối đa trong nghiên cứu này và các nghiên cứu khác có thể do có nhiều yếu tố khác nhau như loài, phương pháp nuôi, mật độ copepod nuôi ban đầu, cũng như số lượng, chất lượng thức ăn sử dụng...

Các tỷ lệ thu hoạch khác nhau kéo theo hệ quả tổng số copepod thu được khác nhau thay đổi theo thời gian nuôi. Ở nghiệm thức 20%, quần thể thu được tổng số copepod đạt cao nhất ở cả 2 nhiệt độ 30°C và 34°C. Sự phát triển của quần thể duy trì ổn định qua thời gian nuôi, thể hiện ở tổng số copepod thu được ổn định và tăng theo thời gian. Mặc dù, quần thể thu được tỷ lệ thu hoạch 10% cũng phát triển ổn định nhưng do mức thể tích thu ít hơn nên tổng số copepod thu được ít hơn so với tỷ lệ thu hoạch 20%. Mặt khác ở tỷ lệ thu hoạch khoảng 20%, do thể tích lấy ra chỉ 20% nên tổng số copepod tăng nhanh đạt cao hơn so với tỷ lệ thu hoạch khoảng 10% nên có thể làm giảm tỷ lệ sống của quần thể và số lượng ấu trùng sinh ra cũng giảm. Do vậy, đây cũng có thể là nguyên nhân dẫn tới tổng số copepod thu được ít hơn so với nghiệm thức 20% thể tích nước. Tổng số copepod thu được ở các nghiệm thức từ 30% đến 50% có xu hướng giảm dần theo thời gian nuôi. Có thể là quần thể không kịp phục hồi lại được mật độ copepod ban đầu trong 3 ngày nuôi nên tổng số con trưởng thành và giai đoạn gần trưởng thành bị giảm qua các lần thu, dẫn tới làm giảm khả năng sinh sản của quần thể ở nghiệm thức thu từ 30% đến 50%. Do vậy, quần thể ở các mức thể tích thu từ 30% đến 50% lên có xu hướng giảm nhanh về tổng số copepod thu được qua mỗi lần thu.

Dù thí nghiệm chỉ kéo dài qua 34 ngày, nhưng dự đoán theo xu hướng thì nuôi sinh khối *P. annandalei* ở các tỷ lệ thu hoạch khoảng 10% và 20% với khoảng cách thu 3 ngày/lần có thể kéo dài thời gian nuôi thu sinh khối hơn nữa ở cả 2 nhiệt độ 30°C và 34°C. Tỷ lệ thu hoạch 20% có tổng số copepod thu được cao hơn so với tỷ lệ thu hoạch khoảng 10% nên tỷ lệ thu hoạch 20% có thể thích hợp cho nuôi thu sinh khối *P. annandalei* ở cả 2 nhiệt độ 30°C và 34°C.

Với thí nghiệm đánh giá khả năng thu tổng số ấu trùng ở các thu hoạch từ 25% đến 100%. Năm lần thu đầu tiên (tương ứng 10 ngày) tổng số ấu trùng thu được tỷ lệ thuận

với tỷ lệ thu hoạch tăng dần. Tổng số ấu trùng được sinh ra chủ yếu do đàn con trưởng thành ban đầu quyết định. Ở các ngày nuôi tiếp theo, nghiệm thức 100% thu được tổng số ấu trùng do đàn con trưởng thành ban đầu sinh ra và có xu hướng giảm nhanh do khả năng sinh sản của đàn con trưởng thành giảm và số lượng copepod theo thời gian.

Tỷ lệ thu hoạch 25%, tổng số copepod (75%) của bể là số lượng ấu trùng, con non tăng nhanh và ngày thứ 12 đến ngày thứ 14 có thể đạt mật độ con trưởng thành nhiều. Mật độ copepod (nghiệm thức 25%) có thể đạt cao nhất hơn so với các nghiệm thức khác (50% - 100%). Có thể là quần thể (nghiệm thức 25%) ăn lượng tảo không đủ, giảm sức sinh sản. Dẫn tới hậu quả tỷ lệ thu hoạch 25% thu được tổng số ấu trùng thấp hơn so với các nghiệm thức 50%, 75% và mật độ copepod của quần thể là ổn định đạt tổng số ấu trùng giảm ít từ ngày thứ 16 đến ngày thứ 30. Tương tự, ở loài *A. tonsa* khi quần thể có nhiều con trưởng thành và sinh ra nhiều trứng thì sẽ kích thích tính dừ ăn trứng của con trưởng thành [128]. Mặt khác, với tỷ lệ thu hoạch 25% tương ứng với lượng nước thay 30% mới hàng ngày có thể không ảnh hưởng tới sự phát triển và tỷ lệ sống của *P. annandalei* trong quần thể. Do vậy, dẫn tới nghiệm thức 25% thu được tổng số ấu trùng thấp hơn so với số ấu trùng ở nghiệm thức 50% và 75%. Khi xem xét tổng thể 15 lần thu, ở nghiệm thức 50% cho tổng số ấu trùng thu được cao nhất và có xu hướng tăng nhanh theo thời gian nuôi. Ở các tỷ lệ thu hoạch 50% và 75%, quần thể được duy trì ở mức quần thể có khả năng sinh sản tốt nhất và trong khoảng mật độ phù hợp. Một phần số lượng ấu trùng không thu được, còn lại trong bể được tiếp tục phát triển thành con non, con trưởng thành để bù đắp lại số con trưởng thành già và chết đi giúp quần thể tiếp tục sinh sản tạo ra nhiều ấu trùng. Bên cạnh đó, các bể được thay mới 50% và 75% thể tích nước có thể giúp cải thiện môi trường sống của copepod. Trong quá trình lọc giữ lại con non và con trưởng thành, chỉ thu ấu trùng cũng là một nguyên nhân khác có thể ảnh hưởng tới tỷ lệ sống cao và sinh sản ấu trùng cao của quần thể. Tiếp theo ở nghiệm thức 75% với tất cả lần thu đầu, 2, 3 và qua 30 ngày thu được tổng số ấu trùng cao do thay mới 75% thể tích nước sạch có thể giúp cải thiện các yếu tố môi trường của copepod. Như vậy, 2 tỷ lệ thu hoạch 50% và 75% là phù hợp cho nuôi sinh sản thu ấu trùng loài *P. annandalei* ở nhiệt độ 30°C và 34°C.

## KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

### KẾT LUẬN

- 1) Nhiệt độ 25°C - 35°C, mức ăn bão hòa của *P. annandalei* trưởng thành là 400 µg C/L với loài tảo *Isochrysis galbana* hay tảo *Tetraselmis chuii*. Mức ăn bão hòa là 400 µg C/L cho con đực và 800 µg C/L cho con cái với tảo *Chaetoceros muelleri*.
- 2) Quần thể *P. annandalei* được nuôi ăn tảo *I. galbana* hoặc *C. muelleri* là phát triển nhanh và tốc độ sinh trưởng cao hơn so với tảo *T. chuii*.  
*P. annandalei* được nuôi ăn 3 loài tảo khác nhau là tỷ lệ sống và các chỉ tiêu sinh sản tương đương nhau, ở cả 2 nhiệt độ 30°C và 34°C.
- 3) Nhiệt độ 34°C làm chậm sự phát triển quần thể, giảm kích thước, giảm tốc độ sinh trưởng, giảm tỷ lệ nở, giảm sức sinh sản, giảm sinh sản ấu trùng, giảm tỷ lệ sống và giảm tuổi thọ của *P. annandalei* so với ở nhiệt độ 30°C.
- 4) Nhiệt độ 30°C thích hợp cho *P. annandalei* sinh trưởng và sinh sản hơn so với 2 nhiệt độ 25°C và 34°C.
- 5) Tất cả ấu trùng chết các độ mặn 0, 5, 10, 35, 40‰ (vào lúc 24 giờ) và các độ mặn 15, 25, 30‰ (vào lúc 48 giờ). Ở độ mặn 20‰, ấu trùng có tỷ lệ sống cao (80 - 90%). Tất cả con non chết ở độ mặn 0‰ (vào lúc 24 giờ) và các độ mặn 5‰ và 40‰ (vào lúc 48 giờ). Khi con trưởng thành bị sốc các độ mặn từ 10‰ đến 30‰, tỷ lệ nở thành công, ấu trùng nở và tỷ lệ sống cao hơn.  
Độ mặn 15‰ thích hợp cho *P. annandalei* sinh trưởng và sinh sản.
- 6) Mật độ 500 ấu trùng/L ban đầu thích hợp cho nuôi sinh khối, 100 con trưởng thành/L ban đầu thích hợp cho nuôi sinh khối *P. annandalei*.
- 7) Mật độ copepod ở nhiệt độ 30°C cao hơn so với ở nhiệt độ 34°C. Tốc độ tăng trưởng quần thể ở nhiệt độ 30°C cao hơn so với ở nhiệt độ 34°C. Tỷ lệ thu hoạch 20% thích hợp cho nuôi sinh khối, tỷ lệ thu hoạch 50% thích hợp cho nuôi sinh sản ấu trùng của loài *P. annandalei*.

**KIẾN NGHỊ**

- 1) Nghiên cứu ảnh hưởng của nhiệt độ cao (34°C) đến loài *P. annandalei* qua nhiều thế hệ hơn để đánh giá khả năng thích nghi của loài *P. annandalei*.
- 2) Nghiên cứu thêm mức ăn bão hòa với loài tảo *I. galbana* và tảo *C. muelleri* của giai đoạn ấu trùng và con non nhằm có cơ sở đầy đủ để nuôi loài *P. annandalei*.
- 3) Nghiên cứu hệ thống phù hợp để cho sinh sản ấu trùng và nuôi sinh khối ở quy mô lớn.



## DANH MỤC CÔNG TRÌNH CỦA TÁC GIẢ

1. **Doan NX**, Vu MTT, Nguyen HT, Tran HTN, Pham HQ, Dinh KV (2018). *Temperature and sex specific grazing rate of a tropical copepod P. annandalei to food availability: implications for live feed in aquaculture*. Aquaculture Research, 49, 3864 - 3873. DOI: 10.1111/are.13854.
2. **Doan NX**, Vu MTT, Pham HQ, Wisz MS, Nielsen TG, Dinh KV (2019). *Extreme temperature impairs growth and productivity in a common tropical marine copepod*. Scientific Reports, 9, 4550.
3. **Đoàn Xuân Nam**, Bùi Văn Cảnh, Phạm Quốc Hùng, Đinh Văn Khương (2019). *Ảnh hưởng của nhiệt độ lên sự phát triển và sinh sản của loài Copepod P. annandalei*. Tạp chí Khoa học - Công nghệ Thủy sản. Đại học Nha Trang. Số 3/2019, trang 91 - 98.
4. **Đoàn Xuân Nam**, Phạm Quốc Hùng, Đinh Văn Khương (2019). *Khả năng chịu sốc độ mặn và sự tương tác của độ mặn với nhiệt lên đặc điểm cơ bản về sinh học và sinh sản của loài Copepod P. annandalei*. Tạp chí Khoa học - Công nghệ Thủy sản. Đại học Nha Trang. Số 4/2019, trang 75 - 87.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

### Tài liệu Tiếng Việt

1. Vũ Ngọc Út, Huỳnh Phước Vinh (2014), "Một số đặc điểm sinh học của copepod *Schmackeria dubia*", *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, tr. 292 - 299.
2. Trương Sĩ Kỳ, Hoàng Đức Lư, Ngô Đăng Nghĩa, Đặng Thúy Bình (2006), Cải tiến qui trình sản xuất giống cá ngựa đen (*Hippocampus kuda*) ở vùng biển Khánh Hòa, *Tuyển tập nghiên cứu biển, XV*, Viện Hải Dương Học, Nha Trang, tr. 248 - 253.
3. Nguyễn Thị Thanh Thủy, Hà Lê Thị Lộc (2010), "Ảnh hưởng của các loại thức ăn lên tỷ lệ sống và tốc độ tăng trưởng của cá khoang cổ nemo con (*Amphiprion ocellaris* CUVIER, 1830)", *Vietnam Journal of Marine Science and Technology*, 10(3), tr. 69 - 75.
4. Trần Đức Lượng, Hồ Thanh Hải (2013), "Đa dạng loài giáp xác chân chèo giống Pseudodiaptomus (Copepod: Calanoida: Pseudodiaptomidae) ở Việt Nam", *Hội nghị khoa học toàn quốc về sinh thái và tài nguyên sinh vật lần thứ 5*, Viện Hàn Lâm Khoa Học và Công Nghệ Việt Nam.
5. Nguyễn Văn Khôi (2001), *Động vật chí Việt Nam: Phân lớp Chân Mái Chèo - Copepod, Biển*, Nhà Suất Bản Khoa Học và Kỹ Thuật, Trung tâm Khoa học tự nhiên và Công nghệ quốc gia, Hà Nội.
6. Trương Sĩ Hải Trình (2016), *Cấu trúc quần xã động vật phù du trong vịnh Bình Cang - Nha Trang và sự vận chuyển cacbon và nitơ từ thực vật phù du sang động vật phù du*, Luận án Tiến Sĩ, Viện Hải Dương Học Nha Trang.

### Tài liệu Tiếng Anh

7. Blaxter, J.H., B. Douglas, P.A. Tyler, J. Mauchline (1998), *The biology of calanoid copepods*, Academic Press.
8. Van der Meeren, T., R.E. Olsen, K. Hamre, H.J. Fyhn (2008), "Biochemical composition of copepods for evaluation of feed quality in production of juvenile marine fish", *Aquaculture*, 274(2), pp. 375 - 397.

9. Hansen, M.H. (2011), *Effects of feeding with copepod ấu trùng (Acartia tonsa) compared to rotifers (Brachionus ibericus, Cayman) on quality parameters in Atlantic cod (Gadus morhua) larvae*, PhD thesis, NTNU, Norway.
10. Evjemo, J.O., K.I. Reitan, Y. Olsen (2003), "Copepods as live food organisms in the larval rearing of halibut larvae (*Hippoglossus hippoglossus*) with special emphasis on the nutritional value", *Aquaculture*, 227(1), pp. 191 - 210.
11. Schipp, G. (2006), "The use of calanoid copepods in semi - intensive, tropical marine fish larviculture", *Advances en Nutrición Acuicola VIII. VIII Simposium Internacional de Nutrición Acuicola*, pp. 15 - 17.
12. Chew, L., V. Chong, K. Tanaka, A. Sasekumar (2012), "Phytoplankton fuel the energy flow from zooplankton to small nekton in turbid mangrove waters", *Marine Ecology Progress Series*, 469, pp. 7 - 24.
13. Dhanker, R., R. Kumar, J. - S. Hwang (2012), "Predation by *P. annandalei* (Copepod: Calanoida) on rotifer prey: size selection, egg predation and effect of algal diet", *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 414, pp. 44 - 53.
14. Rayner, T.A., N.O. Jørgensen, E. Blanda, C. - H. Wu, C. - C. Huang, J. Mortensen, J. - S. Hwang, B.W. Hansen (2015), "Biochemical composition of the promising live feed tropical calanoid copepod *P. annandalei* (Sewell 1919) cultured in Taiwanese outdoor aquaculture ponds", *Aquaculture*, 441, pp. 25 - 34.
15. Tewksbury, J.J., R.B. Huey, C.A. Deutsch (2008), "Putting the heat on tropical animals", *Science - New York then Washington*, 320(5881), pp. 1296.
16. Blanda, E., G. Drillet, C. - C. Huang, J. - S. Hwang, H.H. Jakobsen, T.A. Rayner, H. - M. Su, C. - H. Wu, B.W. Hansen (2015), "Trophic interactions and productivity of copepods as live feed from tropical Taiwanese outdoor aquaculture ponds", *Aquaculture*, 445, pp. 11 - 21.
17. Van der Meeren, T., K.E. Naas (1997), "Development of rearing techniques using large enclosed ecosystems in the mass production of marine fish fry", *Reviews in fisheries science*, 5(4), pp. 367 - 390.

18. Olsen, Y., T. Van der Meeren, K.I. Reitan (2004), First feeding technology, In: K.E. Moksness (E), Olsen (Y) (Ed.), *Culture of cold - water marine fish*, Blackwell, YO Trondhjem. pp. 279 - 336.
19. Hunter, J.R. (1981), Feeding Ecology and Predation of Marine Fish Larvae. In: R. Lasker, *Marine Fish Larvae: Morphology, Ecology, and Relation to Fisheries*, Washington Sea Grant Program, Seattle, pp. 34 - 77.
20. Kjørsvik, E., K. Pittman, D. Pavlov (2004), From fertilisation to the end of metamorphosis functional development, In: K.E. Moksness (E), Olsen (Y) (Ed.), *Culture of cold-water marine fish*, Blackwell, YO Trondhjem, pp. 204 - 278.
21. Hunt, V., S. Gallagher (2000), "Foraging behavior in early Atlantic cod larvae (*Gadus morhua*) feeding on a protozoan (*Balanion sp.*) and a copepod áu trùngus (*Pseudodiaptomus sp.*)", *Marine Biology*, 136(3), pp. 591 - 602.
22. Chesney, E.J. (2008), "Foraging behavior of bay anchovy larvae, *Anchoa mitchilli*", *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 362(2), pp. 117 - 124.
23. Blaxter, G. Hempel (1963), "The influence of egg size on herring larvae (*Clupea harengus L*)", *J. Cons. Int. Explor. Mer*, 28, pp. 211 - 240.
24. Kamler, E. (2012), *Early life history of fish: an energetics approach*, Springer Science & Business Media
25. Alvarez - González, C.A., M. Cervantes - Trujano, D. Tovar - Ramírez, D. Conklin, H. Nolasco, E. Gisbert, R. Piedrahita (2005), "Development of digestive enzymes in California halibut *Paralichthys californicus* larvae", *Fish Physiology and Biochemistry*, 31(1), pp. 83 - 93.
26. Baglole, C., G. Goff, G.M. Wright (1998), "Distribution and ontogeny of digestive enzymes in larval yellowtail and winter flounder", *Journal of Fish Biology*, 53(4), pp. 767 - 784.
27. Bengtson, D.A. (2003), Status of marine aquaculture in relation to live prey: past, present and future. In: J.G. Støttrup, McEvoy, L.A. (Ed.), *Live feeds in marine aquaculture*, Blackwell Publishing, 1 - 16.
28. Govoni, J.J., G.W. Boehlert, Y. Watanabe (1986), *The physiology of digestion in fish larvae*, Springer.

29. Chen, B.N., J.G. Qin, M.S. Kumar, W. Hutchinson, S. Clarke (2006), "Ontogenetic development of the digestive system in yellowtail kingfish *Seriola lalandi* larvae", *Aquaculture*, 256(1 - 4), pp. 489 - 501.
30. Cahu, C., J. Infante (1994), "Development and response to a diet change of some digestive enzymes in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae", *Fish Physiology and Biochemistry*, 12(5), pp. 399 - 408.
31. Alvarez - González, C.A., F. Moyano - López, R. Civera - Cerecedo, V. Carrasco - Chávez, J. Ortiz - Galindo, S. Dumas (2008), "Development of digestive enzyme activity in larvae of spotted sand bass *Paralabrax maculatofasciatus*", *Fish Physiology and Biochemistry*, 34(4), pp. 373 - 384.
32. Cara, J., F. Moyano, S. Cárdenas, C. Fernández-Díaz, M. Yúfera (2003), "Assessment of digestive enzyme activities during larval development of white bream", *Journal of Fish Biology*, 63(1), pp. 48 - 58.
33. Huy, N.Q., H. Reinertsen, P. - A. Wold, T.M. Tran, E. Kjørsvik (2011), "Effects of early weaning strategies on growth, survival and digestive enzyme activities in cobia (*Rachycentron canadum*) larvae", *Aquaculture international*, 19(1), pp. 63 - 78.
34. Walford, J., T. Lam (1993), "Development of digestive tract and proteolytic enzyme activity in seabass (*Lates calcarifer*) larvae and juveniles", *Aquaculture*, 109(2), pp. 187 - 205.
35. Khoa, T.N.D., V. Waqalevu, A. Honda, K. Shiozaki, T. Kotani (2019), "Early ontogenetic development, digestive enzymatic activity and gene expression in red sea bream (*Pagrus major*)", *Aquaculture*, 512, pp. 734283.
36. Ma, Z., P. Zheng, H. Guo, N. Zhang, L. Wang, S. Jiang, J.G. Qin, D. Zhang (2014), "Ontogenetic development of digestive functionality in golden pompano *Trachinotus ovatus* (Linnaeus 1758)", *Fish Physiology and Biochemistry*, 40(4), pp. 1157–1167.
37. Oozeki, Y., K. Bailey (1995), "Ontogenetic development of digestive enzyme activities in larval walleye pollock, *Theragra chalcogramma*", *Marine Biology*, 122(2), pp. 177 - 186.

38. Gawlicka, A., B. Parent, M.H. Horn, N. Ross, I. Opstad, O.J. Torrissen (2000), "Activity of digestive enzymes in yolk - sac larvae of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*): indication of readiness for first feeding", *Aquaculture*, 184(3 - 4), pp. 303 - 314.
39. Lazo, J., G.J. Holt, C. Arnold (2000), "Ontogeny of pancreatic enzymes in larval red drum *Sciaenops ocellatus*", *Ontogeny of pancreatic enzymes in larval red drum Sciaenops ocellatus.*, 6(3), pp. 183 - 192.
40. Reitan, K.I., J.R. Rainuzzo, G. Øie, Y. Olsen (1997), "A review of the nutritional effects of algae in marine fish larvae", *Aquaculture*, 155(1 - 4), pp. 207 - 221.
41. Makridis, P., Y. Olsen (1999), "Protein depletion of the rotifer *Brachionus plicatilis* during starvation", *Aquaculture*, 174(3 - 4), pp. 343 - 353.
42. Person Le Ruyet, J., J.C. Alexandre, L. Thébaud, C. Mugnier (1993), "Marine fish larvae feeding: formulated diets or live prey?", *Journal of the World Aquaculture Society*, 24(2), pp. 211 - 224.
43. Ma, Z., P. Zheng, H. Guo, N. Zhang, L. Wang, S. Jiang, J.G. Qin, D. Zhang (2014), "Effect of weaning time on the performance of *Trachinotus ovatus* (Linnaeus 1758) larvae", *Aquaculture Nutrition*, 21(5), pp. 670 - 678.
44. Curnow, J., J. King, J. Bosmans, S. Kolkovski (2006), "The effect of reduced *Artemia* and rotifer use facilitated by a new microdiet in the rearing of barramundi *Lates calcarifer* larvae", *Aquaculture*, 257(1 - 4), pp. 204 - 213.
45. Lubzens, E., O. Zmora, Y. Barr (2001), Biotechnology and aquaculture of rotifers. In: S.H. Sanoamuang L., Shiel R.J., Gulati R.D. (Ed.), *Rotifera IX*, Springer, 337 - 353.
46. Conceição, L.E., M. Yúfera, P. Makridis, S. Morais, M.T. Dinis (2010), "Live feeds for early stages of fish rearing", *Aquaculture research*, 41(5), pp. 613 - 640.
47. Støttrup, J.G. (2003), Production and nutritional value of copepods. In: J.G. Støttrup, McEvoy, L.A. (Ed.), *Live Feeds in Marine Aquaculture*, Blackwell Science, Oxford, UK, pp. 145 - 205.

48. Alajmi Fahad, Zeng Chaoshu, Jerry Dean R (2014), "Improvement in the reproductive productivity of the tropical calanoid copepod *Parvocalanus crassirostris* through selective breeding", *Aquaculture*, 420, pp. 18 - 23.
49. Toledo, J.D., M.S. Golez, M. Doi, A. Ohno (1999), "Use of copepod ấu trùng during early feeding stage of grouper *Epinephelus coioides*", *Fisheries Science*, 65(3), pp. 390 - 397.
50. Doi, M., A. Ohno, Y. Taki, T. Singhagraiwan, H. Kohno (1997), "Ấu trùng of the calanoid copepod, *Acartia sinjiensis* as an initial food organism for larval red snapper, *Lutjanus argentimaculatus*", *Aquaculture Science*, 45(1), pp. 31 - 40.
51. Tommaso Russo, Clara Boglione, Paolo De Marzi, Stefano Cataudella (2009), "Feeding preferences of the dusky grouper (*Epinephelus marginatus*, Lowe 1834) larvae reared in semi - intensive conditions: A contribution addressing the domestication of this species", *Aquaculture*, 289(3 - 4), pp. 289 - 296.
52. Chesney Jr, E.J. (1989), "Estimating the food requirements of striped bass larvae *Morone saxatilis*: Effects of light, turbidity and turbulence", *Marine ecology progress series. Oldendorf*, 53(2), pp. 191 - 200.
53. McKinnon, A., S. Duggan, P. Nichols, M. Rimmer, G. Semmens, B. Robino (2003), "The potential of tropical paracalanid copepods as live feeds in aquaculture", *Aquaculture*, 223(1), pp. 89 - 106.
54. Shields, R.J., T. Kotani, A. Molnar, K. Marion, J. Kobashigawa, L. Tang (2005), Intensive cultivation of a subtropical paracalanid copepod, *Parvocalanus* sp., as prey for small marine fish larvae, In: C. - S. Lee, P.J. O'Bryen, N.H. Marcus (Ed.), *Copepods in Aquaculture*, Blackwell Publishing Ltd: Oxford, UK, pp. 209 - 223.
55. Alajmi Fahad. F, 2015. *Developing intensive culture techniques for the tropical copepod Parvocalanus crassirostris as a live feed for aquaculture*, James Cook University.
56. Buskey, E.J. (2005), Behavioral characteristics of copepods that affect their suitability as food for larval fishes. In: C. - S. Lee, P.J. O'Bryen, N.H. Marcus

- (Ed.), *Copepods in Aquaculture*, Blackwell Publishing Ltd., Oxford, UK, pp. 91 - 105.
57. Buskey, E.J., C. Coulter, S. Strom (1993), "Locomotory patterns of microzooplankton: potential effects on food selectivity of larval fish", *Bulletin of Marine Science*, 53(1), pp. 29 - 43.
  58. Raisuddin, S., K.W. Kwok, K.M. Leung, D. Schlenk, J. - S. Lee (2007), "The copepod *Tigriopus*: a promising marine model organism for ecotoxicology and environmental genomics", *Aquatic Toxicology*, 83(3), pp. 161 - 173.
  59. Dahms, H. - U., E. - J. Won, H. - S. Kim, J. Han, H.G. Park, S. Souissi, S. Raisuddin, J. - S. Lee (2016), "Potential of the small cyclopoid copepod *Paracyclops nana* as an invertebrate model for ecotoxicity testing", *Aquatic toxicology*, 180, pp. 282 - 294.
  60. Rainuzzo, J.R., K.I. Reitan, Y. Olsen (1997), "The significance of lipids at early stages of marine fish: a review", *Aquaculture*, 155(1 - 4), pp. 103 - 115.
  61. Izquierdo, M. (1996), "Essential fatty acid requirements of cultured marine fish larvae", *Aquaculture Nutrition*, 2(4), pp. 183 - 191.
  62. Marisol, I, William. K (2011), Lipids. In: G. Joan Holt (Ed.), *Larval Fish Nutrition*, John Wiley & Sons, Oxford, UK, pp. 47 - 81.
  63. Rezek, T.C., W.O. Watanabe, M. Harel, P.J. Seaton (2010), "Effects of dietary docosahexaenoic acid (22: 6n-3) and arachidonic acid (20: 4n-6) on the growth, survival, stress resistance and fatty acid composition in black sea bass *Centropristis striata* (Linnaeus 1758) larvae", *Aquaculture Research*, 41(9), pp. 1302 - 1314.
  64. Sargent, J. (1993), "Docosahexaenoic acid and the development of brain and retina in marine fish", *Omega - 3 fatty acids; Metabolism and Biological Effects*, pp. 139 - 149.
  65. Bell, M.V., R.S. Batty, J.R. Dick, K. Fretwell, J.C. Navarro, J.R. Sargent (1995), "Dietary deficiency of docosahexaenoic acid impairs vision at low light intensities in juvenile herring (*Clupea harengus*)", *Lipids*, 30(5), pp. 443.



66. Bell, M., L. McEvoy, J. Navarro (1996), "Deficit of didocosahexaenoyl phospholipid in the eyes of larval sea bass fed an essential fatty acid deficient diet", *Journal of Fish Biology*, 49(5), pp. 941 - 952.
67. Shields, R.J., J.G. Bell, F.S. Luizi, B. Gara, N.R. Bromage, J.R. Sargent (1999), "Natural copepods are superior to enriched *Artemia* *au trùngi* as feed for halibut larvae (*Hippoglossus hippoglossus*) in terms of survival, pigmentation and retinal morphology: relation to dietary essential fatty acids", *The Journal of nutrition*, 129(6), pp. 1186 - 1194.
68. Benítez - Santana, T., R. Masuda, E.J. Carrillo, E. Ganuza, A. Valencia, C. Hernández - Cruz, M. Izquierdo (2007), "Dietary n - 3 HUFA deficiency induces a reduced visual response in gilthead seabream *Sparus aurata* larvae", *Aquaculture*, 264(1 - 4), pp. 408 - 417.
69. Koven. W, G.A. O Nixon, A Gaon, S.E. Sadin (2018), "The effect of dietary DHA and taurine on rotifer capture success, growth, survival and vision in the larvae of Atlantic bluefin tuna (*Thunnus thynnus*)", *Aquaculture*, 482, pp. 137 - 145.
70. Copeman, L., J.B. CC Parrish, M Harel (2002 ), "Effects of docosahexaenoic, eicosapentaenoic, and arachidonic acids on the early growth, survival, lipid composition and pigmentation of yellowtail flounder (*Limanda ferruginea*): a live food enrichment experiment", *Aquaculture*, 210(1 - 4), pp. 285 - 304.
71. Watanabe, T., M. Izquierdo, T. Takeuchi, S. Satoh, C. Kitajima (1989), "Comparison between eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids in terms of essential fatty acid efficacy in larval red seabream", *Journal of Japan Fisheries Society*, 55(9), pp. 1635 - 1640.
72. Bessonart, M., M. Izquierdo, M. Salhi, C. Hernandez - Cruz, M. Gonzalez, H. Fernandez - Palacios (1999), "Effect of dietary arachidonic acid levels on growth and survival of gilthead sea bream (*Sparus aurata*) larvae", *Aquaculture*, 179(1 - 4), pp. 265 - 275.
73. Koven, W., Y. Barr, S. Lutzky, I. Ben - Atia, R. Weiss, M. Harel, P. Behrens, A. Tandler (2001), "The effect of dietary arachidonic acid (20: 4n- 6) on growth,

- survival and resistance to handling stress in gilthead seabream (*Sparus aurata*) larvae", *Aquaculture*, 193(1 - 2), pp. 107 - 122.
74. Tocher, D.R., J.R. Sargent (1984), "Analyses of lipids and fatty acids in ripe roes of some northwest European marine fish", *Lipids*, 19(7), pp. 492 - 499.
  75. Sargent, J., L. McEvoy, A. Estevez, G. Bell, M. Bell, J. Henderson, D. Tocher (1999), "Lipid nutrition of marine fish during early development: current status and future directions", *Aquaculture*, 179(1 - 4), pp. 217 - 229.
  76. Navarro, J., R. Batty, M. Bell, J. Sargent (1993), "Effects of two *Artemia* diets with different contents of polyunsaturated fatty acids on the lipid composition of larvae of Atlantic herring (*Clupea harengus*)", *Journal of fish biology*, 43(4), pp. 503 - 515.
  77. Mæhre, H., K. Hamre, E. Elvevoll (2013), "Nutrient evaluation of rotifers and zooplankton: feed for marine fish larvae", *Aquaculture Nutrition*, 19(3), pp. 301 - 311.
  78. Koedijk, R., A. Folkvord, A. Foss, K. Pittman, S. Stefansson, S. Handeland, A. Imsland (2010), "The influence of first-feeding diet on the Atlantic cod *Gadus morhua* phenotype: survival, development and long-term consequences for growth", *Journal of Fish Biology*, 77(1), pp. 1 - 19.
  79. Garcia, A.S., C.C. Parrish, J.A. Brown (2008), "Growth and lipid composition of Atlantic cod (*Gadus morhua*) larvae in response to differently enriched *Artemia franciscana*", *Fish physiology and biochemistry*, 34(1), pp. 77 - 94.
  80. Santhanam, P., N. Jeyaraj, K. Jothiraj, S. Ananth, S.D. Kumar, P. Pachiappan (2019), "Evaluation of the Suitability of Marine Copepods as an Alternative Live Feed in High - Health Fish Larval Production", *Basic and Applied Zooplankton Biology*, pp. 277 - 292.
  81. Kassim, Z., A.S. Hamzah, H.A. Hashim, H.H. Hasnan (2019), "Fatty Acid Composition in Cultured *Amphiascoides neglectus* (Copepod: Harpacticoida)".
  82. Tam.T.D, Tung. H (2015), "Rearing the spotted seahorse *Hippocampus kuda* by feeding live and frozen copepods collected from shrimp ponds", *Aquaculture Research*, 46(6), pp. 1356 - 1362.

83. Bell, J., L. McEvoy, A. Estevez, R. Shields, J. Sargent (2003), "Optimising lipid nutrition in first - feeding flatfish larvae", *Aquaculture*, 227(1 - 4), pp. 211 - 220.
84. Rayner, T.A., J. - S. Hwang, B.W. Hansen (2017), "Minimizing the use of fish oil enrichment in live feed by use of a self - enriching calanoid copepod *P. annandalei*", *Journal of Plankton Research*, pp. 1 - 8.
85. Christopher, C.P., Vanessa M. French, M.J. Whiticar (2012), "Lipid class and fatty acid composition of copepods *Calanus finmarchicus*, *C. glacialis*, *Pseudocalanus* sp., *Tisbe furcata* and *Nitokra lacustris* fed various combinations of autotrophic and heterotrophic protists", *Journal of Plankton Research*, 34(5), pp. 356–375.
86. Næss, T., M. Germain - Henry, K.E. Naas (1995), "First feeding of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) using different combinations of *Artemia* and wild zooplankton", *Aquaculture*, 130(2 - 3), pp. 235 - 250.
87. Helland, S., B.F. Terjesen, L. Berg (2003), "Free amino acid and protein content in the planktonic copepod *Temora longicornis* compared to *Artemia franciscana*", *Aquaculture*, 215(1), pp. 213 - 228.
88. Schipp, G.R., J.M. Bosmans, A.J. Marshall (1999), "A method for hatchery culture of tropical calanoid copepods, *Acartia* spp", *Aquaculture*, 174(1), pp. 81 - 88.
89. McEvoy, L., T. Naess, J. Bell, Ø. Lie (1998), "Lipid and fatty acid composition of normal and malpigmented Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) fed enriched *Artemia*: a comparison with fry fed wild copepods", *Aquaculture*, 163(3 - 4), pp. 237 - 250.
90. Gagnat, M.R., P. - A. Wold, T. Bardal, G. Øie, E. Kjørsvik (2016), "Allometric growth and development of organs in ballan wrasse (*Labrus bergylta* Ascanius, 1767) larvae in relation to different live prey diets and growth rates", *Biology open*, 5(9), pp. 1241 - 1251.
91. Rasdi, N.W., J.G. Qin (2018), "Copepod supplementation as a live food improved growth and survival of Asian seabass *Lates calcarifer* larvae", *Aquaculture research*, 49(11), pp. 3606 - 3613.

92. Zeng, C., L. Shao, A. Ricketts, J. Moorhead (2018), "The importance of copepods as live feed for larval rearing of the green mandarin fish *Synchiropus splendidus*", *Aquaculture*, 491, pp. 65 - 71.
93. Caturao, D. Romeo (2018), "Nutritional Value of *Pseudodiaptomus annandalie* (Copepod: Calanoida) and its Suitability as Feed to Milkfish Larvae", *Philippine Journal of Agricultural Economics*, 2(1).
94. Thuong. T.D, Hoang. T (2015), "Rearing the spotted seahorse *Hippocampus kuda* by feeding live and frozen copepods collected from shrimp ponds", *Aquaculture Research*, 46(6), pp. 1356 - 1362.
95. Luizi, F.S., B. Gara, R.J. Shields, N.R. Bromage (1999), "Further description of the development of the digestive organs in Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) larvae, with notes on differential absorption of copepod and Artemia prey", *Aquaculture*, 176(1 - 2), pp. 101 - 116.
96. Støttrup, J.G., K. Richardson, E. Kirkegaard, N.J. Pihl (1986), "The cultivation of *Acartia tonsa* Dana for use as a live food source for marine fish larvae", *Aquaculture*, 52(2), pp. 87 - 96.
97. Olivotto, I., N. Tökle, V. Nozzi, L. Cossignani, O. Carnevali (2010), "Preserved copepods as a new technology for the marine ornamental fish aquaculture: A feeding study", *Aquaculture*, 308(3 - 4), pp. 124 - 131.
98. Abate, T.G., R. Nielsen, M. Nielsen, G. Drillet, P.M. Jepsen, B.W. Hansen (2015), "Economic feasibility of copepod production for commercial use: result from a prototype production facility", *Aquaculture*, 436, pp. 72 - 79.
99. Drillet, G., M.H. Iversen, T.F. Sørensen, H. Ramløv, T. Lund, B.W. Hansen (2006), "Effect of cold storage upon eggs of a calanoid copepod, *Acartia tonsa* (Dana) and their offspring", *Aquaculture*, 254(1 - 4), pp. 714 - 729.
100. Drillet, G., S. Frouël, M.H. Sichlau, P.M. Jepsen, J.K. Højgaard, A.K. Joarder, B.W. Hansen (2011), "Status and recommendations on marine copepod cultivation for use as live feed", *Aquaculture*, 315(3 - 4), pp. 155 - 166.
101. Santhosh, B., K. Saleela, F. Muhammed Anzeer, K. Aneesh, V.A. Mijo, C. Unnikrishnan, H. Jose Kingsley, A. Udayakumar, G. Yoyak (2018), Basic biological aspects of copepods relevant to culture. In: D.A. Gopalakrishnan

(Ed.), *Culture techniques of marine copepods*, Library & Documentation Centre, CMFRI, Kerala, India, pp. 9 - 18.

102. Hansen, B.W., E. Boesen, O.B. Brodnicke, N.L. Corfixen, P.M. Jepsen, S.M. Larsen, C.D. Læssøe, P.S. Munch, P.K. Nielsen, J. Olesen (2018), "Interactions between populations of the calanoid copepod *Acartia tonsa* Dana and the harpacticoid copepod *Tisbe holothuriae* Humes in mixed cultures of live feed for fish larvae", *Aquaculture research*, 49(3), pp. 1274 - 1283.
103. Payne, M.F., R. Rippingale (2001), "Intensive cultivation of the calanoid copepod *Gladioferens imparipes*", *Aquaculture*, 201(3 - 4), pp. 329 - 342.
104. Rønnestad, I., S. Helland, Ø. Lie (1998), "Feeding *Artemia* to larvae of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) results in lower larval vitamin A content compared with feeding copepods", *Aquaculture*, 165(1 - 2), pp. 159 - 164.
105. Hagiwara, A., H. - J. Kim, H. Matsumoto, Y. Ohta, T. Morita, A. Hatanaka, R. Ishizuka, Y. Sakakura (2016), "Production and use of two marine zooplanktons, *Tigriopus japonicus* and *Diaphanosoma celebensis*, as live food for red sea bream *Pagrus major* larvae", *Fisheries science*, 82(5), pp. 799 - 809.
106. Ananth, S., P. Santhanam (2019), Intensive culture, biochemical composition analysis, and use of zooplankton *Tisbe* sp.(Copepod: Harpacticoida) as an alternative live feed for shrimp larviculture. In: Perumal S., Ajima B., Perumal P. (Ed.), *Basic and Applied Zooplankton Biology*, Springer, 329 - 362.
107. Rhodes, A. (2003), Methods for high density batch culture of *Nitokra lacustris*, a marine harpacticoid copepod. In: H.B.a.A. Skiftesvik (Ed.), *The big fish bang* Institute of Marine Research, Bergen, Norway, pp. 449 - 465.
108. Broach, J.S., E.J. Cassiano, C.A. Watson (2017), "Baseline culture parameters for the cyclopoid copepod *Oithona colcarva*: a potential new live feed for marine fish larviculture", *Aquaculture research*, 48(8), pp. 4461 - 4469.
109. Støttrup, J.G. (2006), A review on the status and progress in rearing copepods for marine larviculture. Advantages and disadvantages among calanoid, harpacticoid and cyclopoid copepods. In: L. Elizabeth Cruz Suárez, Denis Ricque Marie, Mireya Tapia Salazar, Martha G. Nieto López, David A. Villarreal Cavazos, & A.C.P.C.y.A.G. Ortega. (Ed.), *Avances en Nutrición*

*Acuícola VIII .Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. 15 - 17 Noviembre*, Universidad Autónoma de Nuevo León, Mexico, pp. 62 - 82.

110. Lahnsteiner, F., M. Kletzl, T. Weismann (2009), "The risk of parasite transfer to juvenile fishes by live copepod food with the example *Triaenophorus crassus* and *Triaenophorus nodulosus*", *Aquaculture*, 295(1 - 2), pp. 120 - 125.
111. Su, H. - M., S. - H. Cheng, T. - I. Chen, M. - S. Su (2005), "Culture of copepods and applications to marine finfish larval rearing in Taiwan", *Copepods in aquaculture*, pp. 183 - 194.
112. Van der Meeren, T., Ø. Karlsen, P.L. Liebig, A. Mangor - Jensen (2014), "Copepod production in a saltwater pond system: a reliable method for achievement of natural prey in start - feeding of marine fish larvae", *Aquacultural Engineering*, 62, pp. 17 - 27.
113. Edward J. Buskey (2005), Behavioral characteristics of copepods that affect their suitability as food for larval fishes. In: C. - S. Lee, O'Bryen, Patricia J, Marcus, Nancy H (Ed.), *Copepods in aquaculture*, Blackwell Publishing, Australia, pp. 91 - 105.
114. Ajiboye, O., Yakubu. AF, Adams. TE, Olaji. ED, Nwogu. NA (2011), "A review of the use of copepods in marine fish larviculture", *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 21(2), pp. 225 - 246.
115. Sarkisian, B.L., J.T. Lemus, A. Apeitos, R.B. Blaylock, E.A. Saillant (2019), "An intensive, large - scale batch culture system to produce the calanoid copepod, *Acartia tonsa*", *Aquaculture*, 501, pp. 272 - 278.
116. VanderLugt, K. (2005), "Intensive cultivation of the Calanoid copepod *Bestiolina similis*", *Journal of Young Investigators*.
117. Jayasingam, P., M. Gopinath, R. Dineshkumar, P. Sampathkumar (2015), "Intensive Cultivation of the Calanoid Copepod *Acartia gracilis* for mariculture purpose", *International Journal of Research in Biological Sciences*, 5(4), pp. 30 - 34.
118. Mauchline, J., J. Blaxter, A. Southward, P. Tyler (1998), "The biology of calanoid copepods—introduction", *Advances in Marine Biology [33rd Ed]*. Elsevier Academic Press. USA.

119. Zhang, J., A. Ianora, C. Wu, D. Pellegrini, F. Esposito, I. Buttino (2015), "How to increase productivity of the copepod *Acartia tonsa* (Dana): effects of population density and food concentration", *Aquaculture research*, 46(12), pp. 2982 - 2990.
120. Natalia, V.Z., A.A. Nina (1995), "Fatty acid composition of 15 species of marine microalgae", *Phytochemistry*, 39(2), pp. 351 - 356.
121. Sukenik, A., R. Wahnnon (1991), "Biochemical quality of marine unicellular algae with special emphasis on lipid composition. I. *Isochrysis galbana*", *Aquaculture*, 97(1), pp. 61 - 72.
122. Payne, M., R. Rippingale (2000), "Evaluation of diets for culture of the calanoid copepod *Glabidocera imparipes*", *Aquaculture*, 187(1 - 2), pp. 85 - 96.
123. Yoshimura, K., K. Usuki, T. Yoshimatsu, C. Kitajima, A. Hagiwara (1997), "Recent development of a high density mass culture system for the rotifer *Brachionus rotundiformis* Tschugunoff", *Hydrobiologia*, 358(1 - 3), pp. 139 - 144.
124. Franco, S.C., C.B. Augustin, A.J. Geffen, M.T. Dinis (2017), "Growth, egg production and hatching success of *Acartia tonsa* cultured at high densities", *Aquaculture*, 468, pp. 569 - 578.
125. Miller, C., M. Roman (2008), "Effects of food nitrogen content and concentration on the forms of nitrogen excreted by the calanoid copepod, *Acartia tonsa*", *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 359( 1), pp. 11 - 17.
126. Jepsen, P.M., C.V. Andersen, J. Schjelde, B.W. Hansen (2015), "Tolerance of un-ionized ammonia in live feed cultures of the calanoid copepod *Acartia tonsa* Dana", *Aquaculture Research*, 46(2), pp. 420 - 431.
127. Drillet, G., F. Lombard (2015), "A first step towards improving copepod cultivation using modelling: the effects of density, crowding, cannibalism, tank design and strain selection on copepod egg production yields", *Aquaculture research*, 46(7), pp. 1638 - 1647.

128. Drillet, G., R. Maguet, M. - S. Mahjoub, F. Roullier, M.J. Fielding (2014), "Egg cannibalism in *Acartia tonsa*: effects of stocking density, algal concentration, and egg availability", *Aquaculture international*, 22(4), pp. 1295 - 1306.
129. Camus, T., C. Zeng (2009), "The effects of stocking density on egg production and hatching success, cannibalism rate, sex ratio and population growth of the tropical calanoid copepod *Acartia sinjiensis*", *Aquaculture*, 287(1 - 2), pp. 145 - 151.
130. Lemus, Jason Thomas (2006), "The effect of copepod density on cannibalism, survival, development rate and egg production and the implications for population growth rate and demographics of *Acartia tonsa* Dana (Copepod: Calanoida)".
131. Jepsen, P.M., N. Andersen, T. Holm, A.T. Jørgensen, J.K. Højgaard, B.W. Hansen (2007), "Effects of adult stocking density on egg production and viability in cultures of the calanoid copepod *Acartia tonsa* (Dana)", *Aquaculture Research*, 38(7), pp. 764 - 772.
132. Payne, M., R. Rippingale, J. Cleary (2001), "Cultured copepods as food for West Australian dhufish (*Glaucosoma hebraicum*) and pink snapper (*Pagrus auratus*) larvae", *Aquaculture*, 194(1 - 2), pp. 137 - 150.
133. Rogier Daan, Santiago R. Gonzalez, W.C.M.K. Breteler (1988), "Cannibalism in omnivorous calanoid copepods ", *Marine ecology*, (47), pp. 45 - 54.
134. Bonnet, D., J. Titelman, R. Harris (2004), "Calanus the cannibal", *Journal of Plankton Research*, 26(8), pp. 937 - 948.
135. Lazzaretto, I., B. Salvato (1992), "Cannibalistic behaviour in the harpacticoid copepod *Tigriopus fulvus*", *Marine Biology*, 113(4), pp. 579 - 582.
136. Thomas Camus, Chaoshu Zeng (2009), "The effects of stocking density on egg production and hatching success, cannibalism rate, sex ratio and population growth of the tropical calanoid copepod *Acartia sinjiensis*", *Aquaculture*, 287 2009, (1–2), pp. 145 - 151.
137. Basedow, S.L., K.S. Tande (2006), "Cannibalism by female *Calanus finmarchicus* on áu trùnggar stages", *Marine Ecology Progress Series*, 327, pp. 247 - 255.



138. Heine, K.B., A. Abebe, A.E. Wilson, W.R. Hood (2019), "Copepod respiration increases by 7% per °C increase in temperature: A meta-analysis", *Limnology and Oceanography Letters*, 4(3), pp. 53 - 61.
139. Lee, H. - W., S. Ban, T. Ikeda, T. Matsuishi (2003), "Effect of temperature on development, growth and reproduction in the marine copepod *Pseudocalanus newmani* at satiating food condition", *Journal of Plankton Research*, 25(3), pp. 261 - 271.
140. Jepsen, P.M., C.V. Thoisen, T. Carron-Cabaret, A. Pinyol-Gallemí, S.L. Nielsen, B.W. Hansen (2019), "Effects of Salinity, Commercial Salts, and Water Type on Cultivation of the Cryptophyte Microalgae *Rhodomonas salina* and the Calanoid Copepod *Acartia tonsa*", *Journal of the World Aquaculture Society*, 50(1), pp. 104 - 118.
141. Beyrend - Dur, D., R. Kumar, T.R. Rao, S. Souissi, S. - H. Cheng, J. - S. Hwang (2011), "Demographic parameters of adults of *P. annandalei* (Copepod: Calanoida): temperature–salinity and generation effects", *Journal of experimental marine biology and ecology*, 404(1), pp. 1 - 14.
142. Nogueira, N., B. Sumares, C.A.P. Andrade, A. Afonso (2018), "The effects of temperature and photoperiod on egg hatching success, egg production and population growth of the calanoid copepod, *Acartia grani* (Calanoida: Acartiidae)", *Aquaculture research*, 49(1), pp. 93 - 103.
143. Peck, M.A., L. Holste (2006), "Effects of salinity, photoperiod and adult stocking density on egg production and egg hatching success in *Acartia tonsa* (Calanoida: Copepod): optimizing intensive cultures", *Aquaculture*, 255(1 - 4), pp. 341 - 350.
144. Hansen, B.W., P.J. Hansen, T.G. Nielsen, P.M. Jepsen (2017), "Effects of elevated pH on marine copepods in mass cultivation systems: practical implications", *Journal of Plankton Research*, 39(6), pp. 984 - 993.
145. Zervoudaki, S., C. Frangoulis, L. Giannoudi, E. Krasakopoulou (2014), "Effects of low pH and raised temperature on egg production, hatching and metabolic rates of a Mediterranean copepod species (*Acartia clausi*) under oligotrophic conditions", *Mediterranean Marine Science*, 15(1), pp. 74 - 83.

146. Kiko, R., H. Hauss, F. Buchholz, F. Melzner (2016), "Ammonium excretion and oxygen respiration of tropical copepods and euphausiids exposed to oxygen minimum zone conditions", *Biogeosciences (BG)*, 13(8), pp. 2241 - 2255.
147. Grodzins, M.A., P.M. Ruz, J.E. Keister (2016), "Effects of oxygen depletion on field distributions and laboratory survival of the marine copepod *Calanus pacificus*", *Journal of Plankton Research*, 38(6), pp. 1412 - 1419.
148. McLaskey, A.K., J.E. Keister, K.L. Schoo, M.B. Olson, B.A. Love (2019), "Direct and indirect effects of elevated CO<sub>2</sub> are revealed through shifts in phytoplankton, copepod development, and fatty acid accumulation", *PloS one*, 14(3), pp. e0213931.
149. Weydmann, A., J.E. Søreide, S. Kwasniewski, S. Widdicombe (2012), "Influence of CO<sub>2</sub> - induced acidification on the reproduction of a key Arctic copepod *Calanus glacialis*", *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 428, pp. 39 - 42.
150. Kennedy, A.J., T.W. Biber, L.R. May, G.R. Lotufo, J.D. Farrar, A.J. Bednar (2019), "Sensitivity of the Marine Calanoid Copepod *Pseudodiaptomus pelagicus* to Copper, Phenanthrene, and Ammonia", *Environmental toxicology and chemistry*, 38(6), pp. 1221 - 1230.
151. Hansen, B., G. Bech (1996), "Bacteria associated with a marine planktonic copepod in culture. I. Bacterial genera in seawater, body surface, intestines and fecal pellets and succession during fecal pellet degradation", *Journal of plankton research*, 18(2), pp. 257 - 273.
152. Salvesen, I., J. Skjermo, O. Vadstein (1999), "Growth of turbot (*Scophthalmus maximus*) during first feeding in relation to the proportion of r/K - strategists in the bacterial community of the rearing water", *Aquaculture*, 175(3 - 4), pp. 337 - 350.
153. Andrews, J.H., R.F. Harris (1986), "r - and K - selection and microbial ecology", *Advances in microbial ecology*, pp. 99 - 147.
154. Skjermo, J., I. Salvesen, G. Øie, Y. Olsen, O. Vadstein (1997), "Microbially matured water: a technique for selection of a non - opportunistic bacterial flora

in water that may improve performance of marine larvae", *Aquaculture International*, 5(1), pp. 13 - 28.

155. Vadstein, O. (1993), "A strategy to obtain microbial control during larval development of marine fish", *Fish Farming Technology*, pp. 69 - 75.
156. Attramadal, K.J., I. Salvesen, R. Xue, G. Øie, T.R. Størseth, O. Vadstein, Y. Olsen (2012), "Recirculation as a possible microbial control strategy in the production of marine larvae", *Aquacultural engineering*, 46, pp. 27 - 39.
157. Davidson, J., T. May, C. Good, T. Waldrop, B. Kenney, B.F. Terjesen, S. Summerfelt (2016), "Production of market - size North American strain Atlantic salmon *Salmo salar* in a land - based recirculation aquaculture system using freshwater", *Aquacultural engineering*, 74, pp. 1 - 16.
158. Song, X., Y. Liu, J.B. Pettersen, M. Brandão, X. Ma, S. Røberg, B. Frostell (2019), "Life cycle assessment of recirculating aquaculture systems: A case of Atlantic salmon farming in China", *Journal of Industrial Ecology*, 23(5), pp. 1077 - 1086.
159. Vu Thi Thuy Minh, Claire Douët, Thomas Allan, Rayner Christina, Thøisen Søren, Laurentius Nielsen, Benni Winding Hansen (2015), "Optimization of photosynthesis, growth, and biochemical composition of the microalga *Rhodomonas salina* an established diet for live feed copepods in aquaculture", *Journal of Applied Phycology*, 28(3), pp. 1485–1500.
160. Marcus, N.H., M. Murray (2001), "Copepod diapause eggs: a potential source of ấu trùng for aquaculture", *Aquaculture*, 201(1 - 2), pp. 107 - 115.
161. Hansena, B.W., Isabella Buttinob, Maria Emilia Cunhac, Guillaume Drilletd (2016), "Embryonic cold storage capability from seven strains of *Acartia spp.* isolated in different geographical areas", *Aquaculture*, 457, pp. 131 - 139.
162. Abate, T.G., R. Nielsen, M. Nielsen, P.M. Jepsen, B.W. Hansen (2016), "A cost-effectiveness analysis of live feeds in juvenile turbot *Scophthalmus maximus* (Linnaeus, 1758) farming: copepods versus Artemia", *Aquaculture nutrition*, 22(4), pp. 899 - 910.
163. Brander, K.M. (2007), "Global fish production and climate change", *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(50), pp. 19709 - 19714.

164. Merino, G., M. Barange, J.L. Blanchard, J. Harle, R. Holmes, I. Allen, E.H. Allison, M.C. Badjeck, N.K. Dulvy, J. Holt (2012), "Can marine fisheries and aquaculture meet fish demand from a growing human population in a changing climate?", *Global Environmental Change*, 22(4), pp. 795 - 806.
165. Sewell, R.S. (1919), "A preliminary note on some new species of Copepod", *Records of the Indian Museum, Calcutta*, 16, pp. 1 - 18.
166. Barange, M., G. Merino, J. Blanchard, J. Scholtens, J. Harle, E. Allison, J. Allen, J. Holt, S. Jennings (2014), "Impacts of climate change on marine ecosystem production in societies dependent on fisheries", *Nature Climate Change*, 4(3), pp. 211.
167. GrØnning, J., N.X. Doan, N.T. Dinh, K.V. Dinh, T.G. Nielsen (2019), "Ecology of *P. annandalei* in tropical aquaculture ponds with emphasis on the limitation of production", *Journal of Plankton Research*, 41(5), pp. 741 - 758.
168. Campbell, B.M., S.J. Vermeulen, P.K. Aggarwal, C. Corner - Dolloff, E. Girvetz, A.M. Loboguerrero, J. Ramirez - Villegas, T. Rosenstock, L. Sebastian, P.K. Thornton (2016), "Reducing risks to food security from climate change", *Global Food Security*, 11, pp. 34 - 43.
169. Golez, M.N., T. Takahashi, T. Ishimarul, A. Ohno (2004), "Post - embryonic development and reproduction of *P. annandalei* (Copepod: Calanoida)", *Plankton Biology and Ecology*, 51(1), pp. 15 - 25.
170. Chen, Q., J. Sheng, Q. Lin, Y. Gao, J. Lv (2006), "Effect of salinity on reproduction and survival of the copepod *P. annandalei* Sewell, 1919", *Aquaculture*, 258(1), pp. 575 - 582.
171. Dur, G., S. Souissi, F.G. Schmitt, D. Beyrend - Dur, J. - S. Hwang (2011), "Mating and mate choice in *P. annandalei* (Copepod: Calanoida)", *Journal of experimental marine biology and ecology*, 402(1), pp. 1 - 11.
172. Lee, C. - H., H. - U. Dahms, S. - H. Cheng, S. Souissi, F.G. Schmitt, R. Kumar, J. - S. Hwang (2011), "Mating behaviour of *P. annandalei* (Copepod, Calanoida) at calm and hydrodynamically disturbed waters", *Marine biology*, 158(5), pp. 1085 - 1094.

173. Dur, G., S. Souissi, F.G. Schmitt, S. - H. Cheng, J. - S. Hwang (2012), "Sex ratio and mating behavior in the calanoid copepod *P. annandalei*", *Zoological Studies*, 51(5), pp. 589 - 597.
174. Kjørboe, T., H. Jiang (2013), "To eat and not be eaten: optimal foraging behaviour in suspension feeding copepods", *Journal of the Royal Society Interface*, 10(78), pp. 20120693.
175. Pagano, M., E. Kouassi, L. Saint - Jean, R. Arfi, M. Bouvy (2003), "Feeding of *Acartia clausi* and *Pseudodiaptomus hessei* (Copepod: Calanoida) on natural particles in a tropical lagoon (Ebrié, Côte d'Ivoire)", *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 56(3 - 4), pp. 433 - 445.
176. Froneman, P. (2006), "The importance of phytoplankton size in mediating trophic interactions within the plankton of a southern African estuary", *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 70(4), pp. 693 - 700.
177. Williamson, C.E., N.M. Butler (1986), "Predation on rotifers by the suspension-feeding calanoid copepod *Diaptomus pallidus*", *Limnology and Oceanography*, 31(2), pp. 393 - 402.
178. Stoecker, D.K., D.A. Egloff (1987), "Predation by *Acartia tonsa* Dana on planktonic ciliates and rotifers", *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 110(1), pp. 53 - 68.
179. Michels, J., S.N. Gorb (2015), "Mandibular gnathobases of marine planktonic copepods—feeding tools with complex micro - and nanoscale composite architectures", *Beilstein journal of nanotechnology*, 6(1), pp. 674 - 685.
180. Dhanker, R., J.C. Molinero, R. Kumar, L. - C. Tseng, A. Ianora, J. - S. Hwang (2015), "Responses of the estuarine copepod *P. annandalei* to diatom polyunsaturated aldehydes: Reproduction, survival and postembryonic development", *Harmful algae*, 43, pp. 74 - 81.
181. Rayner, T.A., J.K. Højgaard, B.W. Hansen, J.S. Hwang (2017), "Density effect on the ovigerous rate of the calanoid copepod *P. annandalei* (Sewell 1919): implications for aquaculture", *Aquaculture Research*, 48(8), pp. 4573 - 4577.

182. Lehet, P., S.M. Ting, L. - L. Chew, V.C. Chong (2016), "Respiration rates of the copepod *P. annandalei* in tropical waters: beyond the thermal optimum", *Journal of Plankton Research*, 38(3), pp. 456 - 467.
183. He, X., X. Yang, B. Lu, J. Zhang (2016), "Maternal investment in the offspring of *P. annandalei* under nitrogen deficiency", *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 485, pp. 102 - 111.
184. Dhankar, R., R. Kumar, L. - C. Tseng, J. - S. Hwang (2013), "Ciliate (*Euplotes* sp.) predation by *P. annandalei* (Copepod: Calanoida) and the effects of mono - algal and pluri - algal diets", *Zoological Studies*, 52(1), pp. 34.
185. Hsieh, C. - h., C. - S. Chen, T. - S. Chiu (2005), "Composition and abundance of copepods and ichthyoplankton in Taiwan Strait (western North Pacific) are influenced by seasonal monsoons", *Marine and Freshwater Research*, 56(2), pp. 153 - 161.
186. Thomas, K., T.G. Nielsen (1994), "Regulation of zooplankton biomass and production in a temperate, coastal ecosystem. 1. Copepods", *Limnology and Oceanography*, 39(3), pp. 493 - 507.
187. Renz, J., H. - J. Hirche (2006), "Life cycle of *Pseudocalanus acuspes*giesbrecht (copepod, calanoida) in the central Baltic sea: I. seasonal and spatial distribution", *Marine biology*, 148(3), pp. 567 - 580.
188. Sullivan, B.K., J.H. Costello, D. Van Keuren (2007), "Seasonality of the copepods *Acartia hudsonica* and *Acartia tonsa* in Narragansett Bay, RI, USA during a period of climate change", *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 73(1 - 2), pp. 259 - 267.
189. Sun, X., Z. Liang, J. Zou, L. Wang (2013), "Seasonal variation in community structure and body length of dominant copepods around artificial reefs in Xiaoshi Island, China", *Chinese journal of oceanology and limnology*, 31(2), pp. 282 - 289.
190. Lima, F.P., D.S. Wetthey (2012), "Three decades of high - resolution coastal sea surface temperatures reveal more than warming", *Nature communications*, 3(1), pp. 1 - 13.

191. Hoegh - Guldberg, O., P.J. Mumby, A.J. Hooten, R.S. Steneck, P. Greenfield, E. Gomez, C.D. Harvell, P.F. Sale, A.J. Edwards, K. Caldeira (2007), "Coral reefs under rapid climate change and ocean acidification", *science*, 318(5857), pp. 1737 - 1742.
192. Wernberg, T., D.A. Smale, F. Tuya, M.S. Thomsen, T.J. Langlois, T. De Bettignies, S. Bennett, C.S. Rousseaux (2013), "An extreme climatic event alters marine ecosystem structure in a global biodiversity hotspot", *Nature Climate Change*, 3(1), pp. 78 - 82.
193. Pecl, G.T., M.B. Araújo, J.D. Bell, J. Blanchard, T.C. Bonebrake, I. - C. Chen, T.D. Clark, R.K. Colwell, F. Danielsen, B. Evengård (2017), "Biodiversity redistribution under climate change: Impacts on ecosystems and human well - being", *Science*, 355(6332), pp. eaai9214.
194. Stocker, T.F., D. Qin, G. - K. Plattner, M.M. Tignor, S.K. Allen, J. Boschung, A. Nauels, Y. Xia, V. Bex, P.M. Midgley (2014), *Climate change 2013: the physical science basis. Contribution of working group I to the fifth assessment report of IPCC the intergovernmental panel on climate change*, Cambridge University Press.
195. Jayaraman, T. (2015), "The Paris agreement on climate change: Background, analysis, and implications", *Review of Agrarian Studies*, 5(2), pp. 42 - 59.
196. Stuart - Smith, R.D., G.J. Edgar, A.E. Bates (2017), "Thermal limits to the geographic distributions of shallow - water marine species", *Nature Ecology & Evolution*, 1(12), pp. 1846 - 1852.
197. Tewksbury, J.J., R.B. Huey, C.A. Deutsch (2008), "Putting the heat on tropical animals", *Science*, 320(5881), pp. 1296 - 1297.
198. Lough, J. (2012), "Small change, big difference: sea surface temperature distributions for tropical coral reef ecosystems, 1950–2011", *Journal of Geophysical Research: Oceans*, 117(C9).
199. Wernberg, T., D.A. Smale, M.S. Thomsen (2012), "A decade of climate change experiments on marine organisms: procedures, patterns and problems", *Global Change Biology*, 18(5), pp. 1491 - 1498.

200. Chust, G., C. Castellani, P. Licandro, L. Ibaibarriaga, Y. Sagarminaga, X. Irigoien (2014), "Are Calanus spp. shifting poleward in the North Atlantic? A habitat modelling approach", *ICES Journal of Marine Science*, 71(2), pp. 241 - 253.
201. Reygondeau, G., G. Beaugrand (2011), "Future climate-driven shifts in distribution of Calanus finmarchicus", *Global Change Biology*, 17(2), pp. 756 - 766.
202. Parmesan, C. (2006), "Ecological and evolutionary responses to recent climate change", *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.*, 37, pp. 637 - 669.
203. Asch, R.G. (2015), "Climate change and decadal shifts in the phenology of larval fishes in the California Current ecosystem", *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(30), pp. E4065 - E4074.
204. Brown, C.J., M.I. O'Connor, E.S. Poloczanska, D.S. Schoeman, L.B. Buckley, M.T. Burrows, C.M. Duarte, B.S. Halpern, J.M. Pandolfi, C. Parmesan (2016), "Ecological and methodological drivers of species' distribution and phenology responses to climate change", *Global change biology*, 22(4), pp. 1548 - 1560.
205. Daufresne, M., K. Lengfellner, U. Sommer (2009), "Global warming benefits the small in aquatic ecosystems", *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(31), pp. 12788 - 12793.
206. Ohlberger, J. (2013), "Climate warming and ectotherm body size—from individual physiology to community ecology", *Functional Ecology*, 27(4), pp. 991 - 1001.
207. Sommer, U., K.H. Peter, S. Genitsaris, M. Moustaka-Gouni (2017), "Do marine phytoplankton follow Bergmann's rule sensu lato?", *Biological Reviews*, 92(2), pp. 1011 - 1026.
208. Horne, C.R., A.G. Hirst, D. Atkinson, A. Neves, T. Kiørboe (2016), "A global synthesis of seasonal temperature–size responses in copepods", *Global ecology and biogeography*, 25(8), pp. 988 - 999.
209. Cheung, W.W., J.L. Sarmiento, J. Dunne, T.L. Frölicher, V.W. Lam, M.D. Palomares, R. Watson, D. Pauly (2013), "Shrinking of fishes exacerbates



impacts of global ocean changes on marine ecosystems", *Nature Climate Change*, 3(3), pp. 254 - 258.

210. Hwang, J. - S., R. Kumar, C. - W. Hsieh, A.Y. Kuo, S. Souissi, M. - H. Hsu, J. - T. Wu, W. - C. Liu, C. - F. Wang, Q. - C. Chen (2010), "Patterns of zooplankton distribution along the marine, estuarine and riverine portions of the Danshuei ecosystem in northern Taiwan", *Zoological Studies*, 49(3), pp. 335 - 352.
211. Blanda, E., G. Drillet, C. - C. Huang, J. - S. Hwang, J.K. Højgaard, H.H. Jakobsen, T.A. Rayner, H. - M. Su, B.W. Hansen (2017), "An analysis of how to improve production of copepods as live feed from tropical Taiwanese outdoor aquaculture ponds", *Aquaculture*.
212. Handisyde, N., T.C. Telfer, L.G. Ross (2017), "Vulnerability of aquaculture-related livelihoods to changing climate at the global scale", *Fish and Fisheries*, 18(3), pp. 466 - 488.
213. Holling, C.S. (1966), "The functional response of invertebrate predators to prey density", *The Memoirs of the Entomological Society of Canada*, 98(S48), pp. 5 - 86.
214. Colin, S.P., H.G. Dam (2007), "Comparison of the functional and numerical responses of resistant versus non - resistant populations of the copepod *Acartia hudsonica* fed the toxic dinoflagellate *Alexandrium tamarense*", *Harmful Algae*, 6(6), pp. 875 - 882.
215. Sarma, S., J. Jimenez - Contreras, R. Fernandez, S. Nandini, G. Garcia - Garcia (2013), "Functional responses and feeding rates of *Mesocyclops pehpeiensis* (Copepod) fed different diets (rotifers, cladocerans, alga and cyanobacteria)", *Journal of Natural History*, 47(5 - 12), pp. 841 - 852.
216. Saiz, E., K. Griffell, A. Calbet, S. Isari (2014), "Feeding rates and prey: predator size ratios of the áu trúngì and adult females of the marine cyclopoid copepod *Oithona davisae*", *Limnology and Oceanography*, 59(6), pp. 2077 - 2088.

217. Kiørboe, T., E. Saiz, P. Tiselius, K.H. Andersen (2018), "Adaptive feeding behavior and functional responses in zooplankton", *Limnology and Oceanography*, 63(1), pp. 308 - 321.
218. Besiktepe, S., H.G. Dam (2002), "Coupling of ingestion and defecation as a function of diet in the calanoid copepod *Acartia tonsa*", *Marine Ecology Progress Series*, 229, pp. 151 - 164.
219. Butler, M., H.G. Dam (1994), "Production rates and characteristics of fecal pellets of the copepod *Acartia tonsa* under simulated phytoplankton bloom conditions: implications for vertical fluxes", *Marine Ecology Progress Series*, pp. 81 - 91.
220. Hansen, P.J., P.K. Bjørnsen, B.W. Hansen (1997), "Zooplankton grazing and growth: Scaling within the 2-2,-µm body size range", *Limnology and oceanography*, 42(4), pp. 687 - 704.
221. Isla, J.A., K. Lengfellner, U. Sommer (2008), "Physiological response of the copepod *Pseudocalanus* sp. in the Baltic Sea at different thermal scenarios", *Global Change Biology*, 14(4), pp. 895 - 906.
222. Krause, K.E., K.V. Dinh, T.G. Nielsen (2017), "Increased tolerance to oil exposure by the cosmopolitan marine copepod *Acartia tonsa*", *Science of the Total Environment*, 607, pp. 87 - 94.
223. Toxværd, K., K. Van Dinh, O. Henriksen, M. Hjorth, T.G. Nielsen (2018), "Impact of pyrene exposure during overwintering of the Arctic copepod *Calanus glacialis*", *Environmental science & technology*, 52(18), pp. 10328 - 10336.
224. Dam, H.G., V.T. Peterson (1988), "The effect of temperature on the gut clearance rate", *J. exp. mar. Biol. Ecol.*, 123, pp. 1 - 14.
225. Tiselius, P. (1998), "Short term feeding responses to starvation in three species of small calanoid copepods", *Marine Ecology Progress Series*, 168, pp. 119 - 126.
226. Guillard, R. (1962), "Studies on marine planktonic diatoms", *Can. J. Microbiol.*, 8, pp. 229 - 239.

227. Berggreen, U., B. Hansen, T. Kiørboe (1988), "Food size spectra, ingestion and growth of the copepod *Acartia tonsa* during development: Implications for determination of copepod production", *Marine biology*, 99(3), pp. 341 - 352.
228. DianaChilmawati, Suminto (2016), "The Effect of Different Diet of Phytoplankton Cells on Growth Performance of Copepod, *Oithona sp.* in Semi - mass Culture", *Aquatic Procedia*, 7, pp. 39 - 45.
229. Kiørboe, T., E. Bagøien (2005), "Motility patterns and mate encounter rates in planktonic copepods", *Limnology and Oceanography*, 50(6), pp. 1999 - 2007.
230. Sheng, J., Q. Lin, Q. Chen, Y. Gao, L. Shen, J. Lu (2006), "Effects of food, temperature and light intensity on the feeding behavior of three - spot juvenile seahorses, *Hippocampus trimaculatus* Leach", *Aquaculture*, 256(1 - 4), pp. 596 - 607.
231. Garrido, S., J. Cruz, A.M.P. Santos, P. Ré, E. Saiz (2013), "Effects of temperature, food type and food concentration on the grazing of the calanoid copepod *Centropages chierchiae*", *Journal of plankton research*, 35(4), pp. 843 - 854.
232. Grote, U., A. Pasternak, E. Arashkevich, E. Halvorsen, A. Nikishina (2015), "Thermal response of ingestion and egestion rates in the Arctic copepod *Calanus glacialis* and possible metabolic consequences in a warming ocean", *Polar Biology*, 38(7), pp. 1025 - 1033.
233. Angilletta Jr, M.J., P.H. Niewiarowski, C.A. Navas (2002), "The evolution of thermal physiology in ectotherms", *Journal of thermal Biology*, 27(4), pp. 249 - 268.
234. Angilletta Jr, M.J., M.J. Angilletta (2009), *Thermal adaptation: a theoretical and empirical synthesis*, Oxford University Press
235. Low, J.S., L.L. Chew, C.C. Ng, H.C. Goh, P. Lehetto, V.C. Chong (2018), "Heat shock response and metabolic stress in the tropical estuarine copepod *P. annandalei* converge at its upper thermal optimum", *Journal of thermal biology*, 74, pp. 14 - 22.
236. Carlotti, F., C. Rey, A. Javanshir, S. Nival (1997), "Laboratory studies on egg and faecal pellet production of *Centropages typicus*: effect of age, effect of

- temperature, individual variability", *Journal of plankton research*, 19(8), pp. 1143 - 1165.
237. Rey, C., F. Carlotti, K. Tande, B.H. Hygum (1999), "Egg and faecal pellet production of *Calanus finmarchicus* females from controlled mesocosms and in situ populations: influence of age and feeding history", *Marine Ecology Progress Series*, 188, pp. 133 - 148.
  238. Shin, K., M. - C. Jang, P. - K. Jang, S. - J. Ju, T. - K. Lee, M. Chang (2003), "Influence of food quality on egg production and viability of the marine planktonic copepod *Acartia omorii*", *Progress in Oceanography*, 57(3 - 4), pp. 265 - 277.
  239. Conover, R.J. (1966), "Assimilation of Organic matter by zooplankton 1", *Limnology and oceanography*, 11(3), pp. 338 - 345.
  240. Cowie, G.L., J.I. Hedges (1996), "Digestion and alteration of the biochemical constituents of a diatom (*Thalassiosira weissflogii*) ingested by an herbivorous zooplankton (*Calanus pacificus*)", *Limnology and Oceanography*, 41(4), pp. 581 - 594.
  241. Meehl, G.A., C. Tebaldi (2004), "More intense, more frequent, and longer lasting heat waves in the 21st century", *Science*, 305(5686), pp. 994 - 997.
  242. CIPOC (2014), *Climate Change 2013: The physical science basis: Working group I contribution to the fifth assessment report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*, Cambridge University Press
  243. Van Someren Gréve, H., R. Almeda, M. Lindegren, T. Kiørboe (2017), "Gender - specific feeding rates in planktonic copepods with different feeding behavior", *Journal of Plankton Research*, 39(4), pp. 631 - 644.
  244. Koski, M., W.K. Breteler, N. Schogt (1998), "Effect of food quality on rate of growth and development of the pelagic copepod *Pseudocalanus elongatus* (Copepod, Calanoida)", *Marine Ecology Progress Series*, 170, pp. 169 - 187.
  245. Koski, M., W.K. Breteler, N. Schogt, S. Gonzalez, H.H. Jakobsen (2006), "Life - stage - specific differences in exploitation of food mixtures: diet mixing enhances copepod egg production but not juvenile development", *Journal of plankton research*, 28(10), pp. 919 - 936.

246. Siqwepu, O., N.B. Richoux, N.G. Vine (2017), "The effect of different dietary microalgae on the fatty acid profile, fecundity and population development of the calanoid copepod *Pseudodiaptomus hessei* (Copepod: Calanoida)", *Aquaculture*, 468, pp. 162 - 168.
247. Milione, M., C. Zeng, T.C.A.R. Group (2007), "The effects of algal diets on population growth and egg hatching success of the tropical calanoid copepod, *Acartia sinjiensis*", *Aquaculture*, 273(4), pp. 656 - 664.
248. Dam, H.G., W.T. Peterson, D.C. Bellantoni (1994), "Seasonal feeding and fecundity of the calanoid copepod *Acartia tonsa* in Long Island Sound: is omnivory important to egg production?", *Hydrobiologia*, 292(1), pp. 191 - 199.
249. McManus, G.B., C.A. Foster (1998), "Seasonal and fine - scale spatial variations in egg production and triacylglycerol content of the copepod *Acartia tonsa* in a river - dominated estuary and its coastal plume", *Journal of plankton research*, 20(4), pp. 767 - 785.
250. Brown, M., S. Jeffrey, J. Volkman, G. Dunstan (1997), "Nutritional properties of microalgae for mariculture", *Aquaculture*, 151(1 - 4), pp. 315 - 331.
251. Gatten, R., J. Sargent, T. Forsberg, S. O'hara, E. Corner (1980), "On the nutrition and metabolism of Zooplankton XIV. Utilization of lipid by *Calanus helgolandicus* during maturation and reproduction", *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 60(2), pp. 391 - 399.
252. Kiørboe, T., F. Møhlenberg, K. Hamburger (1985), "Bioenergetics of the planktonic copepod *Acartia tonsa*: relation between feeding, egg production and respiration, and composition of specific dynamic action", *Mar Ecol Prog Ser*, 26(1 - 2), pp. 85 - 97.
253. Jónasdóttir, S. (1994), "Effects of food quality on the reproductive success of *Acartia tonsa* and *Acartia hudsonica*: laboratory observations", *Marine Biology*, 121(1), pp. 67 - 81.
254. Arendt, K., S. Jónasdóttir, P.J. Hansen, S. Gärtner (2005), "Effects of dietary fatty acids on the reproductive success of the calanoid copepod *Temora longicornis*", *Marine Biology*, 146(3), pp. 513 - 530.

255. Støttrup, J.G., J. Jensen (1990), "Influence of algal diet on feeding and egg - production of the calanoid copepod *Acartia tonsa* Dana", *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 141(2 - 3), pp. 87 - 105.
256. Gibbin, E.M., L.J. Chakravarti, M.D. Jarrold, F. Christen, V. Turpin, G.M. N'Siala, P.U. Blier, P. Calosi (2017), "Can multi - generational exposure to ocean warming and acidification lead to the adaptation of life history and physiology in a marine metazoan?", *Journal of Experimental Biology*, 220(4), pp. 551 - 563.
257. Messmer, V., M.S. Pratchett, A.S. Hoey, A.J. Tobin, D.J. Coker, S.J. Cooke, T.D. Clark (2017), "Global warming may disproportionately affect larger adults in a predatory coral reef fish", *Global Change Biology*, 23(6), pp. 2230 - 2240.
258. Forster, J., A.G. Hirst, G. Woodward (2012), "Growth and development rates have different thermal responses (vol 178, pg 668, 2011)", *American Naturalist*, 180(3), pp. 404 - 405.
259. Horne, C.R., A.G. Hirst, D. Atkinson, R. Almeda, T. Kiørboe (2019), "Rapid shifts in the thermal sensitivity of growth but not development rate causes temperature–size response variability during ontogeny in arthropods", *Oikos*, 128(6), pp. 823 - 835.
260. Truong, K.N., N. - A. Vu, N.X. Doan, M. - H. Le, M.T. Vu, K.V. Dinh (2020), "Predator cues increase negative effects of a simulated marine heatwave on tropical zooplankton", *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 530, pp. 151415.
261. Thuy T. Nguyen, Minh - Hoang Le, Nam X. Doan, S.T. Nguyen, Trinh S. H. Truong, Mih T.T. Vu, Khuong V. Dinh (2020), "Salinity and temperature effects on productivity of a tropical calanoid copepod *Pseudodiaptomus incisus*", *Aquaculture Research*, preprint.
262. Sørensen, J.G., T.N. Kristensen, V. Loeschcke (2003), "The evolutionary and ecological role of heat shock proteins", *Ecology letters*, 6(11), pp. 1025 - 1037.
263. Kiørboe, T. (2011), "How zooplankton feed: mechanisms, traits and trade-offs", *Biological Reviews*, 86(2), pp. 311 - 339.

264. Rhyne, A.L., C.L. Ohs, E. Stenn (2009), "Effects of temperature on reproduction and survival of the calanoid copepod *Pseudodiaptomus pelagicus*", *Aquaculture*, 292(1 - 2), pp. 53 - 59.
265. Kelly, M.W., M.B. DeBiasse, V.A. Villela, H.L. Roberts, C.F. Cecola (2016), "Adaptation to climate change: trade-offs among responses to multiple stressors in an intertidal crustacean", *Evolutionary applications*, 9(9), pp. 1147 - 1155.
266. Sichlau, M.H., T. Kiørboe (2011), "Age - and size - dependent mating performance and fertility in a pelagic copepod, *Temora longicornis*", *Marine Ecology Progress Series*, 442, pp. 123 - 132.
267. Kiørboe, T., M. Sabatini (1995), "Scaling of fecundity, growth and development in marine planktonic copepods", *Marine ecology progress series. Oldendorf*, 120(1), pp. 285 - 298.
268. Tang, K.W., H.G. Dam (2001), "Phytoplankton inhibition of copepod egg hatching: test of an exudate hypothesis", *Marine Ecology Progress Series*, 209, pp. 197 - 202.
269. Preziosi, B.M., J.A. Runge (2014), "The effect of warm temperatures on hatching success of the marine planktonic copepod, *Calanus finmarchicus*", *Journal of plankton research*, 36(5), pp. 1381 - 1384.
270. Preziosi, B.M., J.A. Runge, J.P. Christensen, R.J. Jones (2017), "Effects of pH and temperature on egg hatching success of the marine planktonic copepod, *Calanus finmarchicus*", *Marine Biology*, 164(11), pp. 218.
271. Napiorkowska, T., J. Kobak, P. Napiórkowski, J. Templin (2018), "The effect of temperature and light on embryogenesis and post - embryogenesis of the spider *Eratigena atrica* (Araneae, Agelenidae)", *Journal of thermal biology*, 72, pp. 26 - 32.
272. Pepe - Victoriano, R., M. Araya, V. Faundez (2012), "Temperature effect on embryonic survival and early larval stages of *Psetta maxima*", *International Journal of Morphology*, 30(4), pp. 1551 - 1557.
273. Vera - Chang, M.N., A.D. St - Jacques, R. Gagné, C.J. Martyniuk, C.L. Yauk, T.W. Moon, V.L. Trudeau (2018), "Transgenerational hypocortisolism and behavioral disruption are induced by the antidepressant fluoxetine in male

- zebrafish *Danio rerio*", *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 115(52), pp. E12435 - E12442.
274. Ishii, S., J. Bell, F. Marshall (2007), "Phytotoxic risk assessment of ambient air pollution on agricultural crops in Selangor State, Malaysia", *Environmental Pollution*, 150(2), pp. 267 - 279.
  275. Donelson, J., P. Munday, M. McCormick, C. Pitcher (2012), "Rapid transgenerational acclimation of a tropical reef fish to climate change", *Nature Climate Change*, 2(1), pp. 30 - 32.
  276. Chew, L.L., V.C. Chong (2016), "Response of marine copepods to a changing tropical environment: winners, losers and implications", *PeerJ*, 4, pp. e2052.
  277. Wernberg, T., D.A. Smale, F. Tuya, M.S. Thomsen, T.J. Langlois, T. De Bettignies, S. Bennett, C.S. Rousseaux (2013), "An extreme climatic event alters marine ecosystem structure in a global biodiversity hotspot", *Nature Climate Change*, 3(1), pp. 78.
  278. Andrew, Cortney, E. Stenn (2009), "Effects of temperature on reproduction and survival of the calanoid copepod *Pseudodiaptomus pelagicus*", *Aquaculture*, (292), pp. 53 - 59.
  279. Lee. Carol Eunmi, Petersen. Christine H (2003), "Effects of Developmental Acclimation on Adult Salinity Tolerance in the Freshwater-Invasive Copepod *Eurytemora affinis*", *Physiological and Biochemical Zoology*, 76.
  280. Goolish, E., R. Burton (1989), "Energetics of osmoregulation in an intertidal copepod: effects of anoxia and lipid reserves on the pattern of free amino accumulation", *Functional Ecology*, pp. 81 - 89.
  281. Calliari, D., C.M. Andersen, P. Thor, E. Gorokhova, P. Tiselius (2006), "Salinity modulates the energy balance and reproductive success of co - occurring copepods *Acartia tonsa* and *A. clausi* in different ways", *Marine Ecology Progress Series*, 312, pp. 177 - 188.
  282. DaniloCalliariab, Marc C.Andersen, BorgcPeterThora, ElenaGorokhovac, PeterTiseliusa (2008), "Instantaneous salinity reductions affect the survival and feeding rates of the co - occurring copepods *Acartia tonsa* Dana and *A. clausi*



- Giesbrecht differently", *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 362(1), pp. 18 - 25.
283. Medina, M.a., C. Barata (2004), "Static - renewal culture of *Acartia tonsa* (Copepod: Calanoida) for ecotoxicological testing", *Aquaculture*, 229(1 - 4), pp. 203 - 213.
  284. Lee, K. - W., J. - S. Rhee, J. Han, H.G. Park, J. - S. Lee (2012), "Effect of culture density and antioxidants on áu trùngrar production and gene expression of the cyclopoid copepod, *Paracyclops nana*", *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 161(2), pp. 145 - 152.
  285. Kline, M.D., C.W. Laidley (2015), "Development of intensive copepod culture technology for *Parvocalanus crassirostris*: Optimizing adult density", *Aquaculture*, 435, pp. 128 - 136.
  286. VanderLugt, K., P.H. Lenz (2008), "Management of áu trùngrus production in the paracalanid, *Bestiolina similis* (Crustacea: Copepod): effects of stocking densities and culture dilution", *Aquaculture*, 276(1 - 4), pp. 69 - 77.
  287. Gallucci, F., E. Ólafsson (2007), "Cannibalistic behaviour of rock - pool copepods: An experimental approach for space, food and kinship", *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 342(2), pp. 325 - 331.
  288. Buttino, I. (1994), "The effect of low concentrations of phenol and ammonia on egg production rates, fecal pellet production and egg viability of the calanoid copepod *Acartia clausi*", *Marine Biology*, 119(4), pp. 629 - 634.
  289. Vengadeshperumal, N., P. Damotharan, M. Rajkumar, P. Perumal, S. Vijayalakshmi, T. Balasubramanian (2010), "Laboratory culture and biochemical characterization of the calanoid copepod, *Acartia southwelli* Sewell, 1914 and *Acartia centrura* Giesbrecht, 1889", *Biol. Res*, 4(2), pp. 97 - 107.
  290. Gréve, H. V., Almeda, R., Lindegren, M., & Kiorboe, T. (2017). Gender specific feeding rates in planktonic copepods with different feeding behavior, *Journal of Plankton Research*, 39(4), 631-644.



## PHỤ LỤC

### 1. Nội dung 1 - Ảnh hưởng của mật độ tảo (*C. muelleri*, *I. galbana*, *T. chuii*) và nhiệt độ (25°C, 30°C và 35°C) lên tốc độ lọc của *P. annandalei* trưởng thành.

\* Kích thước trung bình của con đực là  $755,6 \pm 2,71 \mu\text{m}$  (mean  $\pm$  SE,  $n = 100$ ) và con cái tương ứng là  $927,1 \pm 3,59 \mu\text{m}$  (mean  $\pm$  SE,  $n = 100$ ).

\* Phân tích phương sai đa yếu tố (Three-way ANOVAs), ảnh hưởng của mật độ tảo *C. muelleri* và nhiệt độ lên PP và SPP của *P. annandalei*.

| <i>Chaetoceros muelleri</i>                  | Ảnh hưởng lên PP |          |          | Ảnh hưởng lên SPP |          |          |
|----------------------------------------------|------------------|----------|----------|-------------------|----------|----------|
|                                              | <i>df1, df2</i>  | <i>F</i> | <i>P</i> | <i>df1, df2</i>   | <i>F</i> | <i>P</i> |
| Thức ăn                                      | 8. 216           | 227,59   | <0,001   | 8. 216            | 161,18   | <0,001   |
| Nhiệt độ                                     | 2. 216           | 310,76   | <0,001   | 2. 216            | 387,30   | <0,001   |
| Giới tính                                    | 1. 216           | 115,98   | <0,001   | 1. 216            | 430,55   | <0,001   |
| Thức ăn $\times$ Giới tính                   | 8. 216           | 2,88     | 0,0046   | 8. 216            | 17,27    | <0,001   |
| Thức ăn $\times$ Nhiệt độ                    | 16. 216          | 11,62    | <0,001   | 16. 216           | 14,68    | <0,001   |
| Giới tính $\times$ Nhiệt độ                  | 2. 216           | 5,45     | 0,005    | 2. 216            | 54,36    | <0,001   |
| Thức ăn $\times$ Nhiệt độ $\times$ Giới tính | 16. 216          | 4,65     | <0,001   | 16. 216           | 7,50     | <0,001   |

\* Phân tích phương sai đa yếu tố (Three-way ANOVAs), ảnh hưởng của mật độ tảo *Isochrysis galbana* và nhiệt độ lên PP và SPP của *P. annandalei*.

| <i>Isochrysis galbana</i>                    | Ảnh hưởng lên PP |          |          | Ảnh hưởng lên SPP |          |          |
|----------------------------------------------|------------------|----------|----------|-------------------|----------|----------|
|                                              | <i>df1, df2</i>  | <i>F</i> | <i>P</i> | <i>df1, df2</i>   | <i>F</i> | <i>P</i> |
| Thức ăn                                      | 8.216            | 180,59   | <0,001   | 8.216             | 144,94   | <0,001   |
| Nhiệt độ                                     | 2.216            | 112,46   | <0,001   | 2.216             | 158,96   | <0,001   |
| Giới tính                                    | 1.216            | 305,76   | <0,001   | 1.216             | 358,07   | <0,001   |
| Thức ăn $\times$ Giới tính                   | 8.216            | 1,42     | 0,19     | 8.216             | 13,23    | <0,001   |
| Thức ăn $\times$ Nhiệt độ                    | 16.216           | 4,69     | <0,001   | 16.216            | 4,15     | <0,001   |
| Giới tính $\times$ Nhiệt độ                  | 2.216            | 161,50   | <0,001   | 2.216             | 224,27   | <0,001   |
| Thức ăn $\times$ Nhiệt độ $\times$ Giới tính | 16.216           | 2,86     | <0,001   | 16.216            | 4,62     | <0,001   |

\* Phân tích phương sai đa yếu tố (Three-way ANOVAs), ảnh hưởng của mật độ tảo *Tetraselmis chuii* và nhiệt độ lên PP và SPP của *P. annandalei*.

| <i>Tetraselmis chuii</i>   | Ảnh hưởng lên PP |          |          | Ảnh hưởng lên SPP |          |          |
|----------------------------|------------------|----------|----------|-------------------|----------|----------|
|                            | <i>df1, df2</i>  | <i>F</i> | <i>P</i> | <i>df1, df2</i>   | <i>F</i> | <i>P</i> |
| Thức ăn                    | 8.216            | 513,80   | <0,001   | 8.216             | 386,03   | <0,001   |
| Nhiệt độ                   | 2.216            | 171,35   | <0,001   | 2.216             | 169,84   | <0,001   |
| Giới tính                  | 1.216            | 6,72     | 0,010    | 1.216             | 276,9    | <0,001   |
| Thức ăn $\times$ Giới tính | 8.216            | 3,34     | 0,0013   | 8.216             | 37,40    | <0,001   |
| Thức ăn $\times$ Nhiệt độ  | 16.216           | 5,68     | <0,001   | 16.216            | 5,03     | <0,001   |

|                                |        |        |        |        |        |        |
|--------------------------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| Giới tính × Nhiệt độ           | 2.216  | 188,07 | <0,001 | 2.216  | 639,20 | <0,001 |
| Thức ăn × Nhiệt độ × Giới tính | 16.216 | 2,79   | <0,001 | 16.216 | 7,78   | <0,001 |

## 2. Nội dung 2 - Ảnh hưởng của ba loài tảo (*C. muelleri*, *I. galbana*, *T. chuii*) lên sinh trưởng và sinh sản của *P. annandalei* ở nhiệt độ 30°C và 34°C.

**\* Phân tích phương sai đa yếu tố (Two-way ANOVAs): ảnh hưởng của nhiệt độ và loài tảo lên kích thước con đực và cái trưởng thành *P. annandalei*; tỷ lệ sống.**

### Tests of Between - Subjects Effects

|                 | Dependent Variable | Type III Sum of Squares | df  | Mean Square   | F          | Sig. |
|-----------------|--------------------|-------------------------|-----|---------------|------------|------|
| Corrected Model | Cái                | 133257.857 <sup>a</sup> | 5   | 26651.571     | 15.760     | .000 |
|                 | Đực                | 74707.040 <sup>b</sup>  | 5   | 14941.408     | 7.739      | .000 |
| Intercept       | Cái                | 175483360.08            | 1   | 175483360.083 | 103770.089 | .000 |
|                 | Đực                | 135483264.12            | 1   | 135483264.120 | 70175.475  | .000 |
| Nhiệt độ        | Cái                | 99918.750               | 1   | 99918.750     | 59.086     | .000 |
|                 | Đực                | 42387.853               | 1   | 42387.853     | 21.955     | .000 |
| Tảo             | Cái                | 19577.247               | 2   | 9788.623      | 5.788      | .003 |
|                 | Đực                | 32278.380               | 2   | 16139.190     | 8.360      | .000 |
| Nhiệt độ * Tảo  | Cái                | 13761.860               | 2   | 6880.930      | 4.069      | .018 |
|                 | Đực                | 40.807                  | 2   | 20.403        | .011       | .989 |
| Error           | Cái                | 497177.060              | 294 | 1691.078      |            |      |
|                 | Đực                | 567606.840              | 294 | 1930.636      |            |      |
| Total           | Cái                | 176113795.00            | 300 |               |            |      |
|                 | Đực                | 136125578.00            | 300 |               |            |      |
| Corrected Total | Cái                | 630434.917              | 299 |               |            |      |
|                 | Đực                | 642313.880              | 299 |               |            |      |

a. R Squared = .211 (Adjusted R Squared = .198)

b. R Squared = .116 (Adjusted R Squared = .101)

### Tests of Between - Subjects Effects

Dependent Variable: Tỷ lệ sống

| Source          | Type III Sum of Squares | df | Mean Square | F        | Sig. |
|-----------------|-------------------------|----|-------------|----------|------|
| Corrected Model | 4019.467 <sup>a</sup>   | 5  | 803.893     | 17.220   | .000 |
| Intercept       | 69312.133               | 1  | 69312.133   | 1484.730 | .000 |
| Nhiệt độ        | 3898.800                | 1  | 3898.800    | 83.516   | .000 |
| Tảo             | 100.067                 | 2  | 50.033      | 1.072    | .358 |
| Nhiệt độ * Tảo  | 20.600                  | 2  | 10.300      | .221     | .804 |
| Error           | 1120.400                | 24 | 46.683      |          |      |
| Total           | 74452.000               | 30 |             |          |      |
| Corrected Total | 5139.867                | 29 |             |          |      |

a. R Squared = .782 (Adjusted R Squared = .737)

**\* Phân tích phương sai đa yếu tố (Two-way ANOVAs): ảnh hưởng của nhiệt độ và loài tảo lên sức sinh sản; tỷ lệ nở thành công và số ấu trùng nở ra/P. *annandalei*.**

**Tests of Between - Subjects Effects**

Dependent Variable: Sức sinh sản

| Source          | Type III Sum of Squares | df  | Mean Square | F        | Sig. |
|-----------------|-------------------------|-----|-------------|----------|------|
| Corrected Model | 1035.067 <sup>a</sup>   | 5   | 207.013     | 19.895   | .000 |
| Intercept       | 82933.813               | 1   | 82933.813   | 7970.443 | .000 |
| Nhiệt độ        | 950.520                 | 1   | 950.520     | 91.351   | .000 |
| Tảo             | 15.007                  | 2   | 7.503       | .721     | .487 |
| Nhiệt độ * Tảo  | 69.540                  | 2   | 34.770      | 3.342    | .037 |
| Error           | 3059.120                | 294 | 10.405      |          |      |
| Total           | 87028.000               | 300 |             |          |      |
| Corrected Total | 4094.187                | 299 |             |          |      |

a. R Squared = .253 (Adjusted R Squared = .240)

**Tests of Between - Subjects Effects**

Dependent Variable: Tỷ lệ nở thành công

| Source          | Type III Sum of Squares | df | Mean Square | F        | Sig. |
|-----------------|-------------------------|----|-------------|----------|------|
| Corrected Model | 2927.539 <sup>a</sup>   | 5  | 585.508     | 11.724   | .000 |
| Intercept       | 185401.685              | 1  | 185401.685  | 3712.439 | .000 |
| Nhiệt độ        | 2834.352                | 1  | 2834.352    | 56.754   | .000 |
| Tảo             | 74.371                  | 2  | 37.185      | .745     | .486 |
| Nhiệt độ * Tảo  | 18.816                  | 2  | 9.408       | .188     | .830 |
| Error           | 1198.576                | 24 | 49.941      |          |      |
| Total           | 189527.800              | 30 |             |          |      |
| Corrected Total | 4126.115                | 29 |             |          |      |

a. R Squared = .710 (Adjusted R Squared = .649)

**Tests of Between - Subjects Effects**

Dependent Variable: Số ấu trùng/Cái

| Source          | Type III Sum of Squares | df | Mean Square | F        | Sig. |
|-----------------|-------------------------|----|-------------|----------|------|
| Corrected Model | 251.067 <sup>a</sup>    | 5  | 50.213      | 31.060   | .000 |
| Intercept       | 3808.133                | 1  | 3808.133    | 2355.546 | .000 |
| Nhiệt độ        | 246.533                 | 1  | 246.533     | 152.495  | .000 |
| Tảo             | 4.067                   | 2  | 2.033       | 1.258    | .302 |
| Nhiệt độ * Tảo  | .467                    | 2  | .233        | .144     | .866 |
| Error           | 38.800                  | 24 | 1.617       |          |      |
| Total           | 4098.000                | 30 |             |          |      |
| Corrected Total | 289.867                 | 29 |             |          |      |

a. R Squared = .866 (Adjusted R Squared = .838)

**\* Phân tích phương sai đa yếu tố (Two-way ANOVAs): ảnh hưởng của nhiệt độ và loài tảo lên tổng số ấu trùng sinh ra/*P. annandalei* trong 10 ngày**

**Tests of Between - Subjects Effects**

Dependent Variable: Tổng số ấu trùng sinh ra trong 10 ngày

| Source          | Type III Sum of Squares | df | Mean Square | F        | Sig. |
|-----------------|-------------------------|----|-------------|----------|------|
| Corrected Model | 25630.800 <sup>a</sup>  | 5  | 5126.160    | 29.418   | .000 |
| Intercept       | 286945.200              | 1  | 286945.200  | 1646.744 | .000 |
| Nhiệt độ        | 24998.533               | 1  | 24998.533   | 143.464  | .000 |
| Tảo             | 337.400                 | 2  | 168.700     | .968     | .394 |
| Nhiệt độ * Tảo  | 294.867                 | 2  | 147.433     | .846     | .441 |
| Error           | 4182.000                | 24 | 174.250     |          |      |
| Total           | 316758.000              | 30 |             |          |      |
| Corrected Total | 29812.800               | 29 |             |          |      |

a. R Squared = .860 (Adjusted R Squared = .831)

**3. Nội dung 3 - Ảnh hưởng của điều kiện nhiệt độ cao (34°C) đến sinh trưởng và sinh sản của *P. annandalei* qua ba thế hệ**

**\* Ảnh hưởng của nhiệt độ và thế hệ lên kích thước con trưởng thành.**

| Yếu tố ảnh hưởng  | Đực             |          |          | Cái             |          |          |
|-------------------|-----------------|----------|----------|-----------------|----------|----------|
|                   | <i>df1, df2</i> | <i>F</i> | <i>P</i> | <i>df1, df2</i> | <i>F</i> | <i>P</i> |
| Nhiệt độ          | 1.540           | 32,45    | <0,001   | 1. 500          | 65,48    | <0,001   |
| Thế hệ            | 2.539           | 35,29    | <0,001   | 2. 500          | 137,17   | <0,001   |
| Nhiệt độ × Thế hệ | 2.539           | 1,64     | 0,19     | 2. 500          | 5,82     | 0,0032   |

**\* Ảnh hưởng của nhiệt độ và thế hệ lên sức sinh sản và sức sinh sản đặc trưng.**

| Yếu tố ảnh hưởng  | Sức sinh sản    |          |          | Sức sinh sản đặc trưng |          |          |
|-------------------|-----------------|----------|----------|------------------------|----------|----------|
|                   | <i>df1, df2</i> | <i>F</i> | <i>P</i> | <i>df1, df2</i>        | <i>F</i> | <i>P</i> |
| Nhiệt độ          | 1. 191          | 61,45    | <0,001   | 1.191                  | 9,98     | 0,0019   |
| Thế hệ            | 2. 191          | 54,17    | <0,001   | 2.191                  | 3,81     | 0,024    |
| Nhiệt độ × Thế hệ | 2. 191          | 8,80     | <0,001   | 2.191                  | 2,22     | 0,11     |

**\* Ảnh hưởng của nhiệt độ và thể hệ lên tỷ lệ nở của *P. annandalei*.**

| Yếu tố ảnh hưởng  | Tỷ lệ nở        |          |          |
|-------------------|-----------------|----------|----------|
|                   | <i>df1, df2</i> | <i>F</i> | <i>P</i> |
| Nhiệt độ          | 1. 210          | 9,90     | 0,0019   |
| Thể hệ            | 2. 210          | 0,02     | 0,99     |
| Nhiệt độ × Thể hệ | 2. 210          | 0,02     | 0,99     |

**\* Ảnh hưởng của nhiệt độ và thể hệ lên sinh sản và sinh sản đặc trưng.**

| Yếu tố ảnh hưởng  | Sinh sản ấu trùng |          |                  | Sinh sản ấu trùng đặc trưng |          |                  |
|-------------------|-------------------|----------|------------------|-----------------------------|----------|------------------|
|                   | <i>df1, df2</i>   | <i>F</i> | <i>P</i>         | <i>df1, df2</i>             | <i>F</i> | <i>P</i>         |
| Nhiệt độ          | 1. 24             | 52,79    | <b>&lt;0,001</b> | 1. 24                       | 29,21    | <b>&lt;0,001</b> |
| Thể hệ            | 2. 24             | 10,85    | <b>&lt;0,001</b> | 2. 24                       | 1,72     | 0,20             |
| Nhiệt độ × Thể hệ | 2. 24             | 4,97     | <b>0,016</b>     | 2. 24                       | 2,17     | 0,14             |

#### **4. Nội dung 4 - Ảnh hưởng của nhiệt độ (25°C, 30°C và 34°C) lên sinh trưởng và sinh sản của loài *P. annandalei***

**\* Phân tích phương sai một yếu tố (One way Anova): Kích thước con trưởng thành đực cái và sức sinh sản ở nhiệt độ 25°C, 30°C và 34°C.**

**ANOVA**

**Kích thước**

|                | Sum of Squares | df  | Mean Square | F       | Sig. |
|----------------|----------------|-----|-------------|---------|------|
| Between Groups | 4072018.883    | 5   | 814403.777  | 263.703 | .000 |
| Within Groups  | 3038922.324    | 984 | 3088.336    |         |      |
| Total          | 7110941.207    | 989 |             |         |      |

Duncan<sup>a,b</sup> Kích thước con trưởng thành

| Giới - nhiệt độ | N   | Subset for alpha = 0.05 |                |       |       |       |
|-----------------|-----|-------------------------|----------------|-------|-------|-------|
|                 |     | 1                       | 2              | 3     | 4     | 5     |
| Đực - 34°C      | 214 | 661.6                   | 681.0<br>695.3 | 772.7 | 790.2 | 876.7 |
| Đực - 30°C      | 200 |                         |                |       |       |       |
| Đực - 25°C      | 63  |                         |                |       |       |       |
| Cái - 34°C      | 193 | 1.000                   | .051           | 1.000 | 1.000 | 1.000 |
| Cái - 30°C      | 262 |                         |                |       |       |       |
| Cái - 25°C      | 58  |                         |                |       |       |       |
| Sig.            |     | 1.000                   | .051           | 1.000 | 1.000 | 1.000 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 115.863.

b. The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error

levels are not guaranteed.

## ANOVA

Sức sinh sản

|                | Sum of Squares | df  | Mean Square | F      | Sig. |
|----------------|----------------|-----|-------------|--------|------|
| Between Groups | 1324.143       | 2   | 662.072     | 35.164 | .000 |
| Within Groups  | 2165.255       | 115 | 18.828      |        |      |
| Total          | 3489.398       | 117 |             |        |      |

Duncan<sup>a,b</sup> Sức sinh sản

| Nhiệt độ | N  | Subset for alpha = 0.05 |        |         |
|----------|----|-------------------------|--------|---------|
|          |    | 1                       | 2      | 3       |
| 34°C     | 42 | 14.476                  |        |         |
| 30°C     | 39 |                         | 19.564 |         |
| 25°C     | 37 |                         |        | 22.5405 |
| Sig.     |    | 1.000                   | 1.000  | 1.000   |

**\* Phân tích phương sai một yếu tố (One way Anova): Số ấu trùng nở ra/cái, tỷ lệ nở thành công và số ấu trùng sinh ra bởi mỗi con cái trong 10 ngày ở nhiệt độ 25°C, 30°C và 34°C.**

## ANOVA

Số ấu trùng/Cái

|                | Sum of Squares | df | Mean Square | F     | Sig. |
|----------------|----------------|----|-------------|-------|------|
| Between Groups | 174.404        | 2  | 87.202      | 5.445 | .021 |
| Within Groups  | 192.178        | 12 | 16.015      |       |      |
| Total          | 366.582        | 14 |             |       |      |

Duncan<sup>a</sup> Số ấu trùng/Cái

| Nhiệt độ | N | Subset for alpha = 0.05 |        |
|----------|---|-------------------------|--------|
|          |   | 1                       | 2      |
| 34°C     | 5 | 9.173                   |        |
| 30°C     | 5 |                         | 16.400 |
| 25°C     | 5 |                         | 16.413 |
| Sig.     |   | 1.000                   | .996   |

## ANOVA

Tỷ lệ nở thành công

|                | Sum of Squares | df | Mean Square | F      | Sig. |
|----------------|----------------|----|-------------|--------|------|
| Between Groups | 2120.370       | 2  | 1060.185    | 19.913 | .000 |
| Within Groups  | 638.889        | 12 | 53.241      |        |      |
| Total          | 2759.259       | 14 |             |        |      |

Duncan<sup>a</sup>

| Nhiệt độ | N | Subset for alpha = 0.05 |         |
|----------|---|-------------------------|---------|
|          |   | 1                       | 2       |
| 34°C     | 5 | 63.3333                 |         |
| 30°C     | 5 |                         | 83.3333 |
| 25°C     | 5 |                         | 91.6667 |
| Sig.     |   | 1.000                   | .096    |



## ANOVA

Số ấu trùng sinh ra trong 10 ngày

|                | Sum of Squares | df | Mean Square | F      | Sig. |
|----------------|----------------|----|-------------|--------|------|
| Between Groups | 27158.933      | 2  | 13579.467   | 83.038 | .000 |
| Within Groups  | 1962.400       | 12 | 163.533     |        |      |
| Total          | 29121.333      | 14 |             |        |      |

Duncan<sup>a</sup> Số ấu trùng sinh ra trong 10 ngày

| Nhiệt độ | N | Subset for alpha = 0.05 |        |        |
|----------|---|-------------------------|--------|--------|
|          |   | 1                       | 2      | 3      |
| 34°C     | 5 | 78.40                   | 101.60 | 178.00 |
| 30°C     | 5 |                         |        |        |
| 25°C     | 5 |                         |        |        |
| Sig.     |   | 1.000                   | 1.000  | 1.000  |

**\* Phân tích phương sai một yếu tố (One way Anova): tuổi thọ của con đực và con cái ở nhiệt độ 25°C, 30°C và 34°C.**

## ANOVA

Tuổi thọ

|                    | Sum of Squares | df | Mean Square | F     | Sig. |
|--------------------|----------------|----|-------------|-------|------|
| Đực Between Groups | 318.400        | 2  | 159.200     | 28.26 | .000 |
| Within Groups      | 67.600         | 12 | 5.633       |       |      |
| Total              | 386.000        | 14 |             |       |      |
| Cái Between Groups | 360.133        | 2  | 180.067     | 42.53 | .000 |
| Within Groups      | 50.800         | 12 | 4.233       |       |      |
| Total              | 410.933        | 14 |             |       |      |

### Tuổi thọ con đực

Duncan<sup>a</sup>

| Nhiệt độ | N | Subset for alpha = 0.05 |         |         |
|----------|---|-------------------------|---------|---------|
|          |   | 1                       | 2       | 3       |
| 34°C     | 5 | 32.0000                 | 38.8000 | 43.2000 |
| 30°C     | 5 |                         |         |         |
| 25°C     | 5 |                         |         |         |
| Sig.     |   | 1.000                   | 1.000   | 1.000   |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

### Tuổi thọ con cái

Duncan<sup>a</sup>

| Nhiệt độ | N | Subset for alpha = 0.05 |         |         |
|----------|---|-------------------------|---------|---------|
|          |   | 1                       | 2       | 3       |
| 34°C     | 5 | 32.0000                 | 38.2000 | 44.0000 |
| 30°C     | 5 |                         |         |         |
| 25°C     | 5 |                         |         |         |
| Sig.     |   | 1.000                   | 1.000   | 1.000   |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

**5. Nội dung 5 - Khả năng chịu sốc độ mặn và sự tương tác của độ mặn với nhiệt độ lên đặc điểm sinh học và sinh sản của loài *P. annandalei***

**\* Phân tích phương sai đa yếu tố (Two-way ANOVAs): ảnh hưởng của độ mặn, thời gian sốc, giai đoạn phát triển đến tỷ lệ sống của *P. annandalei*.**

**Tests of Between - Subjects Effects**

| Source                         | Type IV Sum of Squares  | df  | Mean Square | F        | Sig. |
|--------------------------------|-------------------------|-----|-------------|----------|------|
| Corrected Model                | 379343.981 <sup>a</sup> | 71  | 5342.873    | 23.795   | .000 |
| Intercept                      | 533022.685              | 1   | 533022.685  | 2373.874 | .000 |
| Độ mặn                         | 158198.148              | 8   | 19774.769   | 88.069   | .000 |
| Thời gian                      | 1611.574                | 1   | 1611.574    | 7.177    | .008 |
| Giai đoạn                      | 154416.204              | 3   | 51472.068   | 229.236  | .000 |
| Độ mặn * Thời gian sốc         | 459.259                 | 8   | 57.407      | .256     | .979 |
| Độ mặn * Giai đoạn             | 60912.963               | 24  | 2538.040    | 11.303   | .000 |
| Thời gian * Giai đoạn          | 1212.500                | 3   | 404.167     | 1.800    | .150 |
| Độ mặn * Thời gian * Giai đoạn | 2533.333                | 24  | 105.556     | .470     | .983 |
| Error                          | 32333.333               | 144 | 224.537     |          |      |
| Total                          | 944700.000              | 216 |             |          |      |
| Corrected Total                | 411677.315              | 215 |             |          |      |

a. R Squared = .921 (Adjusted R Squared = .883)

**\* Phân tích phương sai một yếu tố (One way Anova): ảnh hưởng của sốc độ mặn lên tỷ lệ sống các giai đoạn *P. annandalei* tại thời điểm 24 giờ và 49 giờ.**

Duncan<sup>a</sup>: Tỷ lệ sống cái trưởng thành 24h

| Độ mặn | N | Subset for alpha = 0.05 |         |         |
|--------|---|-------------------------|---------|---------|
|        |   | 1                       | 2       | 3       |
| 0 ppt  | 3 | .0000                   | 40.0000 | 86.6667 |
| 40 ppt | 3 |                         |         |         |
| 5 ppt  | 3 |                         |         |         |
| 35 ppt | 3 |                         |         |         |
| 10 ppt | 3 |                         |         |         |
| 15 ppt | 3 |                         |         |         |
| 20 ppt | 3 |                         |         |         |
| 25 ppt | 3 |                         |         |         |
| 30 ppt | 3 |                         |         |         |
| Sig.   |   | 1.000                   | 1.000   | .195    |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

Duncan<sup>a</sup>: Tỷ lệ sống đực trưởng thành 24h

| Độ mặn | N | Subset for alpha = 0.05 |         |         |
|--------|---|-------------------------|---------|---------|
|        |   | 1                       | 2       | 3       |
| 0 ppt  | 3 | .0000                   | 53.3333 | 86.6667 |
| 40 ppt | 3 | 20.0000                 |         |         |
| 35 ppt | 3 |                         |         |         |
| 5 ppt  | 3 |                         |         |         |
| 30 ppt | 3 |                         |         |         |
| 10 ppt | 3 |                         |         |         |
| 15 ppt | 3 |                         |         |         |
| 20 ppt | 3 |                         |         |         |
| 25 ppt | 3 |                         |         |         |
| Sig.   |   | .219                    | .058    | .460    |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

Duncan<sup>a</sup>: Tỷ lệ sống con non ở 24h

| Độ mặn | N | Subset for alpha = 0.05 |         |         |         |
|--------|---|-------------------------|---------|---------|---------|
|        |   | 1                       | 2       | 3       | 4       |
| 0 ppt  | 3 | .0000                   | 23.3333 | 50.0000 | 70.0000 |
| 40 ppt | 3 | 3.3333                  |         |         |         |
| 35 ppt | 3 | 16.6667                 |         |         |         |
| 5 ppt  | 3 | 23.3333                 |         |         |         |
| 10 ppt | 3 |                         |         |         |         |
| 15 ppt | 3 |                         |         |         |         |
| 25 ppt | 3 |                         |         |         |         |
| 30 ppt | 3 |                         |         |         |         |
| 20 ppt | 3 |                         |         |         |         |
| Sig.   |   | .158                    | .099    | .109    | .146    |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

Duncan<sup>a</sup>: Tỷ lệ sống ấu trùng ở 24h

| Độ mặn | N | Subset for alpha = 0.05 |         |         |
|--------|---|-------------------------|---------|---------|
|        |   | 1                       | 2       | 3       |
| 0 ppt  | 3 | .0000                   | 33.3333 | 90.0000 |
| 5 ppt  | 3 | .0000                   |         |         |
| 10 ppt | 3 | .0000                   |         |         |
| 35 ppt | 3 | .0000                   |         |         |
| 40 ppt | 3 | .0000                   |         |         |
| 30 ppt | 3 | 10.0000                 |         |         |
| 15 ppt | 3 | 13.3333                 |         |         |
| 25 ppt | 3 |                         |         |         |
| 20 ppt | 3 |                         |         |         |
| Sig.   |   | .221                    | 1.000   | 1.000   |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

Duncan<sup>a</sup>: Tỷ lệ sống cái trưởng thành 48h

| Độ mặn | N | Subset for alpha = 0.05 |         |          |
|--------|---|-------------------------|---------|----------|
|        |   | 1                       | 2       | 3        |
| 0 ppt  | 3 | .0000                   |         |          |
| 40 ppt | 3 |                         | 40.0000 |          |
| 5 ppt  | 3 |                         |         | 86.6667  |
| 35 ppt | 3 |                         |         | 90.0000  |
| 10 ppt | 3 |                         |         | 100.0000 |
|        |   |                         |         | 0        |
| 15 ppt | 3 |                         |         | 100.0000 |
|        |   |                         |         | 0        |
| 20 ppt | 3 |                         |         | 100.0000 |
|        |   |                         |         | 0        |
| 25 ppt | 3 |                         |         | 100.0000 |
|        |   |                         |         | 0        |
| 30 ppt | 3 |                         |         | 100.0000 |
|        |   |                         |         | 0        |
| Sig.   |   | 1.000                   | 1.000   | .195     |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

Duncan<sup>a</sup>: Tỷ lệ sống đực trưởng thành 48h

| Độ mặn | N | Subset for alpha = 0.05 |         |          |
|--------|---|-------------------------|---------|----------|
|        |   | 1                       | 2       | 3        |
| 0 ppt  | 3 | .0000                   |         |          |
| 40 ppt | 3 | 6.6667                  |         |          |
| 35 ppt | 3 |                         | 53.3333 |          |
| 30 ppt | 3 |                         | 80.0000 | 80.0000  |
| 5 ppt  | 3 |                         | 86.6667 | 86.6667  |
| 10 ppt | 3 |                         |         | 93.3333  |
| 15 ppt | 3 |                         |         | 100.0000 |
| 20 ppt | 3 |                         |         | 100.0000 |
| 25 ppt | 3 |                         |         | 100.0000 |
| Sig.   |   | .676                    | .058    | .272     |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

Duncan<sup>a</sup>: Tỷ lệ sống con non 48h

| Độ mặn | N | Subset for alpha = 0.05 |         |         |
|--------|---|-------------------------|---------|---------|
|        |   | 1                       | 2       | 3       |
| 0 ppt  | 3 | .0000                   |         |         |
| 40 ppt | 3 | .0000                   |         |         |
| 5 ppt  | 3 | 6.6667                  |         |         |
| 35 ppt | 3 | 6.6667                  |         |         |
| 10 ppt | 3 | 16.6667                 |         |         |
| 15 ppt | 3 | 36.6667                 | 36.6667 |         |
| 25 ppt | 3 |                         | 63.3333 | 63.3333 |
| 30 ppt | 3 |                         | 70.0000 | 70.0000 |
| 20 ppt | 3 |                         |         | 73.3333 |
| Sig.   |   | .050                    | .057    | .553    |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

Duncan<sup>a</sup>: Tỷ lệ sống ấu trùng 48h

| Độ mặn | N | Subset for alpha = 0.05 |         |
|--------|---|-------------------------|---------|
|        |   | 1                       | 2       |
| 0 ppt  | 3 | .0000                   |         |
| 5 ppt  | 3 | .0000                   |         |
| 10 ppt | 3 | .0000                   |         |
| 15 ppt | 3 | .0000                   |         |
| 25 ppt | 3 | .0000                   |         |
| 30 ppt | 3 | .0000                   |         |
| 35 ppt | 3 | .0000                   |         |
| 40 ppt | 3 | .0000                   |         |
| 20 ppt | 3 |                         | 80.0000 |
| Sig.   |   | 1.000                   | 1.000   |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

**\* Phân tích phương sai một yếu tố (One way Anova): ảnh hưởng của sức độ mặn lên tỷ lệ nở và số ấu trùng nở ra/*P. annandalei***

Duncan<sup>a</sup> Tỷ lệ nở thành công

| Doman  | N | Subset for alpha = 0.05 |         |         |         |         |
|--------|---|-------------------------|---------|---------|---------|---------|
|        |   | 1                       | 2       | 3       | 4       | 5       |
| 0 ppt  | 3 | .0000                   |         |         |         |         |
| 40 ppt | 3 | .0000                   |         |         |         |         |
| 35 ppt | 3 |                         | 27.6667 |         |         |         |
| 5 ppt  | 3 |                         |         | 41.6667 |         |         |
| 10 ppt | 3 |                         |         |         | 75.0000 |         |
| 15 ppt | 3 |                         |         |         | 77.6667 |         |
| 30 ppt | 3 |                         |         |         |         | 94.6667 |
| 20 ppt | 3 |                         |         |         |         | 97.3333 |
| 25 ppt | 3 |                         |         |         |         | 97.3333 |
| Sig.   |   | 1.000                   | 1.000   | 1.000   | .583    | .604    |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

Duncan<sup>a</sup> : Số ấu trùng/con cái

| Doman  | N | Subset for alpha = 0.05 |        |         |         |
|--------|---|-------------------------|--------|---------|---------|
|        |   | 1                       | 2      | 3       | 4       |
| 0 ppt  | 3 | .0000                   |        |         |         |
| 40 ppt | 3 | .0000                   |        |         |         |
| 35 ppt | 3 |                         | 2.3333 |         |         |
| 5 ppt  | 3 |                         | 3.3333 |         |         |
| 15 ppt | 3 |                         |        | 9.6667  |         |
| 10 ppt | 3 |                         |        | 10.6667 |         |
| 30 ppt | 3 |                         |        | 11.0000 |         |
| 25 ppt | 3 |                         |        |         | 15.0000 |
| 20 ppt | 3 |                         |        |         | 16.0000 |
| Sig.   |   | 1.000                   | .245   | .145    | .245    |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

**\* Phân tích phương sai đa yếu tố (Two-way ANOVAs): ảnh hưởng của độ mặn và nhiệt độ lên kích thước trưởng thành và sức sinh sản của *P. annandalei***

**Tests of Between - Subjects Effects**

| Source          | Dependent Variable | Type III Sum of Squares | df | Mean Square | F          | Sig. |
|-----------------|--------------------|-------------------------|----|-------------|------------|------|
| Corrected Model | Kích thước đực     | 595086.979 <sup>a</sup> | 13 | 45775.921   | 45.504     | .000 |
|                 | Kích thước cái     | 620981.674 <sup>b</sup> | 13 | 47767.821   | 18.192     | .000 |
|                 | Sức sinh sản       | 1564.229 <sup>c</sup>   | 13 | 120.325     | 36.056     | .000 |
| Intercept       | Kích thước đực     | 364735646.241           | 1  | 364735646.2 | 362568.806 | .000 |
|                 | Kích thước cái     | 468200314.566           | 1  | 468200314.5 | 178313.132 | .000 |
|                 | Sức sinh sản       | 131986.491              | 1  | 131986.491  | 39550.747  | .000 |
| Nhiệt độ        | Kích thước đực     | 429982.573              | 1  | 429982.573  | 427.428    | .000 |
|                 | Kích thước cái     | 470914.766              | 1  | 470914.766  | 179.347    | .000 |
|                 | Sức sinh sản       | 1086.263                | 1  | 1086.263    | 325.507    | .000 |

|                      |                |              |     |           |        |      |
|----------------------|----------------|--------------|-----|-----------|--------|------|
| Độ mặn               | Kích thước đực | 138586.069   | 6   | 23097.678 | 22.960 | .000 |
|                      | Kích thước cái | 96344.414    | 6   | 16057.402 | 6.115  | .000 |
|                      | Sức sinh sản   | 261.269      | 6   | 43.545    | 13.049 | .000 |
| Nhiệt độ *<br>Độ mặn | Kích thước đực | 26518.337    | 6   | 4419.723  | 4.393  | .000 |
|                      | Kích thước cái | 53722.494    | 6   | 8953.749  | 3.410  | .003 |
|                      | Sức sinh sản   | 216.697      | 6   | 36.116    | 10.822 | .000 |
| Error                | Kích thước đực | 690099.780   | 686 | 1005.976  |        |      |
|                      | Kích thước cái | 1801243.760  | 686 | 2625.720  |        |      |
|                      | Sức sinh sản   | 2289.280     | 686 | 3.337     |        |      |
| Total                | Kích thước đực | 366020833.00 | 700 |           |        |      |
|                      | Kích thước cái | 470622540.00 | 700 |           |        |      |
|                      | Sức sinh sản   | 135840.000   | 700 |           |        |      |
| Corrected<br>Total   | Kích thước đực | 1285186.759  | 699 |           |        |      |
|                      | Kích thước cái | 2422225.434  | 699 |           |        |      |
|                      | Sức sinh sản   | 3853.509     | 699 |           |        |      |

a. R Squared = .463 (Adjusted R Squared = .453)

b. R Squared = .256 (Adjusted R Squared = .242)

c. R Squared = .406 (Adjusted R Squared = .395)

**\* Phân tích phương sai một yếu tố (One way Anova): ảnh hưởng của độ mặn lên kích thước trưởng thành và sức sinh sản của *P. annandalei***

**ANOVA**

Kích thước trưởng thành và sức sinh sản

|                           |                | Sum of Squares | df  | Mean Square | F      | Sig. |
|---------------------------|----------------|----------------|-----|-------------|--------|------|
| Sức sinh sản ở 30°C       | Between Groups | 460.297        | 6   | 76.716      | 18.356 | .000 |
|                           | Within Groups  | 1433.520       | 343 | 4.179       |        |      |
|                           | Total          | 1893.817       | 349 |             |        |      |
| Sức sinh sản ở 34°C       | Between Groups | 17.669         | 6   | 2.945       | 1.180  | .316 |
|                           | Within Groups  | 855.760        | 343 | 2.495       |        |      |
|                           | Total          | 873.429        | 349 |             |        |      |
| Kích thước con đực ở 30°C | Between Groups | 66164.537      | 6   | 11027.423   | 8.071  | .000 |
|                           | Within Groups  | 468649.680     | 343 | 1366.326    |        |      |
|                           | Total          | 534814.217     | 349 |             |        |      |
| Kích thước con cái ở 30°C | Between Groups | 84938.789      | 6   | 14156.465   | 4.940  | .000 |
|                           | Within Groups  | 982836.380     | 343 | 2865.412    |        |      |
|                           | Total          | 1067775.169    | 349 |             |        |      |
| Kích thước con đực ở 34°C | Between Groups | 98939.869      | 6   | 16489.978   | 25.541 | .000 |
|                           | Within Groups  | 221450.100     | 343 | 645.627     |        |      |
|                           | Total          | 320389.969     | 349 |             |        |      |
| Kích thước con cái ở 34°C | Between Groups | 65128.120      | 6   | 10854.687   | 4.549  | .000 |
|                           | Within Groups  | 818407.380     | 343 | 2386.027    |        |      |
|                           | Total          | 883535.500     | 349 |             |        |      |

Duncan<sup>a</sup> Sức sinh sản ở 30°C

| Doman  | N  | Subset for alpha = 0.05 |         |         |         |
|--------|----|-------------------------|---------|---------|---------|
|        |    | 1                       | 2       | 3       | 4       |
| 35 ppt | 50 | 13.3200                 |         |         |         |
| 5 ppt  | 50 | 13.8400                 |         |         |         |
| 20 ppt | 50 |                         | 14.6800 |         |         |
| 30 ppt | 50 |                         | 14.8000 |         |         |
| 25 ppt | 50 |                         | 15.4000 | 15.4000 |         |
| 10 ppt | 50 |                         |         | 15.7600 |         |
| 15 ppt | 50 |                         |         |         | 17.0400 |
| Sig.   |    | .204                    | .097    | .379    | 1.000   |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 50.000.

Duncan<sup>a</sup> Sức sinh sản ở 34°C

| Độ mặn | N  | Subset for alpha = 0.05 |         |
|--------|----|-------------------------|---------|
|        |    | 1                       | 2       |
| 35 ppt | 50 | 12.1600                 |         |
| 10 ppt | 50 | 12.3600                 | 12.3600 |
| 5 ppt  | 50 | 12.4400                 | 12.4400 |
| 30 ppt | 50 | 12.4400                 | 12.4400 |
| 15 ppt | 50 | 12.5200                 | 12.5200 |
| 25 ppt | 50 | 12.5200                 | 12.5200 |
| 20 ppt | 50 |                         | 12.9600 |
| Sig.   |    | .330                    | .098    |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 50.000.

Duncan<sup>a</sup> Kích thước con đực ở 30°C

| Độ mặn | N  | Subset for alpha = 0.05 |          |          |
|--------|----|-------------------------|----------|----------|
|        |    | 1                       | 2        | 3        |
| 35 ppt | 50 | 725.3200                |          |          |
| 5 ppt  | 50 | 738.0200                | 738.0200 |          |
| 30 ppt | 50 | 738.4600                | 738.4600 |          |
| 10 ppt | 50 |                         | 746.7200 |          |
| 15 ppt | 50 |                         | 751.6200 |          |
| 20 ppt | 50 |                         | 754.1600 |          |
| 25 ppt | 50 |                         |          | 772.0600 |
| Sig.   |    | .094                    | .051     | 1.000    |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 50.000.

Duncan<sup>a</sup> Kích thước con đực ở 34°C

| Độ mặn | N  | Subset for alpha = 0.05 |          |          |          |          |
|--------|----|-------------------------|----------|----------|----------|----------|
|        |    | 1                       | 2        | 3        | 4        | 5        |
| 35 ppt | 50 | 669.9600                |          |          |          |          |
| 30 ppt | 50 | 678.2800                |          |          |          |          |
| 5 ppt  | 50 |                         | 692.6400 |          |          |          |
| 20 ppt | 50 |                         | 698.9200 | 698.9200 |          |          |
| 25 ppt | 50 |                         |          | 707.3600 | 707.3600 |          |
| 15 ppt | 50 |                         |          |          | 711.8200 | 711.8200 |
| 10 ppt | 50 |                         |          |          |          | 720.4000 |
| Sig.   |    | .103                    | .217     | .098     | .381     | .092     |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 50.000.

Duncan<sup>a</sup> Kích thước con cái ở 30°C

| Độ mặn | N  | Subset for alpha = 0.05 |          |          |
|--------|----|-------------------------|----------|----------|
|        |    | 1                       | 2        | 3        |
| 35 ppt | 50 | 823.3400                |          |          |
| 20 ppt | 50 | 831.6400                |          |          |
| 10 ppt | 50 | 832.1400                |          |          |
| 5 ppt  | 50 | 841.8800                | 841.8800 |          |
| 30 ppt | 50 | 846.7600                | 846.7600 |          |
| 25 ppt | 50 |                         | 860.0000 | 860.0000 |
| 15 ppt | 50 |                         |          | 870.6600 |
| Sig.   |    | .050                    | .111     | .320     |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 50.000.

Duncan<sup>a</sup> Kích thước con cái ở 34°C

| Độ mặn | N  | Subset for alpha = 0.05 |          |          |
|--------|----|-------------------------|----------|----------|
|        |    | 1                       | 2        | 3        |
| 35 ppt | 50 | 768.9000                |          |          |
| 25 ppt | 50 | 774.6600                | 774.6600 |          |
| 10 ppt | 50 |                         | 789.9800 | 789.9800 |
| 20 ppt | 50 |                         |          | 799.4000 |
| 5 ppt  | 50 |                         |          | 801.4200 |
| 15 ppt | 50 |                         |          | 802.2600 |
| 30 ppt | 50 |                         |          | 806.6800 |
| Sig.   |    | .556                    | .118     | .131     |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 50.000.



**\* Phân tích One - way ANOVA: ảnh hưởng của độ mặn lên tỷ lệ nở và Số ấu trùng/Cái, số ấu trùng sinh ra trong 10 ngày/cái ở hai điều kiện nhiệt độ nuôi 30°C và 34°C**

#### **ANOVA**

Tỷ lệ nở, Số ấu trùng sinh ra trong 10 ngày/cái

|                                            |                | Sum of Squares | df | Mean Square | F      | Sig. |
|--------------------------------------------|----------------|----------------|----|-------------|--------|------|
| Tỷ lệ nở 30°C                              | Between Groups | 840.571        | 6  | 140.095     | 2.954  | .045 |
|                                            | Within Groups  | 664.000        | 14 | 47.429      |        |      |
|                                            | Total          | 1504.571       | 20 |             |        |      |
| Tỷ lệ nở 34°C                              | Between Groups | 587.619        | 6  | 97.937      | 2.909  | .047 |
|                                            | Within Groups  | 471.333        | 14 | 33.667      |        |      |
|                                            | Total          | 1058.952       | 20 |             |        |      |
| Số ấu trùng sinh ra trong 10 ngày/cái 30°C | Between Groups | 83.143         | 6  | 13.857      | 13.227 | .000 |
|                                            | Within Groups  | 14.667         | 14 | 1.048       |        |      |
|                                            | Total          | 97.810         | 20 |             |        |      |
| Số ấu trùng sinh ra trong 10 ngày/cái 34°C | Between Groups | 38.952         | 6  | 6.492       | 9.738  | .000 |
|                                            | Within Groups  | 9.333          | 14 | .667        |        |      |
|                                            | Total          | 48.286         | 20 |             |        |      |

Duncan<sup>a</sup> Tỷ lệ nở 30°C

| Độ mặn | N | Subset for alpha = 0.05 |        |        |
|--------|---|-------------------------|--------|--------|
|        |   | 1                       | 2      | 3      |
| 35 ppt | 3 | 77.667                  |        |        |
| 5 ppt  | 3 | 83.000                  | 83.000 |        |
| 10 ppt | 3 | 83.333                  | 83.333 |        |
| 30 ppt | 3 | 83.333                  | 83.333 |        |
| 20 ppt | 3 |                         | 91.667 | 91.667 |
| 25 ppt | 3 |                         | 91.667 | 91.667 |
| 15 ppt | 3 |                         |        | 97.333 |
| Sig.   |   | .368                    | .183   | .355   |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

Duncan<sup>a</sup> Số naupli sinh ra trong 10 ngày/cái 30°C

| Độ mặn | N | Subset for alpha = 0.05 |       |        |
|--------|---|-------------------------|-------|--------|
|        |   | 1                       | 2     | 3      |
| 35 ppt | 3 | 5.333                   |       |        |
| 5 ppt  | 3 | 6.333                   | 6.333 |        |
| 30 ppt | 3 | 6.333                   | 6.333 |        |
| 25 ppt | 3 |                         | 8.000 |        |
| 10 ppt | 3 |                         |       | 10.000 |
| 20 ppt | 3 |                         |       | 10.000 |
| 15 ppt | 3 |                         |       | 10.667 |
| Sig.   |   | .275                    | .078  | .462   |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

Duncan<sup>a</sup> Tỷ lệ nở 34°C

| Độ mặn | N | Subset for alpha = 0.05 |        |
|--------|---|-------------------------|--------|
|        |   | 1                       | 2      |
| 35 ppt | 3 | 69.333                  |        |
| 5 ppt  | 3 | 77.667                  | 77.667 |
| 10 ppt | 3 | 77.667                  | 77.667 |
| 25 ppt | 3 | 80.333                  | 80.333 |
| 30 ppt | 3 | 80.333                  | 80.333 |
| 15 ppt | 3 |                         | 86.000 |
| 20 ppt | 3 |                         | 86.000 |
| Sig.   |   | .053                    | .136   |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

Duncan<sup>a</sup> Số naupli sinh ra trong 10 ngày/cái 34°C

| Độ mặn | N | Subset for alpha = 0.05 |       |       |       |
|--------|---|-------------------------|-------|-------|-------|
|        |   | 1                       | 2     | 3     | 4     |
| 35 ppt | 3 | 4.000                   |       |       |       |
| 5 ppt  | 3 | 5.000                   | 5.000 |       |       |
| 10 ppt | 3 |                         | 6.000 | 6.000 |       |
| 30 ppt | 3 |                         | 6.000 | 6.000 |       |
| 25 ppt | 3 |                         |       | 7.333 | 7.333 |
| 20 ppt | 3 |                         |       |       | 7.667 |
| 15 ppt | 3 |                         |       |       | 8.000 |
| Sig.   |   | .156                    | .176  | .077  | .359  |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

**\* Phân tích One - way ANOVA: ảnh hưởng của độ mặn lên tổng số ấu trùng sinh ra trong 10 ngày/cái ở hai điều kiện nhiệt độ nuôi 30°C và 34°C**

## ANOVA

Tổng Số ấu trùng/Cái.10 ngày

|                                     |                | Sum of Squares | df | Mean Square | F      | Sig. |
|-------------------------------------|----------------|----------------|----|-------------|--------|------|
| Tổng Số ấu trùng/Cái.10 ngày ở 30°C | Between Groups | 16679.143      | 6  | 2779.857    | 70.224 | .000 |
|                                     | Within Groups  | 1108.400       | 28 | 39.586      |        |      |
|                                     | Total          | 17787.543      | 34 |             |        |      |

|                                     |                |           |    |          |        |      |
|-------------------------------------|----------------|-----------|----|----------|--------|------|
| Tổng Số ấu trùng/Cái.10 ngày ở 34°C | Between Groups | 9224.286  | 6  | 1537.381 | 24.917 | .000 |
|                                     | Within Groups  | 1727.600  | 28 | 61.700   |        |      |
|                                     | Total          | 10951.886 | 34 |          |        |      |

Duncan<sup>a</sup> Tổng số ấu trùng sinh ra mỗi cái trong 10 ngày ở 30°C

| Độ mặn | N | Subset for alpha = 0.05 |          |          |          |          |          |
|--------|---|-------------------------|----------|----------|----------|----------|----------|
|        |   | 1                       | 2        | 3        | 4        | 5        | 6        |
| 35 ppt | 5 | 92.4000                 |          |          |          |          |          |
| 30 ppt | 5 |                         | 110.0000 |          |          |          |          |
| 5 ppt  | 5 |                         |          | 124.6000 |          |          |          |
| 25 ppt | 5 |                         |          |          | 137.6000 |          |          |
| 20 ppt | 5 |                         |          |          |          | 146.2000 |          |
| 10 ppt | 5 |                         |          |          |          | 151.6000 | 151.6000 |
| 15 ppt | 5 |                         |          |          |          |          | 156.8000 |
| Sig.   |   | 1.000                   | 1.000    | 1.000    | 1.000    | .186     | .202     |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

Duncan<sup>a</sup> Tổng số ấu trùng sinh ra mỗi cái trong 10 ngày ở 34°C

| Độ mặn | N | Subset for alpha = 0.05 |         |         |
|--------|---|-------------------------|---------|---------|
|        |   | 1                       | 2       | 3       |
| 35 ppt | 5 | 40.4000                 |         |         |
| 30 ppt | 5 | 48.2000                 |         |         |
| 5 ppt  | 5 |                         | 60.2000 |         |
| 20 ppt | 5 |                         | 68.4000 |         |
| 25 ppt | 5 |                         | 70.0000 |         |
| 15 ppt | 5 |                         |         | 85.2000 |
| 10 ppt | 5 |                         |         | 87.2000 |
| Sig.   |   | .128                    | .071    | .690    |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

**\* Nội dung 6 - Ảnh hưởng của mật độ ấu trùng và mật độ trưởng thành ban đầu lên sinh trưởng và sinh sản của loài *P. annandalei* ở 2 điều kiện nhiệt độ 30°C và 34°C**

**\* Phân tích phương sai đa yếu tố (Two-way ANOVAs): ảnh hưởng của nhiệt độ và mật độ ấu trùng ban đầu lên tỷ lệ sống và phần trăm con trưởng thành ở 10 ngày tuổi.**

**Tests of Between - Subjects Effects**

| Source            | Dependent Variable | Type III Sum of Squares | df | Mean Square | F         | Sig. |
|-------------------|--------------------|-------------------------|----|-------------|-----------|------|
| Corrected Model   | Tỷ lệ sống         | 11674.300 <sup>a</sup>  | 7  | 1667.757    | 68.880    | .000 |
|                   | Trưởng thành       | 3317.375 <sup>b</sup>   | 7  | 473.911     | 120.742   | .000 |
| Intercept         | Tỷ lệ sống         | 37576.900               | 1  | 37576.900   | 1551.963  | .000 |
|                   | Trưởng thành       | 338744.025              | 1  | 338744.025  | 86304.210 | .000 |
| Nhiệt độ          | Tỷ lệ sống         | 2280.100                | 1  | 2280.100    | 94.170    | .000 |
|                   | Trưởng thành       | 308.025                 | 1  | 308.025     | 78.478    | .000 |
| Mật độ            | Tỷ lệ sống         | 8806.500                | 3  | 2935.500    | 121.239   | .000 |
|                   | Trưởng thành       | 2695.275                | 3  | 898.425     | 228.898   | .000 |
| Nhiệt độ * Mật độ | Tỷ lệ sống         | 587.700                 | 3  | 195.900     | 8.091     | .000 |
|                   | Trưởng thành       | 314.075                 | 3  | 104.692     | 26.673    | .000 |
| Error             | Tỷ lệ sống         | 774.800                 | 32 | 24.213      |           |      |
|                   | Trưởng thành       | 125.600                 | 32 | 3.925       |           |      |
| Total             | Tỷ lệ sống         | 50026.000               | 40 |             |           |      |
|                   | Trưởng thành       | 342187.000              | 40 |             |           |      |
| Corrected Total   | Tỷ lệ sống         | 12449.100               | 39 |             |           |      |
|                   | Trưởng thành       | 3442.975                | 39 |             |           |      |

**\* Phân tích phương sai đa yếu tố (Two-way ANOVAs): ảnh hưởng của nhiệt độ và mật độ ấu trùng ban đầu lên kích thước con trưởng thành và sức sinh sản.**

**Tests of Between - Subjects Effects**

| Source    | Dependent Variable | Type III Sum of Squares | df | Mean Square | F     | Sig. |
|-----------|--------------------|-------------------------|----|-------------|-------|------|
| Corrected | Kích thước         | 74943.486 <sup>a</sup>  | 7  | 10706.212   | 6.890 | .000 |

|                      |                |                         |     |               |            |      |
|----------------------|----------------|-------------------------|-----|---------------|------------|------|
| Model                | đực            |                         |     |               |            |      |
|                      | Kích thước cái | 223614.753 <sup>b</sup> | 7   | 31944.965     | 24.823     | .000 |
|                      | Sức sinh sản   | 2686.637 <sup>c</sup>   | 7   | 383.805       | 38.009     | .000 |
|                      | SGR đực        | 19.954 <sup>d</sup>     | 7   | 2.851         | 6.747      | .000 |
|                      | SGR cái        | 42.201 <sup>e</sup>     | 7   | 6.029         | 24.763     | .000 |
| Intercept            | Kích thước đực | 185889946.478           | 1   | 185889946.478 | 119621.633 | .000 |
|                      | Kích thước cái | 269320120.476           | 1   | 269320120.476 | 209279.519 | .000 |
|                      | Sức sinh sản   | 100014.062              | 1   | 100014.062    | 9904.634   | .000 |
|                      | SGR đực        | 151589.295              | 1   | 151589.295    | 358780.945 | .000 |
|                      | SGR cái        | 185456.532              | 1   | 185456.532    | 761773.684 | .000 |
| Nhiệt độ             | Kích thước đực | 69387.269               | 1   | 69387.269     | 44.651     | .000 |
|                      | Kích thước cái | 216792.445              | 1   | 216792.445    | 168.462    | .000 |
|                      | Sức sinh sản   | 2667.722                | 1   | 2667.722      | 264.191    | .000 |
|                      | SGR đực        | 18.284                  | 1   | 18.284        | 43.275     | .000 |
|                      | SGR cái        | 41.111                  | 1   | 41.111        | 168.865    | .000 |
| Mật độ               | Kích thước đực | 1957.168                | 3   | 652.389       | .420       | .739 |
|                      | Kích thước cái | 1842.921                | 3   | 614.307       | .477       | .698 |
|                      | Sức sinh sản   | 2.768                   | 3   | .923          | .091       | .965 |
|                      | SGR đực        | .751                    | 3   | .250          | .593       | .620 |
|                      | SGR cái        | .301                    | 3   | .100          | .412       | .744 |
| Nhiệt độ *<br>Mật độ | Kích thước đực | 3599.048                | 3   | 1199.683      | .772       | .510 |
|                      | Kích thước cái | 4979.387                | 3   | 1659.796      | 1.290      | .278 |
|                      | Sức sinh sản   | 16.148                  | 3   | 5.383         | .533       | .660 |
|                      | SGR đực        | .919                    | 3   | .306          | .725       | .538 |
|                      | SGR cái        | .789                    | 3   | .263          | 1.080      | .357 |
| Error                | Kích thước đực | 609161.213              | 392 | 1553.983      |            |      |
|                      | Kích thước cái | 504461.630              | 392 | 1286.892      |            |      |
|                      | Sức sinh sản   | 3958.300                | 392 | 10.098        |            |      |
|                      | SGR đực        | 165.625                 | 392 | .423          |            |      |
|                      | SGR cái        | 95.434                  | 392 | .243          |            |      |
| Total                | Kích thước đực | 186574051.178           | 400 |               |            |      |
|                      | Kích thước cái | 270048196.859           | 400 |               |            |      |
|                      | Sức sinh sản   | 106659.000              | 400 |               |            |      |
|                      | SGR đực        | 151774.874              | 400 |               |            |      |
|                      | SGR cái        | 185594.166              | 400 |               |            |      |
| Corrected<br>Total   | Kích thước đực | 684104.699              | 399 |               |            |      |
|                      | Kích thước cái | 728076.383              | 399 |               |            |      |
|                      | Sức sinh sản   | 6644.937                | 399 |               |            |      |
|                      | SGR đực        | 185.579                 | 399 |               |            |      |
|                      | SGR cái        | 137.635                 | 399 |               |            |      |

- a. R Squared = .110 (Adjusted R Squared = .094)
- b. R Squared = .307 (Adjusted R Squared = .295)
- c. R Squared = .404 (Adjusted R Squared = .394)
- d. R Squared = .108 (Adjusted R Squared = .092)
- e. R Squared = .307 (Adjusted R Squared = .294)

**\* Phân tích phương sai 1 yếu tố (One way Anovas): ảnh hưởng của mật độ ấu trùng ban đầu kích thước đực cái, tốc độ sinh trưởng và sức sinh sản.**

#### ANOVA

|                     |                | Sum of Squares | df  | Mean Square | F     | Sig. |
|---------------------|----------------|----------------|-----|-------------|-------|------|
| Sức sinh sản 30°C   | Between Groups | 15.135         | 3   | 5.045       | .448  | .719 |
|                     | Within Groups  | 2208.660       | 196 | 11.269      |       |      |
|                     | Total          | 2223.795       | 199 |             |       |      |
| Sức sinh sản 34°C   | Between Groups | 3.780          | 3   | 1.260       | .141  | .935 |
|                     | Within Groups  | 1749.640       | 196 | 8.927       |       |      |
|                     | Total          | 1753.420       | 199 |             |       |      |
| Kích thước đực 30°C | Between Groups | 1915.526       | 3   | 638.509     | .377  | .770 |
|                     | Within Groups  | 331873.885     | 196 | 1693.234    |       |      |
|                     | Total          | 333789.411     | 199 |             |       |      |
| Kích thước cái 30°C | Between Groups | 3142.118       | 3   | 1047.373    | 1.463 | .226 |
|                     | Within Groups  | 140333.135     | 196 | 715.985     |       |      |
|                     | Total          | 143475.253     | 199 |             |       |      |
| Kích thước đực 34°C | Between Groups | 3640.690       | 3   | 1213.563    | .858  | .464 |
|                     | Within Groups  | 277287.329     | 196 | 1414.731    |       |      |
|                     | Total          | 280928.019     | 199 |             |       |      |
| Kích thước cái 34°C | Between Groups | 3680.190       | 3   | 1226.730    | .660  | .577 |
|                     | Within Groups  | 364128.495     | 196 | 1857.798    |       |      |
|                     | Total          | 367808.685     | 199 |             |       |      |
| SGR đực 30°C        | Between Groups | .714           | 3   | .238        | .536  | .658 |
|                     | Within Groups  | 86.980         | 196 | .444        |       |      |
|                     | Total          | 87.694         | 199 |             |       |      |
| SGR cái 30°C        | Between Groups | .540           | 3   | .180        | 1.454 | .228 |
|                     | Within Groups  | 24.267         | 196 | .124        |       |      |
|                     | Total          | 24.807         | 199 |             |       |      |
| SGR đực 34°C        | Between Groups | .956           | 3   | .319        | .794  | .498 |
|                     | Within Groups  | 78.645         | 196 | .401        |       |      |
|                     | Total          | 79.601         | 199 |             |       |      |
| SGR cái 34°C        | Between Groups | .550           | 3   | .183        | .505  | .679 |
|                     | Within Groups  | 71.166         | 196 | .363        |       |      |
|                     | Total          | 71.716         | 199 |             |       |      |

**\* Phân tích phương sai đa yếu tố (Two-way ANOVAs): Ảnh hưởng của mật độ trưởng thành và ngày nuôi lên số ấu trùng sinh ra bởi mỗi con cái trong 10 ngày ở hai điều kiện nhiệt độ 30°C và 34°C**

**Tests of Between - Subjects Effects**

| Source                          | Type III Sum of Squares | df | Mean Square | F        | Sig. |
|---------------------------------|-------------------------|----|-------------|----------|------|
| Corrected Model                 | 333.991 <sup>a</sup>    | 11 | 30.363      | 27.132   | .000 |
| Intercept                       | 8293.153                | 1  | 8293.153    | 7410.666 | .000 |
| Mật độ trưởng thành             | 79.179                  | 5  | 15.836      | 14.151   | .000 |
| Ngày nuôi                       | 192.963                 | 1  | 192.963     | 172.429  | .000 |
| Mật độ trưởng thành * Ngày nuôi | 61.849                  | 5  | 12.370      | 11.054   | .000 |
| Error                           | 53.716                  | 48 | 1.119       |          |      |
| Total                           | 8680.860                | 60 |             |          |      |
| Corrected Total                 | 387.707                 | 59 |             |          |      |

a. R Squared = .861 (Adjusted R Squared = .830)

**Tests of Between - Subjects Effects: Số ấu trùng/Cái ở 34°C**

| Source                          | Type III Sum of Squares | df | Mean Square | F        | Sig. |
|---------------------------------|-------------------------|----|-------------|----------|------|
| Corrected Model                 | 375.493 <sup>a</sup>    | 11 | 34.136      | 30.166   | .000 |
| Intercept                       | 3941.462                | 1  | 3941.462    | 3483.139 | .000 |
| Mật độ trưởng thành             | 47.810                  | 5  | 9.562       | 8.450    | .000 |
| Ngày nuôi                       | 254.204                 | 1  | 254.204     | 224.645  | .000 |
| Mật độ trưởng thành * Ngày nuôi | 73.479                  | 5  | 14.696      | 12.987   | .000 |
| Error                           | 54.316                  | 48 | 1.132       |          |      |
| Total                           | 4371.270                | 60 |             |          |      |
| Corrected Total                 | 429.809                 | 59 |             |          |      |

a. R Squared = .874 (Adjusted R Squared = .845)

**\* Phân tích phương sai đa yếu tố (Two-way ANOVAs): Ảnh hưởng của nhiệt độ và mật độ lên tổng số ấu trùng sinh ra 10 ngày của quần thể *P. annandalei***

**Tests of Between - Subjects Effects**

| Source            | Type III Sum of Squares     | df | Mean Square     | F        | Sig. |
|-------------------|-----------------------------|----|-----------------|----------|------|
| Corrected Model   | 5373389530.183 <sup>a</sup> | 11 | 488489957.289   | 240.881  | .000 |
| Intercept         | 15914842070.417             | 1  | 15914842070.417 | 7847.813 | .000 |
| Nhiệt độ          | 411533946.150               | 1  | 411533946.150   | 202.933  | .000 |
| Mật độ            | 4881662487.083              | 5  | 976332497.417   | 481.442  | .000 |
| Nhiệt độ * Mật độ | 80193096.950                | 5  | 16038619.390    | 7.909    | .000 |
| Error             | 97340804.400                | 48 | 2027933.425     |          |      |
| Total             | 21385572405.000             | 60 |                 |          |      |
| Corrected Total   | 5470730334.583              | 59 |                 |          |      |

a. R Squared = .982 (Adjusted R Squared = .978)

**\* Phân tích phương sai đa yếu tố (Two-way ANOVAs): Ảnh hưởng của nhiệt độ và mật độ lên tỷ lệ sống của quần thể trưởng thành *P. annandalei***

**Tests of Between - Subjects Effects**

Dependent Variable: Tỷ lệ sống trưởng thành ở các mật độ trưởng thành nuôi ban đầu

| Source            | Type III Sum of Squares | df | Mean Square | F        | Sig. |
|-------------------|-------------------------|----|-------------|----------|------|
| Corrected Model   | 17612.333 <sup>a</sup>  | 11 | 1601.121    | 84.307   | .000 |
| Intercept         | 174744.067              | 1  | 174744.067  | 9201.092 | .000 |
| Nhiệt độ          | 3744.600                | 1  | 3744.600    | 197.171  | .000 |
| Mật độ            | 13566.733               | 5  | 2713.347    | 142.870  | .000 |
| Nhiệt độ * Mật độ | 301.000                 | 5  | 60.200      | 3.170    | .015 |
| Error             | 911.600                 | 48 | 18.992      |          |      |
| Total             | 193268.000              | 60 |             |          |      |
| Corrected Total   | 18523.933               | 59 |             |          |      |

a. R Squared = .951 (Adjusted R Squared = .940)



**\* Nội dung 7: Thử nghiệm nuôi sinh khối và thu ấu trùng loài *P. annandalei* ở 2 điều kiện nhiệt độ 30°C và 34°C**

**\* Phân tích phương sai một yếu tố (Oneway Anova): Ảnh hưởng của nhiệt độ lên tốc độ tăng trưởng của quần thể**

**ANOVA**

|                | Sum of Squares | df | Mean Square | F       | Sig. |
|----------------|----------------|----|-------------|---------|------|
| Between Groups | .002           | 1  | .002        | 355.929 | .000 |
| Within Groups  | .000           | 4  | .000        |         |      |
| Total          | .002           | 5  |             |         |      |

**\* Phân tích phương sai đa yếu tố (Two-way ANOVAs): Ảnh hưởng của nhiệt độ và tỷ lệ thể tích thu lên tổng số copepod thu được trong 12 lần thu (34 ngày nuôi)**

**Tests of Between - Subjects Effects:**

Dependent Variable: Tổng số Copepod thu được

| Source               | Type III Sum of Squares            | df | Mean Square            | F        | Sig. |
|----------------------|------------------------------------|----|------------------------|----------|------|
| Corrected Model      | 22714238024<br>19.200 <sup>a</sup> | 9  | 252380422491<br>.022   | 145.257  | .000 |
| Intercept            | 13615083580<br>108.783             | 1  | 136150835801<br>08.783 | 7836.148 | .000 |
| Nhiệt độ             | 13871215448<br>83.200              | 1  | 138712154488<br>3.200  | 798.356  | .000 |
| Tỷ lệ thu            | 70275026023<br>7.866               | 4  | 175687565059<br>.467   | 101.117  | .000 |
| Nhiệt độ * Tỷ lệ thu | 18155199729<br>8.133               | 4  | 45387999324.<br>533    | 26.123   | .000 |
| Error                | 34749431136.<br>000                | 20 | 1737471556.8<br>00     |          |      |
| Total                | 15921256813<br>664.000             | 30 |                        |          |      |
| Corrected Total      | 23061732335<br>55.200              | 29 |                        |          |      |

a. R Squared = .985 (Adjusted R Squared = .978)

**\* Phân tích phương sai một yếu tố (One way Anova): Ảnh hưởng tỷ lệ thu sinh khối lên tổng số copepod thu trong 12 lần ở điều kiện nhiệt độ 30°C và 34°C**

**ANOVA**

|                        |                | Sum of Squares   | df | Mean Square      | F      | Sig. |
|------------------------|----------------|------------------|----|------------------|--------|------|
| Tổng số Copepod ở 30°C | Between Groups | 793216399246.934 | 4  | 198304099811.733 | 81.302 | .000 |
|                        | Within Groups  | 24391069778.667  | 10 | 2439106977.867   |        |      |
|                        | Total          | 817607469025.600 | 14 |                  |        |      |
| Tổng số Copepod ở 30°C | Between Groups | 91085858289.067  | 4  | 22771464572.267  | 21.984 | .000 |
|                        | Within Groups  | 10358361357.333  | 10 | 1035836135.733   |        |      |
|                        | Total          | 101444219646.400 | 14 |                  |        |      |

Duncan<sup>a</sup> Tổng số Copepoda ở 30°C

| Tylethu | N | Subset for alpha = 0.05 |             |
|---------|---|-------------------------|-------------|
|         |   | 1                       | 2           |
| 30%     | 3 | 748040.000              | 1347550.667 |
| 50%     | 3 | 770733.333              |             |
| 10%     | 3 | 780921.333              |             |
| 40%     | 3 | 796266.667              |             |
| 20%     | 3 |                         |             |
| Sig.    |   | .290                    | 1.000       |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

Duncan<sup>a</sup> Tổng số Copepoda ở 34°C

| Tylethu | N | Subset for alpha = 0.05 |             |             |
|---------|---|-------------------------|-------------|-------------|
|         |   | 1                       | 2           | 3           |
| 30%     | 3 | 397460.0000             | 407533.3333 | 608540.0000 |
| 50%     | 3 | 407533.3333             |             |             |
| 40%     | 3 | 419466.6667             | 419466.6667 |             |
| 10%     | 3 |                         | 460224.0000 |             |
| 20%     | 3 |                         |             |             |
| Sig.    |   | .443                    | .084        | 1.000       |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

**\* Phân tích phương sai đa yếu tố (Two-way ANOVAs): Ảnh hưởng của nhiệt độ và tỷ lệ thức tích thu lên tổng số ấu trùng thu được qua 30 ngày nuôi**

**Tests of Between - Subjects Effects**

| Source          | Dependent Variable               | Type III Sum of Squares        | df | Mean Square        | F         | Sig. |
|-----------------|----------------------------------|--------------------------------|----|--------------------|-----------|------|
| Corrected Model | Tổng số ấu trùng thu 5 lần đầu   | 90979866939.156 <sup>a</sup>   | 7  | 12997123848.451    | 113.004   | .000 |
|                 | Tổng số ấu trùng thu 5 lần thứ 2 | 914724629396.484 <sup>b</sup>  | 7  | 130674947056.641   | 908.439   | .000 |
|                 | Tổng số ấu trùng thu 5 lần thứ 3 | 2872364409220.341 <sup>c</sup> | 7  | 410337772745.763   | 5653.022  | .000 |
|                 | Tổng số ấu trùng thu từ 15 lần   | 6856373125266.264 <sup>d</sup> | 7  | 979481875038.038   | 2258.804  | .000 |
| Intercept       | Tổng số ấu trùng thu 5 lần đầu   | 259247935080.295               | 1  | 259247935080.295   | 2254.048  | .000 |
|                 | Tổng số ấu trùng thu 5 lần thứ 2 | 2496091771545.582              | 1  | 2496091771545.582  | 17352.581 | .000 |
|                 | Tổng số ấu trùng thu 5 lần thứ 3 | 3721526997887.530              | 1  | 3721526997887.530  | 51269.654 | .000 |
|                 | Tổng số ấu trùng thu từ 15 lần   | 16145870008958.012             | 1  | 16145870008958.012 | 37234.343 | .000 |
| Nhiệt độ        | Tổng số ấu trùng thu 5 lần đầu   | 27071807222.402                | 1  | 27071807222.402    | 235.378   | .000 |
|                 | Tổng số ấu trùng thu 5 lần thứ 2 | 564490056676.005               | 1  | 564490056676.005   | 3924.278  | .000 |
|                 | Tổng số ấu trùng thu 5 lần thứ 3 | 1023992403660.022              | 1  | 1023992403660.022  | 14107.042 | .000 |
|                 | Tổng số ấu trùng thu từ 15 lần   | 3716357919689.888              | 1  | 3716357919689.888  | 8570.374  | .000 |
| Tỷ lệ thu       | Tổng số ấu trùng thu 5 lần đầu   | 54759570072.882                | 3  | 18253190024.294    | 158.704   | .000 |
|                 | Tổng số ấu trùng thu 5 lần thứ 2 | 306761395972.821               | 3  | 102253798657.607   | 710.858   | .000 |
|                 | Tổng số ấu trùng thu 5 lần thứ 3 | 1444545217250.449              | 3  | 481515072416.816   | 6633.597  | .000 |
|                 | Tổng số ấu trùng thu             | 2565800843844.605              | 3  | 855266947948.202   | 1972.350  | .000 |

|                      |                                  |                    |    |                  |          |      |
|----------------------|----------------------------------|--------------------|----|------------------|----------|------|
|                      | từ 15 lần                        |                    |    |                  |          |      |
| Nhiệt độ * Tỷ lệ thu | Tổng số ấu trùng thu 5 lần đầu   | 9148489643.873     | 3  | 3049496547.958   | 26.514   | .000 |
|                      | Tổng số ấu trùng thu 5 lần thứ 2 | 43473176747.659    | 3  | 14491058915.886  | 100.740  | .000 |
|                      | Tổng số ấu trùng thu 5 lần thứ 3 | 403826788309.869   | 3  | 134608929436.623 | 1854.441 | .000 |
|                      | Tổng số ấu trùng thu từ 15 lần   | 574214361731.771   | 3  | 191404787243.924 | 441.403  | .000 |
| Error                | Tổng số ấu trùng thu 5 lần đầu   | 1840229971.960     | 16 | 115014373.248    |          |      |
|                      | Tổng số ấu trùng thu 5 lần thứ 2 | 2301529037.882     | 16 | 143845564.868    |          |      |
|                      | Tổng số ấu trùng thu 5 lần thứ 3 | 1161397178.009     | 16 | 72587323.626     |          |      |
|                      | Tổng số ấu trùng thu từ 15 lần   | 6938055096.915     | 16 | 433628443.557    |          |      |
| Total                | Tổng số ấu trùng thu 5 lần đầu   | 352068031991.412   | 24 |                  |          |      |
|                      | Tổng số ấu trùng thu 5 lần thứ 2 | 3413117929979.949  | 24 |                  |          |      |
|                      | Tổng số ấu trùng thu 5 lần thứ 3 | 6595052804285.884  | 24 |                  |          |      |
|                      | Tổng số ấu trùng thu từ 15 lần   | 23009181189321.200 | 24 |                  |          |      |
| Corrected Total      | Tổng số ấu trùng thu 5 lần đầu   | 92820096911.116    | 23 |                  |          |      |
|                      | Tổng số ấu trùng thu 5 lần thứ 2 | 917026158434.366   | 23 |                  |          |      |
|                      | Tổng số ấu trùng thu 5 lần thứ 3 | 2873525806398.351  | 23 |                  |          |      |
|                      | Tổng số ấu trùng thu từ 15 lần   | 6863311180363.179  | 23 |                  |          |      |

a. R Squared = .980 (Adjusted R Squared = .972) b. R Squared = .997 (Adjusted R Squared = .996)

c. R Squared = 1.000 (Adjusted R Squared = .999) d. R Squared = .999 (Adjusted R Squared = .999)

**\* Phân tích phương sai một yếu tố (One way Anova): Ảnh hưởng tỷ lệ thu sinh khối lên tổng số ấu trùng thu được trong 15 lần thu ở điều kiện nhiệt độ 30°C và 34°C**

**ANOVA**

|                                         |                | Sum of Squares    | df | Mean Square      | F        | Sig. |
|-----------------------------------------|----------------|-------------------|----|------------------|----------|------|
| Tổng số ấu trùng thu 5 lần đầu ở 30°C   | Between Groups | 52810327299.564   | 3  | 17603442433.188  | 683.253  | .000 |
|                                         | Within Groups  | 206113172.876     | 8  | 25764146.609     |          |      |
|                                         | Total          | 53016440472.440   | 11 |                  |          |      |
| Tổng số ấu trùng thu 5 lần thứ 2 ở 30°C | Between Groups | 290596673744.604  | 3  | 96865557914.868  | 421.178  | .000 |
|                                         | Within Groups  | 1839899791.715    | 8  | 229987473.964    |          |      |
|                                         | Total          | 292436573536.319  | 11 |                  |          |      |
| Tổng số ấu trùng thu 5 lần thứ 3 ở 30°C | Between Groups | 1684880130023.482 | 3  | 561626710007.827 | 4515.052 | .000 |
|                                         | Within Groups  | 995118985.386     | 8  | 124389873.173    |          |      |
|                                         | Total          | 1685875249008.868 | 11 |                  |          |      |
| Tổng số ấu trùng thu từ 15 lần ở 30°C   | Between Groups | 2777460287960.964 | 3  | 925820095986.988 | 1589.509 | .000 |
|                                         | Within Groups  | 4659652911.845    | 8  | 582456613.981    |          |      |
|                                         | Total          | 2782119940872.810 | 11 |                  |          |      |
| Tổng số ấu trùng thu 5 lần đầu ở 34°C   | Between Groups | 11097732417.190   | 3  | 3699244139.063   | 18.110   | .001 |
|                                         | Within Groups  | 1634116799.084    | 8  | 204264599.886    |          |      |
|                                         | Total          | 12731849216.275   | 11 |                  |          |      |
| Tổng số ấu trùng thu 5 lần thứ 2 ở 34°C | Between Groups | 59637898975.876   | 3  | 19879299658.625  | 344.507  | .000 |
|                                         | Within         | 461629246.167     | 8  | 57703655.771     |          |      |

|                                         |                |                  |    |                  |          |      |
|-----------------------------------------|----------------|------------------|----|------------------|----------|------|
|                                         | Groups         |                  |    |                  |          |      |
|                                         | Total          | 60099528222.043  | 11 |                  |          |      |
| Tổng số ấu trùng thu 5 lần thứ 3 ở 34°C | Between Groups | 163491875536.836 | 3  | 54497291845.612  | 2621.981 | .000 |
|                                         | Within Groups  | 166278192.623    | 8  | 20784774.078     |          |      |
|                                         | Total          | 163658153729.459 | 11 |                  |          |      |
| Tổng số ấu trùng thu từ 15 lần ở 34°C   | Between Groups | 362554917615.410 | 3  | 120851639205.137 | 424.338  | .000 |
|                                         | Within Groups  | 2278402185.070   | 8  | 284800273.134    |          |      |
|                                         | Total          | 364833319800.480 | 11 |                  |          |      |

Duncan<sup>a</sup> Tổng số ấu trùng thu 5 lần đầu ở 30°C

Duncan<sup>a</sup> Tổng số ấu trùng thu 5 lần thứ 2 ở 30°C

| Tỷ lệ thu | N | Subset for alpha = 0.05 |            |             |             |
|-----------|---|-------------------------|------------|-------------|-------------|
|           |   | 1                       | 2          | 3           | 4           |
| 25%       | 3 | 78993.2800              |            |             |             |
| 50%       | 3 |                         | 90513.1333 |             |             |
| 75%       | 3 |                         |            | 133712.5833 |             |
| 100%      | 3 |                         |            |             | 246854.0000 |
| Sig.      |   | 1.000                   | 1.000      | 1.000       | 1.000       |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

| Tỷ lệ thu | N | Subset for alpha = 0.05 |             |             |             |
|-----------|---|-------------------------|-------------|-------------|-------------|
|           |   | 1                       | 2           | 3           | 4           |
| 100%      | 3 | 235412.0000             |             |             |             |
| 25%       | 3 |                         | 452693.3400 |             |             |
| 75%       | 3 |                         |             | 564265.7761 |             |
| 50%       | 3 |                         |             |             | 651068.5667 |
| Sig.      |   | 1.000                   | 1.000       | 1.000       | 1.000       |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

Duncan<sup>a</sup> Tổng số ấu trùng thu 5 lần thứ 3 ở 30°C

Duncan<sup>a</sup> Tổng số ấu trùng thu 15 lần ở 30°C

| Tỷ lệ thu | N | Subset for alpha = 0.05 |             |             |              |
|-----------|---|-------------------------|-------------|-------------|--------------|
|           |   | 1                       | 2           | 3           | 4            |
| 100%      | 3 | 110089.0000             |             |             |              |
| 25%       | 3 |                         | 418304.4000 |             |              |
| 75%       | 3 |                         |             | 760186.7057 |              |
| 50%       | 3 |                         |             |             | 1112778.0333 |
| Sig.      |   | 1.000                   | 1.000       | 1.000       | 1.000        |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

| Tỷ lệ thu | N | Subset for alpha = 0.05 |             |              |              |
|-----------|---|-------------------------|-------------|--------------|--------------|
|           |   | 1                       | 2           | 3            | 4            |
| 100%      | 3 | 592355.0000             |             |              |              |
| 25%       | 3 |                         | 949991.0200 |              |              |
| 75%       | 3 |                         |             | 1458165.0653 |              |
| 50%       | 3 |                         |             |              | 1854359.7333 |
| Sig.      |   | 1.000                   | 1.000       | 1.000        | 1.000        |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

Duncan<sup>a</sup> Tổng số ấu trùng thu 5 lần đầu ở 34°C

| Tỷ lệ thu | N | Subset for alpha = 0.05 |            |             |
|-----------|---|-------------------------|------------|-------------|
|           |   | 1                       | 2          | 3           |
| 25%       | 3 | 30868.1733              |            |             |
| 50%       | 3 | 56268.2900              | 56268.2900 |             |
| 75%       | 3 |                         | 81184.8000 |             |
| 100%      | 3 |                         |            | 113067.0000 |
| Sig.      |   | .061                    | .065       | 1.000       |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

Duncan<sup>a</sup> Tổng số ấu trùng thu 5 lần thứ 2 ở 34°C

Duncan<sup>a</sup> Tổng số ấu trùng thu 5 lần thứ 3 ở 34°C

| Tỷ lệ thu | N | Subset for alpha = 0.05 |             |             |             |
|-----------|---|-------------------------|-------------|-------------|-------------|
|           |   | 1                       | 2           | 3           | 4           |
| 100%      | 3 | 24178.3333              |             |             |             |
| 25%       | 3 |                         | 136436.6667 |             |             |
| 75%       | 3 |                         |             | 258975.9740 |             |
| 50%       | 3 |                         |             |             | 329300.4000 |
| Sig.      |   | 1.000                   | 1.000       | 1.000       | 1.000       |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

Duncan<sup>a</sup> Tổng số ấu trùng thu 5 lần thứ 2 ở 34°C

| Tỷ lệ thu | N | Subset for alpha = 0.05 |             |             |             |
|-----------|---|-------------------------|-------------|-------------|-------------|
|           |   | 1                       | 2           | 3           | 4           |
| 100%      | 3 | 60334.6667              |             |             |             |
| 25%       | 3 |                         | 158167.9338 |             |             |
| 75%       | 3 |                         |             | 209641.5859 |             |
| 50%       | 3 |                         |             |             | 248386.0385 |
| Sig.      |   | 1.000                   | 1.000       | 1.000       | 1.000       |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

Duncan<sup>a</sup> Tổng số ấu trùng thu 15 lần ở 34°C

| Tỷ lệ thu | N | Subset for alpha = 0.05 |             |             |             |
|-----------|---|-------------------------|-------------|-------------|-------------|
|           |   | 1                       | 2           | 3           | 4           |
| 100%      | 3 | 197580.0000             |             |             |             |
| 25%       | 3 |                         | 325472.7738 |             |             |
| 75%       | 3 |                         |             | 549802.3599 |             |
| 50%       | 3 |                         |             |             | 633954.7285 |
| Sig.      |   | 1.000                   | 1.000       | 1.000       | 1.000       |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.