

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
TRƯỜNG ĐẠI HỌC NHA TRANG

PHÙNG BẢY

NGHIÊN CỨU MỘT SỐ ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC SINH SẢN
VÀ SINH SẢN NHÂN TẠO TRAI TẠI TƯỢNG VẢY
(*Tridacna squamosa* Lamarck, 1819)

LUẬN ÁN TIẾN SĨ

KHÁNH HÒA - 2024

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
TRƯỜNG ĐẠI HỌC NHA TRANG

PHÙNG BẢY

NGHIÊN CỨU MỘT SỐ ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC SINH SẢN
VÀ SINH SẢN NHÂN TẠO TRAI TẠI TƯỢNG VẢY
(*Tridacna squamosa* Lamarck, 1819)

Ngành đào tạo: Nuôi trồng thủy sản

Mã số: 9620301

LUẬN ÁN TIẾN SĨ

NGƯỜI HƯỚNG DẪN KHOA HỌC:

TS. NGUYỄN VĂN MINH

TS. NGÔ ANH TUẤN

KHÁNH HÒA - 2024

Công trình được hoàn thành tại Trường Đại học Nha Trang

Hướng dẫn khoa học:

1. TS. Nguyễn Văn Minh

2. TS. Ngô Anh Tuấn

Phản biện 1: PGS.TS. Nguyễn Phú Hòa - Trường ĐH Nông lâm Tp. HCM

Phản biện 2: TS. Huỳnh Minh Sang - Viện Hải dương học

Phản biện 3: PGS.TS. Nguyễn Văn Huy - Trường ĐH Nông lâm Huế

Luận án được bảo vệ tại Hội đồng đánh giá luận án cấp trường, họp tại Trường Đại học Nha Trang vào lúc.....ngày.... tháng.....năm 2024

Có thể tìm hiểu luận án tại: Thư viện Quốc gia và Thư viện Trường Đại học Nha Trang

LỜI CAM ĐOAN

Tôi xin cam đoan toàn bộ nội dung luận án: “**Nghiên cứu một số đặc điểm sinh học sinh sản và sinh sản nhân tạo trai tai tượng vảy (*Tridacna squamosa* Lamarck, 1819)**” là công trình khoa học do chính cá nhân tôi thực hiện, các kết quả trình bày trong luận án là trung thực và chưa từng được công bố trong bất kỳ công trình nào cho tới thời điểm hiện tại. Một phần kết quả nghiên cứu của luận án được lấy từ đề tài Độc lập cấp Nhà Nước mã số ĐTĐL.CN-53/15 mà nghiên cứu sinh là chủ nhiệm đề tài.

Khánh Hòa, ngày 8 tháng 07 năm 2024

Nghiên cứu sinh

Phùng Bảy

LỜI CẢM ƠN

Luận án tiến sĩ: “**Nghiên cứu một số đặc điểm sinh học sinh sản và sinh sản nhân tạo trai tai tượng vảy (*Tridacna squamosa* Lamarck, 1819)**” được tổ chức thực hiện và hoàn thành với sự hỗ trợ giúp đỡ của nhiều cá nhân và tổ chức. Qua đây, tôi xin được bày tỏ lòng biết ơn tới:

- Đầu tiên, xin được bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc đến Quý Thầy là cán bộ hướng dẫn khoa học TS. Nguyễn Văn Minh và TS. Ngô Anh Tuấn đã tận tình chỉ dẫn, đưa ra những lời khuyên, góp ý quý báu, động viên và giúp đỡ tôi trong suốt thời gian thực hiện cũng như viết các nội dung của luận án.

- Ban Giám hiệu Trường Đại học Nha Trang, Phòng Đào tạo Sau đại học và Viện Nuôi trồng thủy sản đã tạo mọi điều kiện cho tôi học tập và nghiên cứu luận án.

- Quý thầy, cô, các nhà khoa học là giảng viên của Viện Nuôi trồng thủy sản, trường Đại học Nha Trang đã góp ý và giúp đỡ trong quá trình học tập, nghiên cứu.

- Ban Lãnh đạo Viện Nghiên cứu Nuôi trồng thủy sản III đã tạo mọi điều kiện thuận lợi cho tôi học tập, nghiên cứu và hoàn thành luận án.

- Xin gửi lời cảm ơn tới các đồng nghiệp của Phòng Sinh học thực nghiệm, Trung tâm Quan trắc Cảnh báo Môi trường và Phòng ngừa dịch bệnh, Phòng Công nghệ và Vaccine thủy sản thuộc Viện Nghiên cứu Nuôi trồng thủy sản III đã tham gia hỗ trợ thực hiện các nội dung luận án.

Cuối cùng, tôi xin được cảm ơn gia đình, những người bạn đã động viên, khích lệ và giúp đỡ trong suốt thời gian thực hiện luận án.

Xin trân trọng cảm ơn!

Khánh Hòa, ngày 8 tháng 07 năm 2024

Nghiên cứu sinh

Phùng Bấy

MỤC LỤC

LỜI CAM ĐOAN	iii
LỜI CẢM ƠN.....	iv
MỤC LỤC	v
DANH MỤC CÁC TỪ VIẾT TẮT.....	viii
DANH MỤC BẢNG	ix
DANH MỤC HÌNH	xi
TÓM TẮT NHỮNG ĐÓNG GÓP MỚI CỦA LUẬN ÁN	xiii
KEY FINDINGS	xiv
MỞ ĐẦU	1
CHƯƠNG 1: TỔNG QUAN TÀI LIỆU NGHIÊN CỨU.....	4
1.1. Đặc điểm sinh học của họ trai tai tượng Tridacnidae.....	4
1.1.1. Phân loại của trai tai tượng vảy	4
1.1.2. Đặc điểm hình thái ngoài và cấu tạo bên trong	7
1.1.3. Đặc điểm sinh thái và phân bố	9
1.1.4. Đặc điểm dinh dưỡng và sinh trưởng	14
1.1.5. Đặc điểm sinh sản.....	16
1.2. Tình hình nghiên cứu sản xuất giống trai tai tượng trên thế giới	19
1.3. Tình hình nghiên cứu sản xuất giống trai tai tượng tại Việt Nam.....	22
1.4. Tình hình nghiên cứu bệnh và dịch hại trên trai tai tượng	24
1.4.1. Dịch hại và động vật ăn thịt.....	24
1.4.2. Bệnh gây ra do biến động môi trường	25
1.4.3. Bệnh gây ra do bọt biển và tảo	26
1.4.4. Bệnh vi khuẩn, động vật nguyên sinh, virus.....	26
CHƯƠNG 2: VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	27
2.1. Đối tượng, phạm vi, thời gian và địa điểm nghiên cứu.....	27
2.1.1. Đối tượng và phạm vi nghiên cứu	27
2.1.2. Thời gian nghiên cứu.....	27

2.1.3. Địa điểm nghiên cứu.....	28
2.2. Nội dung nghiên cứu	28
2.2.1. Nghiên cứu một số đặc điểm sinh học sinh sản trai tai tượng vảy	28
2.2.2. Nghiên cứu các cơ sở khoa học sinh sản nhân tạo trai tai tượng vảy.....	28
2.2.3. Thực nghiệm sản xuất giống trai tai tượng vảy.....	28
2.3. Phương pháp nghiên cứu	30
2.3.1. Nghiên cứu đặc điểm sinh học sinh sản	30
2.3.2. Nghiên cứu cơ sở khoa học sinh sản nhân tạo	34
2.3.3. Thực nghiệm sản xuất giống nhân tạo.....	47
2.4. Phương pháp thu thập số liệu	51
2.4.1. Phương pháp thu thập số liệu đặc điểm sinh học sinh sản	51
2.4.2. Phương pháp xác định các chỉ tiêu về giai đoạn nuôi vỗ, kích đẻ	52
2.4.3. Phương pháp xác định các chỉ tiêu về nuôi ấu trùng nổi và đáy	53
2.4.4. Phương pháp xác định mật độ tảo	54
2.4.5. Phương pháp xác định các yếu tố môi trường.....	54
2.5. Phương pháp xử lý số liệu	55
CHƯƠNG 3: KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN.....	56
3.1. Đặc điểm sinh học sinh sản của trai tai tượng vảy	56
3.1.1. Giới tính.....	56
3.1.2. Các giai đoạn phát triển tuyến sinh dục của trai tai tượng vảy	57
3.1.3. Mùa vụ sinh sản.....	61
3.1.4. Sức sinh sản tuyệt đối, tương đối	62
3.1.5. Kích thước thành thực sinh dục lần đầu	63
3.1.6. Kết quả theo dõi quá trình phát triển phôi và ấu trùng trai tai tượng vảy	64
3.2. Cơ sở khoa học sinh sản nhân tạo trai tai tượng vảy.....	67
3.2.1. Nuôi vỗ thành thực sinh dục trai bố mẹ.....	67
3.2.2. Kích thích sinh sản	70
3.2.3. Ương nuôi ấu trùng giai đoạn sống nổi	74

3.2.4. Ương nuôi ấu trùng giai đoạn sống đáy và con giống.....	85
3.2.5. Kết quả nghiên cứu bệnh và dịch hại trong nuôi vỗ trai tai tượng vảy.....	93
3.3. Thực nghiệm sản xuất giống nhân tạo trai tai tượng vảy	98
3.3.1. Diễn biến một số yếu tố môi trường nước trong quá trình sản xuất giống	98
3.3.2. Kết quả tuyển chọn, vận chuyển và nuôi vỗ trai bố mẹ	99
3.3.3. Kích thích sinh sản	100
3.3.4. Ương nuôi ấu trùng và con giống.....	101
CHƯƠNG 4: KẾT LUẬN VÀ ĐỀ XUẤT Ý KIẾN.....	103
4.1. Kết luận.....	103
4.2. Đề xuất ý kiến.....	104
DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH KHOA HỌC ĐÃ CÔNG BỐ	105
TÀI LIỆU THAM KHẢO	106
PHỤ LỤC	

DANH MỤC CÁC TỪ VIẾT TẮT

Từ viết tắt	Từ viết đầy đủ
ADG - Average Daily Growth	Tốc độ tăng trưởng bình quân ngày
Bivalvia	Động vật thân mềm hai mảnh vỏ
BNN & PTNT	Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn
CFU	Colony Forming Unit
Ctv	Cộng tác viên
ĐVTM	Động vật thân mềm
ĐVPD	Động vật phù du
Fa	Sức sinh sản tuyệt đối
Frg	Sức sinh sản tương đối
L	Chiều dài
mg	Miligram
mL	Mililit
NTTS	Nuôi trồng thủy sản
NT	Nghiệm thức
OF	Oxydative-Fermentative
Spat	Ấu trùng giai đoạn sống đáy
TB	Giá trị trung bình
TCBS	Thiosulfate Citrate Bile Salt
TĐTT	Tốc độ tăng trưởng
TLS (%)	Tỷ lệ sống
TN	Thí nghiệm
Trochophora	Ấu trùng đĩa bơi
TSA	Tryptic Soya Agar
TSB	Tryptic Soya Broth
Veliger	ấu trùng chữ D
VP	Voges-Proskauer
Wtm	Khối lượng thân mềm
Wtt	Khối lượng toàn thân

DANH MỤC BẢNG

Bảng 3.1. Các chỉ tiêu hình thái và giới tính của trai tai tượng vảy (n=30).....	57
Bảng 3.2. Sức sinh sản tuyệt đối, tương đối của trai tai tượng vảy.....	62
Bảng 3.3. Tương quan thành thực sinh dục của trai tai tượng vảy theo nhóm kích thước....	63
Bảng 3.4. Diễn biến của một số yếu tố môi trường trong quá trình theo dõi phát triển phôi và ấu trùng trai tai tượng vảy	64
Bảng 3.5. Thời gian biến thái, kích thước của phôi, ấu trùng trai tai tượng vảy.....	65
Bảng 3.6. Các yếu tố môi trường trong bể nuôi vỗ	67
Bảng 3.7. Tỷ lệ sống, độ béo và tỷ lệ thành thực sinh dục trai nuôi vỗ ở các nghiệm thức cường độ ánh sáng khác nhau.....	68
Bảng 3.8. Hiệu quả sinh sản của trai tai tượng vảy sử dụng các phương pháp kích thích sinh sản khác nhau.....	70
Bảng 3.9. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến tỷ lệ thụ tinh và nở của trứng trai tai tượng vảy.....	72
Bảng 3.10. Các yếu tố môi trường trong bể ương nuôi ấu trùng nổi	74
Bảng 3.11. Chiều dài, tốc độ tăng trưởng của ấu trùng ở các độ mặn khác nhau	74
Bảng 3.12. Tăng trưởng và tỷ lệ sống của ấu trùng trai tai tượng vảy ở các nghiệm thức thức ăn	76
Bảng 3.13. Kích thước chiều dài và tăng trưởng đặc trưng của ấu trùng trai tai tượng vảy ở các mật độ tảo cộng sinh khác nhau (μm).....	79
Bảng 3.14. Tăng trưởng và tỷ lệ sống của ấu trùng trai tai tượng vảy nuôi ở các mật độ khác nhau	82
Bảng 3.15. Các yếu tố môi trường trong quá trình nuôi thí nghiệm	85
Bảng 3.16. Chiều cao trung bình của ấu trùng trai tai tượng vảy ở các nghiệm thức chất đáy khác nhau	86
Bảng 3.17. Tốc độ sinh trưởng tuyệt đối bình quân ngày (DGR) theo chiều cao của ấu trùng ở các nghiệm thức	86
Bảng 3.18. Ảnh hưởng của chất đáy đến tỷ lệ xuống đáy và tỉ lệ sống của ấu trùng trai tai tượng vảy	87

Bảng 3.19 Chiều dài trung bình của ấu trùng trai tai tượng vảy ở các nghiệm thức cường độ ánh sáng khác nhau.....	88
Bảng 3.20. Chiều cao trung bình của ấu trùng trai tai tượng vảy ở các nghiệm thức cường độ ánh sáng khác nhau.....	89
Bảng 3.21. Tỷ lệ sống của con giống sau khi vận chuyển trong vòng 4 giờ bằng 3 phương pháp khác nhau	92
Bảng 3.22. Các yếu tố môi trường trong quá trình nuôi thực nghiệm	98
Bảng 3.23. Kết quả thu gom, tuyển chọn trai bố mẹ.....	99
Bảng 3.24. Kết quả nuôi vỗ thành thực sinh dục trai bố mẹ	100
Bảng 3.25. Kết quả kích thích sinh sản trai tai tượng vảy.....	101
Bảng 3.26. Kết quả sản xuất thử nghiệm giống trai tai tượng vảy.....	102

DANH MỤC HÌNH

Hình 1.1. Trai tai tượng vảy trưởng thành.....	4
Hình 1.2. Hình ảnh 9 loài trai tai tượng phân bố phổ biến trên thế giới	6
Hình 1.3. Hình dạng và cấu tạo bên ngoài trai tai tượng vảy.....	8
Hình 1.4. Cấu tạo bên trong của trai tai tượng vảy	9
Hình 1.5. Phân bố địa lý của trai tai tượng vảy trên thế giới	11
Hình 1.6. Trai tai tượng vảy phân bố trên nền rạn san hô sống	13
Hình 1.7. Sơ đồ cấu tạo nội quan liên quan và hoạt động của tảo cộng sinh trên cơ thể của trai tai tượng vảy	15
Hình 1.8. Các giai đoạn phát triển tuyến sinh dục của trai tai tượng vảy	19
Hình 2.1. Trai tai tượng vảy trưởng thành.....	27
Hình 2.2. Sơ đồ khối nội dung nghiên cứu.....	29
Hình 2.3. Các bước thực hiện của phương pháp mô bệnh	45
Hình 2.4. Chiều dài vỏ của ấu trùng trai tai tượng vảy	54
Hình 3.1. Tuyến sinh dục của trai tai tượng vảy	56
Hình 3.2. Các giai đoạn phát triển tuyến sinh dục đực trai tai tượng vảy	59
Hình 3.3. Các giai đoạn phát triển của tuyến sinh dục cái trai tai tượng vảy.....	60
Hình 3.4. Tỷ lệ thành thực sinh dục của trai tai tượng vảy qua các tháng nghiên cứu.....	61
Hình 3.5. Mùa vụ sinh sản của trai tai tượng vảy.....	61
Hình 3.6. Kích thước thành thực sinh dục lần đầu của trai tai tượng vảy	63
Hình 3.7. Sự phát triển phôi và ấu trùng trai tai tượng vảy.....	66
Hình 3.8. Tỷ lệ sống trai nuôi vỗ ở 3 cường độ ánh sáng khác nhau	69
Hình 3.9. Tỷ lệ sống của ấu trùng giai đoạn trôi nổi ở các độ mặn khác nhau	75
Hình 3.10. Sinh trưởng chiều dài ấu trùng ở các nghiệm thức thức ăn khác nhau	77
Hình 3.11. Tỷ lệ sống của ấu trùng trai tai tượng vảy ở các nghiệm thức thức ăn khác nhau	77
Hình 3.12. Tỷ lệ sống của ấu trùng trai tai tượng vảy ở các mật độ tảo cộng sinh khác nhau	80

Hình 3.13. Tỷ lệ xuống đáy ấu trùng trai tai tượng vảy ở các nghiệm thức mật độ tảo cộng sinh khác nhau	81
Hình 3.14. Tăng trưởng chiều dài ấu trùng ở các mật độ nuôi khác nhau	83
Hình 3.15. Tỷ lệ sống của ấu trùng ở các mật độ nuôi khác nhau	84
Hình 3.16. Tốc độ tăng trưởng bình quân ngày theo chiều dài và chiều cao vỏ của ấu trùng trai tai tượng vảy ở các nghiệm thức cường độ ánh sáng khác nhau	89
Hình 3.17. Ảnh hưởng của cường độ ánh sáng đến tỷ lệ sống ấu trùng trai tai tượng vảy.....	90
Hình 3.18. Sun <i>Balanus sp.</i> bám trên trai tai tượng vảy	94
Hình 3.19. Giun nhiều tơ <i>Polydora sp.</i> bám trên vỏ trai tai tượng vảy.....	95
Hình 3.20. Loài <i>Corallana grandiventra</i> Ho et Tonguthai, 1992 bám trên vỏ trai.....	95
Hình 3.21. Động vật 2 mảnh vỏ bám trên vỏ trai	96
Hình 3.22. Trai tai tượng vảy bị tẩy trắng màng áo	97

TÓM TẮT NHỮNG ĐÓNG GÓP MỚI CỦA LUẬN ÁN

Đề tài luận án: Nghiên cứu một số đặc điểm sinh học sinh sản và sinh sản nhân tạo trai tai tượng vảy (*Tridacna squamosa* Lamarck, 1819)

Ngành: Nuôi trồng thủy sản

Mã số: 9620301

Nghiên cứu sinh: Phùng Bấy

Khoá: 2017

Người hướng dẫn: 1. TS. Nguyễn Văn Minh

2. TS. Ngô Anh Tuấn

Cơ sở đào tạo: Trường Đại học Nha Trang

Nội dung:

1. Luận án đã nghiên cứu đầy đủ và chi tiết một số đặc điểm sinh học sinh sản của trai tai tượng vảy: tuyến sinh dục phát triển qua 5 giai đoạn; kích thước thành thực sinh dục lần đầu của trai theo chiều dài là 19,1 cm; mùa vụ sinh sản từ tháng 5 tới tháng 8 hàng năm; sức sinh sản tuyệt đối là $5.211.900 \pm 167$ trứng/cá thể cái, sức sinh sản tương đối là 2.035 ± 44 trứng/g khối lượng toàn thân và 8.968 ± 323 trứng/g khối lượng thân mềm.

2. Luận án đã xây dựng các cơ sở khoa học cho sinh sản nhân tạo trai tai tượng vảy. Cường độ ánh sáng 2.000-4.000 lux là phù hợp trong nuôi vỗ thành thực; kích thích sinh sản bằng phương pháp phơi khô và tạo dòng chảy; độ mặn 30-33ppt, mật độ ương 3-5 ấu trùng chữ D/mL, thức ăn là sự kết hợp các loài vi tảo *Nannochloropsis oculata*, *Chaetoceros muelleri* và *Isochrysis galbana* với mật độ cho ăn 15.000 tế bào/mL (với tỷ lệ 1:1:1), mật độ cấp tảo cộng sinh (*Symbiodinium microadriaticum*) 5.000 tế bào/mL là thích hợp trong ương nuôi ấu trùng trai tai tượng vảy, giai đoạn sống trôi nổi. Độ mặn 30-33 ppt, ánh sáng 2.000- 4.000 lux và vật bám là đá san hô chết là thích hợp trong ương nuôi trai tai tượng vảy, giai đoạn ấu trùng đã bám đáy.

3. Qua 4 đợt thực nghiệm sản xuất giống trai tai tượng vảy, đề tài đã thu được kết quả: tỷ lệ thành thực $78,32 \pm 6,91\%$; tỷ lệ thụ tinh là $70,04 \pm 1,01\%$; tỷ lệ nở là $65,42 \pm 0,87\%$; tỷ lệ sống từ ấu trùng chữ D đến con giống 2 cm là $3,98\%$; tổng số lượng con giống thu được 8.725.986 con.

Người hướng dẫn

Nghiên cứu sinh

TS. Nguyễn Văn Minh

TS. Ngô Anh Tuấn

Phùng Bấy

KEY FINDINGS

Thesis title: Research on some reproductive biological characteristics and artificial reproduction of scaly giant clam (*Tridacna squamosa* Lamarck, 1819)

Major: Aquaculture
Major code: 62620301
PhD student: Phung Bay
Course: 2017
Supervisors: 1. Dr. Nguyen Van Minh
2. Dr. Ngo Anh Tuan
Institution: Nha Trang University

Key findings:

1. This thesis described in details some reproductive characteristics of scaly giant clams. The gonad of scaly giant clams developed through 5 stages (I-V). The size at first sexual maturity was 19.1 cm in shell length. The spawning season lasted from May to August; Absolute fecundity was $5,211,900 \pm 167$ eggs/female and relative fecundity was $2,035 \pm 44$ eggs/g whole body weight, corresponding to $8,968 \pm 322$ eggs/g internal soft tissue weight.

2. The thesis provided the scientific rationale for artificial breeding of scaly giant clams. Light intensity of 2,000-4,000 lux was suitable for rearing the clam broodstocks. The broodstocks were successfully induced spawning by heat stress method combined with water flow adjustment. At the early stages, from Veliger to Pediveliger stages, the larvae were reared at 30-33 ppt, density 3-5 larvae/mL. The larvae were fed with a combination of microalgae, including *Nannochloropsis oculata*, *Chaetoceros muelleri* and *Isochrysis galbana* at a density of 15,000 cells/mL (1:1:1). Zooxanthelle (*Symbiodinium microadriaticum*) was added into the giant clam larvae (from day 3 post hatched) culture system at the concentration of 5,000 cells/mL once a day. Dead corals were suitable substrates for the larvae to settle following the pelagic stage. During the settlement stage, suitable light intensity for the larvae was 2,000-4,000 lux.

3. Through the four seed production batches of scaly giant clams, 8,725,986 juveniles of 2 cm in size were produced. Maturity broodstock rate was $78.32 \pm 6.91\%$. Fertilization and hatching rates were $70.04 \pm 1.01\%$, and $65.42 \pm 0.87\%$, respectively. Survival rate from Veliger (D stage) to juveniles was 3.98%.

PhD student

Phung Bay

MỞ ĐẦU

Trai tai tượng là những loài động vật thân mềm hai mảnh vỏ có giá trị cao, tiềm năng xuất khẩu lớn. Vì kích thước đa số các loài trai đều lớn, phương thức sống cộng sinh với một số vi tảo quang tự dưỡng, tạo cho màu sắc của trai tai tượng đa dạng và sặc sỡ, nên nhu cầu trai cho nuôi cảnh, trang trí là rất lớn. Vỏ trai tai tượng có lớp can xi bóng loáng cùng với hình dạng vỏ có nhiều gợn sóng nên được gia công làm những vật dụng khác nhau như hộp đèn, gạt tàn thuốc, chậu cây cảnh, trang trí trong tủ kính. Thịt trai có hàm lượng dinh dưỡng cao, với nhiều acid béo không no mạch dài (PUFAs-Poly Unsaturated Fatty Acids), acid amin thiết yếu cũng như các nguyên tố vi lượng. Do đó, thị trường trai tai tượng rất lớn, việc thương mại đối tượng này đã và đang diễn ra trên khắp thế giới (Mingoa Licuanan và Gomez, 2002).

Trai tai tượng vảy (*Tridacna squamosa* Lamarck, 1819) là đối tượng có giá trị kinh tế cao nhưng nguồn lợi đang bị cạn kiệt nghiêm trọng. Trai tai tượng vảy được đưa vào Sách đỏ Việt Nam, dạng nguy cấp, cần được bảo vệ nghiêm ngặt (Sách đỏ Việt Nam, 2000). Vì phân bố của trai tai tượng gắn liền với rạn san hô, nên việc khai thác trai bờ bãi đã ảnh hưởng xấu đến sinh thái rạn san hô, hệ sinh thái quan trọng đối với tự nhiên biển và con người (Đỗ Công Thung và Sarti, 2004).

Trước thực trạng đó, những giải pháp thiết thực nhằm để khôi phục và phát triển nguồn lợi quý hiếm này được ưu tiên hàng đầu. Song song với việc đề ra những cơ chế, chính sách nhằm khai thác hợp lý nguồn lợi trai tai tượng, thì việc nghiên cứu đặc điểm sinh học, sinh sản, xây dựng cơ sở khoa học sản xuất giống và cung cấp giống cho nuôi phục hồi, nuôi thương mại đối tượng này là yêu cầu cấp thiết. Điều này góp phần giảm áp lực khai thác, bổ sung, tái tạo nguồn lợi tự nhiên, mở ra một triển vọng mới cho nghề nuôi trai tai tượng và phục hồi nguồn lợi quý hiếm này.

Nghiên cứu trên trai tai tượng vảy nói riêng và trai tai tượng nói chung tại Việt Nam chỉ mới ở bước đầu, tập trung chủ yếu vào đa dạng thành phần loài, nguồn lợi, thăm dò sản xuất giống, xây dựng mô hình nuôi phục hồi từ con giống khai thác ngoài tự nhiên. Để làm tiền đề cho sinh sản nhân tạo, việc nghiên cứu những đặc điểm sinh học sinh sản, phục vụ cho xây dựng những chỉ tiêu kỹ thuật sản xuất giống như: giới tính, mùa vụ sinh sản, tuổi sinh sản, sức sinh sản, theo dõi quá trình phát triển phôi và ấu trùng là rất cần thiết. Đồng thời, nghiên cứu các chỉ tiêu kỹ thuật trong quá trình sinh

sản nhân tạo như: nuôi vỗ, kích thích sinh sản, ương nuôi và cho ấu trùng xuống đáy cũng đóng vai trò quan trọng. Chính vì vậy, việc triển khai thực hiện đề tài “Nghiên cứu một số đặc điểm sinh học sinh sản và sinh sản nhân tạo trai tai tượng vảy (*Tridacna squamosa* Lamarck, 1819)” là vô cùng cấp bách.

Cho đến thời điểm hiện tại, đề tài Luận án là công trình ở Việt Nam nghiên cứu một cách chuyên sâu về sinh học sinh sản và sinh sản nhân tạo đối tượng quý hiếm này. Đề tài luận án được thực hiện với mục tiêu:

Mục tiêu tổng quát: Xác định được một số đặc điểm sinh học sinh sản, các thông số kỹ thuật thích hợp trong sinh sản nhân tạo làm cơ sở khoa học xây dựng kỹ thuật sản xuất giống, khôi phục nguồn lợi và phát triển nghề nuôi trai tai tượng vảy một cách bền vững.

Mục tiêu cụ thể:

Xác định được dẫn liệu về đặc điểm sinh học sinh sản trai tai tượng vảy.

Thiết lập các cơ sở khoa học trong sinh sản nhân tạo, từ kỹ thuật nuôi vỗ, kích thích sinh sản trai bố mẹ đến kỹ thuật ương nuôi ấu trùng và trai giống; từ đó xây dựng các thông số kỹ thuật và thực nghiệm sản xuất giống nhân tạo trai tai tượng vảy.

Để đạt được mục tiêu trên, luận án thực hiện các nội dung:

1. Nghiên cứu một số đặc điểm sinh học sinh sản trai tai tượng vảy
2. Nghiên cứu các cơ sở khoa học sinh sản nhân tạo trai tai tượng vảy:
 - 2.1. Nuôi vỗ thành thực sinh dục
 - 2.2. Kích thích sinh sản
 - 2.3. Ương nuôi ấu trùng giai đoạn sống nổi
 - 2.4. Ương nuôi ấu trùng giai đoạn sống đáy và con giống
 - 2.5. Tìm hiểu một số tác nhân gây bệnh và dịch hại trong quá trình nuôi vỗ
3. Thực nghiệm sản xuất giống nhân tạo trai tai tượng vảy

Ý nghĩa khoa học và thực tiễn của đề tài:

- **Ý nghĩa khoa học:** Đề tài Luận án là nguồn tài liệu cung cấp cơ sở dữ liệu về đặc điểm sinh học sinh sản của trai tai tượng vảy, góp phần quan trọng phục vụ công tác

giảng dạy, nghiên cứu và xây dựng chính sách bảo vệ, khai thác bền vững nguồn lợi trai tai tượng vảy ngoài tự nhiên. Ngoài ra, kết quả nghiên cứu của đề tài sẽ góp phần bảo vệ nguồn gen quý hiếm, bảo vệ tính đa dạng sinh học biển Việt Nam.

- **Ý nghĩa thực tiễn:** Đề tài có ý nghĩa thực tiễn trong việc góp phần phát triển kinh tế-xã hội của đất nước. Đề tài đã xác định được các thông số thích hợp trong sản xuất giống trai tai tượng vảy, làm cơ sở để xây dựng thành công kỹ thuật sản xuất giống, chủ động được nguồn giống có chất lượng, đáp ứng cho nhu cầu nuôi thương phẩm, tiến tới đẩy mạnh phát triển kinh tế biển từ nguồn nguyên liệu xuất khẩu trai tai tượng vảy, đồng thời bảo tồn và phát triển nguồn gen trai tai tượng vảy.

CHƯƠNG 1: TỔNG QUAN TÀI LIỆU NGHIÊN CỨU

1.1. Đặc điểm sinh học của họ trai tai tượng Tridacnidae

1.1.1. Phân loại của trai tai tượng vảy

Trai tai tượng vảy (*Tridacna squamosa*) được Lamarck phân loại vào năm 1819 và được sắp xếp theo hệ thống như sau:

Ngành: Mollusca

Lớp: Bivalvia

Bộ: Veneroida

Họ: Tridacnidae

Giống: *Tridacna*

Loài: *Tridacna squamosa* (Lamarck, 1819) (Hình 1.1)



Hình 1.1. Trai tai tượng vảy trưởng thành

(Nguồn: Phùng Bấy)

Tên tiếng Anh: Fluted Giant Clam, Scaly Giant Clam

Tên tiếng Việt: Trai tai tượng vảy

Trai tai tượng vảy thuộc giống *Tridacna*, họ trai tai tượng (Tridacnidae), bộ Veneroida, lớp động vật thân mềm hai mảnh vỏ (Bivalvia). Cho đến nay, tổng số 9 loài trai tai tượng nằm trong 2 giống *Tridacna* và *Hippopus* đã được phát hiện tại những vùng nước trên khắp thế giới là *Tridacna gigas*, *T. squamosa*, *T. maxima*, *T. crocea*, *T. derasa*, *T. tevoroa*, *T. rosewateri*, *Hippopus hippopus* và *H. porcellanus*. Trong đó, loài có kích thước lớn nhất là *T. gigas* và loài có kích thước nhỏ nhất là *T. crocea* (Lamarck, 1819). Một số thông tin về phân loại và vùng phân bố của các loài trai tai tượng trên thế giới có thể được tóm tắt như sau:

Loài *T. gigas* (Trai tai tượng khổng lồ): Là loài có kích thước lớn nhất trong số các loài trai tai tượng. Chiều dài vỏ tối đa của loài trai này có thể đạt tới trên 140 cm, nặng tới 260 kg. Trai tai tượng khổng lồ được nhận biết khá dễ dàng do có kích thước

lớn, mặt trong vỏ có màu trắng ngà, mặt ngoài nổi 6 gờ lớn và có màu trắng hơi xám. Màng áo có màu nâu/xanh lá cây với nhiều chấm nhỏ màu xanh da trời hoặc xanh lá cây (Hình 1.2 a) (Knop, 1996).

Loài *T. squamosa* (Trai tai tượng vảy): Trên bề mặt vỏ có các vảy lớn tạo thành các rãnh sâu, có dạng hình máng. Màng áo có các vết chấm lốm đốm màu xanh da trời, màu nâu và màu xanh lá cây. Kích thước của vỏ có thể đạt tới 40 cm (Hình 1.2 b).

Loài *T. derasa* (Trai tai tượng trơn): Là loài trai tai tượng có kích thước lớn thứ hai sau loài trai tai tượng khổng lồ với chiều dài vỏ có thể lên tới 60 cm. Đặc điểm khác biệt của trai tai tượng trơn là vỏ nhẵn, trơn và màng áo có các vân dọc màu xanh da trời, xanh lá cây và màu nâu (Hình 1.2 c).

Loài *T. maxima* (Trai tai tượng nhỏ): Đây là loài phân bố phổ biến và rộng nhất so với các loài trai tai tượng khác. Trên thế giới chúng được tìm thấy phân bố từ bờ biển phía Đông Châu Phi cho tới tận biển Đỏ và phía Đông quần đảo Polynesia. Chúng phân bố chủ yếu từ vùng hạ triều đến độ sâu khoảng 10 m nước. Màng áo của loài trai tai tượng nhỏ có màu sắc rực rỡ (màu xanh da trời, xanh lá cây và màu vàng) và thường có tập tính phân bố ẩn trong các hang hốc nên rất khó phát hiện (Hình 1.2 d).

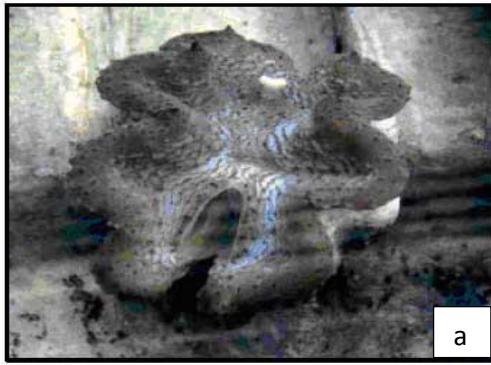
Loài *T. crocea* (Trai tai tượng nghệ): Là loài có tập tính đào hang và màng áo cũng có màu sắc rực rỡ như loài trai tai tượng nhỏ. Tuy nhiên, loài này thường có kích thước nhỏ hơn và vỏ có dạng hình trứng, bầu dục (Hình 1.2 e). Đây là loài trai tai tượng có kích thước vỏ nhỏ nhất, kích thước chiều dài vỏ của cá thể lớn nhất có thể đạt 15 cm.

Loài *T. tevoroa* (Trai tai tượng mặt quý): Là loài trai tai tượng rất ít gặp và được mô tả trong thời gian gần đây. Đặc điểm khác biệt là trai mặt quý biển sâu phân bố chủ yếu ở các vùng biển sâu trên 20 m. Trên thế giới, chúng được tìm thấy phân bố ở các vùng biển đảo phía bắc của Tonga và các vùng biển đảo phía Đông của Fiji (Hình 1.2 g) (Adams, 1988; Lucas, 1988; Lucas và cộng tác viên, 1991).

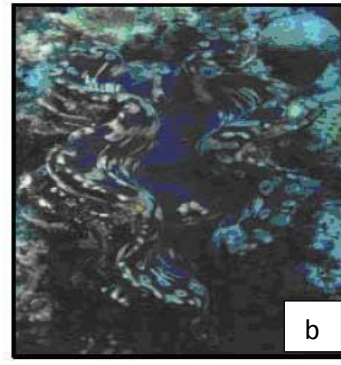
Loài *T. rosewateri*: Là loài mới được phát hiện trong những năm gần đây. Chúng rất giống với loài trai tai tượng vảy nhưng chỉ xuất hiện tại bờ biển Saya de Malha thuộc Ấn Độ Dương (Hình 1.2 h) (Sirenko và Scarlato, 1991).

Loài *H. hippopus* (Trai tai nghệ): Là loài có vỏ dày, nặng, hình tam giác và răng có nhiều cạnh sắc. Màng áo có màu nâu vàng mờ và không kéo dài hết mép vỏ (Hình 1.2 f).

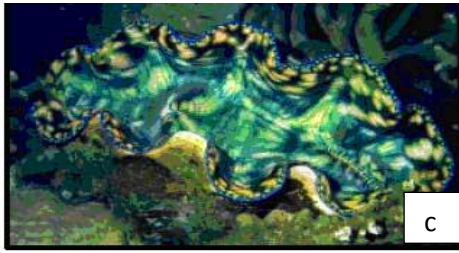
Loài *H. porcellanus* (Trai tai tượng sứ): Là loài có màu sắc màng áo giống với loài *H. hippopus* nhưng khác bởi vỏ nhẹ và ít đường phóng xạ hơn. Vòi hút vào nằm trên mép màng áo. Loài *H. porcellanus* chỉ phân bố trong khu vực biển Indonesia, Philippines và Palau (Hình 1.2 k) (Alcazar và cộng tác viên, 1987).



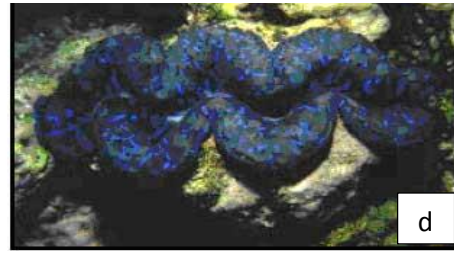
Trai *Tridacna gigas*



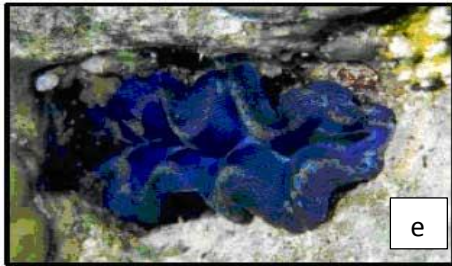
Trai *Tridacna squamosa*



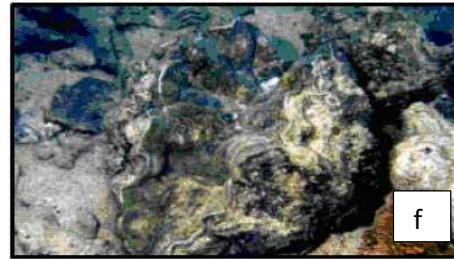
Trai *Tridacna derasa*



Trai *Tridacna maxima*



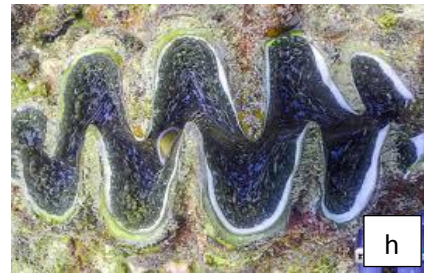
Trai *Tridacna crocea*



Trai *Hippopus hippopus*



Trai *tridacna tevoroa*



Trai *Tridacna rosewateri*



Trai *Tridacna porcellanus*

Hình 1.2 Hình ảnh 9 loài trai tai tượng phân bố phổ biến trên thế giới

(Nguồn: Ellis, 1998)

Cho đến nay, tại Việt Nam đã phát hiện và thống kê được tổng số 5 loài trai tai tượng thuộc họ Tridacnidae (trong tổng số 9 loài trên thế giới), bao gồm trai tai tượng khổng lồ (*T. gigas*), trai tai tượng vảy (*T. squamosa*), trai tai tượng nhỏ (*T. maxima*), trai tai tượng nghệ (*T. crocea*) và trai tai tượng tai nghệ (*H. hippopus*) (Nguyễn Hữu Phụng và Võ Sỹ Tuấn, 1996; Đỗ Công Thung và Lê Thị Thúy, 2008). Ngoài ra, một số nhà khoa học cho rằng vùng biển Việt Nam có thêm cả loài trai tai tượng trơn (*T. derasa*), tuy nhiên cần có những nghiên cứu phân loại dựa trên cấu trúc DNA để có thể xác định rõ ràng hơn về loài này (Đặng Ngọc Thanh và Nguyễn Xuân Dục, 2003).

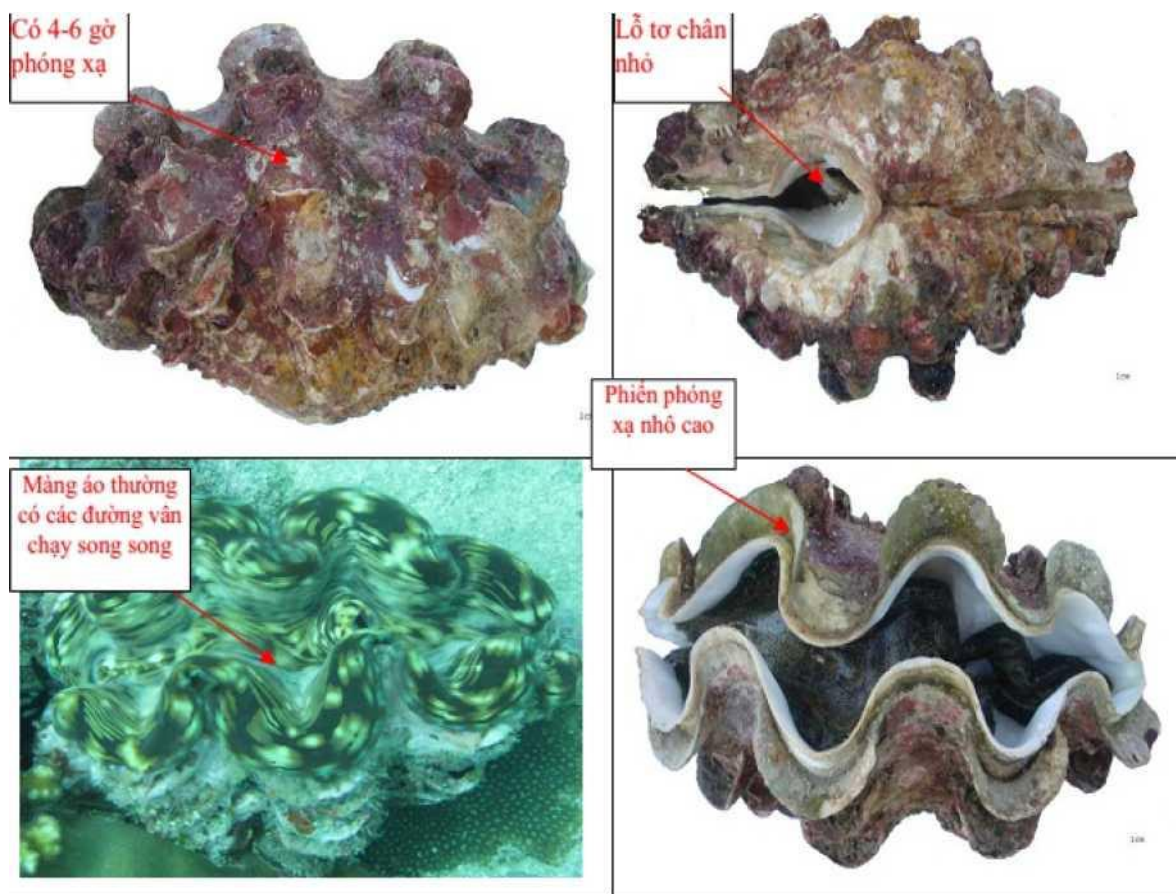
1.1.2. Đặc điểm hình thái ngoài và cấu tạo bên trong

Hình dạng và cấu tạo của loài trai tai tượng vảy đã được mô tả khá chi tiết trong các công trình nghiên cứu của Rosewater (1965 và 1982) và Lucas (1988). Hình dạng bên ngoài của trai tai tượng vảy mang những đặc trưng chung của các loài động vật thân mềm (ĐVTM) hai mảnh vỏ. Cơ thể gồm hai mảnh vỏ úp lại nhau, đóng mở nhờ cơ khép vỏ. Mặt lưng của vỏ có một đỉnh vỏ, dưới đó là bản lề dính hai phần đỉnh vỏ lại với nhau. Tỷ lệ khoảng cách từ đỉnh vỏ đến phía trước của mặt bụng (mặt trước) và mặt sau (mặt lưng) tương đối bằng nhau. Mặt trước của tất cả các loài trai đều có tơ chân để bám vào vật bám. Tuy nhiên, một trong những đặc điểm phân loại chủ yếu và khác biệt với các loài ĐVTM hai mảnh vỏ khác là các loài trai tai tượng nói chung đều có vỏ rất dày, dạng vảy và là những loài ĐVTM duy nhất có màng áo với nhiều màu sắc sặc sỡ do có sự cộng sinh với các loài vi tảo quang tự dưỡng, vì vậy màu sắc của màng áo phụ thuộc rất lớn vào màu sắc của loài tảo cộng sinh (Klumpp và Griffiths, 1994).

Kích thước vỏ của trai tai tượng vảy khá lớn, chiều dài vỏ của những cá thể lớn nhất có thể đạt tới 40 cm và khối lượng hàng chục kg. Tỷ lệ về độ dài giữa chiều rộng và chiều cao xấp xỉ bằng 1:1; chiều dài lớn gấp 1,7 – 2 lần chiều cao đối với cá thể trưởng thành. Tỷ lệ giữa chiều dài của bản lề và chiều dài vỏ đạt 0,46. Vỏ có lỗ tơ chân với kích thước nhỏ. Chiều dài lỗ tơ chân bằng khoảng 0,4 chiều rộng vỏ và bằng 0,2 chiều dài vỏ. Chiều rộng lỗ tơ chân đạt cực đại khoảng 2 cm. Trai tai tượng vảy hầu như ít sử dụng tơ chân để bám vào vật bám, chúng giữ cơ thể ổn định trong môi trường nước dựa vào khối lượng của cơ thể (Knop, 1996).

Vỏ trai tai tượng vảy có dạng hình trứng, có 4-6 gờ phóng xạ rất lớn hình vòng trên đó có nhiều phiến vảy, mương giữa 2 gờ phóng xạ lớn có nhiều gờ phóng xạ nhỏ. Mặt trong vỏ màu trắng sứ mặt khớp dài, vỏ phải có 1 răng giữa và 2 răng bên phía sau,

vỏ trái có 1 răng giữa và 1 răng bên phía sau và hai vỏ bằng nhau. Mép bụng vỏ cong gợn sóng, trước đỉnh vỏ có lỗ tơ chân nhỏ. Bản lề ngoài dài màu nâu, mặt vỏ màu trắng đục. Mép lỗ tơ chân có một số gờ cắt ngang, dạng răng cưa. Màng áo có các đường vân chạy song song với nhiều màu sắc khác nhau. Mặt bụng là màng áo bao gồm nhiều tế bào tảo cộng sinh lộ ra ngoài có chức năng quang hợp cung cấp chất dinh dưỡng cho trai. Màng áo có các vết chấm lốm đốm màu xanh da trời, màu nâu và màu xanh lá cây, có thể mở rộng bao phủ bề mặt của vỏ giúp trai tai tượng nguy trang lẫn trốn kẻ thù. Ống thoát hút nước lớn, có nhiều xúc tu. Các xúc tu này phân nhánh (Hình 1.3) (Lucas, 1988; Đỗ Anh Duy và cộng tác viên., 2012).

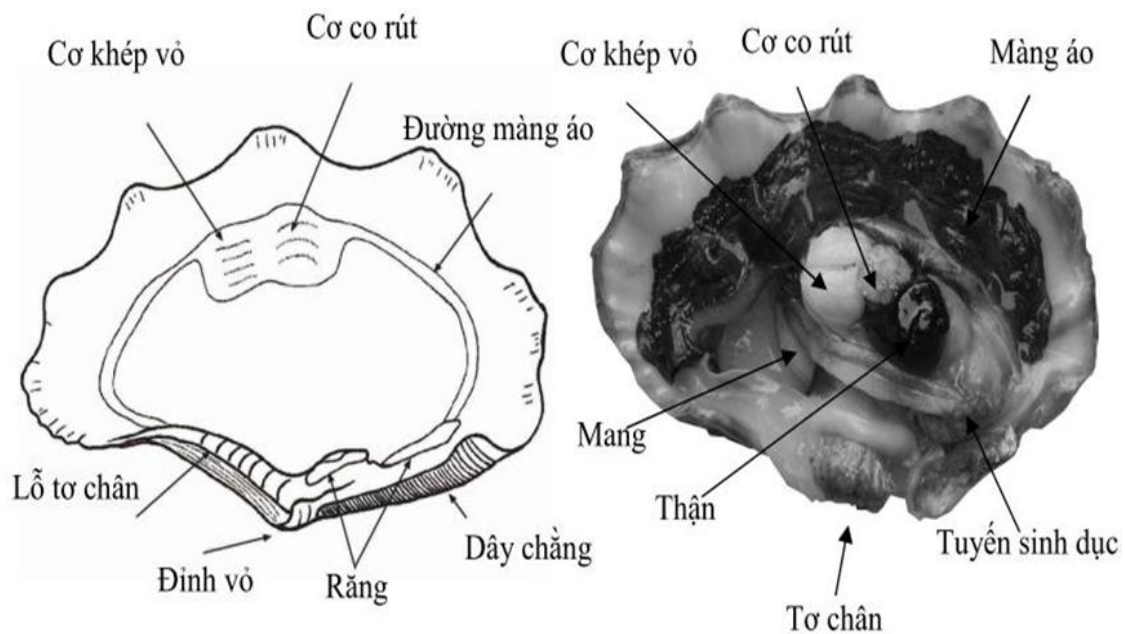


Hình 1.3. Hình dạng và cấu tạo bên ngoài trai tai tượng vảy

(Nguồn: Đỗ Anh Duy và cộng tác viên, 2012)

Cấu tạo bên trong của trai tai tượng vảy bao gồm các bộ phận: mang, thận, dạ dày, ruột và tuyến sinh dục. Cơ thể trai tai tượng vảy có 2 cặp mang thon dài có chiều hẹp ở phía trước và rộng ở phía sau được liên kết vào hệ thống tiêu hóa bằng những sợi dây chằng, thông thường mang có màu trắng nhưng cũng có trường hợp mang có màu xám tro. Thận là một khối màu đen nằm cạnh cơ khép vỏ và gắn chặt vào tuyến sinh dục

thành một khối liền nhau. Những cá thể trai tai tượng có kích thước nhỏ dưới 10cm, dạ dày và ruột thường nằm cạnh tuyến sinh dục. Khi cá thể trai tai tượng lớn hơn 10cm, dạ dày và ruột được bao bọc xung quanh bởi tuyến sinh dục. Cơ quan sinh dục của trai tai tượng vảy bắt đầu phát triển khi kích thước chiều dài vỏ đạt khoảng 15cm. Cơ quan sinh dục là một khối màu trắng sữa nằm phía dưới cơ khép vỏ và nằm bên cạnh thận (Nguyễn Quang Đông và Nguyễn Quang Hùng, 2015) (Hình 1.4).



Hình 1.4. Cấu tạo bên trong của trai tai tượng vảy (Nguồn: Nguyễn Quang Đông và Nguyễn Quang Hùng, 2015)

1.1.3. Đặc điểm sinh thái và phân bố

1.1.3.1. Phân bố sinh thái

Trai tai tượng vảy quan hệ mật thiết với hệ sinh thái biển. Hệ sinh thái ảnh hưởng trực tiếp đến sự sinh trưởng và phát triển của trai tai tượng vảy, chính vì vậy sự phân bố của loài này ở xa vùng ven bờ, chỉ tập trung vùng ven đảo và quần đảo, nơi ít ảnh hưởng từ hoạt động sống của con người. Một số yếu tố sinh thái ảnh hưởng trực tiếp đến đời sống trai tai tượng vảy có thể kể đến như sau.

Nhiệt độ: Nhiệt độ là yếu tố môi trường ảnh hưởng rất quan trọng đến đời sống sinh vật nói chung và trai tai tượng vảy nói riêng. Trong phạm vi thích hợp, khi nhiệt độ cao thì tốc độ sinh trưởng càng tăng Cũng giống như nhiều động vật thân mềm khác, nhiệt độ thích hợp của trai tai tượng vảy nằm trong khoảng 25 - 30 °C. Nhiệt độ quá thấp hạn chế khả năng trao đổi chất và phát triển của tảo cộng sinh trên trai tai tượng vảy, vì

vậy ảnh hưởng xấu đến sự sinh trưởng và phát triển của trai. Ngược lại, khi nhiệt độ quá cao dẫn đến rối loạn quá trình trao đổi chất, khả năng phát triển của trai chậm lại, khả năng sinh sản kém hơn vì các chất dinh dưỡng tích lũy không được cung cấp nhiều vào tuyến sinh dục. Trong điều kiện nhân tạo, khi nhiệt độ cao dẫn đến rong trong bể nuôi vỗ hay ương giống phát triển mạnh, làm giảm lượng ô xy hòa tan trong nước vào ban đêm (Ellis, 1998; Isamu, 2008).

Độ mặn: Độ mặn là một trong những yếu tố môi trường ảnh hưởng trực tiếp đến quá trình sinh trưởng và phát triển của thủy sinh vật nói chung và trai tai tượng nói riêng thông qua quá trình điều hòa áp suất thẩm thấu. Mỗi loài sinh vật sống trong môi trường có phạm vi độ mặn nhất định. Ngoài khoảng đó hay độ mặn biến thiên lớn gây ra tác hại cho trai tai tượng (Eckman và cộng tác viên, 2014). Mỗi loài đều thích ứng với một biên độ độ mặn tối ưu, đối với trai tai tượng vậy từ 31 – 35 ppt (Ellis, 1998; Isamu, 2008). Trong giai đoạn ấu trùng, các tác giả cho rằng độ mặn 27 ppt thì sự sinh trưởng của ấu trùng khác nhau không có ý nghĩa về mặt thống kê khi so sánh với sinh trưởng ấu trùng trai tai tượng vậy nuôi độ mặn 30 ppt.

Ánh sáng: Ánh sáng là một yếu tố cực kỳ quan trọng trong đời sống của trai tai tượng. Điều này có thể là do trai tai tượng vậy sống cộng sinh với vi tảo (*Symbiodinium microadriaticum*), sống trên phần màng áo của trai (Ellis, 1998). Theo nhiều kết quả nghiên cứu thì trai tai tượng vậy thích hợp với phạm vi cường độ ánh sáng là 3.000-5.000 lux. Tuy nhiên, cường độ ánh sáng tại nơi phân bố của trai tai tượng vậy tại Việt Nam là 6.000 lux (Boo và cộng tác viên, 2021). Đối với các loài trai tai tượng khác nhau thì cường độ ánh sáng thích hợp cũng khác nhau. Trai tai tượng nghệ phân bố trong các vùng san hô cạn nên có nhu cầu ánh sáng cao hơn, thích hợp nhất là 15.000 lux đối với trai có kích thước 45-90mm về chiều dài (Liu và cộng tác viên, 2020). Trong quá trình bắt đầu hình thành mối quan hệ cộng sinh giữa vi tảo và trai thì cường độ ánh sáng phải luôn nằm trong phạm vi thích hợp, đảm bảo cho tảo cộng sinh với trai và sống sót để tạo nguồn dinh dưỡng nuôi sống trai.

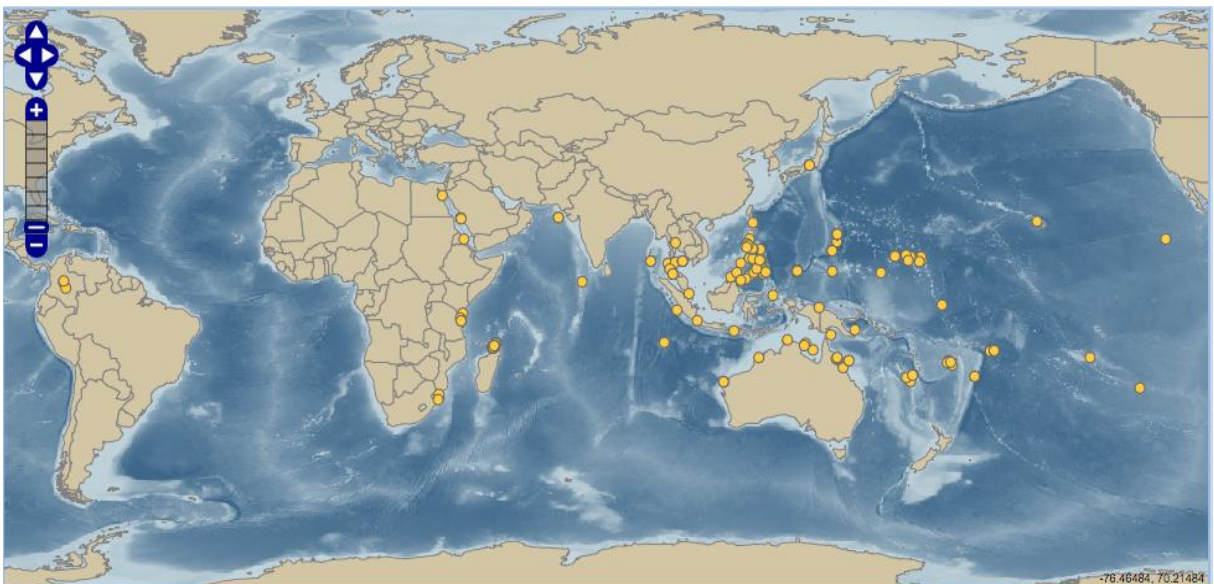
Ngoài ra, một số yếu tố môi trường khác như pH, DO cũng ảnh hưởng đến sinh trưởng và phát triển trai tai tượng vậy. (Braley, 1992) đưa ra hàm lượng oxy cho phép >5 mg/l và Ellis (1998) khuyến cáo pH 7-8,5 rất thích hợp cho nuôi trai tai tượng.

Độ trong: Vì trai tai tượng vậy có phương thức sống cộng sinh với một số loài vi tảo nên chúng thường sống ở những vùng nước trong và sạch, nơi có mực nước không

quá sâu để ánh sáng mặt trời có thể chiếu tới. Theo Moir (1986), sự phân bố của loài trai tai tượng nhỏ vùng ven biển Tuamortus có độ trong cao và những vùng có độ trong thấp không thấy xuất hiện loài này. Kết quả nghiên cứu, thống kê trên thế giới cho thấy rằng các loài thuộc họ trai tai tượng chỉ phân bố trong các rạn san hô ở vùng biển nhiệt đới và cận nhiệt đới thuộc khu vực Ấn Độ - Thái Bình Dương (Lucas, 1988; Rosewater, 1965).

1.1.3.2. Phân bố địa lý

Phân bố theo chiều ngang của trai bị chi phối bởi yếu tố nhiệt độ. Mặc dù trai tai tượng nói chung phân bố rất rộng trên thế giới nhưng mỗi loài trai phân bố ở những vùng nước nhất định, trong đó trai tai tượng nhỏ và trai tai tượng vảy phân bố phổ biến và rộng nhất so với các loài trai tai tượng khác (Lucas và Southgate, 2003). Trên thế giới, hai loài trai này được tìm thấy phân bố tại các vùng nước từ bờ biển phía Đông Châu Phi cho tới tận biển Đỏ và phía Đông quần đảo Polynesia, tây Thái Bình Dương. Trai tai tượng nghệ phân bố tại vùng biển thuộc Đông Nam Ấn Độ Dương, Tây và giữa Thái Bình Dương (Hình 1.5), trong khi loài trai tai tượng mặt quý được tìm thấy tại vùng nước các đảo phía Bắc của Tonga và các đảo phía đông của Fiji. Trai *T. rosewateri* là loài mới được phát hiện trong những năm gần đây, chỉ xuất hiện tại bờ biển Saya de Malha thuộc Ấn Độ Dương. Loài trai tai tượng mặt quý chỉ phân bố trong khu vực biển Indonesia, Philippines và Palau (Adams, 1988; Lucas, 1988; Lucas và cộng tác viên., 1991).



Hình 1.5. Phân bố địa lý của trai tai tượng vảy trên thế giới (Nguồn:Obis, 2015)

Phân bố theo chiều thẳng đứng của trai bị chi phối bởi cường độ ánh sáng. Vì trai tai tượng sống cộng sinh với vi tảo quang tự dưỡng, nên ánh sáng có vai trò quan trọng trong phân bố của đa số các loài trai. Tuy nhiên, tùy loài mà nhu cầu ánh sáng có khác

nhau, biểu hiện qua phân bố theo độ sâu. Trai tai tượng thường phân bố gắn liền với rạn san hô. Trai tai tượng nghệ phân bố tại những vùng nước cạn và là loài có tập tính đào hang ở vùng trung triều và thường lộ trên không khí khi thủy triều xuống (Hamner, 1978). Trai tai tượng nhỏ phân bố chủ yếu từ vùng hạ triều đến độ sâu khoảng 7 m với mật độ cực đại 60 cá thể/m² (Richard, 1978) và thường có tập tính phân bố ẩn trong các hang hốc nên rất khó phát hiện. Trai tai tượng mặt quý là loài rất ít khi gặp, chúng phân bố chủ yếu ở các vùng biển sâu trên 20m, và thường tập trung với mật độ khá cao, có khi lên đến 200 cá thể/m². Trai tai tượng vảy thường tìm thấy xung quanh những cá thể san hô sống. Chúng thường sống ở độ sâu lớn hơn 15 m, với độ trong rất lớn (Crawford và cộng tác viên, 1986; Lewis và Ledua, 1988).

Các nghiên cứu tại Việt Nam cho thấy, cả 5 loài: trai tai tượng khổng lồ, trai tai tượng nghệ, trai tai tượng nhỏ, trai tai tượng vảy, trai tai tượng ghé chỉ phân bố tập trung từ vùng biển miền Trung trở xuống đến vùng biển phía Nam, vùng biển phía Bắc không thấy có loài nào phân bố. Phạm vi phân bố từ vùng triều đến vùng dưới triều trên các vùng rạn đá và rạn san hô (Nguyễn Văn Chung và Đào Tấn Hồ, 2003; Đỗ Công Thung và Sarti, 2004).

Theo Sách đỏ Việt Nam (2000), 2 loài trai tai tượng khổng lồ và trai tai tượng nghệ phân bố chủ yếu ở quần đảo Trường Sa. Trong đó, loài trai tai tượng khổng lồ là loài trai lớn và nặng nhất trong lớp ĐVTM hai mảnh vỏ. Mẫu vật thu được tại đảo Sinh Tồn (Trường Sa) có chiều dài 0,95 m, rộng 0,51 m, vết màng áo 24x26 cm, vết cơ khép vỏ có đường kính 10 cm. Đây là loài quý hiếm, có không gian phân bố hẹp, trữ lượng ngoài tự nhiên rất ít, mức đe dọa bậc R (Sách đỏ Việt Nam, 2000).

Ngoài ra, 2 loài trai tai tượng nghệ và trai tai tượng nhỏ được ghi nhận phân bố rải rác ở một số đảo ven biển miền Trung và phía Nam, đặc biệt loài trai tai tượng nghệ được tìm thấy nhiều ở Côn Đảo (Nguyễn Hữu Phụng, 1995). Trai tai tượng vảy được ghi nhận là loài phân bố khá phổ biến ở biển Việt Nam, tập trung tại rạn san hô các vùng biển đảo của các tỉnh như Phú Yên, Khánh Hòa, Bình Thuận và Kiên Giang (Đỗ Công Thung và Sarti, 2004).

Trong khuôn khổ đề tài thuộc Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn được thực hiện từ 2009-2011, các tác giả đã khảo sát nguồn lợi trai tai tượng quanh các đảo: Phú Quốc, Côn Đảo, Phú Quý, Hòn Cau, Vịnh Nha Trang, Nam Yết, Lý Sơn và Cù Lao Chàm. Kết quả cho thấy cả 3 loài trai tai tượng vảy, nhỏ và nghệ phân bố khá phổ biến

trên phần lớn các khu vực khảo sát; Trong đó loài trai tai tượng vảy xuất hiện trên tất cả các khu vực trừ đảo Nam Yết, loài trai tai tượng nhỏ không bắt gặp trên hai đảo Côn Đảo và Phú Quốc, loài trai tai tượng nghệ không bắt gặp tại Hòn Cau và Phú Quốc. Tại Phú Quốc, các khảo sát chỉ ghi nhận được sự có mặt của loài trai tai tượng vảy (Nguyễn Quang Hùng, 2011).

Về đặc tính dùng chân tơ bám nhẹ trên nền đáy, toàn bộ cơ thể nằm trên bề mặt đáy của loài trai tai tượng vảy, không vùi thân dưới nền đáy rạn san hô. Ngoài tự nhiên loài trai tai tượng vảy thường phân bố ở trong những hốc san hô hoặc những vùng hơi trũng so với xung quanh để giảm thiểu tác động của sóng và dòng chảy, đây được coi là một trong những tập tính phân bố sinh thái nhằm thích nghi với môi trường sống (Hình 1.6). Điều này là hoàn toàn phù hợp với đặc điểm sinh thái học của trai tai tượng vảy, hầu hết các loài trai tai tượng vảy đều sống bám trên nền đáy trong vùng rạn san hô và sống cộng sinh với loài tảo cộng sinh, đây là một trong những loài tảo cộng sinh với các loài san hô. Vì vậy, quần xã trai tai tượng vảy có mối quan hệ khá mật thiết với quần xã san hô và quần xã các sinh vật sống trong vùng rạn.



Hình 1.6. Trai tai tượng vảy phân bố trên nền rạn san hô sống (Nguồn: Obis, 2015)

Kết quả điều tra, khảo sát tại 04 đảo Cù Lao Chàm, vịnh Nha Trang, đảo Nam Yết và đảo Phú Quốc cho thấy thành phần loài trai tai tượng vảy phân bố tại hầu hết các đới rạn có độ sâu từ 2 đến 16 m nước, ở mực nước sâu hơn không phân bố hoặc rất hiếm gặp, không nghi nhận được cá thể nào có độ sâu phân bố sâu hơn 16 m nước (Nguyễn Quang Đông và Nguyễn Quang Hùng, 2015). Vì trai tai tượng vảy sống cộng sinh với tảo Zooxanthellae, nên ánh sáng có vai trò quan trọng trong việc tiếp nhận ánh sáng để tảo cộng sinh quang hợp và cung cấp dinh dưỡng cho các loài trai tai tượng sinh trưởng và phát triển. Tùy loài trai tai tượng mà nhu cầu ánh sáng có khác nhau, chúng được

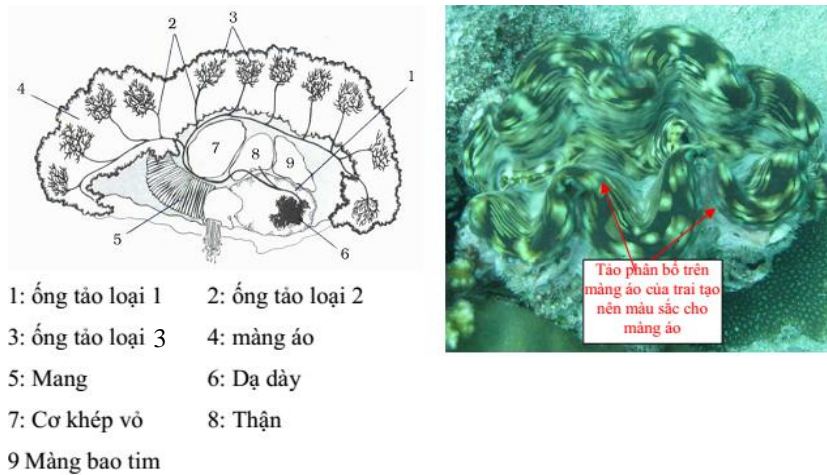
biểu hiện qua phân bố theo độ sâu và thường phân bố gắn liền với các rạn san hô (Dawson, 1986).

1.1.4. Đặc điểm dinh dưỡng và sinh trưởng

Khác với hầu hết các loài động vật thân mềm hai mảnh vỏ khác với lọc bị động là phương thức dinh dưỡng duy nhất thì trai tai tượng nói chung và trai tai tượng vảy nói riêng có 2 hình thức dinh dưỡng chính là: (1) Dị dưỡng thông qua ăn lọc các mảnh vụn hữu cơ và các vi tảo biển ngoài môi trường nước và (2) Thu nhận dinh dưỡng thông qua mối quan hệ cộng sinh với vi tảo (ví dụ *Symbiodinium microadriaticum*) (Fitt, 1988; Klumpp và Griffiths, 1994). Hình thức dinh dưỡng lọc bị động chủ yếu xảy ra ở giai đoạn ấu trùng trôi nổi và một ít ở giai đoạn trưởng thành. Trong giai đoạn ấu trùng, trai tai tượng phát triển thành ấu trùng đĩa bơi, các chất dinh dưỡng bên trong cơ thể đã bị tiêu hao hết, cơ quan tiêu hóa dần được hình thành và ấu trùng phải sử dụng thức ăn từ môi trường. Thức ăn của chúng là các mảnh vụn hữu cơ, các loại thực vật phù du có kích thước nhỏ như *Nannochloropsis oculata*, *Isochrysis galbana*, *Tetraselmis suecica*, *Chlorella vulgaris*, *Cryptomonas erosa*, *Platymonas* sp..... (Klumpp và cộng tác viên, 1992). Khi trai đã hoàn thành mối quan hệ cộng sinh với vi tảo thì hình thức dinh dưỡng chính là thu nhận dưỡng chất thông qua quá trình quang hợp của vi tảo. Tảo cộng sinh (Zooxanthellae) (*Symbiodinium microadriaticum*) sống bám trên phần màng áo nhô ra ngoài vỏ của trai để lấy nguồn dinh dưỡng nuôi cơ thể. Các tế bào vi tảo này thực hiện chức năng quang hợp tạo ra đường, axit amin, axit béo, sau đó một phần dinh dưỡng này chuyển qua màng tế bào của tảo vào mạch máu của trai tai tượng (Ellis, 1998).

Trong giai đoạn ấu trùng nổi, các tế bào tảo cộng sinh từ bên ngoài môi trường được ấu trùng trai tiêu hóa trong dạ dày. Sau vài ngày từ ấu trùng biến thái trở thành con non, các ống chứa tảo cộng sinh được hình thành từ dạ dày tới mép màng áo và các tế bào tảo cộng sinh xếp thành hàng. Đó là dấu hiệu đầu tiên của việc thiết lập mối quan hệ cộng sinh giữa trai và tảo (Hirose và cộng tác viên, 2006). Khi trai trưởng thành thì hình thức cộng sinh là dinh dưỡng chủ yếu, trong khi đó khi còn giai đoạn ấu trùng thì chúng được xem xét như là những sinh vật dị dưỡng. Chính vì thế, trai tai tượng chỉ cần nuôi trong môi trường nước sạch và đủ ánh sáng mặt trời là chúng có thể sinh trưởng, phát triển bình thường. Đây cũng chính là một trong những yếu tố mang lại lợi nhuận lớn cho người nuôi trai do không tốn nhiều chi phí thức ăn (Klumpp và cộng tác viên, 1992). Tuy nhiên, nếu trai sống trong môi trường nước không đủ ánh sáng cho quá trình quang hợp của tảo cộng sinh thì chúng tăng cường lọc các chất lơ lửng từ môi trường như mùn hữu cơ và vi tảo để bổ sung thành phần các chất dinh dưỡng cho chúng.

Cấu trúc cũng như cơ chế hoạt động của quá trình cộng sinh được mô tả ở Hình 1.7. Tảo cộng sinh Zooxanthellae được định danh là loài *Symbiodinium microadriaticum* được chứa trong một cấu trúc đặc biệt của trai gọi là lớp màng áo (Norton và Jones, 1992). Tuy nhiên, Pang và cộng tác viên (2022) cho rằng trai tai tượng thường cộng sinh với những loài tảo thuộc 3 giống trong họ Symbiodineaceae, đó là *Symbiodinium*, *Cladocopium* và *Durusdinium*. Mặt bụng của trai, trên màng áo bao gồm nhiều tế bào tảo cộng sinh lộ ra ngoài có chức năng quang hợp cung cấp chất dinh dưỡng cho trai.



Hình 1.7. Sơ đồ cấu tạo nội quan liên quan và hoạt động của tảo cộng sinh trên cơ thể của trai tai tượng vẩy (Nguồn: Norton và Jones, 1992)

Hình 1.7 cho thấy rằng các Zooxanthellae cố định trong các ống nhỏ. Các ống này kéo dài từ dạ dày tới phía ngoài màng áo của trai tai tượng. Đây là điều khác với các loài san hô, các Zooxanthellae cố định trong các tế bào riêng lẻ. Các loài Zooxanthellae qua quá trình quang hợp và cung cấp cho trai tai tượng các sản phẩm cũng như san hô đã nhận. Zooxanthellae chuyển CO_2 và NH_3 thành carbohydrate và các chất dinh dưỡng khác cho ký chủ của nó. Các chất dinh dưỡng khác mà trai tai tượng nhận từ Zooxanthellae là cacbon ở dạng glucose và các amino acid như alamine. Nghiên cứu cho thấy rằng glucose là carbohydrate sơ cấp được thải ra bởi zooxanthellae để cung cấp cho nó là oligosaccharide, kể đến là glutamats, aspartate và glycerol (Klump và cộng tác viên, 1992).

Sự hiện diện của tảo cộng sinh và ánh sáng mặt trời đóng vai trò vô cùng quan trọng trong đời sống của trai tai tượng vẩy. Copland và Lucas (1988) kết luận rằng nếu không có ánh sáng mặt trời thì trai tai tượng sẽ bị chết rất nhanh, kể cả khi có thức ăn trong nước. Trai tai tượng có thể sống được trong môi trường có bùn lắng nhẹ hay độ đục vừa phải nhưng chúng vẫn ưa thích môi trường biển nhiệt đới, trong và sạch. Tảo Zooxanthellae bắt đầu cộng sinh với cơ thể trai từ giai đoạn ấu trùng Veliger. Chúng ở

trong dạ dày của trai một vài ngày mà không bị tiêu hóa như các loài sinh vật phù du làm thức ăn khác (Copland và Lucas, 1988).

Ngoài tự nhiên trai tai tượng là loài có cơ thể lớn, cá thể lớn nhất đạt kích thước từ 15 cm (trai tai tượng nghệ) đến 100 cm và nặng hơn 200kg (trai tai tượng khổng lồ). Tùy vào từng loài trai, tốc độ phát triển cơ thể có sự khác nhau rõ rệt, trai tai tượng trơn và trai tai tượng khổng lồ là các loài có tốc độ sinh trưởng cao nhất, chúng có thể tăng trưởng hơn 10 cm/năm còn loài trai tai tượng nghệ chỉ có tốc độ phát triển 2 – 4 cm/năm (Ellis, 1998).

Tốc độ tăng trưởng của ĐVTM ngoài tự nhiên phụ thuộc rất nhiều vào thành phần, hàm lượng các chất hữu cơ trong môi trường sống (Leighton, 1979, Wallace và Reiness, 1984). Tuy nhiên, sinh trưởng của trai tai tượng phụ thuộc chính vào cường độ ánh sáng mặt trời vì hình thức dinh dưỡng chính của trai là thu nhận các chất dinh dưỡng thông qua mối quan hệ cộng sinh. Liu và cộng tác viên (2020) đã thực hiện thí nghiệm đánh giá tăng trưởng của trai tai tượng nghệ nuôi trong môi trường biển tự nhiên. Trai thí nghiệm được chi thành 2 kích thước (nhỏ: ~50 mm chiều dài vỏ, lớn: ~85 mm chiều dài vỏ) được nuôi ở ba cường độ ánh sáng (5000, 10.000 và 15.000 lux) trong 16 tuần. Kết quả là dưới cường độ ánh sáng 15.000 lux đã cho thấy tỷ lệ sống sót cao và tỷ lệ tăng trưởng tương đối (RGR) cao hơn đáng kể. RGR ở nhóm nhỏ cao hơn đáng kể so với nhóm lớn trong điều kiện ánh sáng 10.000 và 15.000 lux, trong khi RGR cao hơn được quan sát trong nhóm lớn dưới cường độ ánh sáng 5.000 lux (Liu và cộng tác viên, 2020).

1.1.5. Đặc điểm sinh sản

Trai tai tượng vậy là đối tượng lưỡng tính giai đoạn và đồng thời: chúng thành thực thường là con đực trong 3 năm đầu, sau đó tuyến sinh dục phát triển thành hai bộ phận, bộ phận chứa tinh và buồng trứng chứa trứng trong cùng một cơ thể (Rosewater, 1965; Ellis, 1998). Trong quá trình sinh sản, tinh trùng luôn luôn phóng ra trước kèm với việc tiết ra các hợp chất truyền đạt nhằm kích thích các cá thể khác gần đó tham gia phóng tinh và phóng trứng, do đó tránh được hiện tượng tự thụ tinh, thường xảy ra các sinh vật lưỡng tính đồng thời (Ellis, 1998). Sức sinh sản của trai tai tượng nói chung rất lớn, có cá thể có sức sinh sản tuyệt đối lên đến 300 triệu trứng. Tuy nhiên, tỷ lệ thụ tinh cũng như hình thành con con ở ngoài tự nhiên là rất thấp (Ellis, 1998).

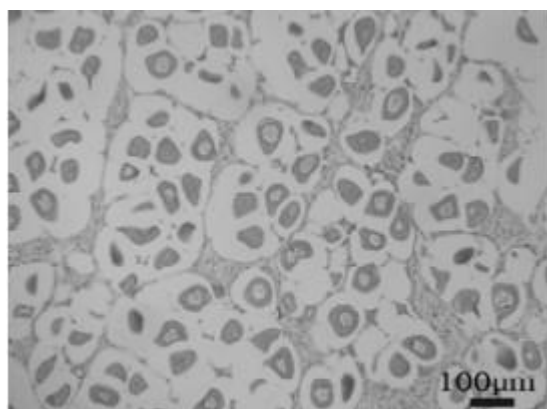
Trai tai tượng vậy là động vật thụ tinh ngoài, trứng và tinh trùng được thải ra ngoài và quá trình thụ tinh xảy ra ngoài môi trường nước (Rosewater, 1965). Sau khi thụ tinh, trứng có đường kính khoảng $100\mu\text{m}$. Khoảng 12 giờ, trứng thụ tinh phát triển thành ấu trùng đĩa bơi lội tự do trong nước. Ấu trùng lúc này có những vòng tiêm mao bao xung quanh cơ thể giúp cho ấu trùng vận động. Sau khi thụ tinh khoảng 24 giờ, ấu trùng biến thái chuyển sang giai đoạn ấu trùng chữ D có kích thước chiều dài khoảng $140\mu\text{m}$. Một vòng tiêm mao quanh miệng cho vận động và lấy thức ăn được hình thành. Giai đoạn này ấu trùng bắt đầu ăn lọc hạt lơ lửng kích thước hiển vi trong nước như các hạt mùn bã hữu cơ, vi tảo biển. Ngoài ra, giai đoạn này ấu trùng hình thành hai vỏ, dạ dày và ruột hỗ trợ cho quá trình tiêu hóa thức ăn. Sau đó, ấu trùng Veliger phát triển và bắt đầu xuất hiện một cơ chân và chuyển sang ấu trùng Pediveliger, chuyển từ bơi lội tự do sang bò dưới nền đáy. Sau khoảng 8-10 ngày từ khi thụ tinh, ấu trùng trải qua các giai đoạn biến thái và trở thành dạng bò lê dưới đáy (kích thước đạt khoảng $200\mu\text{m}$). Sau thời gian khoảng 10-14 ngày thì ấu trùng bò lê kết thúc quá trình biến thái và tìm một vật bám hay chất đáy thích hợp (đá hay san hô) để sống cố định. Hầu hết những loài động vật thân mềm khác khi sống cố định thì cơ thể nằm trên một mặt vỏ, trong khi trai tai tượng nằm đứng, vỏ mở lên trên để đón ánh sáng mặt trời cho quá trình quang hợp của tảo cộng sinh. Sau khoảng 2 tuần, trai tai tượng con trải qua quá trình biến thái để hoàn thiện các cơ quan bên trong như cơ quan hô hấp, tiêu hóa, lớp vỏ can xi dày và cứng lên nhằm bảo vệ cơ thể từ những bọn địch hại như: các loại cua, cá, ốc (Ellis, 1998).

Sau khoảng 12 tháng, con giống đạt kích thước trung bình khoảng 8-10 cm. Trong quá trình biến thái từ trôi nổi xuống đáy, lông mao và mô Velar mất dần và hình thành dần mối quan hệ cộng sinh với vi tảo Zooxanthelle. Tốc độ tăng trưởng biến đổi theo quy luật hình xichma. Đầu tiên, tốc độ sinh trưởng của trai tai tượng chậm, sau khoảng 1 năm, phát triển nhanh dần và lại chậm dần khi chuẩn bị đến giai đoạn thành thực sinh dục. Sau thời gian khoảng 3 năm, trai bắt đầu thành thực sinh dục và tiếp tục một chu kỳ mới (Braley, 1992; Hart và cộng tác viên, 1998).

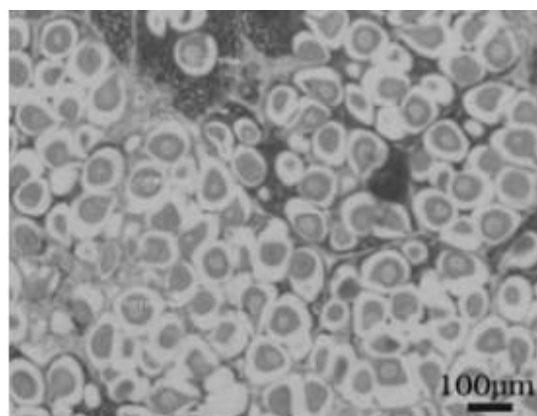
Đặc điểm sinh học quan trọng là sức sinh sản của trai tai tượng rất cao. Sức sinh sản tuyệt đối của trai tai tượng có thể dao động từ hàng triệu trứng đối với loài kích thước nhỏ như loài trai tai tượng nghệ đến hàng trăm triệu trứng đối với các loài kích thước lớn như loài trai tai tượng khổng lồ (Braley, 1992).

Theo Ellis (1998), Trai tai tượng sinh sản như quanh năm nhưng tập trung vào cuối đông đầu mùa hè, khi nhiệt độ nước tăng cao và toàn bộ vật chất đã chuyển hóa sang các sản phẩm sinh dục. Kích thước thành thực sinh dục lần đầu thay đổi tùy từng loài: Trai tai tượng vảy thì kích thước chiều dài là 20cm, trai tai tượng nhỏ là 15cm và loài trai tai tượng nghệ là 12 cm (Ellis, 1998). Tuy nhiên, Nguyễn Quang Hùng (2011) cho rằng đối với loài trai tai tượng nhỏ nhóm kích thước sinh sản lần đầu khoảng 14-16 cm (tương ứng khoảng 6-7⁺ tuổi), đối với loài trai tai tượng nghệ nhóm kích thước sinh sản lần đầu khoảng 9-11 cm (tương ứng 4-5⁺ tuổi) (Nguyễn Quang Hùng, 2011).

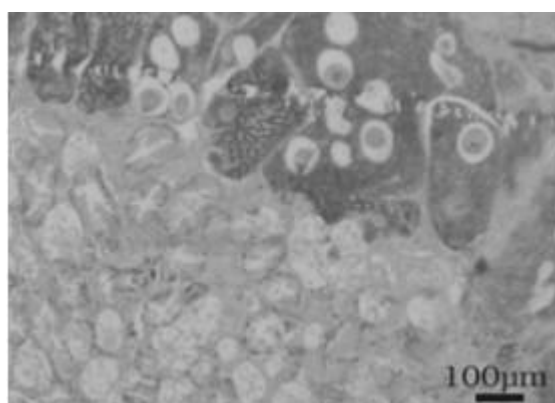
Khi nghiên cứu quá trình phát triển sinh dục của trai tai tượng, Nash và cộng tác viên (1988), Norton và Jones (1992), Đỗ Anh Duy và cộng tác viên (2012) cho rằng tuyến sinh dục của trai tai tượng được chia làm 5 giai đoạn: Giai đoạn I (còn gọi là giai đoạn tiền trưởng thành): đặc trưng giai đoạn này là chưa thấy xuất hiện mô tuyến sinh dục. Chiếm ưu thế trong tuyến sinh dục là liên kết và các cầu hạt. Giai đoạn II (Giai đoạn sớm của việc hình thành giao tử hay giai đoạn sinh trưởng): Các nang tuyến sinh dục còn trống rỗng và nằm dọc các noãn nguyên bào và tinh nguyên bào đang phát triển. Giai đoạn III (Giai đoạn giữa hay giai đoạn hình thành giao tử, giai đoạn phát triển): tuyến sinh dục cái có chứa các tế bào trứng còn nhỏ và có hình thon dài bắt đầu đầy dần lên trong ống các nang trứng. Các noãn bào đang trong giai đoạn phát triển đỉnh vào thành các nang trứng, có kích thước đầy đủ đường kính đạt 50-60 μ m. Tuyến sinh dục đực chứa các tinh bào dần dần chiếm ưu thế, có một lượng nhỏ tinh trùng trong các nang chứa tinh. Giai đoạn IV (Giai đoạn thành thực và sinh sản). Khi mới bước vào giai đoạn IV các tế bào trứng phần lớn ở dạng hình đa giác, một số có hình thon dài. Ở giữa giai đoạn IV, các tế bào trứng đều có dạng hình tròn hoặc elip và xếp xít lại với nhau trong buồng trứng. Đường kính của trứng đạt từ 90-110 μ m. Tinh hoàn phần lớn chứa nhiều tinh trùng thành thực. Kích thước đầu tinh trùng đạt khoảng 3 μ m. Cuối giai đoạn này thì tinh và trứng đã phóng thích ra ngoài. Giai đoạn V (Giai đoạn thoái hóa): Tuyến sinh dục cái: Hầu hết các nang trứng đều trống rỗng hoặc biến mất mặc dù có một vài trứng có thể vẫn còn chưa được giải phóng, thỉnh thoảng thấy sự có mặt của các noãn bào đang phát triển ở trong thành nang trứng. Tuyến sinh dục đực: Không có dấu hiệu của các tế bào giới tính đực hoặc tinh hoàn mặc dù vẫn còn một vài tinh trùng chưa được giải phóng (Hình 1.8).



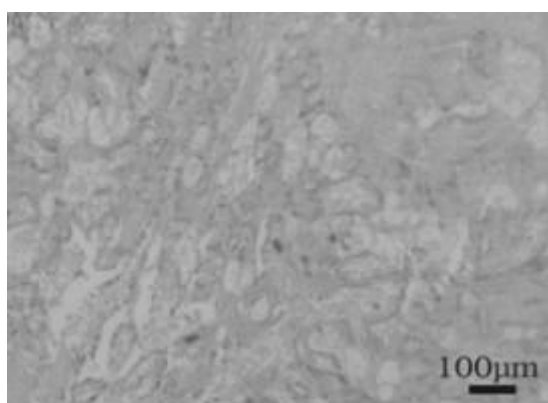
a. Tuyến sinh dục cái giai đoạn II



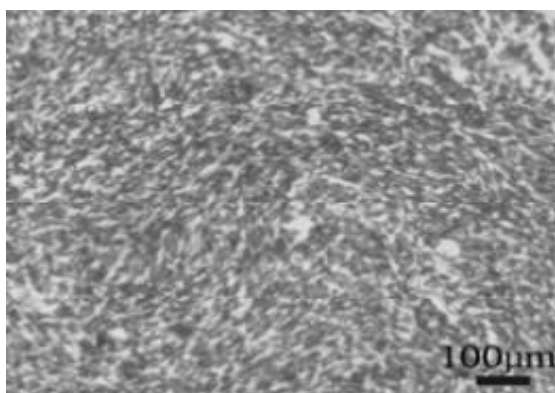
b. Tuyến sinh dục cái giai đoạn III



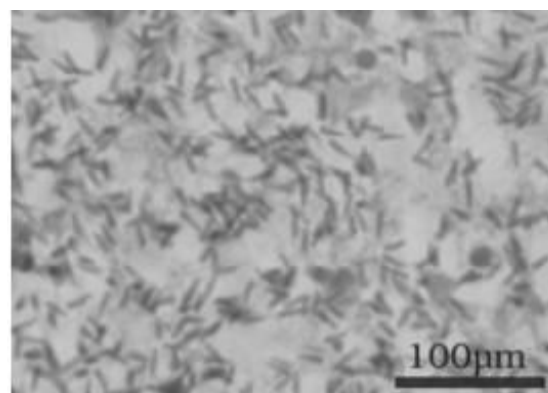
c. Tuyến sinh dục cái giai đoạn IV



d. Tuyến sinh dục cái giai đoạn V



e. Tuyến sinh dục đực giai đoạn II



f. Tuyến sinh dục đực giai đoạn III

Hình 1.8. Các giai đoạn phát triển tuyến sinh dục của trai tai tượng vảy

(Nguồn: Norton và Jones, 1992; Đỗ Anh Duy và cộng tác viên, 2012)

1.2. Tình hình nghiên cứu sản xuất giống trai tai tượng trên thế giới

Trong những năm gần đây, nguồn lợi trai tai tượng ngày càng bị suy giảm ở nhiều nơi trên thế giới, hình thức sản xuất giống trai tai tượng đã và đang được quan tâm phát triển ở một số nước thuộc vùng biển Ấn Độ-Thái Bình Dương. Kỹ thuật sản xuất giống và nuôi thương phẩm một số loài trai tai tượng thuộc họ Tridacnidae đã được ứng dụng và mô tả khá chi tiết trong các công trình nghiên cứu của Heslinga và cộng tác viên

(1990), Braley (1992), Calumpong (1992) và Ellis (1998). Theo các tác giả này, để tiến hành sinh sản nhân tạo, việc đầu tiên và quan trọng nhất là chọn địa điểm thích hợp để thiết kế trại sản xuất giống. Vị trí trại là nơi có nguồn nước biển trong sạch, thuận tiện cho việc triển khai các hoạt động sản xuất giống như điện nước, giao thông đi lại. Trai bố mẹ được nuôi vỗ thành thực ngoài biển và trong nhà đến khi tuyến sinh dục phát triển đến giai đoạn III thì tiến hành kích thích sinh sản. Kích thích sinh sản chủ yếu dùng phương pháp hóa chất. Trai bố mẹ được chọn cho sinh sản và sau đó được tiêm Serotonin với liều lượng 1ppm vào tuyến sinh dục. Quá trình phóng tinh và trứng xảy ra sau đó khoảng 1 giờ. Ương ấu trùng trôi nổi trong bể composite khoảng 1m³ với thức ăn là các loài vi tảo như *Chaetoceros* sp., *Isochrysis galbana*, *Tetraselmis* sp..... Có thể không dùng vi tảo làm thức ăn trong giai đoạn này, tuy nhiên tỷ lệ sống thấp hơn khi cho ăn. Việc bổ sung tảo cộng sinh cho ấu trùng trai được thực hiện từ ngày thứ 4 đến ngày thứ 14. Sau khi hình thành mối quan hệ cộng sinh giữa trai và tảo, ấu trùng được chuyển ra ương ở bể có ánh sáng để ương đến kích cỡ thích hợp thì chuyển ra nuôi lớn ngoài biển. Cho tới nay, hình thức nuôi phổ biến nhất vẫn là ương nuôi trai tai tượng trong các bể xi măng, đến khi trai đạt khoảng 5 tháng đến 1 năm tuổi thì mới chuyển ra môi trường biển để tiếp tục nuôi lớn (Tisdell và Menz, 1992). Bốn giai đoạn chính của quá trình sản xuất trai tai tượng vậy bao gồm: (1) Sinh sản nhân tạo, (2) ương giống trên nền đáy, (3) ương giống ngoài biển và (4) nuôi thương phẩm ngoài khơi.

Việc nghiên cứu quy trình công nghệ sản xuất giống để cung cấp con giống cho nuôi thương mại hay nuôi phục hồi diễn ra tại nhiều quốc gia trên thế giới như: Mỹ, Úc, Thái Lan, Indonesia, Malaysia, Singapore. Nguồn bố mẹ cho sinh sản nhân tạo được thu từ địa phương hay nhập từ nơi khác, điều này sẽ giúp tăng tính đa dạng di truyền của con giống (Ellis, 1998). Tuy nhiên, đa số hiện nay các trung tâm sản xuất giống đều khép kín vòng đời trong điều kiện nhân tạo, có khả năng dẫn đến hiện tượng thoái hóa giống cao.

Nuôi vỗ thành thực sinh dục có thể thực hiện trong bể xi măng rộng có diện tích mặt thoáng lớn, nguồn nước lọc sạch. Cũng có thể nuôi vỗ trai ngoài lồng bè sẽ tăng quá trình trao đổi nước và giúp trai thành thực tốt hơn. Mật độ nuôi vỗ thành thực tại Thái Lan vào khoảng 2 con/m², tỷ lệ thành thực sinh dục trung bình đạt 70% (Jintada, 2009, trao đổi cá nhân). Tại Úc, khi nuôi vỗ trai thì ngoài cung cấp hóa chất cho tảo cộng sinh phát triển thì bổ sung vi tảo biển cũng đóng vai trò quan trọng. Bể nuôi vỗ trai trên bờ thường được che lưới lan, giảm 50% ánh sáng tự nhiên, ánh sáng xuyên qua khoảng 5.000 lux (Braley, 1992; Ellis, 1998). Việc kích thích sinh sản rất đa dạng: các nước Mỹ,

Malaysia, dùng serotonin để tiêm vào tuyến sinh dục, trong khi Thái Lan dùng phương pháp kích thích khô, tạo dòng chảy. Khi trai đẻ, nếu trứng và tinh trùng được thu riêng biệt rồi cho thụ tinh thì tỷ lệ thụ tinh cao hơn khi trai đẻ và tự thụ tinh trong bể.

Khi nghiên cứu ảnh hưởng của nhiệt độ và độ mặn đến thụ tinh của trứng trai tai tượng vảy, Neo và cộng tác viên (2013) cho rằng nhiệt độ cao gây nên việc tăng cường tốc độ trao đổi chất ở phôi có thể dẫn đến sự cạn kiệt nhanh chóng nguồn năng lượng dự trữ vốn đã hạn chế và dẫn đến sự hình thành các phôi dị thường không thể phát triển thêm. Kết quả chỉ ra rằng sau 24 giờ ở 29,5°C, tỷ lệ nở ở độ mặn 27ppt và 30ppt lần lượt là 13,9% và 3,6%, so với 46,8% và 32,5% sau 24 giờ ở 22,5°C (Neo *et al.*, 2013). Chính vì tầm quan trọng của các yếu tố sinh thái trong giai đoạn đầu của quá trình sinh sản, nên Braley (1992) đề nghị nhiệt độ trong quá trình thụ tinh và ấp nở của trai tai tượng nên từ 25-30 °C.

Tại Úc, ương nuôi ấu trùng chữ D của trai tai tượng vảy trong bể hình chóp nón với thể tích từ 0,5-5 m³. Mật độ ấu trùng chữ D từ 3-10 con/mL, nhưng mật độ 3-4 con/mL có tốc độ sinh trưởng và tỷ lệ sống cao nhất. Thức ăn cho giai đoạn ấu trùng trôi nổi là các loài vi tảo có kích thước tế bào 5-10 µm và mật độ từ 5.000-15.000 tế bào/mL. Độ mặn thích hợp nhất cho ương ấu trùng trai là 30 ppt (Southgate, 1988). Đặc biệt khác với các đối tượng động vật thân mềm hai mảnh vỏ khác, trai tai tượng có phương thức sống cộng sinh với vi tảo. Theo Morishima (2019), ấu trùng cần thu nhận nguồn tảo cộng sinh từ bên ngoài và nguồn tảo cộng sinh này có thể từ phân trai bố mẹ và tảo này không tham gia vào quá trình tiêu hóa. Vì vậy, trong điều kiện sản xuất giống nhân tạo, việc bổ sung tảo cộng sinh vào giai đoạn ấu trùng là cần thiết để thiết lập mối quan hệ cộng sinh giữa trai và tảo. Theo Ambariyanto (2004) ấu trùng trai tai tượng vảy được gây tảo cộng sinh từ trước khi biến thái xuống đáy có sinh trưởng và tỷ lệ sống cao hơn ấu trùng được bổ sung tảo cộng sinh sau khi xuống đáy.

Một điểm khác biệt và có thể coi là sáng kiến là việc cấy tảo cộng sinh vào trai ở giai đoạn ấu trùng vì ấu trùng trai không nhận tảo cộng sinh từ bố mẹ mà phải thông qua quá trình lọc từ môi trường. Nếu như trước kia người ta dùng dao cắt màng áo của trai còn sống, dùng máy xay rời các tế bào tảo cộng sinh và cho ấu trùng trai ở giai đoạn 4-6 ngày tuổi ăn thì ngày nay tại một số nước như Thái Lan, người ta tiến hành thu thập tảo cộng sinh từ phân của trai lớn để cho ấu trùng ăn. Phương pháp này đơn giản hơn nhiều và không phải giết chết trai lớn. Hạn chế tại các trại giống ở Úc và một số nước Đông Nam Á là việc dùng cho thêm tảo cộng sinh và vi tảo vào bể ương ấu trùng và con

giống, làm cho tỷ lệ sống của trai giống rất thấp (1-10%). Những lý giải cho thấy những ấu trùng chết là những ấu trùng không tiếp nhận hiệu quả tảo cộng sinh trong quá trình trôi nổi (Southgate, trao đổi cá nhân).

Một số nghiên cứu cho rằng ấu trùng được cho ăn các loài tảo khác nhau và ấu trùng không được cho ăn vẫn có thể phát triển tới giai đoạn xuống đáy hình thành con non (Ambariyanto, 2004; Heslinga và cộng tác viên, 1990). Theo Ambariyanto (2004) việc cung cấp tảo khi ương ấu trùng trai tai tượng là không cần thiết, vì vậy giảm chi phí sản xuất. Cũng theo tác giả, ấu trùng trai tai tượng vậy khi cho ăn các loại tảo khác nhau thì tỷ lệ sống không có sự khác nhau nhưng ấu trùng ăn tảo *Chaetoceros sp.* thì có tỷ lệ sống cao hơn so với ăn các loài tảo khác (*Nannochloropsis sp.* và *Tetraselmis sp.*). Tuy nhiên theo Ellis (1997), ấu trùng được cho ăn từ ngày thứ 4 sau khi nở với tảo *Isochrysis galbana* và *Chaetoceros muelleri*, thức ăn tổng hợp Fripack và tảo đông cô *Tetraselmis* sẽ cải thiện tỷ lệ sống của ấu trùng. Mặc dù vậy, nhiều người nuôi vẫn không thêm thức ăn cho ấu trùng, điều này làm giảm tỷ lệ sống của ấu trùng rõ rệt. Báo cáo của Gwyther và Munro (1981) và Southgate (1988) cho rằng ấu trùng trai tai tượng không thể qua giai đoạn biến thái xuống đáy nếu không được cung cấp thức ăn.

1.3. Tình hình nghiên cứu sản xuất giống trai tai tượng tại Việt Nam

Bùi Lai (2009), đã thực hiện “Nghiên cứu nguồn lợi, đặc điểm sinh học, thử nghiệm sinh sản nhân tạo, đề xuất giải pháp bảo vệ, phát triển nguồn lợi Ốc vú nàng và Trai tai tượng tại Côn Đảo, Bà Rịa – Vũng Tàu”. Kết quả nghiên cứu bước đầu đã đánh giá được sơ bộ về nguồn lợi trai tai tượng vậy tại một số đảo nhỏ thuộc Vườn Quốc Gia Côn Đảo. Tại thời điểm nghiên cứu khảo sát, trai tai tượng vậy là đối tượng được đưa vào danh mục các loài sinh vật cần được bảo vệ và rất khó để tìm đối tượng này nếu không được chỉ dẫn. Trai tai tượng vậy sống trên các rạn san hô hoặc trên nền đáy cát ở độ sâu từ 5 đến 15 m. Trầm tích và tảo đáy ở đây khá dồi dào và là nguồn thức ăn cho động vật ăn lọc, trong đó có trai tai tượng. Các tác giả đã thu gom, 6 cá thể trai tai tượng vậy để theo dõi tốc độ tăng trưởng và cho thấy rằng hàng năm trai tăng 13,5% kích thước và 12,6% khối lượng. Ngoài ra, đề tài cũng đã tìm hiểu một số đặc điểm sinh học và vòng đời sinh sản của trai tai tượng làm cơ sở cho việc sản xuất giống nhân tạo và bảo tồn hai đối tượng này. Tuy nhiên, cho đến nay kết quả nghiên cứu của đề tài vẫn còn nhiều hạn chế, mới chỉ dừng ở qui mô thử nghiệm và chưa được áp dụng vào điều kiện thực tế.

Trước thực trạng nguồn lợi tự nhiên các loài trai tai tượng gần như cạn kiệt, Nguyễn Quang Hùng (2011) thực hiện đề tài cấp Bộ NN & PTNT “Nghiên cứu phục hồi và phát triển nguồn lợi trai tai tượng (họ Tridacnidae) ở biển Việt Nam” do Viện Nghiên cứu Hải sản chủ trì, Viện Nghiên cứu Nuôi trồng thủy sản III (Viện III) thực hiện đề tài nhánh về thử nghiệm sản xuất giống và đánh giá các hình thức nuôi phục hồi nguồn lợi trai tai tượng tại Nha Trang. Những công đoạn quan trọng nhất của kỹ thuật sản xuất đã được thực hiện: như kích thích cho đẻ, cách phân lập, lưu giữ và phân biệt tảo cộng sinh, cách cấy tảo cộng sinh vào ấu trùng trai và thời điểm thích hợp, cách ương con giống đến khi mang thả biển hay nuôi thương phẩm. Những thông số kỹ thuật đạt được trong quá trình nghiên cứu gồm: tỷ lệ đẻ 60%, tảo cộng sinh được phân lập từ phân và từ màng áo trai bố mẹ tỷ lệ tảo đạt yêu cầu cho ăn là 70% và được lưu giữ ở nhiệt độ 11 °C trong vòng một tháng, cấy tảo cộng sinh vào ấu trùng trai tai tượng 4 ngày tuổi, đạt tỷ lệ hình thành quan hệ cộng sinh là 75% và đạt tỷ lệ thành con giống là 40%.

Tại Việt Nam, nhóm nghiên cứu nghiên cứu bước đầu về sản xuất giống và thử nghiệm nuôi phục hồi nguồn lợi trai tai tượng tại Khánh Hòa. Kết quả là đề tài đã sản xuất được con giống với tỷ lệ sống từ khi xuống đáy đến con giống đạt 5%, thu được 134 con giống trai tai tượng vảy với kích thước chiều dài 1,5-2cm. Tuy nhiên kết quả này không ổn định và thiếu cơ sở khoa học cho các nghiên cứu tiếp theo. Những hạn chế dẫn đến kết quả thấp và thiếu ổn định được cho là kỹ thuật nuôi ấu trùng, cho xuống đáy chưa phù hợp, phương pháp ương con giống ngoài trời làm cho rong phát triển, ảnh hưởng đến sự sống của trai con. Ngoài ra, đề tài đã thử nghiệm nuôi phục hồi trai tai tượng vảy tại vịnh Nha Trang với con giống từ khai thác tự nhiên nên kết quả còn hạn chế. Nếu như nghiên cứu tiếp và con giống từ sinh sản nhân tạo với việc hạn chế những khó khăn này thì tỷ lệ sống sẽ cao hơn.

Từ trước đến nay, hầu như chưa có một công trình nghiên cứu nào về các cơ sở khoa học trong giai đoạn ấu trùng trôi nổi của trai tai tượng vảy ở Việt Nam, đặc biệt là nghiên cứu về dinh dưỡng của trai tai tượng vảy. Một số ít thông tin liên quan đến thành phần loài, phân bố nguồn lợi, đặc điểm sinh học sinh sản loài trai tai tượng vảy chủ yếu thu thập được từ các chương trình điều tra cơ bản về nguồn lợi động vật đáy nói chung. Các nghiên cứu về dinh dưỡng trên các đối tượng động vật thân mềm khác như hào, sò huyết, điệp, vẹm... cho thấy rằng thức ăn của động vật thân mềm hai mảnh vỏ thay đổi tùy theo giai đoạn phát triển của cơ thể. Thức ăn của ấu trùng là các loại tảo cỡ nhỏ như tảo *Isochrysis galbana*, *Nannochloropsis oculata*, *Chaetoceros sp.*,... giai đoạn trưởng thành thức ăn của chúng là sinh vật phù du và mùn bã hữu cơ.

Từ các công trình nghiên cứu ở trên (trong nước và thế giới), dinh dưỡng cũng như tảo cộng sinh trên trai tai tượng vảy ít được đề cập. Ngoài ra, trai tai tượng vảy nói riêng và trai tai tượng nói chung là những loài sinh vật quý hiếm, nguồn lợi đang bị cạn kiệt nghiêm trọng, nhiều đối tượng được đưa vào danh mục cần được bảo vệ. Do đó, để tiến tới xây dựng quy trình sản xuất giống trai tai tượng vảy thành công và bền vững thì nghiên cứu sử dụng các loài vi tảo làm thức ăn giai đoạn ấu trùng trôi nổi và tìm hiểu mối quan hệ cộng sinh giữa vi tảo quang hợp và ấu trùng trai đóng vai trò vô cùng quan trọng.

1.4. Tình hình nghiên cứu bệnh và dịch hại trên trai tai tượng

1.4.1. Dịch hại và động vật ăn thịt

Theo nhiều nghiên cứu thì mối đe dọa lớn nhất của trai tai tượng trong bể nuôi trên đất liền và nuôi giữ ngoài khơi là sự xâm nhập của ốc thuộc họ Ranellidae và Pyramidellidae ký sinh. Triệu chứng tùy thuộc vào mức độ và thời gian lây nhiễm bao gồm: tẩy trắng hoặc mất màu màng áo; Màng áo mở rộng không hoàn toàn; trai há hốc miệng, mô màng áo kéo căng; và chết (Ellis, 1998).

Giống *Cymatium* thuộc họ Ranellidae gồm nhiều loài là động vật ăn thịt phá hoại và khó kiểm soát nhất của trai tai tượng. Những cá thể ốc này xuất hiện phổ biến trong giai đoạn ấu trùng và bắt đầu bám. Ốc con xâm nhập vào cơ thể trai bằng cách bò qua lỗ tơ chân. Khi ở trong cơ thể trai, ốc thường ở giữa vỏ và màng áo (Perron và cộng tác viên, 1985) và phát triển nhanh chóng khi ốc ăn thịt trai. Một con ốc trưởng thành có thể tấn công hay tiêu diệt 10 con trai con mỗi tuần (Calumpong, 1992). Các loài trai có lỗ tơ chân lớn như trai tai tượng nhỏ, trai tai tượng nghệ và trai tai tượng trơn dễ bị tấn công bởi các loài thuộc giống ốc *Cymatium*. Loài có lỗ tơ chân nhỏ đặc biệt là trai tai tượng nghệ có thể chịu đựng được sự xâm nhập của ốc. Trong một nghiên cứu về sở thích ăn mồi cho thấy rằng con mồi ưa thích nhất của loài ốc *Cymatium pileare* là loài trai tai tượng nghệ. Khi trai bị nhiễm *Cymatium* sẽ há miệng và màng áo sẽ bắt đầu chảy xệ khỏi vỏ (Govan và cộng tác viên, 1993).

Các giống *Turbonilla*, *Pyrgiscus* và *Tathrella* thuộc họ ốc Pyramidellidae là những dịch hại xuất hiện ở cả đại dương và các trại giống cũng như nơi nuôi trai tai tượng. Ốc giống như một loại ký sinh trùng, có phạm vi phân bố rộng, có hình dạng dễ vỡ và chỉ phát triển tối đa 8 mm chiều dài. Tuy nhiên, khả năng sinh sản của ốc này cho phép chúng tạo ra mật độ rất cao trong một khoảng thời gian ngắn nếu không được xử lý. Calumpong (1992) báo cáo một quần thể ban đầu của ốc *Pyrgiscus* là 6 cá thể phát triển tăng lên 1.700 cá thể chỉ trong 6 tháng. Ốc phá hoại bằng cách sử dụng vòi để hút

chất lỏng từ lớp màng áo của trai. Ảnh hưởng của sự xâm nhập làm trai tăng trưởng chậm và sức khoẻ kém cho đến nhiễm trùng thứ phát và có khi tử vong. Tất cả các loài trai tai tượng đều dễ bị nhiễm ọc này. Trai con bị ảnh hưởng nhiều hơn bởi sự xâm nhập của những con ọc này vì khối lượng cơ thể của chúng nhỏ hơn. Tỷ lệ tử vong của trai con khi nhiễm ọc rất lớn, trong khi trai lớn hơn có thể chịu được mức độ xâm nhiễm cao và ít khi chết. Sự hiện diện của ọc trên mặt dưới của trai là dấu hiệu rõ ràng đầu tiên của sự nhiễm bệnh. Dấu hiệu khác của sự tấn công bao gồm vết phồng trên bề mặt bên trong của vỏ trai (Crawford và cộng tác viên, 1986; Calumpong, 1992; Heslinga và cộng tác viên, 1984).

1.4.2. Bệnh gây ra do biến động môi trường

Giống như tất cả các đối tượng động vật thủy sản, sự biến động tiêu cực các yếu tố môi trường có một mối quan hệ chặt chẽ với sự khởi phát của bệnh trên trai tai tượng nói chung và trai tai tượng vảy nói riêng. Các vi khuẩn, vi rút và các tác nhân khác gây ra bởi sinh vật có khả năng lây nhiễm tiềm ẩn thường xuyên có mặt trong nước biển. Trai sẽ chỉ bị bệnh khi bị căng thẳng đến mức khả năng miễn dịch tự nhiên đối với các tác nhân gây bệnh giảm. Ngoài ra, động vật trong điều kiện nuôi thâm canh có liên quan đến mật độ cao, chất lượng nước kém và ô nhiễm dễ khởi phát bệnh (Ellis, 1998).

Sự phai màu màng áo được cho là do sự biến động nhanh chóng điều kiện môi trường, đặc biệt là nhiệt độ và ánh sáng. Nhiệt độ cao gần với giới hạn chết sẽ khiến cho toàn bộ tảo cộng sinh bị loại bỏ khỏi màng áo trai. Tẩy trắng phần trung tâm của màng áo có xu hướng xảy ra khi trai tiếp xúc với ánh sáng UV cao hoặc những thay đổi đột ngột về cường độ ánh sáng như được lấy ra khỏi thùng vận chuyển dưới ánh sáng mặt trời hoặc được mang từ nơi nước sâu vào nơi nước cạn. Sự phai màu xảy ra có thể trên toàn bộ hay một phần của màng áo, tạo cho màng áo trai có màu trắng toàn bộ hay có xen kẽ một ít màu của những tế bào tảo cộng sinh còn sống. Quá trình này xảy ra ở tất cả các giai đoạn và tất cả các loài trai tai tượng nhưng ít khi xảy ra ở giai đoạn trai con vì khi trai còn non, nếu môi trường không thuận lợi thì chúng tử vong lập tức. Trai tai tượng nuôi tại Papua New Guinea khi bị hiện tượng phai màng áo ít khi gây chết nhưng hạn chế tốc độ tăng trưởng. Để hạn chế hiện tượng phai màng áo, các nhà nuôi trai tai tượng tại Úc khuyến cáo hạn chế sự thay đổi ánh sáng và nhiệt độ khi nuôi cũng như khi vận chuyển (Ellis, 2000).

1.4.3. Bệnh gây ra do bọt biển và tảo

Một số loại bọt biển và tảo có thể xâm nhập vào vỏ của trai từ đó làm yếu lớp vỏ và làm tăng sự nhạy cảm của trai với các bệnh nhiễm trùng khác. Bọt biển có thể được nhận ra bởi một loạt các lỗ có đường kính khoảng 1 mm với đầy các mô màu vàng, nâu hoặc cam. Khi bị nhiễm bởi tảo, trai có màu xanh bên dưới lớp màng áo (Braley, 1992; Knop, 1996; Ellis, 2000).

1.4.4. Bệnh vi khuẩn, động vật nguyên sinh, virus

Việc ghi nhận sự bùng phát dịch bệnh ở trai gây ra bởi vi khuẩn, động vật nguyên sinh và virus là rất ít. Điều này có thể do hạn chế trong khả năng chẩn đoán bệnh trên trai tai tượng nói riêng và động vật thân mềm nói chung khi diễn ra các đợt bùng phát dịch bệnh trong khu vực Thái Bình Dương. Đa số hiện tượng tử vong của trai tai tượng nói chung có thể liên quan tới động vật ăn thịt hoặc sốc liên quan đến chất lượng nước kém, mật độ trai cao hoặc quá tải (Ellis, 2000).

Tỷ lệ chết của trai tai tượng khổng lồ nuôi tại quần đảo Orpheus, phía bắc Queensland, Tongatapu, Tonga và Aitutaki, thuộc quần đảo Cook, New Zealand liên quan đến một loại vi khuẩn nội ký sinh trong mô của trai tai tượng giai đoạn con giống trong suốt mùa đông, khi trai tai tượng nhỏ hơn 6 tháng tuổi và chiều dài xấp xỉ 10 mm. Các tác giả đưa ra đề nghị nghiên cứu thêm và định danh loài vi khuẩn này (Norton và cộng tác viên, 1993).

Như vừa phân tích ở trên, trai tai tượng vảy là đối tượng quý hiếm, có tiềm năng lớn phát triển thành đối tượng nuôi mới do giá trị kinh tế cao và thị trường xuất khẩu rộng lớn. Hiện nay, nguồn lợi tự nhiên của đối tượng này đã bị cạn kiệt. Tuy nhiên, các nghiên cứu trai tai tượng vảy mới chỉ thực hiện về đặc điểm phân bố, đặc điểm sinh trưởng, nguồn lợi phục vụ công tác bảo tồn và thăm dò sản xuất giống nhân tạo. Vì vậy, ngoài việc đề ra những cơ chế chính sách nhằm khôi phục và phát triển nguồn lợi hợp lý, việc nghiên cứu sản xuất giống nhân tạo phục vụ cho hoạt động nuôi là việc làm mang tính cấp bách. Để phát triển một đối tượng thủy sản nào từ dạng tiềm năng khai thác tự nhiên sang nuôi một cách bền vững, việc nghiên cứu một cách toàn diện, có tính hệ thống các đặc điểm sinh học sinh sản cơ bản liên quan đến hoạt động sản xuất giống, các cơ sở khoa học từ việc nuôi vỗ thành thực sinh dục, kích thích sinh sản, ương nuôi ấu trùng, từ đó xây dựng các thông số kỹ thuật và quan trọng hơn là chủ động tạo ra con giống sinh sản nhân tạo cho nuôi, góp phần vào công cuộc phôi hồi phát triển nguồn gen quý hiếm, giúp cho các tổ chức xây dựng các mô hình nuôi phục hồi, các doanh nghiệp và người dân phát triển các mô hình sản xuất giống và nuôi thương mại trai tai tượng vảy.

CHƯƠNG 2: VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng, phạm vi, thời gian và địa điểm nghiên cứu

2.1.1. Đối tượng và phạm vi nghiên cứu

Tên khoa học: *Tridacna squamosa* Lamarck, 1819 (Hình 2.1)



Hình 2.1. Trai tai tượng vảy trưởng thành

(Nguồn: Phùng Bửu)

Tên tiếng Việt: trai tai tượng vảy.

Tên tiếng Anh: Flute Giant Clam, Scaly Giant Clam

Phạm vi nghiên cứu: Nghiên cứu một số đặc điểm sinh học sinh sản và sinh sản nhân tạo trai tai tượng vảy.

2.1.2. Thời gian nghiên cứu

Thời gian nghiên cứu một số đặc điểm sinh học sinh sản trai tai tượng vảy từ tháng 1 năm 2018 đến tháng 12 năm 2018

Thời gian nghiên cứu sinh sản nhân tạo trai tai tượng vảy từ tháng 01 năm 2018 đến tháng 2 năm 2021

2.1.3. Địa điểm nghiên cứu

Mẫu vật trai tai tượng vảy cho nghiên cứu đặc điểm sinh học sinh sản và sinh sản nhân tạo được thu trực tiếp từ người dân khai thác tự nhiên tại các vùng biển thuộc các tỉnh Quảng Ngãi (đảo Lý Sơn), Quảng Nam (đảo Cù Lao Chàm), Khánh Hòa (vịnh Nha Trang) và Bình Thuận (đảo Phú Quý).

Nghiên cứu phân tích một số đặc điểm sinh học sinh sản của trai tai tượng vảy được thực hiện tại Phòng thí nghiệm của Phòng Sinh học thực nghiệm, Phòng Công nghệ Sinh học và Vaccine thủy sản, Trung tâm Quan Trắc, cảnh báo môi trường và Phòng ngừa dịch Bệnh khu vực Miền Trung, Viện Nghiên cứu Nuôi trồng thủy sản III.

Các thí nghiệm nghiên cứu cơ sở khoa học trong sinh sản nhân tạo và nghiên cứu kỹ thuật sản xuất giống nhân tạo trai tai tượng vảy thực hiện tại Khu thực nghiệm giống Động vật thân mềm, Phòng Sinh học thực nghiệm, Viện Nghiên cứu Nuôi trồng thủy sản III.

Nghiên cứu về dịch hại và bệnh thực hiện tại Khu thực nghiệm giống Động vật thân mềm, Viện Nghiên cứu Nuôi trồng thủy sản III và Phòng Bệnh thuộc Viện Nuôi trồng thủy sản, Trường Đại học Nha Trang.

2.2. Nội dung nghiên cứu

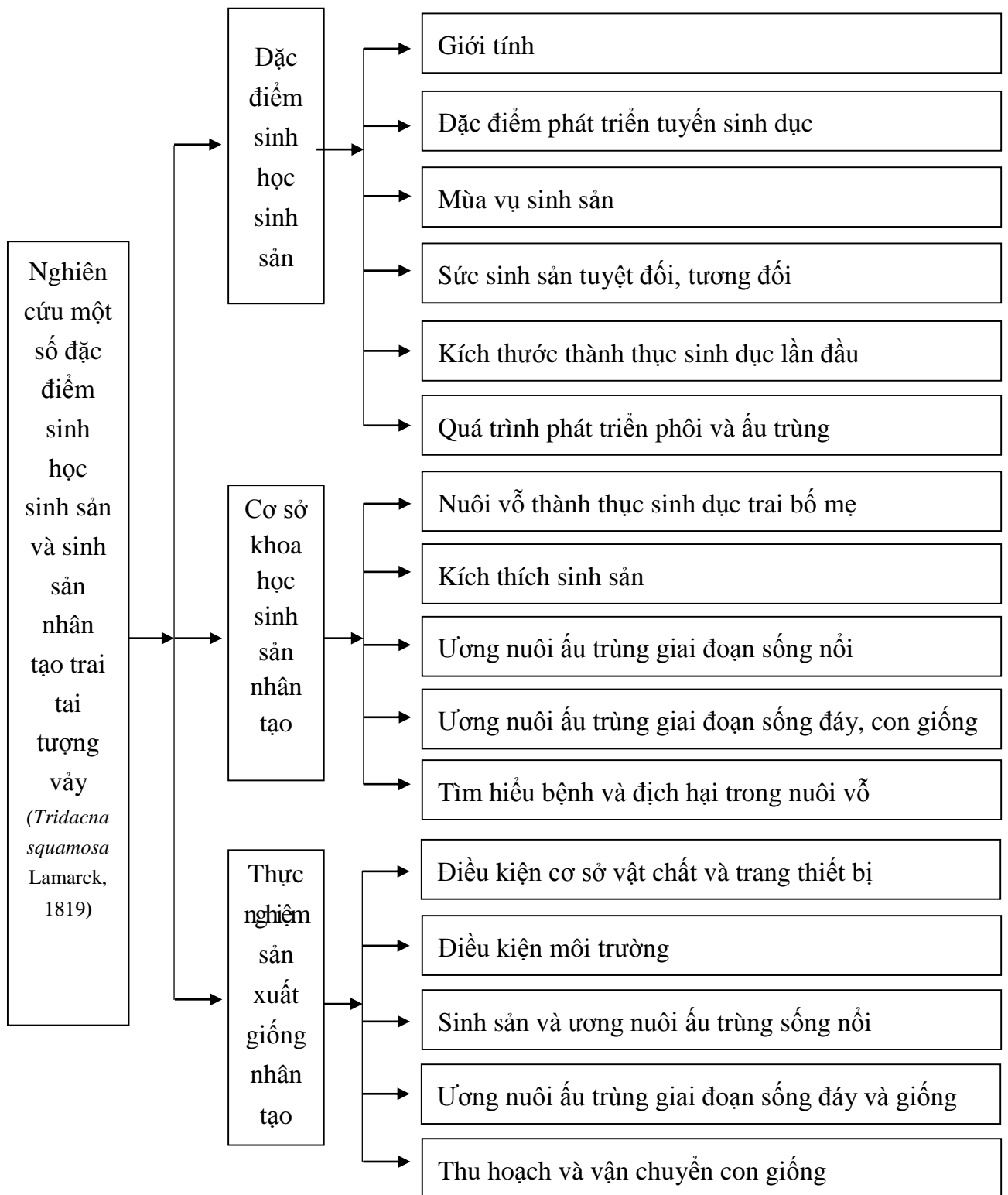
Luận án thực hiện 3 nội dung:

2.2.1. Nghiên cứu một số đặc điểm sinh học sinh sản trai tai tượng vảy

2.2.2. Nghiên cứu các cơ sở khoa học sinh sản nhân tạo trai tai tượng vảy

2.2.3. Thực nghiệm sản xuất giống trai tai tượng vảy

Toàn bộ nội dung nghiên cứu của luận án được thể hiện qua sơ đồ khối sau:



Hình 2.2. Sơ đồ khối nội dung nghiên cứu

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Nghiên cứu đặc điểm sinh học sinh sản

2.3.1.1. Phương pháp thu mẫu

Trai tai tượng sống dùng cho nghiên cứu đặc điểm sinh học sinh sản được thu ngẫu nhiên tại các vùng biển, đảo Lý Sơn thuộc tỉnh Quảng Ngãi, đảo Cù Lao Chàm thuộc tỉnh Quảng Nam, vịnh Nha Trang thuộc tỉnh Khánh Hòa và đảo Phú Quý thuộc tỉnh Bình Thuận. Sau đó, trai được vận chuyển bằng phương pháp kín, khô và ẩm về phòng thí nghiệm của Viện Nghiên cứu Nuôi trồng thủy sản III, số 02 đường Đặng Tất, phường Vĩnh Hải, thành phố Nha Trang, tỉnh Khánh Hòa. Trước khi vận chuyển, trai được kiểm tra còn sống, vỏ không bị dập vỡ, màng áo nguyên vẹn và còn dính sát vào vỏ. Thùng xốp có kích thước 40 x 60 x 40 cm được chứa khoảng 10 con trai có kích thước chiều dài 10-35 cm/con. Thùng xốp được đậy kín và có cho đá đảm bảo nhiệt độ trong thùng 22-25 °C. Trai bố mẹ được đặt nằm nghiêng một bên và xếp thành từng lớp, giữa hai lớp có một lớp vải thấm nước mặn. Thời gian vận chuyển tối đa là 10 giờ. Số lượng mẫu thu: 32 con/tháng, mỗi điểm thu 8 con trai. Mẫu được thu liên tục trong vòng 12 tháng từ tháng 1/2018 tới tháng 12/2018.

2.3.1.2. Phương pháp phân tích mẫu:

Mẫu trai tai tượng vẩy sau khi thu về cho nghiên cứu đặc điểm sinh học sinh sản được vệ sinh sạch sẽ bên ngoài bằng bàn chải và dao để loại bỏ sinh vật bám. Mỗi cá thể trai tai tượng vẩy được xác định chỉ tiêu hình thái: khối lượng toàn thân (Wtt) và khối lượng thân mềm (Wtm) (được xác định bằng cân đồng hồ (độ chính xác $\pm 0,10g$), chiều dài, chiều cao được đo bằng thước kẹp có chia độ Palme (độ chính xác $\pm 0,10$ cm). Phần thân mềm được xác định qua giải phẫu, thấm khô và cân phần thân mềm. Buồng trứng và tinh sào được phân tích mô học. Tiêu bản buồng trứng và tinh sào được thực hiện theo thứ tự sau: Tuyến sinh dục được cố định bằng dung dịch Formalin 10% và chuyển sang dung dịch Borin trong 24 giờ. Sau đó, tuyến sinh dục được khử nước, cắt theo kích thước khác nhau ngâm trong cồn 70⁰ và 90⁰ ở các thời gian khác nhau. Tắm dung môi bằng Xylen hoặc Toluen theo các tỷ lệ nồng độ khác nhau. Tiếp đến, tắm parafin, sau đó đúc khuôn tiêu bản. Tiêu bản được cắt bằng máy cắt microtome, độ dày lát cắt từ 4-6 μ m. Tiêu bản được nhuộm qua hemacylin, eosin. Tiêu bản bản tuyến sinh dục được xem trên kính hiển vi chụp hình qua kính hiển vi có độ phóng đại 40-400 lần (Nash và cộng tác viên (1988), Norton và Jones (1992)).

2.3.1.3. Giới tính

Giới tính của trai tai tượng vảy được phân biệt bằng cách xem mẫu tuyến sinh dục trên kính hiển vi, có thể phân biệt giới tính thông qua xem trứng và tinh. Các cá thể lưỡng tính được nhận dạng thông qua việc quan sát trên kính hiển vi mẫu có cả tinh và trứng. Tỷ lệ giới tính của trai tai tượng vảy được xác định dựa vào tỷ lệ số lượng cá thể đực, cá thể cái và cá thể lưỡng tính xác định được qua các tháng thu mẫu trên tổng số các mẫu thu hàng tháng. Công thức tính tỷ lệ giới tính:

$$c(\%) = \frac{a}{t} \times 100 \quad (2.1)$$

$$d(\%) = \frac{b}{t} \times 100 \quad (2.2)$$

$$l(\%) = \frac{e}{t} \times 100 \quad (2.3)$$

Trong đó: c (%) là tỷ lệ cái
d (%) là tỷ lệ đực
l (%) là tỷ lệ lưỡng tính
a (con) là số cá thể cái
b (con) là số cá thể đực
e (con) là số cá thể lưỡng tính
t (con) là tổng số mẫu

2.3.1.4. Đặc điểm phát triển tuyến sinh dục

Giới tính của trai tai tượng vảy được xác định bằng phương pháp giải phẫu và quan sát sản phẩm sinh dục trên kính hiển vi quang học Olympus BX41 (Nhật Bản) ở độ phân giải 400 X. Thu mẫu tươi sản phẩm sinh dục của trai, phết lên lam kính và nhỏ nước muối sinh lý lên mẫu, đặt lam kính và quan sát trên kính hiển vi để xác định giới tính đực cái tương ứng với sản phẩm sinh dục là tinh trùng hoặc trứng.

Các giai đoạn phát triển tuyến sinh dục của trai được xác định dựa vào phương pháp tiêu bản mô học theo phương pháp của Sheekan và Hrapchack (1980). Phương pháp được tóm tắt như sau: mẫu cơ quan sinh dục trai được cố định bằng formol 10%, loại nước

bằng Ethanol và làm trong bằng Xilen. Đúc mẫu parafin và cắt lát mỏng từ 3 – 6 μm . Sau đó nhuộm mẫu bằng Hematoxin và Eosin. Cuối cùng là làm trong mẫu bằng dung dịch Xilen I, II. Mẫu tiêu bản được để khô và dán keo đậy lamên, ghi nhãn trước khi quan sát. Thu 30 mẫu ở mỗi giai đoạn tương ứng để xác định các giai đoạn phát triển tuyến sinh dục. Quan sát tiêu bản và chụp hình bằng kính hiển vi. Xác định các giai đoạn phát triển tuyến sinh dục của trai tai tượng vảy theo thang 5 bậc (Quayle và Newkirk, 1989; Huỳnh Minh Sang và cộng tác viên, 2022).

Mẫu tươi tuyến sinh dục của trai cũng được quan sát trực tiếp trên kính hiển vi để xác định giai đoạn phát triển (tương tự phương pháp xác định giới tính của trai).

2.3.1.5. Mùa vụ sinh sản

Mùa vụ sinh sản của trai được xác định dựa trên số mẫu trai phân tích hàng tháng và được tính là tỷ lệ % của các cá thể thành thực sinh dục và đang tham gia sinh sản trên tổng số mẫu phân tích. Các tháng có từ 50 % số cá thể thành thực và đang tham gia sinh sản (giai đoạn III, IV và V) được xem là mùa vụ sinh sản chính của trai.

2.3.1.6. Sức sinh sản tuyệt đối, tương đối

Sức sinh sản tuyệt đối và tương đối của trai tai tượng vảy được xác định theo phương pháp thể tích. Đầu tiên cân toàn bộ khối lượng của trai. Sau đó, giải phẫu trai, dùng bông thấm khô nước phần thân mềm và cân toàn bộ khối lượng phần thân mềm của trai. Hòa tan toàn bộ buồng trứng trong nước biển sạch và đếm số lượng noãn bào thành thực bằng buồng đếm động vật phù du Sedgewick rafter. Sức sinh sản được tính theo kích thước, mỗi kích thước là 5 tuyến sinh dục cái ở giai đoạn III, IV.

Sức sinh sản tuyệt đối (Fa) của trai được xác định là tổng số noãn bào thành thực có trong thể tích nước. Sức sinh sản tương đối: là tỉ số giữa sức sinh sản tuyệt đối với khối lượng toàn thân hoặc với khối lượng thân mềm. Công thức tính như sau:

$$Frg1 = \frac{Fa}{W_{tt}} \quad (2.4)$$

$$Frg2 = \frac{Fa}{W_{tm}} \quad (2.5)$$

với Fa là sức sinh sản tuyệt đối (trứng/cá thể)

$Frg1$ là sức sinh sản tương đối 1 (trứng/g khối lượng toàn thân)

Frg2 là sức sinh sản tương đối 2 (trứng/g khối lượng thân mềm)

Wtt là khối lượng toàn thân (g)

Wtm là khối lượng thân mềm thấm khô (g)

Sức sinh sản thực tế được xác định bằng tổng số lượng trứng thu được của một cá thể trai cái trong một lần sinh sản. Sức sinh sản hữu hiệu được xác định bằng tổng số ấu trùng chữ D khỏe mạnh được hình thành của một cá thể trai cái trong một lần sinh sản. Hai chỉ tiêu sức sinh sản này nhằm mục đích phục vụ cho thực nghiệm sản xuất giống

2.3.1.7. Kích thước thành thực sinh dục lần đầu

Kích thước chiều dài thành thực sinh dục lần đầu (Lm) của trai tai tượng vảy được xác định theo phương pháp của King (2001) và Huynh Minh Sang và cộng tác viên (2019) và được tiến hành vào mùa vụ sinh sản. Các cá thể trai tai tượng dùng cho nghiên cứu được chia thành 5 nhóm kích thước: 11-15 cm; 16-20; 21-25; 26-30, 31-35cm) với khoảng cách kích thước trong mỗi nhóm là 4cm. Kích thước thành thực lần đầu là nhóm kích thước nhỏ nhất ở đó có ít nhất 50% cá thể có tuyến sinh dục thành thực ở giai đoạn III và IV, được tính theo công thức sau: $\ln[(1-P)/P] = aL + b$. Trong đó P là quy đổi của tỷ lệ cá thể cái thành thực ở các nhóm kích thước (L) khác nhau, a và b là hệ số của hàm bậc 1. Mỗi quan hệ tuyến tính giữa nhóm kích thước và $\ln \{(1-P)/P\}$ được xác định và Lm được tính toán ở mức $P=0,5$ (50%).

2.3.1.8. Quá trình phát triển phôi và ấu trùng

Trai tai tượng vảy bố mẹ được nuôi vỗ và kích thích sinh sản để theo dõi quá trình phát triển phôi và ấu trùng. Khi trai đẻ xong dùng lưới có kích thước mắt lưới 60 μm để lọc trứng và lưới có kích thước mắt lưới 150 μm để loại bỏ chất vẩn. Trứng lọc sạch cho vào bể hình phễu 100 L với mật độ 10 trứng/mL, sục khí nhẹ để theo dõi quá trình phát triển phôi và ấu trùng. Trong quá trình ấp và ương, sục khí nhẹ, khi ấu trùng chữ D xuất hiện, dùng lưới lọc 60 μm để lọc ấu trùng và lưới lọc 200 μm loại bỏ chất bẩn, sau đó cho ấu trùng vào bể nước mới để tiếp tục ương với mật độ 5 ấu trùng/mL.

Quản lý và chăm sóc: thay nước 100 % hai ngày một lần. Cho ăn 2 lần/ngày vào 8h sáng và 14 giờ chiều với mật độ tảo 15.000 tb/mL. Thức ăn là hỗn hợp các loài vi tảo như *Nannochloropsis oculata*, *Isochrysis galbana*, *Chaetoceros muelleri* với tỉ lệ 1:1:1 về mật độ tảo.

Thu mẫu và quan sát trên kính hiển vi để xác định các giai đoạn phát triển, thời gian chuyển giai đoạn và đặc điểm của từng giai đoạn từ khi trứng thụ tinh, phân cắt trứng, các giai đoạn phát triển phôi và ấu trùng.

Thời gian chuyển giữa các giai đoạn phát triển phôi và ấu trùng được xác định tại thời điểm có 50% tổng số phôi/ấu trùng ở giai đoạn trước chuyển sang giai đoạn kế tiếp.

2.3.2. Nghiên cứu cơ sở khoa học sinh sản nhân tạo

2.3.2.1. Nuôi vỗ thành thực sinh dục trai bố mẹ

Thí nghiệm 1 (TN1): Nghiên cứu ảnh hưởng của cường độ ánh sáng đến tỷ lệ sống, chỉ số độ béo và tỷ lệ thành thực sinh dục của trai nuôi vỗ

- Vật liệu thí nghiệm:

Trai tai tượng vẩy bố mẹ có các đặc điểm: vỏ nguyên vẹn, phản xạ đóng mở vỏ linh hoạt, kích thước chiều dài ≥ 20 cm, khối lượng 2-4 kg/con được tuyển chọn cho thí nghiệm nuôi vỗ thành thực sinh dục. Trai bố mẹ trước khi đưa vào thí nghiệm có tuyến sinh dục ở giai đoạn II.

- Bố trí thí nghiệm:

Thí nghiệm được bố trí thành 3 nghiệm thức (NT) cường độ ánh sáng khác nhau: NT1: cường độ ánh sáng 2.000 lux; NT2: cường độ ánh sáng 4.000 lux; NT3: cường độ ánh sáng 6.000 lux. Mật độ trai bố mẹ nuôi thí nghiệm là 2 con/m² diện tích đáy. Thí nghiệm được lặp lại 6 lần. Tất cả các yếu tố trong thí nghiệm như nhiệt độ, độ mặn, pH, chế độ chăm sóc quản lý giống nhau ở tất cả các nghiệm thức thí nghiệm.

- Điều kiện và chăm sóc thí nghiệm

Thí nghiệm được bố trí ngẫu nhiên trong các bể composite hình vuông, thể tích 4.000 lít/bể, diện tích đáy là 4 m², độ sâu là 1 m, bể đặt ngoài trời có che lưới lan. Bể, dây khí, đá bọt, thau, xô ca liên quan đến thí nghiệm được vệ sinh sạch bằng formalin 15 ppm, sau đó rửa lại bằng xà phòng và nước ngọt. Bể được phơi 1 – 2 ngày cho hết mùi formalin, rửa lại bằng nước ngọt trước khi sử dụng. Nguồn nước thí nghiệm nuôi vỗ được bơm cách bờ 200m và được lọc qua túi lọc vải có kích thước lỗ 100 μ m trước khi cấp vào bể nuôi. Điều kiện môi trường của nguồn nước được kiểm tra và điều chỉnh phù hợp với sinh trưởng và phát triển của trai: độ mặn 30 – 33 ppt, nhiệt độ 27 – 30 °C, pH 7,5 – 8,5. Mỗi bể thí nghiệm được bố trí 01 vòi sục khí, chế độ sục khí mạnh, liên tục trong suốt thời gian thí nghiệm.

Hàng ngày theo dõi các yếu tố môi trường của thí nghiệm: nhiệt độ, độ mặn, pH được đo 2 lần/ngày vào lúc 8 giờ sáng và 14 giờ chiều. Thay nước 30%/ngày và có bổ sung hai loại hóa chất hỗ trợ quá trình quang hợp của vi tảo cộng sinh 3 ppm KNO₃, 1ppm KH₂PO₄. Sau một tuần tiến hành vệ sinh toàn bộ bể và cấp nước mới 100 %. Thời gian thí nghiệm là 45 ngày.

Trai đã thành thực sinh dục là trai có cơ quan sinh dục đang phát triển ở giai đoạn III và IV. Khi trai còn sống và hở miệng to, bằng mắt thường có thể nhận biết được tuyến sinh dục của trai phát triển bao trùm lên phần nội tạng. Khi lấy mẫu xem dưới kính hiển vi, sản phẩm sinh dục của trai cái khi thành thực là trứng có hình tròn, kích thước đều nhau; sản phẩm sinh dục của trai đực là tinh trùng vận động linh hoạt.

Kết thúc thí nghiệm, xác định tỷ lệ sống, chỉ số độ béo, tỷ lệ thành thực sinh dục của trai.

2.3.2.2. Kích thích sinh sản

Thí nghiệm 2 (TN2): Nghiên cứu ảnh hưởng các phương pháp kích thích khác nhau đến thời gian hiệu ứng kích thích, tỷ lệ đẻ, thụ tinh, nở và sức sinh sản hữu hiệu của trai tại tượng vẩy

- Vật liệu thí nghiệm

Nguồn gốc trai bố mẹ cho thí nghiệm kích thích sinh sản từ thí nghiệm 1 khi tuyến sinh dục ở giai đoạn IV.

- Bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm được bố trí ngẫu nhiên thành 4 nghiệm thức (NT) tương ứng với 4 phương pháp kích thích sinh sản khác nhau thường dùng để kích thích sinh sản các đối tượng động vật thân mềm hai mảnh vỏ. Số lượng trai bố mẹ cho mỗi nghiệm thức kích thích sinh sản là 10 con. Mỗi nghiệm thức được lặp lại 6 lần.

+ NT1: Trai bố mẹ được phơi khô trong bóng râm 30 phút (nhiệt độ và cường độ ánh sáng lần lượt là 30 °C và 300 lux). Sau đó, trai được cho vào bể chứa nước biển lọc sạch ở nhiệt độ môi trường tại thời điểm kích thích (28 °C), độ mặn 32 ppt. Bể được tạo dòng chảy với lưu tốc khoảng 3 m³/h trong thời gian 30 phút.

+ NT2: Trai bố mẹ được phơi khô trong bóng râm 30 phút (nhiệt độ và cường độ ánh sáng lần lượt là 30 °C và 300 lux). Sau đó, trai được cho vào bể chứa nước biển lọc sạch ở nhiệt độ môi trường tại thời điểm kích thích (28 °C). Sục khí mạnh và dùng nước ngọt để hạ độ mặn 1 giờ hạ 2 ppt đến khi độ mặn đạt 20 ppt thì dừng lại. Bể được tạo dòng chảy với lưu tốc dòng chảy khoảng 3 m³/h trong thời gian 30 phút. Khi trai đẻ thì dùng nước biển lọc sạch để thuận về độ mặn ban đầu.

+ NT 3: Trai bố mẹ được cho vào bể kích thích với nước biển lọc sạch và ở độ mặn 32 ppt ở nhiệt độ 28 °C. Nhiệt độ nước được điều chỉnh nâng và hạ lần lượt là 31-21 °C bằng que nâng nhiệt có chia độ và tạo dòng chảy với lưu tốc dòng chảy khoảng 3 m³/h trong thời gian 30 phút.

+ NT 4: Trai bố mẹ được cho vào bể kích thích với nước biển lọc sạch và ở độ mặn 32 ppt ở nhiệt độ 28 °C. pH của nước trong bể kích thích được nâng từ 8 lên 9 bằng dung dịch NH₄OH) nồng độ 1%. Ngâm trai trong dung dịch này 10 phút, sau đó nước được sục khí mạnh tạo dòng chảy trong 30 phút.

- Điều kiện thí nghiệm

Trai bố mẹ trước khi dùng cho thí nghiệm kích thích sinh sản được vệ sinh sạch sẽ bằng bàn chải và nước ngọt. Dùng dao cạo những sinh vật bám xung quanh vỏ. Bể thí nghiệm kích thích sinh sản có dạng hình trụ tròn đứng, đáy bằng và đường kính đáy là 1m, chiều cao bể 0,5 m. Bể được đặt trong nhà nơi không có người qua lại trong suốt thời gian thí nghiệm, có mái che. Các dụng cụ phụ trợ thí nghiệm như rổ, dây khí, đá bọt, đá sứ, bể được vệ sinh sạch sẽ bằng dung dịch chlorine 30ppm và rửa lại bằng nước ngọt, để khô ráo. Nguồn nước biển cho thí nghiệm được qua lọc thô, tinh và cục lọc có kích thước lỗ 1µm. Các yếu tố môi trường được kiểm tra bằng các dụng cụ chuyên dùng và được ổn định trong suốt thời gian thí nghiệm: độ mặn 32 ppt, pH 8,00, nhiệt độ thay đổi tùy từng nghiệm thức.

- Chỉ tiêu đánh giá

Các chỉ tiêu đánh giá: thời gian hiệu ứng là thời gian trai bố mẹ phản ứng với tác nhân kích thích: trai khép mở vỏ mạnh và liên tục, ống thoát hút nước co bóp mạnh liên tục, tỷ lệ đẻ, tỷ lệ thụ tinh, tỷ lệ nở, sức sinh sản hữu hiệu.

+ Tỷ lệ đẻ (%) = số cá thể tham gia sinh sản/ tổng số cá thể

+ Tỷ lệ thụ tinh (%) = tổng số trứng phát triển thành phôi/ tổng số trứng đẻ ra x 100

+ Tỷ lệ nở (%) = tổng số trứng phát triển thành ấu trùng quay/ tổng số trứng đã thụ tinh x 100.

+ Sức sinh sản hữu hiệu được xác định bằng tổng số ấu trùng cỡ D khỏe mạnh được hình thành của một cá thể trai cái trong một lần sinh sản.

Thí nghiệm 3 (TN3): Nghiên cứu ảnh hưởng của nhiệt độ đến tỷ lệ thụ tinh, nở và sức sinh sản hữu hiệu của trứng trai tai tượng vảy (25,27,29 °C)

- Vật liệu thí nghiệm

Trứng và tinh của trai tai tượng vảy được thu độc lập từ phương pháp kích thích sinh sản phơi khô tạo dòng chảy. Dùng kính hiển vi có độ phóng đại 400 X để phân biệt trứng và tinh để thu riêng biệt vào trong xô nhựa có thể tích tương ứng 20 l, 5 l.

- Bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm được bố trí ngẫu nhiên thành 3 nghiệm thức (NT) tương ứng với 3 thang nhiệt độ khác nhau: 25; 27; 29 °C. Nước biển lọc sạch trước khi thí nghiệm được

cho vào các bể thí nghiệm 100 L, sục khí nhẹ liên tục. Dùng đá lạnh bỏ vào túi nylon và que nâng nhiệt (Heater) để điều chỉnh và giữ nhiệt độ ổn định ở các nghiệm thức trong suốt thời gian thí nghiệm. Trứng và tinh trùng được cho vào các nghiệm thức thí nghiệm đảm bảo 1 trứng có khoảng 10 tinh trùng bao quanh. Mật độ trứng cho thí nghiệm là 10 trứng/mL. Mỗi nghiệm thức được lặp lại 4 lần. Tỷ lệ thụ tinh được tính là phần trăm của tổng số trứng đã xuất hiện cực cầu thứ nhất chia cho tổng số trứng ban đầu thí nghiệm. Tỷ lệ nở được tính là phần trăm của tổng số ấu trùng chữ D chia cho tổng số trứng thụ tinh.

- Điều kiện thí nghiệm

Trứng trai trước khi dùng cho thí nghiệm được rửa sạch bằng nước biển lọc sạch. Dụng cụ rửa trứng là vợt có kích thước mắt lưới 60 μm và trứng được rửa bằng nước biển lọc sạch. Bể thí nghiệm thụ tinh bằng composite có dạng hình trụ tròn đứng, đường kính 30cm, chiều cao 70 cm, thể tích bể là 100 L. Bể được đặt trong nhà có mái che. Các dụng cụ phụ trợ thí nghiệm như xô 20 L chứa trứng, xô 5 L chứa tinh, dây khí, đá bọt, đá sỏi, bể thí nghiệm được vệ sinh sạch sẽ bằng dung dịch chlorine 30 ppm và rửa lại bằng nước ngọt, để khô ráo trước khi sử dụng. Nguồn nước biển cho thí nghiệm được qua lọc thô, tinh và cục lọc có kích thước lỗ 1 μm . Các yếu tố môi trường được kiểm tra bằng các dụng cụ chuyên dùng và được ổn định trong suốt thời gian thí nghiệm: độ mặn 32 ppt, pH 8,00, nhiệt độ thay đổi tùy từng nghiệm thức.

- Chỉ tiêu đánh giá

Các chỉ tiêu đánh giá: tỷ lệ thụ tinh, tỷ lệ nở, và sức sinh sản hữu hiệu

2.3.2.3. Ương nuôi ấu trùng giai đoạn sống nổi

Thí nghiệm 4 (TN4): Nghiên cứu ảnh hưởng của độ mặn đến tăng trưởng và tỷ lệ sống ấu trùng trai tại tương vảy (24,27,30,33 ppt).

- Vật liệu thí nghiệm

Ấu trùng sử dụng cho thí nghiệm là ấu trùng giai đoạn chữ D một ngày tuổi được cho đẻ bằng phương pháp kích thích khô kết hợp dòng chảy từ nguồn trai nuôi vỗ tại Viện Nghiên cứu Nuôi trồng thủy sản III. Mật độ: 5 ấu trùng/mL.

- Bố trí thí nghiệm:

Thí nghiệm bố trí gồm 4 nghiệm thức tương ứng với 4 thang độ mặn là: NT1 độ mặn 24 ppt, NT2 độ mặn 27 ppt, NT3 độ mặn 30 ppt và NT4 độ mặn 33 ppt. Sử dụng nước máy sinh hoạt đã hết chlorine và muối để điều chỉnh độ mặn các nghiệm thức tương ứng. Độ mặn ban đầu của các thí nghiệm là 31-32 ppt, đối với các nghiệm thức còn lại, tiến hành điều chỉnh độ mặn từ từ để ấu trùng quen với sự thay đổi, cứ mỗi 30 phút tăng hoặc hạ độ mặn xuống 1 ppt đến khi đạt được các mức độ mặn tương ứng với

các nghiệm thức thí nghiệm. Trước khi thay nước, pha nước về độ mặn tương ứng với độ mặn của nghiệm thức thí nghiệm. Công thức pha nước được trình bày ở mục công thức tính toán.

Mỗi nghiệm thức được lặp lại 6 lần, thời gian thí nghiệm là 8 ngày. Định kỳ 2 ngày/lần, thu ngẫu nhiên 30 mẫu/lô thí nghiệm để xác định các chỉ tiêu: tốc độ tăng trưởng bình quân ngày về chiều dài (ADG, $\mu\text{m}/\text{ngày}$), tốc độ tăng trưởng đặc trưng về chiều dài (SGR $\%/\text{ngày}$) và tỷ lệ sống (%) của ấu trùng.

- Điều kiện thí nghiệm

Thí nghiệm được bố trí trong những bể composite hình trụ tròn màu xanh thể tích 100 lít được đặt trong nhà có mái che. Cách vệ sinh bể và dụng cụ thí nghiệm, chuẩn bị và điều kiện nguồn nước thí nghiệm tương tự TN3 và TN4.

Hàng ngày theo dõi các yếu tố môi trường của thí nghiệm. Ấu trùng được cho ăn một lần/ngày vào lúc 8h00, thức ăn là các loài vi tảo: *Nannochloropsis oculata*, *Chaetoceros muelleri*, *Isochrysis galbana*, tỷ lệ 1:1:1 theo mật độ tảo, mật độ tảo cho ăn 15.000 tb/mL. Thay nước 100% sau 2 ngày nuôi kết hợp với kiểm tra ấu trùng, đo kích thước, độ no đói, khả năng vận động, bắt mồi của ấu trùng. Tảo cộng sinh Zooxanthelle (*Symbiodinium microadriaticum*) được lấy từ màng áo của trai, xay nhỏ và đếm mật độ khi cho ăn ở mật độ 5.000 tb/mL. Tảo cộng sinh được cấp vào bể nuôi ấu trùng từ ấu trùng chữ D 4 ngày tuổi trở đi, cho ăn một lần/ngày, vào lúc 8h00 sáng. Tảo cộng sinh được lấy một lần một tuần và bảo quản trong ngăn mát tủ lạnh ở nhiệt độ 5-6 °C.

- Chỉ tiêu đánh giá: tốc độ tăng trưởng và tỷ lệ sống ấu trùng

Thí nghiệm 5 (TN5): Nghiên cứu ảnh hưởng của sự kết hợp các loại thức ăn khác nhau đến tăng trưởng, tỷ lệ sống của ấu trùng trai tại tượng vảy.

- Vật liệu thí nghiệm

Nguồn gốc ấu trùng chữ D một ngày tuổi giống như đã nêu ở TN5.

- Bố trí thí nghiệm:

Thí nghiệm bố trí gồm 3 nghiệm thức tương ứng với 3 nghiệm thức thức ăn khác nhau: F1 Hỗn hợp tảo *Chaetoceros muelleri* và *Isochrysis galbana* với tỉ lệ 1:1 về mật độ tảo, F2 Hỗn hợp tảo *Nannochloropsis oculata*, *Isochrysis galbana* và *Chaetoceros muelleri* với tỉ lệ 1:1:1 về mật độ tảo và F3 lô đối chứng không cho ăn.

Ấu trùng chữ D (1 ngày tuổi) được nuôi trong các bể composite hình phễu, thể tích 100L, sục khí liên tục, với mật độ 5 ấu trùng/mL. Chế độ chăm sóc ấu trùng ở các

nghiệm thức như nhau. Mật độ tảo cho ăn là 15.000 tb/mL, mỗi ngày 1 lần đến khi kết thúc thí nghiệm. Định kỳ 2 ngày thay nước (100%) 1 lần. Nước trước và sau khi thay đảm bảo ổn định các yếu tố môi trường như nhiệt độ, độ mặn, pH. Thời gian thí nghiệm: 7 ngày. Mỗi nghiệm thức lặp lại 6 lần. Sau 4 ngày nuôi, tảo cộng sinh được thêm vào các nghiệm thức thí nghiệm với mật độ 5.000 tế bào/mL. Bắt đầu ngày thứ 5 thì các nghiệm thức thí nghiệm được chiếu sáng với cường độ 2000 Lux bằng ánh sáng đèn Neon (20W), chiếu sáng liên tục 24/24 trong suốt thời gian thí nghiệm. Các yếu tố môi trường như nhiệt độ, độ mặn, pH và DO được đo 2 ngày/lần, vào lúc 8h sáng và 14h chiều hàng ngày.

- Điều kiện thí nghiệm

Thí nghiệm được bố trí trong những bể composite hình trụ tròn màu xanh thể tích 100 lít được đặt trong nhà có mái che. Cách vệ sinh bể và dụng cụ thí nghiệm, chuẩn bị và điều kiện nguồn nước thí nghiệm tương tự TN3 và TN4.

Hàng ngày theo dõi các yếu tố môi trường của thí nghiệm. Thức ăn là hỗn hợp các loài vi tảo. Thay nước 100% sau 2 ngày nuôi kết hợp với kiểm tra ấu trùng, đo kích thước, độ no đói, khả năng vận động, bắt mồi của ấu trùng. Tảo cộng sinh *Zoxanthelle* (*Symbiodinium microadriaticum*) được lấy từ màng áo của trai, xay nhỏ và đếm mật độ khi cho ăn ở mật độ 5.000 tb/mL. Tảo cộng sinh được cấp vào bể nuôi ấu trùng từ ngày thứ 3 trở đi, cho ăn 1 lần/ngày, vào lúc 8h sáng hàng ngày.

Chỉ tiêu đánh giá : chiều dài, tốc độ tăng trưởng đặc trưng về chiều dài và tỷ lệ sống ấu trùng trai tai tượng vảy.

Thí nghiệm 6 (TN6): Nghiên cứu ảnh hưởng của mật độ tảo cộng sinh đến tăng trưởng, tỷ lệ sống và tỷ lệ xuống đáy ấu trùng trai tai tượng vảy.

- Vật liệu thí nghiệm

Ấu trùng cỡ D 3 ngày tuổi được đưa vào thí nghiệm.

- Bố trí thí nghiệm:

Thí nghiệm được bố trí trên ấu trùng trai tai tượng giai đoạn cỡ D (3 ngày tuổi) nuôi trong bể composite hình phễu 100L với 4 nghiệm thức (NT) mật độ tảo cộng sinh, bao gồm: NT1: 1.000 tế bào/mL, NT2: 3.000 tế bào/mL, NT3: 5.000 tế bào/mL, và NT4: 7.000 tế bào/mL.

Mỗi nghiệm thức được lặp lại 6 lần. Mật độ ấu trùng cỡ D: 5 con /mL. Chế độ chăm sóc ấu trùng ở các nghiệm thức như nhau. Ấu trùng trai tai tượng vảy được cho ăn, mỗi ngày 1 lần vào lúc 8h sáng, bằng hỗn hợp các loài tảo *Nannochloropsis oculata*, *Isochrysis galbana* và *Chaetoceros muelleri*, với tỷ lệ là 1 :1 :1 theo mật độ tảo. Mật độ

vi tảo làm thức ăn là 15.000 tế bào/mL được cho vào các lô thí nghiệm vào lúc tương ứng 8 h sáng hằng ngày. Các lô thí nghiệm được chiếu sáng với cường độ ánh sáng là 2.000 lux bằng hệ thống đèn neon. Thời gian thí nghiệm 5 ngày nuôi.

- Điều kiện thí nghiệm

Thí nghiệm được bố trí trong những bể composite hình trụ tròn màu xanh thể tích 100 lít được đặt trong nhà có mái che. Cách vệ sinh bể và dụng cụ thí nghiệm, chuẩn bị và điều kiện nguồn nước thí nghiệm tương tự TN3 và TN4.

Hàng ngày theo dõi các yếu tố môi trường của thí nghiệm. Thức ăn là hỗn hợp các loài vi tảo. Trước khi cho ăn, tảo được lọc qua lưới lọc tảo để loại bỏ chất vẩn, xác tảo và được đếm để xác định mật độ để phối trộn. Thay nước 100% sau 2 ngày nuôi kết hợp với kiểm tra ấu trùng, đo kích thước, độ no đói, khả năng vận động, bắt mồi của ấu trùng. Tảo cộng sinh *Zoxanthelle (Symbiodinium microadriaticum)* được lấy từ màng áo của trai, xay nhỏ và đếm mật độ khi cho ăn. Tảo cộng sinh được cấp vào bể nuôi ấu trùng 4 ngày tuổi trở đi, cho ăn 1 lần/ngày, vào lúc 8:00 sáng. Khi cho tảo cộng sinh vào hệ thống nuôi ấu trùng kết hợp với chiếu sáng hệ thống nuôi bằng đèn neon với cường độ 2.000 lux.

+ Phương pháp chiết xuất tảo cộng sinh *Symbiodinium microadriaticum*

Symbiodinium microadriaticum sử dụng trong thí nghiệm được chiết xuất từ màng áo của trai trưởng thành *Tridacna squamosa* bằng cách cắt màng áo và xay cùng nước biển bằng máy xay sinh tố. Trai trưởng thành được chọn theo tiêu chí trai khỏe mạnh, màng áo sặc sỡ không bị tổn thương. Để tránh mô màng áo quá nhiều cho vào ấu trùng có thể gây phân hủy và ô nhiễm môi trường, hỗn hợp nước xay này được lọc qua lưới 30 µm trước khi cho ấu trùng ăn. Tảo cộng sinh được thu một lần/tuần và giữ ở điều kiện ngăn mát tủ lạnh (nhiệt độ 5- 6 °C). Tảo được đếm trước khi cấp vào bể ấu trùng.

Ngày thứ 5, ấu trùng được kiểm tra sự hiện diện của (*Symbiodinium microadriaticum*) trong ruột, *Symbiodinium microadriaticum* xuất hiện với những hạt tròn nhỏ màu vàng nâu trong ruột.

Chỉ tiêu đánh giá : đối với đánh giá tốc độ tăng trưởng về kích thước chiều dài và tỷ lệ sống ấu trùng trai tai tượng vảy được tính trong 5 ngày nuôi. Riêng đối với chỉ tiêu tỷ lệ xuống đáy được đánh giá sau 6 ngày nuôi khi ấu trùng đã xuống đáy.

Thí nghiệm 7 (TN7): Nghiên cứu ảnh hưởng mật độ ương lên tỷ lệ sống, tốc độ tăng trưởng ấu trùng trai tai vụng vảy.

- Vật liệu thí nghiệm

Ấu trùng sử dụng cho thí nghiệm là ấu trùng giai đoạn chữ D một ngày tuổi được cho đẻ bằng phương pháp kích thích khô kết hợp dòng chảy từ nguồn trai nuôi vỗ tại Viện Nghiên cứu Nuôi trồng thủy sản III.

- Bố trí thí nghiệm:

Thí nghiệm bố trí gồm 4 nghiệm thức tương ứng với 4 mật độ ương ấu trùng khác nhau là: NT1 mật độ 3 ấu trùng/mL, NT2 mật độ 5 ấu trùng/mL, NT3 mật độ 7 ấu trùng/mL và NT4 mật độ 9 ấu trùng/mL.

Mỗi nghiệm thức được lặp lại 6 lần, thời gian thí nghiệm là 7 ngày. Định kỳ 2 ngày/lần, thu ngẫu nhiên 30 mẫu/lô thí nghiệm để xác định các chỉ tiêu: tốc độ tăng trưởng đặc trưng về chiều dài (SGR %/ngày) và tỷ lệ sống (%) của ấu trùng. Các yếu tố môi trường như nhiệt độ, độ mặn, pH, hàm lượng ô xy hòa tan lượng đo 2 lần/ngày, vào lúc 8h sáng và 14 h chiều.

- Điều kiện thí nghiệm

Thí nghiệm được bố trí trong những bể composite hình trụ tròn màu xanh thể tích 100 lít được đặt trong nhà có mái che. Cách vệ sinh bể và dụng cụ thí nghiệm, chuẩn bị và điều kiện nguồn nước thí nghiệm tương tự TN3 và TN4.

Hàng ngày theo dõi các yếu tố môi trường của thí nghiệm. Ấu trùng được cho ăn một lần/ngày vào lúc 8h00, thức ăn là các loài vi tảo: *Nannochloropsis oculata*, *Chaetoceros muelleri*, *Isochrysis galbana*, tỷ lệ 1:1:1, mật độ tảo cho ăn 15.000 tb/mL, 1 lần/ngày vào lúc 8h sáng. Thay nước 100% sau 2 ngày nuôi kết hợp với kiểm tra ấu trùng, đo kích thước, xem lượng tảo trong ruột ấu trùng, khả năng vận động, bắt mồi của ấu trùng. Tảo cộng sinh được lấy từ màng áo của trai, xay nhỏ và đếm mật độ khi cho ăn ở mật độ 5.000 tb/mL. Tảo cộng sinh *Symbiodinium microadriaticum* được cấp vào bể nuôi ấu trùng từ ngày thứ 4 trở đi, cho ăn 1 lần/ngày, vào lúc 14h chiều.

- Chỉ tiêu đánh giá: tốc độ tăng trưởng, tỷ lệ sống của ấu trùng.

2.3.2.4. Ương nuôi ấu trùng giai đoạn sống đáy và con giống

Thí nghiệm 8 (TN8): Nghiên cứu ảnh hưởng của chất đáy đến tăng trưởng, tỷ lệ xuống đáy, tỷ lệ sống ấu trùng trai tai tượng vảy.

- Vật liệu thí nghiệm

Ấu trùng sử dụng cho thí nghiệm là ấu trùng giai đoạn có chân bò Pediveliger đến con giống cấp 1 (1-3mm). Ấu trùng có chân bò được thu từ kết quả các thí nghiệm giai đoạn trôi nổi. Thời gian thí nghiệm là 26 ngày.

- Bố trí thí nghiệm:

Thí nghiệm bố trí gồm 4 nghiệm thức tương ứng với 4 loại chất đáy khác nhau là: NT1 lưới (Nylon filter mesh) có kích thước mắt lưới 200 μ m, NT2 chất đáy là đá san hô chết, NT3 đáy là cát (2 cm) và NT4 đáy bể composite.

Mỗi nghiệm thức được lặp lại 4 lần. Định kỳ 5 ngày/lần, thu ngẫu nhiên 30 mẫu/lô thí nghiệm để xác định các chỉ tiêu: tốc độ tăng trưởng bình quân ngày về chiều dài (ADG, μ m/ngày), tốc độ tăng trưởng đặc trưng về chiều dài (SGR %/ngày) và tỷ lệ sống (%) của ấu trùng. Các yếu tố môi trường như nhiệt độ, độ mặn, pH, hàm lượng ô xy hòa tan trong nước, cường độ ánh sáng, độ trong được đo 2 lần/ngày, vào lúc 8h sáng và 14 h chiều.

- Điều kiện thí nghiệm

Thí nghiệm được bố trí trong những bể composite hình tròn màu trắng, đáy bằng, thể tích 1000 lít được đặt ngoài trời có che lưới lan, đảm bảo cường độ ánh sáng 4.000 lux. Cách vệ sinh bể và dụng cụ thí nghiệm, chuẩn bị và điều kiện nguồn nước thí nghiệm tương tự TN3 và TN4.

Hàng ngày theo dõi các yếu tố môi trường của thí nghiệm. Cho ấu trùng ăn 1 lần/ngày vào lúc 8h00, thức ăn là các loài vi tảo: *Nannochloropsis oculata*, *Chaetoceros muelleri*, *Isochrysis galbana*, tỷ lệ 1:1:1 theo mật độ tảo, mật độ tảo cho ăn 15.000 tb/mL. Việc cho ăn các loài vi tảo kết thúc khi ấu trùng đã xuống đáy hoàn toàn. Thay nước 30% hằng ngày nuôi kết hợp với kiểm tra ấu trùng, đo kích thước, độ no đói, khả năng vận động, bắt mồi của ấu trùng. Tảo cộng sinh *Symbiodinium microadriaticum* cho ăn ở mật độ 5.000 tb/mL. Tảo cộng sinh được cấp vào bể nuôi ấu trùng từ ngày thí nghiệm thứ 1 trở đi đến khi hình thành đầy đủ quan hệ cộng sinh, cho ăn 1 lần/ngày, vào lúc 14h chiều.

- Chỉ tiêu đánh giá:

Tốc độ tăng trưởng và tỷ lệ sống ấu trùng sống đáy và con giống.

Thí nghiệm 9 (TN9). Nghiên cứu ảnh hưởng của cường độ chiếu sáng đến tăng trưởng, tỷ lệ sống và xuống đáy ấu trùng trai tai tượng vảy

- Vật liệu thí nghiệm

Ấu trùng sử dụng cho thí nghiệm là ấu trùng giai đoạn có chân bò Pediveliger đến con giống cấp 1 (1-3mm). Ấu trùng có chân bò được thu từ kết quả các thí nghiệm giai đoạn trôi nổi. Thời gian thí nghiệm là 26 ngày.

- Bố trí thí nghiệm:

Thí nghiệm bố trí gồm 4 nghiệm thức tương ứng với 4 cường độ ánh sáng khác nhau là: NT1 2.000 lux, NT2 4.000 lux, NT3 6.000 lux và NT4 8.000 lux. Cường độ

ánh sáng được điều chỉnh bằng hệ thống đèn Neon (20W) tương ứng với từng nghiệm thức, chiếu sáng liên tục 24/24 trong suốt thời gian thí nghiệm. Sử dụng bạt nhựa (PE) tối màu làm vách ngăn giữa các nghiệm thức. Chất đáy để ấu trùng trai bám vào là đá san hô chết được rửa sạch và đặt vào đáy bể thí nghiệm (kể thừa chất đáy tốt nhất từ thí nghiệm 8).

Mỗi nghiệm thức được lặp lại 4 lần. Định kỳ 5 ngày/lần, thu ngẫu nhiên 30 mẫu/lô thí nghiệm để xác định các chỉ tiêu: tốc độ tăng trưởng bình quân ngày về chiều dài (ADG, $\mu\text{m}/\text{ngày}$), tốc độ tăng trưởng đặc trưng về chiều dài (SGR $\%/\text{ngày}$) và tỷ lệ sống (%) của ấu trùng. Các yếu tố môi trường như nhiệt độ, độ mặn, pH, hàm lượng ô xy hòa tan trong nước, cường độ ánh sáng, độ trong được đo 2 lần/ngày, vào lúc 8h sáng và 14 h chiều.

- Điều kiện thí nghiệm

Thí nghiệm được bố trí trong những bể composite hình tròn màu trắng, đáy bằng, thể tích 1.000 lít được đặt trong nhà có mái che. Cách vệ sinh bể và dụng cụ thí nghiệm, chuẩn bị và điều kiện nguồn nước thí nghiệm tương tự TN3 và TN4.

Hàng ngày theo dõi các yếu tố môi trường của thí nghiệm. Cho ấu trùng ăn một lần/ngày vào lúc 8h00, thức ăn là các loài vi tảo: *Nannochloropsis oculata*, *Chaetoceros muelleri*, *Isochrysis galbana*, tỷ lệ 1:1:1, mật độ tảo cho ăn cho ăn tăng dần từ 6.000 -9.000 tb/mL, khi hình thành con giống kích thước 1-2mm. Việc cho ăn các loài tảo đơn bào kết thúc khi ấu trùng đã xuống đáy hoàn toàn. Thay nước 30% hằng ngày nuôi kết hợp với kiểm tra ấu trùng, đo kích thước, độ no đói, khả năng vận động, bắt mồi của ấu trùng. Tảo cộng sinh *Symbiodinium microadriaticum* mật độ 5.000 tb/mL. Tảo cộng sinh được cấp vào bể nuôi ấu trùng từ ngày thứ nhất trở đi, cho ăn 1 lần/ngày, vào lúc 8h sáng. Việc cho ăn tảo cộng sinh kết thúc khi ấu trùng đã hình thành mối quan hệ cộng sinh với vi tảo quang hợp.

- Chỉ tiêu đánh giá:

Tốc độ tăng trưởng tuyệt đối về chiều cao, chiều dài, tỷ lệ sống ấu trùng sống đáy và con giống.

Thí nghiệm 10 (TN10): Ảnh hưởng các phương pháp vận chuyển khác nhau đến tỷ lệ sống con giống trai tại tượng vảy

- Vật liệu thí nghiệm

Nguồn trai giống cho thí nghiệm từ sinh sản nhân tạo tại Viện Nghiên cứu Nuôi trồng thủy sản III. Kích thước chiều dài trung bình trai giống là $2,34 \pm 1,56\text{cm}$, khỏe mạnh, vỏ còn nguyên vẹn, hoạt động đóng mở vỏ nhanh nhẹn khi có tác động từ bên ngoài.

- Bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm được bố trí ngẫu nhiên thành 3 nghiệm thức và được lặp lại 4 lần:

NT1: Vận chuyển khô, ẩm và kín. Trai giống được bỏ vào thùng xốp được bao bọc bởi khăn thấm nước và thùng xốp được đậy kín có sử dụng đá hạ nhiệt độ. Nhiệt độ trong thùng xốp khoảng 22-25 °C. Một thùng xốp cho 1.000 trai giống

NT2: Vận chuyển hở, có nước và sục khí. Trai được cho vào thùng xốp đựng nước một lớp với sục khí. Nhiệt độ vận chuyển từ 28-30°C. Mỗi thùng xốp cho 1.000 con trai giống vào.

NT3: Vận chuyển khô, không ẩm, không kín. Trai được cho vào thùng xốp không có vật thấm ướt. Nhiệt độ vận chuyển từ 28-30°C. Mỗi thùng xốp cho 1.000 con trai giống vào.

- Điều kiện thí nghiệm

Trai giống được cắt rời khỏi vật bám là đá san hô bằng dao bén. Trai giống được cho vào thùng xốp có kích thước 40 x 60 x 40cm. Thùng xốp, vải đệm được vệ sinh sạch sẽ bằng nước ngọt rồi phơi khô trước khi sử dụng. Nguồn nước biển dùng cho vận chuyển được lấy từ nước cho ương nuôi ấu trùng ở độ mặn 32 ppt, pH 8,0, DO 4,5mg/l. Phương tiện vận chuyển là bằng xe ô tô và thuyền từ Viện Nghiên cứu Nuôi trồng thủy sản III đến Khu bảo tồn Hòn Mun, tỉnh Khánh Hòa. Thời gian vận chuyển khoảng 3h.

- Chỉ tiêu đánh giá

Các thông số được ghi nhận và đánh giá sau quá trình vận chuyển: tỷ lệ sống. Việc đánh giá tỷ lệ sống của trai giống được thực hiện sau khi trai vận chuyển và nuôi được 4 ngày.

2.3.2.5. Tìm hiểu bệnh và dịch hại trong nuôi vỗ

Phương pháp thu và bảo quản mẫu

Thu mẫu trai còn sống hoặc sắp chết để ghi nhận dấu hiệu bệnh lý và sinh vật bám bên trong và ngoài vỏ), phết tiêu bản tươi và cố định mẫu (dùng cho nghiên cứu mô bệnh học).

Việc thu mẫu trai được tiến hành theo hướng dẫn của Tổ Chức Sức Khỏe Động Vật Thế Giới (OIE 2009). Mẫu được phân tích để xác định sự hiện diện của vi khuẩn (Elston et al., 1981), nấm (Bruce 2000), ngoại ký sinh trùng (Hà Ký và Bùi Quang Tề

2007), và nội ký sinh trùng (OIE 2009). Bên cạnh đó, kỹ thuật mô bệnh học cũng được thực hiện nhằm xác định ảnh hưởng của các tác nhân đến mô của vật chủ (OIE, 2009).

Phân tích xác định tỷ lệ cảm nhiễm và cường độ cảm nhiễm

Phương pháp nghiên cứu ký sinh trùng

Nghiên cứu các tác nhân ngoại ký sinh trùng – theo phương pháp của Hà Ký, Bùi Quang Tề (2007). Đối với nội ký sinh trùng sử dụng kỹ thuật mô bệnh học và phương pháp nuôi cấy theo hướng dẫn của OIE (2009).

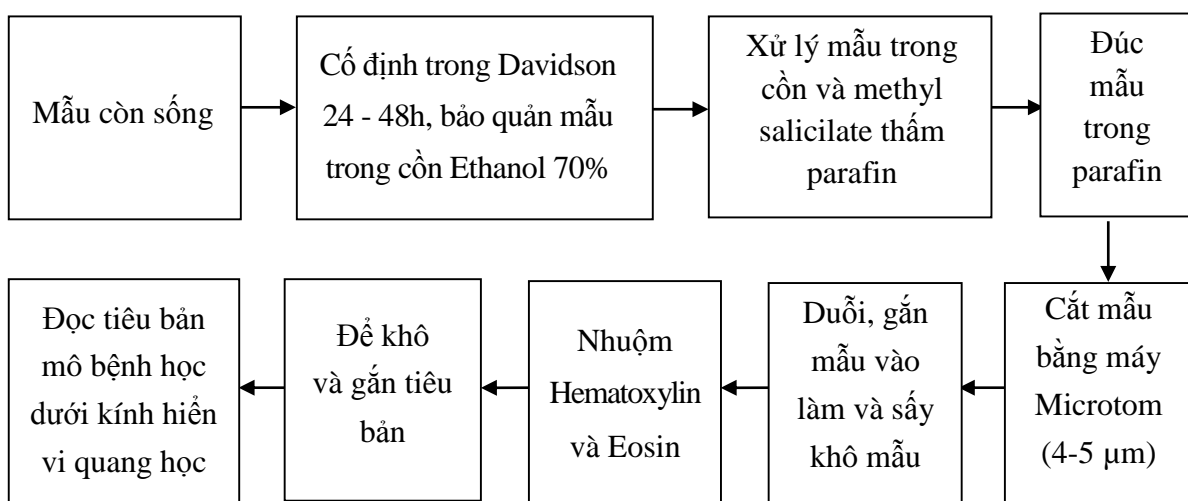
- *Phương pháp làm tiêu bản tươi (Hà Ký và Bùi Quang Tề, 2007)*

Trai còn sống hoặc sắp chết được mở vỏ; cạo nhót trên cơ, mang; ép lamel rồi soi tươi trên kính hiển vi quang học ở các độ phóng đại khác nhau. Ký sinh trùng phát hiện trên tiêu bản tươi được mô tả, chụp hình, đo kích thước và nhuộm Nitrat bạc (AgNO_3 2%) hoặc Eosin để lưu giữ.

- *Kỹ thuật mô bệnh học*

Phương pháp nghiên cứu mô học đối với trai tai tượng vảy được thực hiện theo “Các kỹ thuật mô học cho động vật hai mảnh vỏ và giáp xác nước mặn” (Howard và cộng tác viên., 2004).

Phần cơ của trai còn sống hoặc vừa chết được cắt miếng dày khoảng 3 - 5 mm theo đường cắt tiêu chuẩn để đảm bảo trong miếng mô có hầu hết các cơ quan cần nghiên cứu. Miếng mô sau đó được cố định trong dung dịch Davidson dành cho động vật thân mềm với tỷ lệ mẫu và dung dịch cố định là 1/10. Các bước tiến hành được mô tả qua Hình 2.3



Hình 2.3. Các bước thực hiện của phương pháp mô bệnh

Phương pháp nghiên cứu vi khuẩn

Phương pháp nuôi cấy phân lập và định danh vi khuẩn trên mẫu động vật thân mềm được dựa theo tài liệu của Sindermann (1990), Weingarten và Elston (1990). Dùng test định danh vi khuẩn API 20 để định danh vi khuẩn.

❖ Phương pháp phân lập vi khuẩn

Mẫu trai được quan sát và ghi lại các dấu hiệu bên ngoài. Cấy mẫu trai trên hai loại môi trường: môi trường chọn lọc cho *Vibrio* TCBS và môi trường tổng hợp TSA (+ 2% NaCl). Lật ngược đĩa lòng, nuôi cấy ở nhiệt độ 30°C trong 24 giờ. Sau 24 giờ, kiểm tra sự phát triển của các khuẩn lạc. Dựa vào màu sắc, hình dạng, kích thước khuẩn lạc để phân biệt các loại khuẩn lạc chiếm ưu thế trên đĩa phân lập. Chọn những khuẩn lạc đặc trưng và tiến hành tách để có khuẩn lạc thuần.

❖ Xác định các đặc điểm sinh học của các chủng vi khuẩn

Dụng cụ và hoá chất: Dụng cụ: Que cấy ria, đèn cồn, lame kính, lamên, kính hiển vi, dầu soi kính. Hoá chất: Cồn 70⁰, nước muối sinh lý, nước cất, bộ thuốc nhuộm Gram.

Quy trình thực hiện như sau: Chọn khuẩn lạc chiếm ưu thế trên đĩa cấy để tiến hành cấy thuần. Sau đó tiến hành nhuộm Gram để quan sát các đặc điểm hình thái của vi khuẩn, được tiến hành theo phương pháp của Gram (1884): Nhỏ một giọt nước muối sinh lý vô trùng lên lame kính; Dùng que cấy lấy một ít vi khuẩn trải đều trên giọt nước muối, cố định trên ngọn lửa đèn cồn bằng cách hơi lướt qua đến khi mẫu khô lại. Tiến hành nhuộm Gram: Nhỏ dung dịch Crystal violet lên lame kính, chờ 1-2 phút rồi rửa bằng nước cất. Nhỏ tiếp dung dịch lugol lên lam kính khoảng 1 phút, tiếp tục rửa bằng nước cất. Tẩy màu bằng dung dịch cồn acetol, nhỏ từ từ dung dịch cồn acetol lên lame kính cho đến khi giọt nước chảy xuống không còn màu tím, rồi rửa lại lame kính bằng nước cất. Nhỏ lên dung dịch Fushin để khoảng 2 phút rồi rửa lại bằng nước cất. Để cho lame kính khô rồi quan sát hình dạng, kích thước và Gram của vi khuẩn dưới vật kính 100X có giọt dầu.

❖ Xác định các đặc tính sinh hoá của vi khuẩn

Chọn chủng vi khuẩn đã cấy thuần thử phản ứng sinh hóa bằng bộ kit API 20E theo các bước như sau : Cho khoảng 5mL nước cất vào khuôn nhựa để giữ ẩm trong quá trình ủ rồi đặt bộ kit vào khuôn. Lấy dịch nuôi cấy vi khuẩn đem ly tâm, thu cặn hoặc lấy khuẩn lạc trên đĩa thạch nuôi cấy đem pha với nước cất hoặc nước muối vô trùng.

So màu độ đục của ống vi khuẩn tương đương với nồng độ McFarland bậc 4 (mật độ khoảng 10^8 CFU/mL). Sử dụng pipette Pasteur vô trùng, hút dịch vi khuẩn cho vào tất cả các ống. Đối với các ống CIT, VP, GEL thì cho dịch vi khuẩn đầy giếng, Các ống ADH, LDC, ODC, H₂S và URE thì phủ đầy giếng bằng paraffin lỏng. Đậy nắp khuôn, ủ ở 28°C trong khoảng 18-24h.

Nếu sau 24h, có dưới 3 phản ứng dương tính thì tiếp tục ủ thêm 18-24h nữa. Nếu có trên 3 phản ứng dương tính thì tiến hành đọc kết quả và thực hiện các phản ứng bổ sung. Đọc kết quả theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

❖ Các phản ứng bổ sung

• Phản ứng Oxidase

Dùng que cấy vô trùng lấy một khuẩn lạc đặt lên đầu que thử oxidase chờ khoảng 30s rồi quan sát và ghi lại sự thay đổi màu sắc đầu que thử. Nếu đầu thử chuyển sang màu xanh thì phản ứng là (+), là (-) nếu không có sự thay đổi màu sắc đầu que thử.

• Phản ứng OF (xác định khả năng lên men và oxi-hoá đường glucose)

Dùng que cấy vô trùng lấy một ít khuẩn lạc cấy thẳng vào 2 ống nghiệm chứa môi trường OF sau đó phủ paraffin lỏng vô trùng lên một ống để kiểm tra khả năng lên men đường glucose (kị khí) của vi khuẩn, ống còn lại là để kiểm tra khả năng oxi-hoá glucose (hiếu khí). Đậy nút bông không thấm và giấy bạc lên trên 2 ống nghiệm rồi ủ ở 28°C trong 24-48h sau đó kiểm tra sự thay đổi màu sắc ống môi trường. Nếu môi trường đổi từ màu xanh sang màu vàng là phản ứng (+), Nếu môi trường không đổi màu là phản ứng (-).

• Khả năng phát triển trên môi trường MacConkey agar + 2% NaCl

Dùng que cấy lấy khuẩn lạc cấy rìa trên đĩa môi trường, sau đó ủ ở 28°C sau 24h quan sát màu sắc khuẩn lạc mọc lên.

Theo dõi một số dịch hại

Thông qua các quan sát hằng ngày bằng cảm quan, kính lúp có độ phóng đại 5-10 lần và kính hiển vi có các vật kính 4, 10, 40, 100 và những hạn chế gặp được trong quá trình nuôi vỗ, xác định những tác nhân gây hại.

2.3.3. Thực nghiệm sản xuất giống nhân tạo

Ứng dụng các kết quả tốt nhất của các thí nghiệm trong phần nghiên cứu cơ sở khoa học sinh sản nhân tạo trai tai tượng vảy, tiến hành thực nghiệm 04 đợt sản xuất giống nhân tạo trai tai tượng vảy trong quy mô lớn hơn để kiểm chứng và nghiên cứu kỹ thuật sản xuất giống nhân tạo trai tai tượng vảy.

2.3.3.1. Điều kiện cơ sở vật chất và trang thiết bị

Nghiên cứu kỹ thuật sản xuất giống nhân tạo trai tai tượng vảy được thực hiện tại trạm thực nghiệm giống động vật thân mềm thuộc Viện Nghiên cứu Nuôi trồng thủy sản III. Trai bố mẹ được thu gom và nuôi vỗ trong 16 bể xi măng có thể tích $20 \text{ m}^3/\text{bể}$ với mật độ 2 con/ m^3 , hàng ngày nước biển được thay 30%, bổ sung thức ăn là hỗn hợp vi tảo *Nannochloropsis oculata*, *Isochrysis galbana* và *Chaetoceros muelleri* tỷ lệ 1:1:1 ở mật độ 15.000 tế bào/mL, các bể này ở ngoài trời có mái che, đảm bảo cường độ ánh sáng dao động 2.000-4.000 lux (Braley, 1992; Ellis, 1998). Tảo cộng sinh được phân lập, lưu giữ và nhân giống trong phòng tảo có điều hòa nhiệt độ để làm thức ăn cho ấu trùng trai tai tượng vảy. Ấu trùng được ương trong bể composite hình bán cầu có thể tích $1 \text{ m}^3/\text{bể}$ và bể xi măng $4 \text{ m}^3/\text{bể}$, đặt trong nhà. Con giống được ương trong các bể 2 m^3 hình chữ nhật được đặt ngoài trời có mái che. Thực nghiệm sản xuất được thực hiện trong 4 đợt. Kích thước trai bố mẹ và trai giống được cân và đo bằng cân đồng hồ 10 kg, cân điện tử, thước kẹp. Kích thước ấu trùng được đo bằng thước vi thị kính. Số lượng trứng được đếm bằng buồng đếm động vật phù du. Mật độ tảo được xác định bằng buồng đếm hồng cầu. Hệ thống máy bơm nước biển, máy thổi khí, máy phát điện dự phòng được trang bị trong quá trình sản xuất. Kính hiển vi, thiết bị đo và theo dõi cũng như ổn định môi trường được sử dụng trong suốt thời gian sản xuất giống.

Nước biển cho nuôi vỗ chỉ qua một túi lọc có kích thước lỗ $100 \mu\text{m}$. Nước biển sử dụng cho kích thích sinh sản, ương nuôi ấu trùng và con giống được qua hệ thống lọc thô có kích thước 100-200 μm , lọc tinh 20-100 μm , vi lọc có kích thước nhỏ nhất là $1 \mu\text{m}$. Hệ thống nước dùng cho nuôi cấy tảo được xử lý chlorine A với nồng độ 30ppm trong vòng 3 ngày. Sau đó nước được bơm vào cục lọc có kích cỡ lõi lọc 0,2 μm

Trong suốt cũng như kết thúc từng đợt sản xuất, số liệu tỷ lệ đẻ, tỷ lệ thụ tinh, tỷ lệ nở, tỷ lệ sống từ lúc xuống đáy tới con giống được ghi lại và cuối cùng là phân tích đánh giá so sánh kết quả 4 đợt sản xuất.

2.3.3.2. Điều kiện môi trường

Các yếu tố môi trường nước được đo 2 lần/ngày, vào lúc 8 giờ sáng và 14 giờ chiều và ổn định như trong Bảng 2.1

Bảng 2.1. Các yếu tố môi trường thích hợp trong quá trình thực nghiệm sản xuất giống

Chỉ tiêu	Giai đoạn ấu trùng sống trôi nổi	Giai đoạn ấu trùng sống đáy và trai giống	Dụng cụ đo và độ chính xác
Nhiệt độ (°C)	27-29 °C	28-30 °C	Nhiệt kế thủy ngân ($\pm 0,10$ °C)
Độ mặn (ppt)	30-33 ppt	30-34 ppt	Khúc xạ kế ATAGO master ($\pm 0,05$ ppt)
pH	7,5-8,5	7,5-8,5	Bút đo pH (độ chính xác $\pm 0,01$)
DO (mg/l)	5,0-6,0	5,0-6,0	Máy đo Hanna độ chính xác $\pm 0,10$ mL/l
Ánh sáng (lux)	2.000- 4.000	2.000-4.000	máy đo Tenmars TM-223 ($\pm 0,01$)

2.3.3.3. Sinh sản và ương nuôi ấu trùng sống nổi

Trai tai tượng vẩy bố mẹ nuôi vỗ: vỗ nguyên vẹn, phản xạ đóng mở vỏ linh hoạt. và đảm bảo các tiêu chí: chiều dài ≥ 20 cm, khối lượng 2-4 kg/con.

Trai được kiểm tra mức độ thành thực sinh dục trước và sau khi nuôi vỗ áp dụng kết quả tốt nhất từ TN1 và cho kích thích sinh sản áp dụng kết quả từ TN2. Ấp trứng tại bể đẻ, duy trì sục khí nhẹ, sau 6 – 8h sẽ xuất hiện ấu trùng bánh xe (Trochophora), tiến hành thu và chuyển ấu trùng sang bể ương (áp dụng từ kết quả TN3). Sử dụng ống nhựa mềm hút ấu trùng qua vợt lọc cỡ 60 μ m để thu và chuyển ấu trùng vào bể ương.

Ấu trùng trai sau khi đẻ được ương trong bể composite hình bán cầu có thể tích 1m³/ bể và bể xi măng 4m³/bể, đặt trong nhà có mái che. Chăm sóc ấu trùng và quản lý bể ương từ kết quả tốt nhất của các thí nghiệm: TN4, TN5, TN6 và TN7.

2.3.3.4. Ương nuôi ấu trùng giai đoạn sống đáy và con giống

Ấu trùng trai giai đoạn xuống đáy được ương trong những bể composite đáy bằng hình tròn có thể tích 1m³ và hình chữ nhật có thể tích 2m³. Chăm sóc ấu trùng và quản lý bể ương từ kết quả tốt nhất của các thí nghiệm: TN8 và TN9

2.3.3.5. Thu hoạch và vận chuyển con giống

Thu hoạch trai giống bằng cách dùng dao bén cắt phần tơ chân bám vào vật bám ra. Cắt tơ chân trai giống phải được thực hiện một cách cẩn thận. Trong trường hợp trai bám vào những hốc sâu của đá san hô thì đập nhẹ nhẹ vỡ đá san hô ra rồi mới cắt.

Phương pháp vận chuyển được ứng dụng từ kết quả thí nghiệm 10, dùng phương pháp vận chuyển khô, kín ẩm (TN10)

2.3.3.6. Kỹ thuật nuôi cấy tảo sinh khối làm thức ăn cho trai

Cấy tảo sinh khối làm thức ăn cho trai theo quy trình kỹ thuật của Viện Nghiên cứu Nuôi trồng thủy sản III, được hướng dẫn bởi các chuyên gia vi tảo đến từ Đại học Ghent (Bỉ). Quá trình lưu giữ và nhân sinh khối vi tảo được tiến hành trong phòng có điều hòa nhiệt độ. Phòng lưu giữ tảo gốc được điều chỉnh nhiệt độ 20-22 °C, cường độ ánh sáng 500-1.000 lux, có diện tích 12 m². Nước biển dùng cho lưu giữ tảo và môi trường dinh dưỡng được hấp tiệt trùng. Tảo được lưu giữ ở 2 cấp độ: đĩa thạch, ống nghiệm và bình tam giác 250, 500, 1.000 mL không sục khí. Trong khi đó, bình 5.000mL được sục khí. Khí trước khi vào dụng cụ cấy tảo phải qua một lọc bông.

Phòng sản xuất sinh khối vi tảo có diện tích 60m² với hệ thống cửa chính và cửa phụ bằng kính thủy tinh để tăng cường ánh sáng tự nhiên. Phòng được chiếu sáng liên tục 24h/ngày bởi hệ thống ánh sáng đèn huỳnh quang với cường độ 4.000 lux và nhiệt độ phòng luôn điều chỉnh ở mức 25 °C.

Sử dụng máy điều hòa nhiệt độ để điều chỉnh nhiệt độ ở mức 25°C. Trong trường hợp gặp sự cố mất điện vào những ngày nhiệt độ tăng cao, máy điều hòa không hoạt động được, các cửa chính và cửa phụ sẽ được mở hoàn toàn, giúp phòng thông thoáng, giảm nhiệt độ và tận dụng nguồn sáng tự nhiên cho vi tảo quang hợp.

Nguồn khí cung cấp cho hệ thống được một máy bơm có công suất lớn đảm nhận, đảm bảo tảo được đảo đều từ tầng đáy lên tầng mặt và không tạo góc chết trong túi tảo.

Chuẩn bị nguồn nước nuôi tảo: nước biển có độ mặn 30 – 32 ppt được bơm qua bể lọc cơ học rồi bơm qua hệ thống cục lọc kích thước 0,2 µm trước khi chứa trong các túi nilon có giá đỡ, thể tích 200l/túi. Nguồn nước được diệt khuẩn bằng Chlorine, nồng độ 30 ppm, sau đó phơi nắng 3 ngày kết hợp sục khí mạnh trước khi sử dụng.

Vệ sinh dụng cụ: dụng cụ nuôi tảo, dây khí và đá bọt được ngâm Chlorine, nồng độ 10 ppm, sau đó rửa lại bằng xà phòng và nước ngọt. Phơi khô 2 – 3 ngày cho hết mùi chlorine, rửa lại bằng nước ngọt trước khi sử dụng.

Nguồn tảo giống: Các loài vi tảo nuôi sinh khối gồm: *Nannochloropsis oculata*, *Isochrysis galbana*, *Chaetoceros muelleri* có nguồn gốc từ Phòng lưu giữ tảo của Viện Nghiên cứu Nuôi trồng thủy sản III.

Môi trường nuôi cấy: Thành phần dinh dưỡng được bổ sung cho nước nuôi tảo được chia làm 2 loại là đa lượng và vi lượng. Thành phần của đa lượng gồm các muối nitrate, muối phosphate, silicate. Thành phần dinh dưỡng vi lượng gồm những yếu tố vi lượng như Cu, Fe, Mo, Mn, Zn.... Các Vitamin B1, B6, B12. Hiện nay có rất nhiều loại môi trường dinh dưỡng khác nhau đang được sử dụng. Môi trường bổ sung dinh dưỡng đang được sử dụng rộng rãi trên thế giới và phù hợp cho hầu hết các loài vi tảo hiện nay là môi trường Guillard F/2.

2.4. Phương pháp thu thập số liệu

2.4.1. Phương pháp thu thập số liệu đặc điểm sinh học sinh sản

Mẫu trai trai tượng vảy cho nghiên cứu sinh học sinh sản được xác định các chỉ tiêu hình thái: chiều dài, chiều cao và khối lượng. Chiều dài của trai (L): là khoảng cách lớn nhất từ mặt trước tới mặt sau của vỏ, chiều cao của trai (H) là khoảng cách lớn nhất từ mặt lưng xuống mặt bụng và 2 chỉ tiêu này được đo bằng thước kẹp có chia độ Palme (độ chính xác $\pm 0,10$ cm). Khối lượng của trai được xác định bằng cân đồng hồ (độ chính xác $\pm 0,10$ g): các chỉ tiêu xác định là khối lượng toàn thân (Wtt), khối lượng thân mềm thấm khô (Wtm).

Phương pháp xác định độ béo: lấy ngẫu nhiên mẫu trai tai tượng vảy, cân khối lượng toàn thân. Giải phẫu tách riêng phần thân mềm và vỏ, cân khối lượng thân mềm của trai sau khi đã thấm khô nước. Độ béo của trai được xác định theo Quayle and Newkirt (1989), công thức tính:

$$K = 100 \times W/L^3 \quad (2.6)$$

Trong đó K: Độ béo (%)

W: Khối lượng toàn thân (g)

L: Chiều dài trai (cm)

Phương pháp xác định tỷ lệ thành thực: lấy ngẫu nhiên 30 cá thể trai bố mẹ, giải phẫu, lấy mẫu tuyến sinh dục soi trên kính hiển vi. Trai đã thành thực sinh dục là trai có tuyến sinh dục đang phát triển ở giai đoạn III và IV. Công thức tính:

$$MR (\%) = \frac{M}{N} \times 100 \quad (2.7)$$

Trong đó MR: Tỷ lệ thành thực (%)

M: Số lượng trai thành thực (con)

N: Tổng số lượng trai nghiên cứu (con)

2.4.2. Phương pháp xác định các chỉ tiêu về giai đoạn nuôi vỗ, kích đẻ

Thời gian hiệu ứng kích thích: là khoảng thời gian tính từ khi dùng tác nhân kích thích trai đẻ cho tới khi quan sát thấy trai bắt đầu sinh sản, biểu hiện trai bố mẹ khép mở vỏ mạnh và liên tục, ống thoát hút nước co bóp mạnh liên tục. Khi trai sinh sản quan sát thấy nước bể đẻ đục, mặt bể có nhiều bọt nổi lên, có mùi tanh đặc trưng.

Phương pháp xác định tỷ lệ trai sinh sản. quan sát trong bể trai kích thích thấy những con trai phóng trứng và tinh vào nước. Khi trai bắt đầu sinh sản thì bắt chúng riêng ra từng xô, mỗi xô một con, xem trên kính hiển vi xác định con đẻ hay con cái, ghi nhận số liệu và đánh dấu. Công thức tính:

$$SpR (\%) = S/N \times 100 \quad (2.8)$$

Trong đó SpR: Tỷ lệ trai sinh sản (%)

S: Số lượng trai sinh sản (con)

N: Số lượng trai ban đầu (con)

Phương pháp thu mẫu xác định sức sinh sản thực tế: tiến hành cho trai sinh sản riêng theo từng cá thể trong các bể-can khác nhau. Sau khi trai sinh sản, thu và trộn sản phẩm sinh dục từ các bể-can với tỷ lệ đẻ : cái tương ứng là 1 : 3 vào xô nhựa 20 lit để thụ tinh cho trứng. Dùng dụng cụ đảo nước đều trong xô nhựa. Dùng pipet chia độ 1mL, mỗi lần lấy 1 mL nước mẫu và lặp lại 3 lần để tính giá trị trung bình để xác định tổng số lượng trứng. Công thức tính:

$$RF = n \times V \quad (2.9)$$

Với RF: Sức sinh sản thực tế (trứng/cá thể cái trong một lần đẻ)

n: Số lượng trứng trung bình có trong thể tích mẫu

V: Thể tích của xô thí nghiệm (mL)

Phương pháp thu mẫu xác định tỷ lệ thụ tinh: sử dụng pipet và phương pháp thu mẫu tương tự như trên. Lấy ngẫu nhiên 5 lần, mỗi lần 10 mL nước mẫu trong xô chứa 20 lit để xác định tổng số lượng trứng đã thụ tinh. Tỷ lệ thụ tinh được xác định là tỷ lệ giữa số lượng trứng đã thụ tinh trên tổng số trứng. Công thức tính tỷ lệ thụ tinh:

$$FR (\%) = F/E \times 100 \quad (2.10)$$

Với FR: Tỷ lệ thụ tinh (%)

F: Số lượng trứng đã thụ tinh

E: Tổng số trứng thu được

Phương pháp thu mẫu xác định tỷ lệ nở: (sau khoảng 24h sau khi thụ tinh) dụng cụ và phương pháp lấy mẫu giống phương pháp xác định số lượng trứng. Tỷ lệ nở được xác định là tỷ lệ giữa số lượng ấu trùng Trochophora trên tổng số lượng trứng đã thụ tinh. Công thức tính:

$$HR (\%) = \frac{T}{F} \times 100 \quad (2.11)$$

Trong đó HR: Tỷ lệ nở (%)

T: Số lượng ấu trùng Trochophora

F: Tổng số trứng đã thụ tinh

Phương pháp tính sức sinh sản hiệu quả: số lượng ấu trùng chữ D khỏe mạnh thu được của một cá thể cái trong một lần đẻ.

2.4.3. Phương pháp xác định các chỉ tiêu về nuôi ấu trùng nổi và đáy

Thời gian thu mẫu: 2 ngày/lần, trùng với lần thay nước 100%

Cách tiến hành: khi thay nước, ấu trùng được cô đọng vào trong xô 10 lit với sục khí nhẹ để ấu trùng trôi nổi và phân bố đều. Mẫu được lấy 1 mL/lần cho vào buồng đếm động vật phù du có ô kẻ (Gridded Sedgewick Rafter) để đếm và đo kích thước chiều dài và chiều cao trên kính hiển vi với độ phóng đại 10 lần.

Công thức tính tỷ lệ sống ấu trùng trai:

$$TLS(\%) = \frac{T}{T_0} \times 100 \quad (2.12)$$

Trong đó:

TLS: tỷ lệ sống của ấu trùng (%)

T₀: lượng ấu trùng tại thời điểm ban đầu

T: lượng ấu trùng tại thời điểm kiểm tra

- Công thức tính kích thước ấu trùng:

$$- KT (\mu m) = S \times 10,26 \text{ (nếu đo trên vật kính 10)} (\mu m) \quad (2.13)$$

Trong đó :

KT : kích thước ấu trùng (μm), cao, dài

S : số vạch trên trục vi thị kính

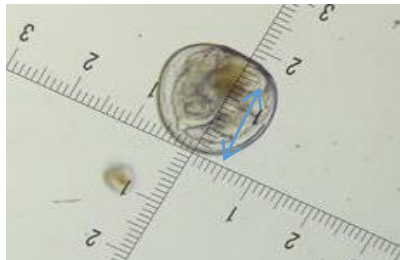
- Xác định sự tăng trưởng ấu trùng

Chiều dài (L) là khoảng cách lớn nhất từ đầu mép trước đến đầu mép sau của vỏ.

Công thức xác định tốc độ tăng trưởng bình quân ngày (DGR) ($\mu m/ngày$) về chiều dài của ấu trùng.

$$DGR = \frac{(L_2 - L_1)}{t_2 - t_1} \quad (2.14)$$

Trong đó: L_1, L_2 (μm) là kích thước chiều dài của ấu trùng tại thời điểm tương ứng T_1, T_2 (ngày).



Hình 2.4. Chiều dài vỏ của ấu trùng trai tại tượng vảy

- Tốc độ tăng trưởng đặc trưng về chiều dài (SGR) (%/ngày) của ấu trùng

$$SGR = \frac{(\ln L_2 - \ln L_1)100}{t_2 - t_1} \quad (2.15)$$

Trong đó: L_1 là kích thước của ấu trùng hay con giống (μm) tại thời điểm t_1 .

L_2 là kích thước của ấu trùng hay con giống (μm) tại thời điểm t_2 .

2.4.4. Phương pháp xác định mật độ tảo

Trước khi cho ấu trùng ăn, tảo được lấy mẫu và đếm để xác định mật độ và từ đó xác định được thể tích mỗi loài tảo cần cho ấu trùng trai ăn. Lượng mẫu được lấy là 5 mL/lần cho mỗi loài tảo. Tảo được lấy bằng micropipet 5mL cho vào cốc đốt và được cố định bằng dung dịch lugol trung tính để các tế bào tảo không vận động.

Tảo được đếm bằng buồng đếm hồng cầu Hirschmann. Lấy lamme đặt lên buồng đếm sau đó dùng pipet paster hút 1 ít dịch tảo đã được lắc đều và để cạnh lamme rồi bóp nhẹ quả bóp để dịch tảo tràn đều vào buồng đếm. Đếm tảo ở độ phóng đại 100 và 400 lần. Đếm tảo trong 25 ô lớn, mỗi ô lớn có 16 ô nhỏ. Đếm 3 lần và lấy giá trị trung bình.

- Công thức tính (đếm hết buồng đếm khi mật độ tảo thấp)

$$\text{Mật độ tảo (tb/mL)} = \text{số tế bào đếm được} \times 10^4 \quad (2.16)$$

- Công thức tính (khi mật độ tảo dày đếm tảo ở 4 ô 4 góc và 1 ô ở giữa)

$$\text{Mật độ tảo (tb/mL)} = \text{số tế bào đếm được ở 5 ô} / 5 \times 25 \times 10^4$$

2.4.5. Phương pháp xác định các yếu tố môi trường

Các thông số môi trường như nhiệt độ, độ mặn, DO, cường độ ánh sáng và pH được đo 2 lần/ngày, lúc 8h và 14 h. Nhiệt độ được đo bằng nhiệt kế thủy ngân độ chính xác $\pm 0,10^\circ\text{C}$. Độ mặn được đo bằng khúc xạ kế ATAGO master, độ chính xác $\pm 0,50\text{ppt}$.

pH được đo bằng bút đo pH độ chính xác $\pm 0,01$, DO được đo bằng máy đo Hanna độ chính xác $\pm 0,10\text{mgO}_2/\text{l}$. Cường độ ánh sáng được đo bằng máy đo cường độ ánh sáng Tenmars TM-223, độ chính xác $\pm 0,10$ lux.

2.5. Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu được lưu trữ và xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel 2013. Sử dụng phần mềm SPSS phiên bản 16.0 để so sánh sự sai khác các giá trị trung bình ở mức ý nghĩa $P < 0,05$. Kiểm định One-way ANOVA với phép thử Duncan cho dữ liệu có phân phối chuẩn (chiều dài và tốc độ sinh trưởng của ấu trùng), đối với số liệu tỷ lệ sống (%) không có phân bố chuẩn thì được chuyển về phân bố chuẩn bằng cách chuyển đổi số liệu thành Arcsin trước khi phân tích ANOVA.

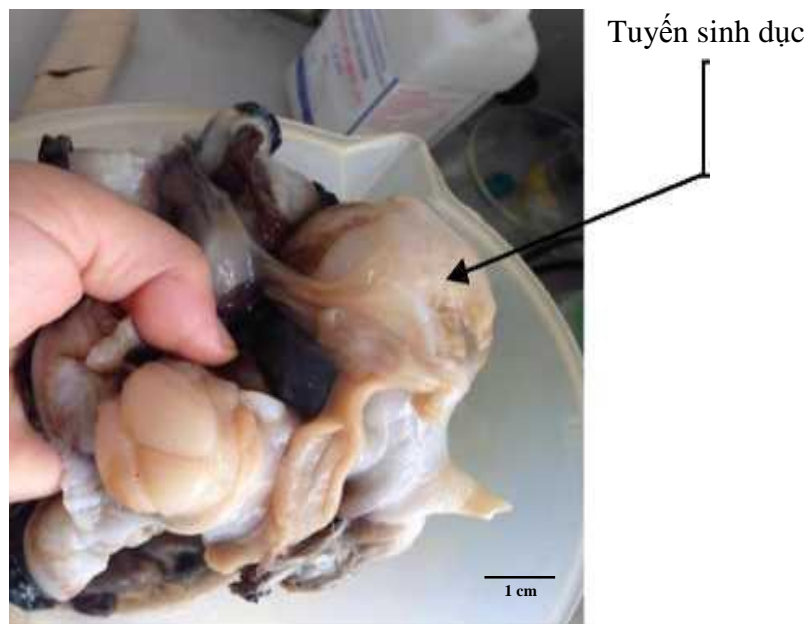
CHƯƠNG 3: KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Đặc điểm sinh học sinh sản của trai tai tượng vảy

3.1.1. Giới tính

3.1.1.1. Hình thái cấu tạo, vị trí tuyến sinh dục

Trai tai tượng vảy là loài lưỡng tính đồng thời tính dục chín trước. Tuyến sinh dục của trai tai tượng vảy bắt đầu phát triển khi kích thước vỏ đạt khoảng 10-20 cm, là một khối màu trắng sữa hay vàng nằm phía dưới cơ khép vỏ và nằm bên cạnh thận, xung quanh gốc chân về phía đỉnh vỏ. Khi thành thục sinh dục, tuyến sinh dục của trai tai tượng vảy căng phồng to, bao trùm toàn bộ khối nội tạng (Hình 3.1). Tuyến sinh dục đực và cái của trai tai tượng vảy chỉ có thể được phân biệt thông qua màu sắc khi trai thành thục. Phân biệt được giới tính đực cái của trai tai tượng vảy bằng cách lấy mẫu tuyến sinh dục soi trên kính hiển vi. Tuyến sinh dục cái bao gồm những hạt trứng to rõ phân bố xen kẽ giữa các nang buồng trứng, tuyến sinh dục đực bao gồm những tinh trùng vận động. Nếu tuyến sinh dục thành thục ở giai đoạn III, dùng mũi tiêm chích vào thấy những dòng tinh trùng chảy ra và trứng rời từng hạt (Ellis, 1998; Lucas và Southgate, 2003).



Hình 3.1. Tuyến sinh dục của trai tai tượng vảy

3.1.1.2. Các chỉ tiêu hình thái và giới tính

Bảng 3.1. Các chỉ tiêu hình thái và giới tính của trai tai tượng vảy (n=30)

Thời gian	L (mm)	Wtt (kg)	Độ béo (%)	Tỷ lệ đực (%)	Tỷ lệ cái (%)	Tỷ lệ lưỡng tính (%)
1/2018	223,3±77,5	1,657±0,65	14,94±5,47	53,33	3,33	43,34
2/2018	219,3±80,7	1,512±0,60	14,93±7,78	50,00	6,67	43,33
3/2018	216,5±77,5	1,616±0,59	15,81±6,59	43,33	10,00	46,67
4/2018	215,5±78,81	1,723 ±0,58	14,93± 8,26	40,00	10,00	50,00
5/2018	215,5±48,08	1,893±0,37	18,78±7,90	33,33	13,33	53,33
6/2018	226,5±48,08	2,043±0,37	17,70±6,90	30,00	13,33	56,67
7/2018	229,7±54,58	1,946±0,44	16,20±6,84	23,33	13,33	63,33
8/2018	218,2±61,37	1,844±0,45	17,80±7,06	26,67	16,67	56,67
9/2018	229,6±60,7	1,944±0,44	16,19±6,78	30,00	13,33	56,67
10/2018	228,3±57,44	1,820±0,48	15,35±6,33	36,67	10,00	53,33
11/2018	238,2±73,37	2,024±0,65	15,01±6,30	40,00	10,00	50,00
12/2018	228,2±63,40	1,824±0,61	15,39±6,49	43,33	10,00	46,67
TB	224,8±65,7	1,820±0,53	16,04±6,84	37,5±9,23	10,83±3,52	51,67±6,11

Số liệu trong Bảng được trình bày dưới dạng: giá trị trung bình ± độ lệch chuẩn

Bảng 3.1 cho thấy rằng kích thước chiều dài của trai tai tượng vảy có sự không đồng đều giữa các tháng nghiên cứu. Chiều dài trung bình nhỏ nhất là vào tháng 4 (215,5 ± 78,81mm) và lớn nhất là vào tháng 11 (238,2 ± 73,37mm). Chiều dài trung bình của 12 tháng nghiên cứu là 224,8 ± 65,7mm. Khối lượng toàn thân tăng tỷ lệ thuận với kích thước chiều dài, lớn nhất ở tháng 11 (2,024 ± 0,65 kg/ cá thể. Tuy nhiên độ béo tăng trong những tháng rơi vào mùa vụ sinh sản (từ tháng 5-tháng 9) (Trai tích lũy chất cho sinh sản). Trong 12 tháng nghiên cứu thì tỷ lệ lưỡng tính chiếm ưu thế (51,67 ± 6,11%), tỷ lệ cá thể đực là (37,5 ± 9,23%) và thấp nhất là tỷ lệ cá thể cái, chỉ 10,83 ± 3,52 %.

3.1.2. Các giai đoạn phát triển tuyến sinh dục của trai tai tượng vảy

Kết quả nghiên cứu thông qua quan sát tiêu bản cắt lát và so sánh đối chiếu với kết quả nghiên cứu của Nash và cộng tác viên (1988) và Norton và Jones (1992), tuyến sinh dục của trai tai tượng vảy được chia làm 5 giai đoạn:

Giai đoạn I (hay còn gọi là giai đoạn chưa hoạt động): Về hình thái ngoài, tuyến sinh dục có kích thước nhỏ, không màu sắc. Giai đoạn này chưa xuất hiện tế bào sinh sản và mô tuyến sinh dục chưa phát triển. Tuyến sinh dục bao gồm các mô liên kết và các hạt là các chất cần thiết chiếm ưu thế. Giai đoạn này chỉ thấy các túi nang nhỏ, chứa

các tế bào mầm để hình thành tế bào trứng và tinh trùng sau này. Đặc trưng giai đoạn I là chưa phân biệt được cá thể đực và cá thể cái.

Giai đoạn II: Đây là giai đoạn sinh trưởng. Tuyến sinh dục có màu trắng nhạt và rất khó phân biệt các thể đực và cái bằng mắt thường. Tuyến sinh dục cái: Các nang trứng còn trống rỗng và nằm dọc các noãn bào đang phát triển. Quan sát tế bào sinh dục thấy trứng có hình da diện, méo mó dày đặc, chưa phân biệt rõ ràng nhân, kích thước trứng đạt 50-60 μm . Tuyến sinh dục đực: Các nang chứa tinh trùng rỗng, nằm dọc với các tinh nguyên bào, tinh trùng chỉ là những chấm nhỏ, không chuyển động.

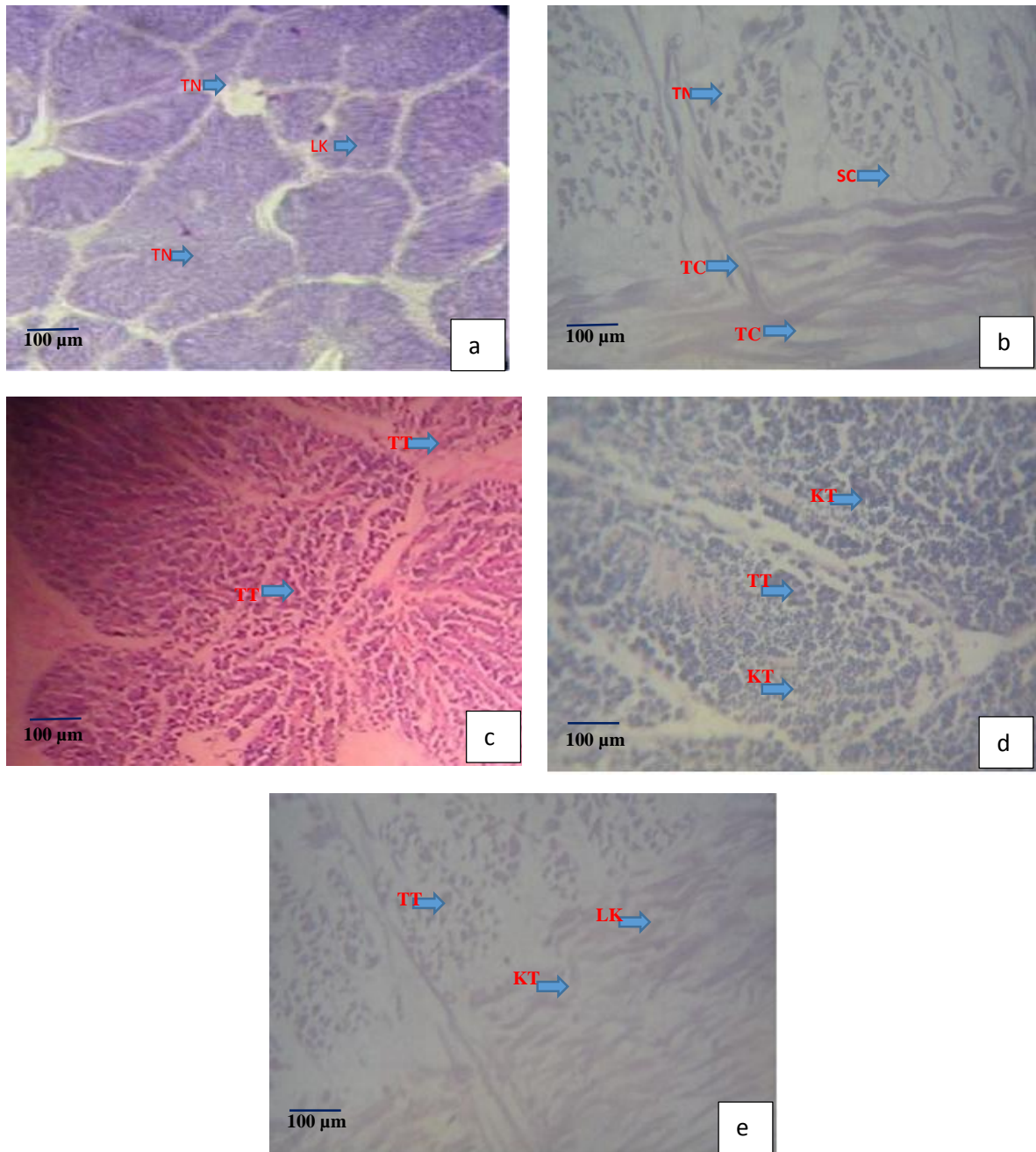
Giai đoạn III: Giai đoạn phát triển, lúc này kích thước tuyến sinh dục đã tăng nhanh, có màu hơi trắng sữa.

Tuyến sinh dục cái: Giai đoạn này tuyến sinh dục khá rõ (tăng lên cả về khối lượng và kích thước), chứa đầy noãn bào. Giai đoạn này quá trình tổng hợp noãn bào diễn ra mạnh. Lớp nguyên sinh chất bắt đầu xuất hiện những hạt noãn hoàng làm cho tế bào trứng trở nên ưa kiềm và bắt màu đậm với Eosin. Các tế bào trứng còn nhỏ và có hình thon dài bắt đầu dày dần lên trong ống các nang trứng. Các noãn bào đang trong giai đoạn phát triển dính vào thành các nang trứng, có kích thước đầy đủ đường kính đạt 90-100 μm . Tuyến sinh dục đực: Các tinh bào dần chiếm ưu thế, có một lượng nhỏ tinh trùng trong các nang chứa tinh.

Giai đoạn IV: (Giai đoạn thành thục và sinh sản): Tuyến sinh dục cái: buồng trứng đã chín hoàn toàn, chúng phát triển đến mức tối đa. Khi mới bước vào giai đoạn IV các tế bào trứng phần lớn ở dạng hình đa giác mặc dù vẫn còn một số có hình thon dài. Ở giữa giai đoạn IV các tế bào trứng đều có dạng hình tròn hoặc elip và xếp sát lại và dày đặc với nhau trong buồng trứng. Thành của các nang trứng vốn dày và trơn mượt sẽ trở nên mỏng hơn và hơi nhám. Đường kính của trứng đạt cực đại. Tuyến sinh dục đực: Tinh bào phần lớn chứa nhiều tinh trùng trưởng thành. Kích thước đầu tinh trùng đạt khoảng 3 μm . Cuối giai đoạn này, các tinh trùng được giải phóng ra khỏi nang tinh, trong nang tinh thỉnh thoảng thấy sự xuất hiện của các bạch cầu hoặc tinh trùng vẫn còn sót lại rải rác. các trứng được phóng ra khỏi nang chứa trứng.

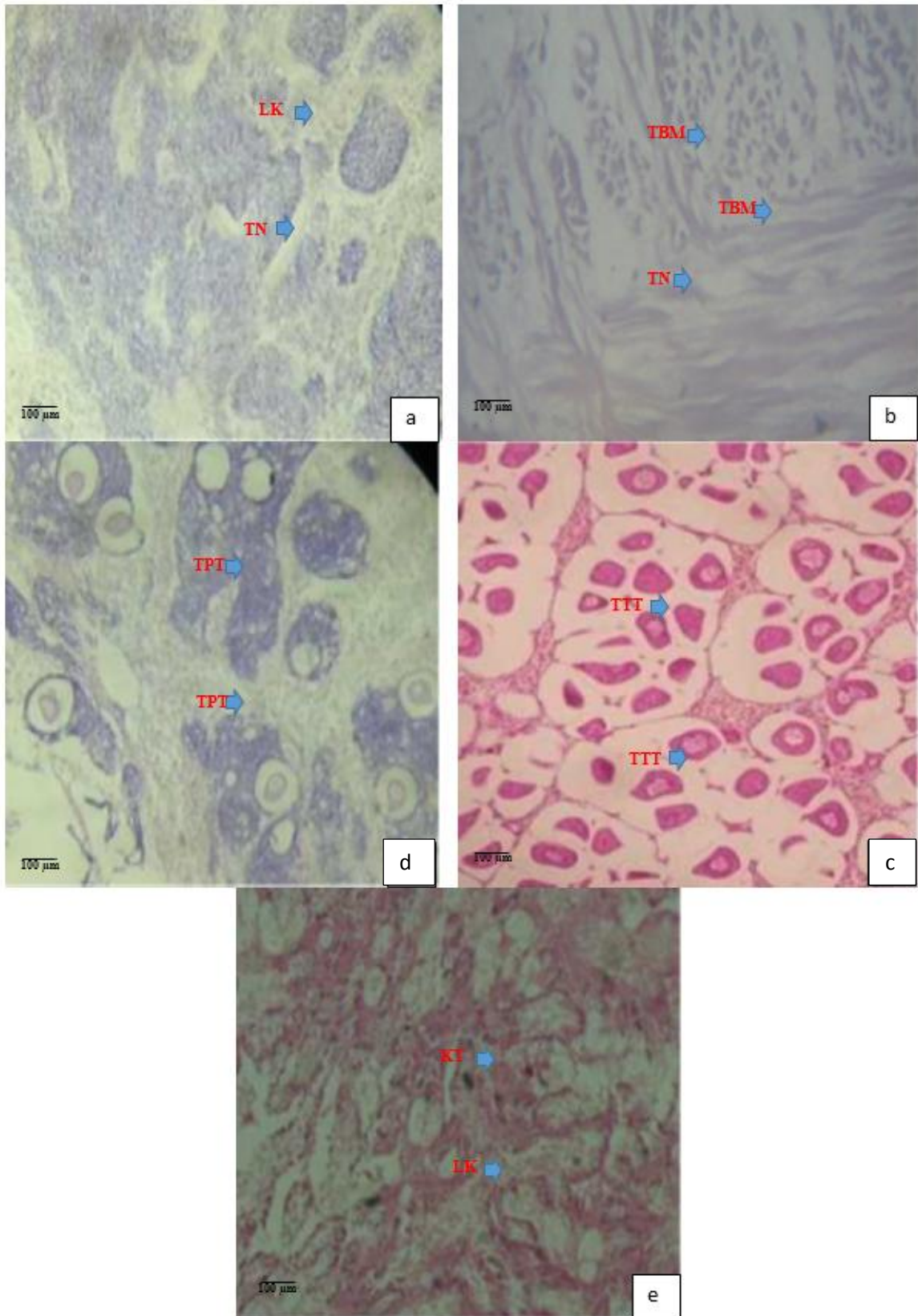
Giai đoạn V: Giai đoạn thoái hóa, giai đoạn sau đẻ. Tuyến sinh dục cái: Các tế bào trứng đã được giải phóng ra khỏi nang trứng, thành nang trứng rất mỏng và nhám, hoặc có thể biến mất. Phần lớn các nang trứng đều trống rỗng hoặc biến mất mặc dù có thể vẫn còn một số trứng chưa được giải phóng. Một số tế bào trứng không được giải phóng bắt đầu bị thoái hóa. Tuyến sinh dục đực: Các tinh trùng được giải phóng ra khỏi

nang tinh, trong nang tinh trong suốt thấy sự xuất hiện của các bạch cầu hoặc tinh trùng vẫn còn sót lại rải rác.



Hình 3.2 Các giai đoạn phát triển tuyến sinh dục đực trai tai tượng vảy

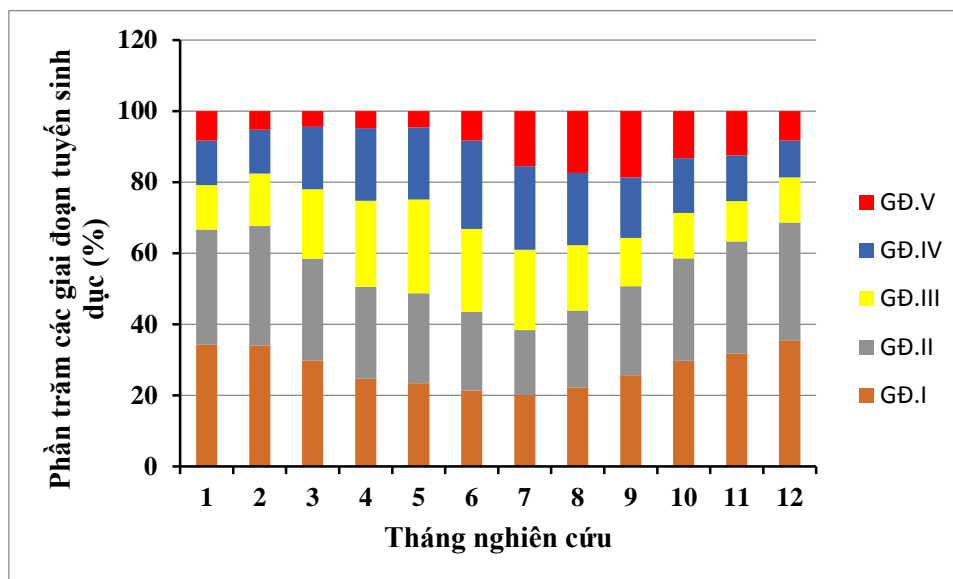
a) Giai đoạn I (Giai đoạn chưa phát triển, các (TN) còn nhỏ và chứa các tế bào mầm và các mô liên kết (LK)); **b) Giai đoạn II** (Giai đoạn phát triển, Túi nang chứa tinh bào sơ cấp (SC) và thứ cấp (TC)); **c) Giai đoạn III** (Giai đoạn thành thực, Các tinh bào chiếm ưu thế, tinh trùng trong các nang chứa tinh (TT)); **d) Giai đoạn IV** (Giai đoạn sinh sản, Tinh bào chứa nhiều tinh trùng trưởng thành, chuẩn bị phóng thích ra ngoài, cuối giai đoạn có nhiều khoảng trống (KT)); **e) Giai đoạn V** (Giai đoạn thoái hóa, sau khi sinh sản, còn sót lại ít tinh trùng, mô liên kết bắt đầu xuất hiện)



Hình 3.3. Các giai đoạn phát triển của tuyến sinh dục cái trai tai tượng vầy
a) Giai đoạn I (chưa phát triển, túi nang (TN) chứa các hạt và mô liên kết (LK)); **b) Giai đoạn II** (Giai đoạn phát triển, Túi nang (TN) lớn lên chứa các tế bào mầm (TBM)); **c) Giai đoạn III** (Giai đoạn thành thực) trứng phát triển to lên (TPT); **d) Giai đoạn IV** (Giai đoạn sinh sản) tuyến sinh dục chứa trứng thành thực (TTT); **e) Giai đoạn V** (Giai đoạn thoái hóa), tuyến sinh dục chứa nhiều khoảng trống (KT), mô liên kết xuất hiện (LK)

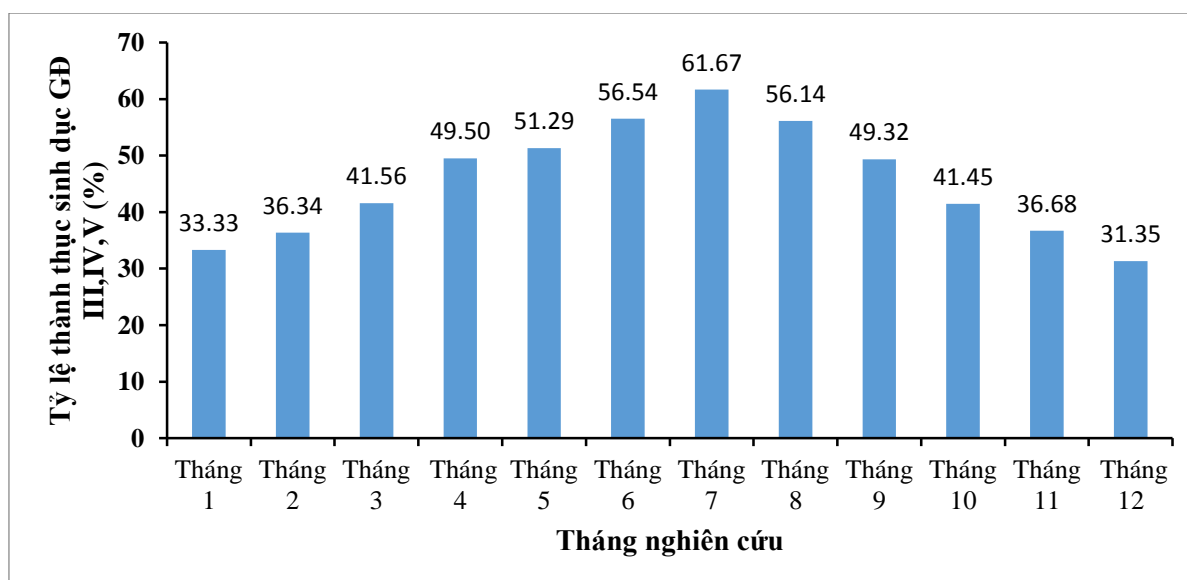
3.1.3 Mùa vụ sinh sản

Tỷ lệ thành thực sinh dục của trai tai tượng vảy qua các giai đoạn phát triển tuyến sinh dục được thể hiện ở Hình 3.4.



Hình 3.4 Tỷ lệ thành thực sinh dục của trai tai tượng vảy qua các tháng nghiên cứu

Hình 3.4 thể hiện tỷ lệ phân trăm khác nhau của từng giai đoạn phát triển tuyến sinh dục trai tai tượng vảy theo thời gian nghiên cứu. Phần trăm số cá thể có tuyến sinh dục ở giai đoạn I và II nhiều (lớn hơn 28%) ở các tháng nghiên cứu 9 đến tháng 4 năm sau. Thời gian từ tháng 5-9, số các thể có tuyến sinh dục ở giai đoạn I, II ít hơn các tháng còn lại. Ngược lại, phần trăm số cá thể có tuyến sinh dục ở giai đoạn III, IV cao nhất trong khoảng thời gian từ tháng 5-9. Riêng phần trăm số cá thể có tuyến sinh dục ở giai đoạn V cao nhất là từ tháng 6-tháng 10.



Hình 3.5. Mùa vụ sinh sản của trai tai tượng vảy

Hình 3.5 cho thấy rằng tỷ lệ thành thực sinh dục của trai tai tượng vảy qua 12 tháng nghiên cứu thấp nhất là ở tháng 12 (31,35%) và cao nhất ở tháng 7 (61,67%). Từ tháng 5 đến tháng 8, tỷ lệ thành thực sinh dục >50%. Vào tháng 12 tỷ lệ thành thực sinh dục của những cá thể có tuyến sinh dục ở giai đoạn III, IV, và V là thấp nhất, chỉ đạt 31,35%, sau đó tăng đến tháng 7 với giá trị 61,67% và giảm dần về tháng 12 lại. Kết quả 5 đến quá đó cho thấy trai tai tượng vảy có thể sinh sản quanh năm nhưng tập trung chủ yếu vào khoảng tháng 5 - tháng 8 hàng năm. Kết quả này phù hợp với kết quả của Nguyễn Quang Đông (2013) cho rằng trai tai tượng vảy có thể sinh sản rải rác gần như quanh năm, từ tháng 3-tháng 11, tập trung chủ yếu vào khoảng tháng 5- tháng 8. Theo El-Sokkary và cộng tác viên (2023), quá trình phát triển tuyến sinh dục của trai tai tượng vảy bị chi phối rất lớn bởi yếu tố môi trường, đặc biệt nhất là về nhiệt độ và thức ăn. Tại Hy Lạp, Trai tai tượng vảy sinh sản gần như quanh năm nhưng tập trung chính là vào mùa đông (El-Sokkary và cộng tác viên, 2023).

3.1.4 Sức sinh sản tuyệt đối, tương đối

Kết quả khảo sát phân tích sức sinh sản tuyệt đối và tương đối của trai tai tượng vảy được thể hiện ở Bảng 3.2

Bảng 3.2. Sức sinh sản tuyệt đối, tương đối của trai tai tượng vảy

Tổng số mẫu (con)	Nhóm kích thước (cm)	Sức sinh sản tuyệt đối (trứng/cá thể)	Sức sinh sản tương đối	
			Trứng/W g toàn thân	Trứng/W g phần mềm
5	11-15	431.000 ^a ± 24.303	344,98 ^a ± 7,7	1.364 ^a ± 35,03
5	16-20	2.338.000 ^b ± 198.957	1.188,7 ^b ± 52,6	5.559 ^b ± 169,4
5	21-25	4.408.000 ^c ± 253.700	1.979,8 ^c ± 46,3	8.475,7 ^c ± 226,8
5	26-30	7.277.500 ^d ± 116.270	2.810,6 ^d ± 31,1	12.923 ^d ± 1.038
5	31-35	11.605.000 ^e ± 243.361	3.851,2 ^e ± 80,8	16.518 ^e ± 138,8
Trung bình		5.211.900 ± 167.319	2.035 ± 44,0	8.968 ± 322,6

Bảng 3.2 cho thấy rằng sức sinh sản tuyệt đối của trai tai tượng vảy tăng lên theo nhóm kích thước. Sức sinh sản tuyệt đối, tương đối theo khối lượng toàn thân và khối

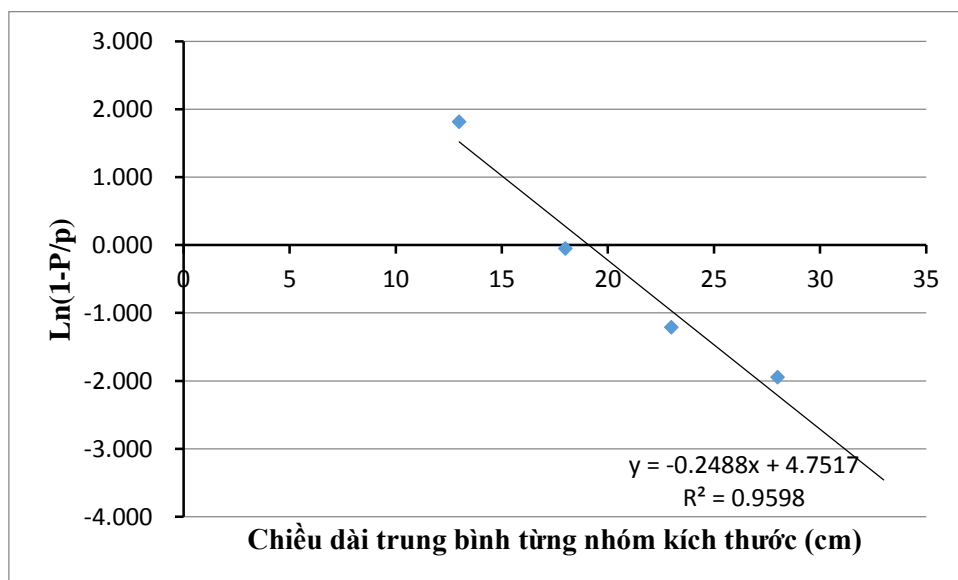
lượng thân mềm cao nhất là ở nhóm trai kích thước 31-35 cm/cá thể, trung bình lần lượt là $11.605.000 \pm 243.361$ trứng/cá thể, $3.851,2 \pm 80,8$ trứng/ g khối lượng toàn thân và $16.518 \pm 138,8$ trứng/g khối lượng thân mềm. Phân tích ANOVA một yếu tố với phép thử Duncan cho thấy sức sinh sản tuyệt đối, tương đối ở tất cả các nhóm kích thước đều khác nhau có ý nghĩa thống kê sinh học ($P < 0,05$). Giá trị trung bình của sức sinh sản tuyệt đối, tương đối theo khối lượng toàn thân và khối lượng thân mềm lần lượt là $5.211.900 \pm 167.319$ trứng/cá thể; $2.035 \pm 44,0$ trứng trong 1 g khối lượng toàn thân và $8.968 \pm 322,6$ trứng trong 1g khối lượng thân mềm.

3.1.5 Kích thước thành thực sinh dục lần đầu

Kích thước thành thực sinh dục lần đầu của trai tai tượng vảy được thể hiện ở Bảng 3.3 và Hình 3.6.

Bảng 3.3 Tương quan thành thực sinh dục của trai tai tượng vảy theo nhóm kích thước

Nhóm kích thước L (cm)	Tỷ lệ cá thể ở giai đoạn III,IV	Tỷ lệ cá thể ở giai đoạn III,IV quy đổi (P)	Ln ((1-P)/P)
11-15	0,10	0,14	1,8153
16-20	0,37	0,51	-0,0533
21-25	0,55	0,77	-1,2083
26-30	0,61	0,88	-1,9459
31-35	0,71	1,00	



Hình 3.6. Kích thước thành thực sinh dục lần đầu của trai tai tượng vảy

Bảng 3.3 cho thấy tỷ lệ cá thể thành thực sinh dục ở giai đoạn III,IV khác nhau giữa các nhóm kích thước, cao nhất ở nhóm kích thước 31-35 cm (0,71) và thấp nhất ở

nhóm kích thước 10-15 cm (0,10). Vì thời gian nghiên cứu là mùa vụ sinh sản, nhưng tỷ lệ số cá thể thành thực không đạt 100% theo lý thuyết nên tỷ lệ thành thực được quy đổi thành giá trị P (100%/ tỷ lệ thành thực cao nhất trong các nhóm kích thước nghiên cứu nhân với tỷ lệ thành thực ở từng kích thước).

Kết quả hiển thị tại Hình 3.6 cho thấy rằng kích thước thành thực sinh dục lần đầu của loài trai tai tượng vảy được xác định theo chiều dài vỏ $L=4,7517/0,2488=19,1$ cm. Kết quả cũng tương tự với kết quả của Nguyễn Quang Đông (2013) khi xác định kích thước thành thực lần đầu của trai tai tượng vảy theo chiều dài của vỏ là 20 cm. Đối với loài trai tai tượng nhỏ nhóm kích thước sinh sản lần đầu khoảng 14-16 cm (tương ứng khoảng 6-7⁺ tuổi), đối với loài trai tai tượng nghệ nhóm kích thước sinh sản lần đầu khoảng 9-11 cm (tương ứng 4-5⁺ tuổi) (Nguyễn Quang Hùng, 2011). Theo Hình 3.4, giá trị $R^2=0,9598$ cho thấy mối tương quan chặt chẽ giữa kích thước và tỷ lệ thành thực sinh dục của trai tai tượng vảy.

3.1.6 Kết quả theo dõi quá trình phát triển phôi và ấu trùng trai tai tượng vảy

Bảng 3.4 Diễn biến của một số yếu tố môi trường trong quá trình theo dõi phát triển phôi và ấu trùng trai tai tượng vảy

Yếu tố môi trường	Buổi sáng	Buổi chiều
Nhiệt độ (°C)	27- 28	28-28,5
Độ mặn (ppt)	30-33	30-33
pH	7,5- 7,8	7,9-8,1

Các yếu tố môi trường khi theo dõi đảm bảo tốt cho sự phát triển của phôi và ấu trùng (Isamu, 2008).

Quá trình phát triển phôi

Trứng thụ tinh co tròn lại, xuất hiện màng thụ tinh bao bọc bên ngoài trứng, nhân tan dần trong nguyên sinh chất. Sau thời gian 25 phút từ lúc thụ tinh, cực cầu thứ nhất bắt đầu xuất hiện, sau đó 20 phút sau xuất hiện cực cầu thứ hai, sau khi thụ tinh 2 giờ 30 phút trứng phân cắt 2 tế bào, trứng tiếp tục phân cắt nhiều tế bào sau 7 giờ, phôi nang xuất hiện sau 12 giờ 30 phút, phôi vị sau 15 giờ. Ở thời kì phôi vị, phôi có dạng hình cầu hoặc hình bầu dục, trên bề mặt phủ tiêm mao nên phôi có thể vận động xoay tròn trong nước (Xem Hình 3.5). Đường kính trứng thụ tinh khoảng 90-100 μ m.

Quá trình phát triển các giai đoạn ấu trùng

* **Ấu trùng đĩa bơi (Trochophora)**: Sau khi thụ tinh 10-12 giờ phôi nở ra ấu trùng bánh xe. Ấu trùng có dạng hình thoi, toàn thân bao phủ bởi các tiêm mao, có nhiều tiêm

mao tập trung ở vành tiêm mao. Ấu trùng vận động nhanh và liên tục, xoay xung quanh trục cơ thể. Giai đoạn này kéo dài khoảng 10 giờ thì chuyển sang giai đoạn ấu trùng chữ D.

* **Ấu trùng chữ D (Veliger):** Ấu trùng có dạng chữ D, có 2 nắp vỏ trong suốt, vành tiêm mao nằm giữa 2 nắp vỏ. Khi vận động ấu trùng thò vành tiêm mao ra ngoài, ấu trùng vận động liên tục nhờ vành tiêm mao. Kích thước ấu trùng chữ D của trai tai tượng vảy tương đối lớn, xấp xỉ bằng 130-140 μm và mất khoảng 1-2 ngày sau khi thụ tinh

***Giai đoạn ấu trùng Pediveliger,** Ấu trùng Veliger phát triển xuất hiện một cơ chân, chuyển sang giai đoạn ấu trùng Pediveliger, sau đó chuyển dần xuống nền đáy sau khoảng 7-8 ngày kể từ khi thụ tinh hình thành ấu trùng bám. Kích thước ấu trùng giai đoạn này là 200-230 μm

***Ấu trùng hoàn thành quan hệ cộng sinh:** giai đoạn này ấu trùng đã chuyển xuống đáy hoàn toàn. Xung quanh màng áo xuất hiện các vết màu nâu là các tế bào cộng sinh, có thể quan sát bằng mắt thường. Trai con trải qua thời gian 8-14 ngày và đạt kích thước 230-300 μm . Giai đoạn này ấu trùng tìm vật bám thích hợp bám vào.

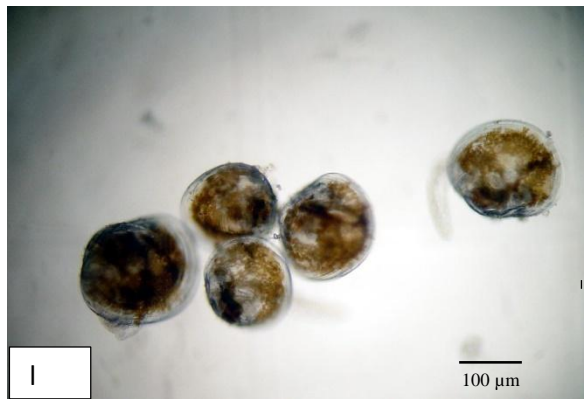
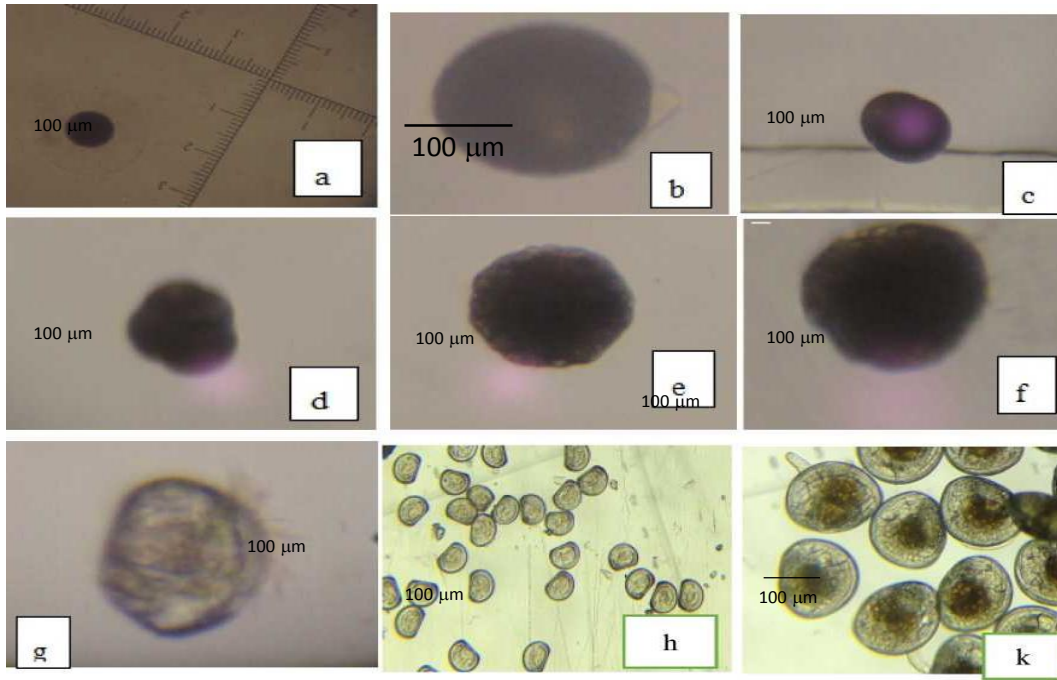
***Giai đoạn trai giống 1-2 cm:** thời gian này, ấu trùng bám cố định vào vật bám và sinh trưởng phát triển nhờ chất dinh dưỡng từ quá trình quang hợp của tảo cộng sinh. Trai con đạt kích thước 1-2 cm với thời gian 2-3 tháng.

***Trai giống 2-4 cm:** sau khoảng 3-5 tháng trai con đạt kích thước 2-4cm

Toàn bộ quá trình phát triển phôi và ấu trùng trai tai tượng vảy được thể hiện ở Bảng 3.5 và Hình 3.7.

Bảng 3.5 Thời gian biến thái, kích thước của phôi, ấu trùng trai tai tượng vảy

Giai đoạn	Kích thước (μm)	Thời gian từ khi thụ tinh
Trứng thụ tinh	97,00 \pm 4,70	20-35 phút
Cực cầu 1	98,34 \pm 3,56	35 phút
2 Tế bào		2 giờ 30 phút
Nhiều tế bào		7 giờ
Phôi nang		12 giờ 30 phút
Phôi vị		15 giờ
Ấu trùng đĩa bơi (Trochophora)		22 giờ
Ấu trùng chữ D (Veliger)	130-140	32 giờ
Ấu trùng Pediveliger	200-230 μm	7-8 ngày
Ấu trùng hoàn thành quan hệ cộng sinh	230-300 μm	8-14 ngày
Trai giống	0,5-1cm	2-3 tháng
Trai giống	1-2cm	3-4 tháng
Trai giống	2-4cm	4-6 tháng



Hình 3.7. Sự phát triển phôi và ấu trùng trai tại tượng vảy

a) Trứng thụ tinh; b) Trứng 1 cực cầu; c) Trứng phân cắt 2 tế bào; d) Trứng phân cắt 4 tế bào; e) Giai đoạn phôi nang; f) Giai đoạn phôi vị; g) Ấu trùng đĩa bơi; h) Ấu trùng chữ D; k) Ấu trùng có chân; l) trai hoàn thành quan hệ cộng sinh (0,2-0,5mm); m) Trai giống 0,5-1 cm; n) Trai giống 1-2 cm p) Trai giống 2-4cm.

Bảng 3.5 và Hình 3.7 thể hiện giai đoạn phát triển phôi và ấu trùng của trai tai tượng vảy trong điều kiện nhân tạo. Ấu trùng chữ D hình thành sau khoảng 32h (kích thước chiều dài 130-140µm) tính từ lúc thụ tinh; Sau khoảng thời gian 7-8, ấu trùng có chân (Pediveliger) xuất hiện với kích thước 200-230 µm. Sau đó ấu trùng xuống đáy và hoàn thành quan hệ cộng sinh với vi tảo, kích thước ấu trùng giai đoạn này đạt 230-300µm (7-14 ngày). Con non 0,5-1cm xuất hiện khoảng 2-3 tháng từ lúc thụ tinh, và đạt 2-4cm sau 4-6 tháng. Theo thông tin từ Ling và cộng tác viên (2021), trai tai tượng vảy đạt kích thước 74,43-85,38 mm sau một năm. Kết quả về kích thước chiều dài trong luận án cao hơn, có thể do điều kiện chăm sóc tốt hơn và những điều kiện ương nuôi tốt hơn, đặc biệt nhiệt độ thích hợp hơn.

3.2 Cơ sở khoa học sinh sản nhân tạo trai tai tượng vảy

3.2.1 Nuôi vỗ thành thực sinh dục trai bố mẹ

3.2.1.1 Một số yếu tố môi trường trong quá trình nuôi vỗ

Bảng 3.6. Các yếu tố môi trường trong bể nuôi vỗ

Chỉ tiêu	Nhiệt độ (°C)	Độ mặn (ppt)	pH	DO (mg/l)
Giao động	27,5-32,5	30,0-33,0	8,1-8,35	5,0-6,5
Trung bình	30,7 ± 0.6	32,4 ± 0,3		5,8 ± 0,3

Các yếu tố môi trường thể hiện trong Bảng 3.6 phù hợp với sinh trưởng và phát triển trai tai tượng vảy.

Theo Ellis (1997), trai tai tượng nói chung phân bố tự nhiên tại những vùng biển nhiệt đới với độ trong cao. Một số yếu tố môi trường cần cho sinh trưởng và phát triển tốt nhất là nhiệt độ giao động từ 25-30 °C, độ mặn 32-35 ppt và pH 8,1-8,5 (Ellis, 1997). Các yếu tố môi trường bể nuôi vỗ trong báo cáo này đều nằm trong khoảng biến thiên trên nên phù hợp cho sinh trưởng và phát triển. Vì thí nghiệm nuôi vỗ trong các điều kiện cường độ ánh sáng khác nhau và bố trí ngoài trời với mức độ che lưới lan khác nhau vào ban ngày và ban đêm dùng ánh sáng đèn nên dẫn đến nhiệt độ cũng biến động theo hướng tăng giảm của ánh sáng. Mặc dù ban đêm có dùng đèn chiếu sáng nhưng

nền nhiệt ban đêm thấp nên nhiệt độ có thấp hơn ban ngày. Với nghiệm thức cường độ ánh sáng 2.000 lux, nhiệt độ giao động ở ngưỡng thấp 27,5-29,5 °C. Ở nghiệm thức cường độ ánh sáng 4.000 lux, nhiệt độ giao động lớn hơn, 28,0-30,5. Nhiệt độ cao nhất và biên độ lớn nhất là ở nghiệm thức với cường độ ánh sáng 6.000 lux (28,5-32,5 °C).

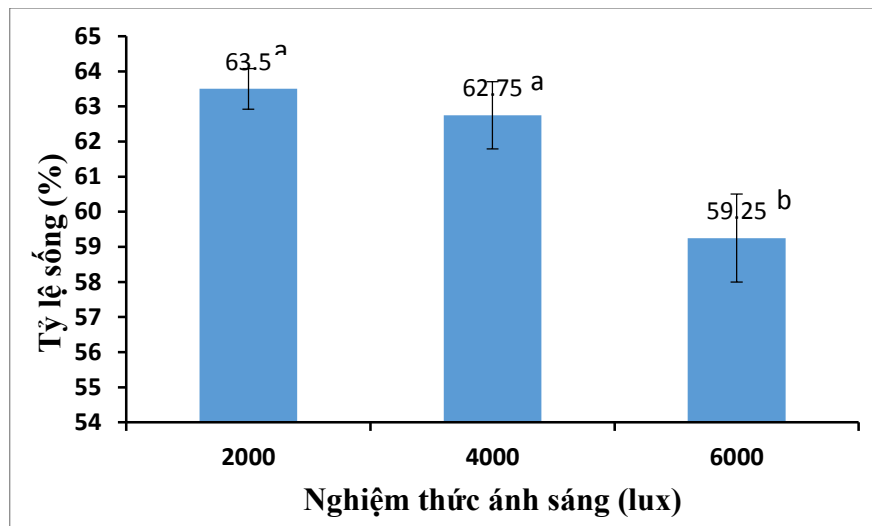
3.2.1.2 Kết quả ảnh hưởng của cường độ ánh sáng (2.000, 4.000, 6.000 lux) đến tỷ lệ sống, độ béo và tỷ lệ thành thực sinh dục của trai trong nuôi vỗ (TN1)

Bảng 3.7. Tỷ lệ sống, độ béo và tỷ lệ thành thực sinh dục trai nuôi vỗ ở các nghiệm thức cường độ ánh sáng khác nhau

Chỉ tiêu đánh giá	Cường độ ánh sáng (lux)		
	2.000	4.000	6.000
Tỷ lệ sống (%)	63,50 ^a ± 0,58	62,75 ^a ± 0,96	59,25 ^b ± 1,27
Độ béo (%)	19,25 ^a ± 0,50	16,75 ^b ± 1,50	15,25 ^b ± 0,50
Tỷ lệ thành thực (%)	52,75 ^a ± 0,50	48,50 ^a ± 1,30	44,25 ^b ± 0,50

Số liệu trình bày: trung bình ± sai số chuẩn. Số liệu có chữ cái khác nhau trong cùng hàng thể hiện sự sai khác có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$).

Bảng 3.7 cho thấy rằng cường độ ánh sáng có ảnh hưởng đến các chỉ tiêu tỷ lệ sống, độ béo và tỷ lệ thành thực trong nuôi vỗ thành thực sinh dục trai tai tượng vẩy. Độ béo trai nuôi vỗ cao nhất là ở nghiệm thức cường độ ánh sáng 2.000 lux (19,25 ± 0,50%) và khác nhau có ý nghĩa thống kê so với 2 nghiệm thức còn lại. Giá trị độ béo ở nghiệm thức 4.000 lux (16,75 ± 1,50%) cao hơn giá trị độ béo ở nghiệm thức 6.000 lux (15,25 ± 0,50%) và sự sai khác này không có ý nghĩa thống kê ($P > 0,05$). Tuy nhiên diễn biến các giá trị tỷ lệ thành thực sinh dục trong các cường độ ánh sáng có khác. Tỷ lệ thành thực sinh dục ở nghiệm thức 2.000 lux là cao nhất (52,75 ± 0,50%), nhưng không sai khác có ý nghĩa thống kê so với tỷ lệ thành thực ở nghiệm thức 4.000 lux (48,50 ± 1,30). Tỷ lệ thành thực thấp nhất là ở nghiệm thức 6.000 lux (44,25 ± 0,50) và sai khác có ý nghĩa thống kê so với 2 nghiệm thức còn lại ($P < 0,05$).



Hình 3.8 Tỷ lệ sống trai nuôi vỗ ở 3 cường độ ánh sáng khác nhau

Tỷ lệ sống của trai nuôi ở nghiệm thức 2.000 lux là cao nhất ($63,50 \pm 0,58\%$) và sự khác nhau không có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức 4.000 lux ($62,75 \pm 0,96$) ($P > 0,05$). Tỷ lệ sống thấp nhất ở nghiệm thức 6.000 lux, chỉ đạt $59,25 \pm 0,50$ và khác nhau có ý nghĩa thống kê so với hai nghiệm thức có cường độ ánh sáng nhỏ hơn ($P < 0,05$).

Trai tai tượng nói chung và trai tai tượng vảy nói riêng phân bố tự nhiên tại những vùng rạn san hô cạn, nơi có ánh sáng mặt trời chiếu tới. Vì chúng là những động vật thân mềm hai mảnh vỏ nên có khả năng dùng mang để lọc thức ăn nuôi cơ thể. Ngoài ra, trai tai tượng còn thu nhận dinh dưỡng từ các vi tảo cộng sinh (*Symbiodinium* sp.) sống trên mô màng áo của cơ thể trai (Fitt, 1988). Tảo cộng sinh trên màng áo của trai thực hiện chức năng quang hợp, tạo ra dưỡng chất cần thiết như đường, axit amin, axit béo, sau đó, một phần dinh dưỡng này sẽ được phóng trực tiếp vào mạch máu của trai tai tượng và phần còn lại được thoát ra qua màng tế bào của tảo để trai hấp thu (Klumpp et al, 1992).

Trong quá trình nuôi vỗ trai thành thực sinh dục, ngoài việc bổ sung nguồn vi tảo (tảo được nuôi cấy) và mùn bã hữu cơ (thông qua bơm nước tự nhiên không lọc) làm thức ăn thì người nuôi cũng phải bón thêm môi trường dinh dưỡng như Đạm, Lân (Heslinga et al., 1990; Belda et al., 1993; Fitt et al., 1993; Knop, 1996) và bố trí chiếu sáng thích hợp để tảo cộng sinh quang hợp bổ sung dưỡng chất cho trai sinh trưởng và hình thành các sản phẩm sinh dục (Ellis, 1998). Cường độ ánh sáng phù hợp thì trai phát triển tốt và tỷ lệ thành thực cao, sản phẩm sinh dục đạt chất lượng. Ngược lại nếu ánh sáng không phù hợp thì trai không những không thành thực mà còn biểu hiện phai màng áo, thậm chí chết. Cường độ ánh sáng yếu dẫn đến không đủ dưỡng chất do tảo quang hợp kém. Nếu ánh sáng quá mạnh dẫn đến nhiệt độ tăng, rong phát triển nhiều, tiêu hao ô xy, dẫn đến hàm lượng ô xy hòa tan trong nước giảm. Rong phát triển nhiều còn lấy đi một lượng dinh dưỡng trong nước, ảnh hưởng tiêu cực đến quá trình quang hợp của vi tảo cộng sinh (Braley, 1992).

3.2.2 Kích thích sinh sản

3.2.2.1 Ảnh hưởng các phương pháp kích thích khác nhau đến thời gian hiệu ứng kích thích, tỷ lệ đẻ, tỷ lệ thụ tinh, tỷ lệ nở và sức sinh sản hữu hiệu (TN2)

Bảng 3.8 Hiệu quả sinh sản của trai tai tượng vảy sử dụng các phương pháp kích thích sinh sản khác nhau

Nghiệm thức thí nghiệm	Chỉ tiêu đánh giá				
	Thời gian hiệu ứng (phút)	Tỷ lệ đẻ (%)	Tỷ lệ thụ tinh (%)	Tỷ lệ nở (%)	Sức sinh sản hữu hiệu (ấu trùng D x 10 ³)
Phơi khô+ tạo dòng chảy	136,75 ^a ± 8,84	47,50 ^c ± 7,19	64,00 ^a ± 0,87	60,50 ^a ± 1,29	4.920 ^a ± 53,54
Phơi khô + tạo dòng chảy+ giảm độ mặn	112,50 ^b ± 2,08	53,00 ^b ± 3,56	58,25 ^b ± 1,71	56,75 ^a ± 2,22	4.582 ^b ± 69,94
Sốc nhiệt	86,75 ^c ± 1,29	59,75 ^a ± 0,82	51,50 ^c ± 3,11	51,25 ^b ± 3,59	4.190 ^c ± 86,79
NH₄OH	83,50 ^c ± 1,29	67,00 ^a ± 0,81	42,00 ^d ± 3,37	43,50 ^c ± 4,20	3.722 ^d ± 90,12

Số liệu trình bày: trung bình ± sai số chuẩn. Số liệu có chữ cái khác nhau trong cùng cột thể hiện sự sai khác có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$).

Bảng 3.8 cho thấy cả 4 phương pháp kích thích khác nhau đều có tác dụng đối với trai tai tượng vảy sinh sản, nhưng các chỉ tiêu sau khi kích thích lại khác nhau. Thời gian hiệu ứng của hai nghiệm thức ngâm trai trong dung dịch NH₄OH và sốc nhiệt (tương ứng 83,50 ± 1,29 và 86,75 ± 1,29 phút) nhanh hơn rất nhiều so với hai nghiệm thức còn lại, sự sai khác này có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$). Trong đó, nghiệm thức ngâm trong dung dịch NH₄OH thì hiệu ứng kích thích xảy ra nhanh hơn, tuy nhiên không khác nhau có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức sốc nhiệt. Thời gian hiệu ứng của trai trong nghiệm thức phơi khô tạo dòng chảy là chậm nhất, đạt tới 136,75 ± 8,84 phút. Khả năng tham gia sinh sản chịu tác động rất lớn của các tác nhân kích thích. Một điều dễ nhận ra là thời gian kích thích càng ngắn thì tỷ lệ trai đẻ càng nhiều. Tỷ lệ đẻ của nghiệm thức ngâm trai trong dung dịch NH₄OH là cao nhất (67,00 ± 0,81%) và không sai khác có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức sốc nhiệt (59,75 ± 0,82%) ($P > 0,05$). Tỷ lệ đẻ thấp nhất ở nghiệm thức phơi khô kết hợp tạo dòng chảy (47,50 ± 7,19%) và sai khác có ý nghĩa thống kê so với 3 nghiệm thức còn lại. Ngược lại, Tỷ lệ thụ tinh và tỷ lệ nở ở 2 nghiệm thức phơi khô tạo dòng chảy và phơi khô tạo dòng chảy kết hợp với hạ độ mặn

là cao nhất (lần lượt là $64,00 \pm 0,87\%$ và $60,50 \pm 1,29\%$) và sai khác có ý nghĩa thống kê so với các nghiệm thức còn lại ($P < 0,05$). Tỷ lệ thụ tinh và tỷ lệ nở thấp nhất là ở nghiệm thức ngâm trai trong dung dịch NH_4OH (lần lượt là $42,00 \pm 3,37\%$ và $43,50 \pm 4,20\%$). Dưới tác dụng của các phương pháp kích thích khác nhau thì sức sinh sản hữu hiệu (số lượng ấu trùng chữ D hình thành của một cá thể cái) cũng khác nhau. Sức sinh sản hữu hiệu cao nhất ở nghiệm thức phơi khô tạo dòng chảy ($4920 \times 10^3 \pm 53,54$ ấu trùng chữ D) và thấp nhất ở nghiệm thức ngâm trai trong dung dịch NH_4OH ($3.722 \times 10^3 \pm 90,12$ ấu trùng chữ D) và tất cả các nghiệm thức có giá trị sức sinh sản hữu hiệu khác nhau có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$).

Kích thích sinh sản là dưới tác động của một tác nhân ngoại cảnh mà tác nhân này thông thường không tồn tại làm cho sinh vật bị sốc và đẻ trứng và tinh ra ngoài môi trường. Theo Aji (2011), có 3 phương pháp kích thích sinh sản hiệu quả được sử dụng chung cho các loài động vật thân mềm hai mảnh vỏ là kích thích bằng các tác nhân hóa học, sinh học và vật lý (Aji, 2011). Trong sinh sản nhân tạo trai tai tượng nói chung, các nhà nghiên cứu sản xuất giống đã dùng 3 phương pháp kích thích trai đẻ: sốc nhiệt, chiết xuất dịch tuyến sinh dục từ trai bố mẹ và tiêm serotonin (Heslinga và cộng tác viên, 1990; Braley, 1992; Gervis et al., 1996; Lucas, J, 1996). Việc lựa chọn phương pháp nào tùy thuộc vào quan điểm cá nhân từng người, nhưng phổ biến tại các nước như Úc, Mỹ, Nhật dùng phương pháp tiêm serotonin, một số người dùng hai phương pháp còn lại (Braley, 1992). Trong khi đó, tại một số nước Đông Nam Á thì phương pháp phơi khô trai trong bóng râm và tạo dòng chảy được dùng phổ biến để kích thích trai sinh sản. Ngoài ra, Ellis (1998) cho rằng khi kích thích sinh sản trai tai tượng, dòng chảy đóng vai trò quan trọng. các phương pháp kích thích khác nhau đều kết hợp với dòng chảy. Phương pháp kích thích sốc nhiệt thì thời gian lâu nhưng an toàn cho trai bố mẹ và ấu trùng khi nở ra. Phương pháp chiết xuất tinh trùng cho vào bể kích thích cũng được sử dụng. Khi kích thích trai tai tượng sinh sản bằng phương pháp sốc nhiệt thì điều quan trọng nhất là nhiệt độ không vượt quá 35°C . Nhiệt độ quá cao không những làm tảo cộng sinh trên màng áo chết, cho trai yếu dần và dẫn đến tử vong mà còn ảnh hưởng đến chất lượng trứng và ấu trùng sau này (Braley, 1992; Ellis, 1998).

Qua quan sát thực tế, trai tai tượng vẩy bố mẹ phản ứng nhanh với tác dụng của dịch NH_4OH , biểu hiện qua hoạt động mở vỏ và vòi hút thoát nước lên cao và trai đóng mở vỏ mạnh, liên tục, tạo áp lực đẩy dòng nước lên cao gần mấy mét và sau đó hiện tượng phun trứng và tinh diễn ra. Khi có cá thể sinh sản, hiệu ứng dây chuyền sẽ là tác nhân kích thích sinh sản đồng loạt của những cá thể còn lại (Heslinga và ctv., 1990). Ở

các nghiệm thức còn lại cũng có hiện tượng tương tự nhưng thời gian dài hơn. Kết quả này phù hợp với kết quả của Vũ Trọng Đại (2023) khi nghiên cứu kích thích sinh sản nghêu lùa. Tuy nhiên, thời gian hiệu ứng của kết quả nghiên cứu này dài hơn ($83,50 \pm 1,29$ phút so với $79,0 \pm 7,14$ phút). Tương tự khi bị tác nhân kích thích mạnh thì trai đẻ nhiều hơn, thể hiện qua tỷ lệ đẻ cao nhất ở nghiệm thức ngâm trong dung dịch NH_4OH .

Dưới tác dụng của hóa chất NH_4OH và chênh lệch nhiệt độ quá lớn ở nghiệm thức nâng hạ nhiệt độ (khoảng giao động 10°C) ảnh hưởng tiêu cực đến khả năng thụ tinh, tỷ lệ nở và sức sinh sản hữu hiệu. Nhiệt độ cao và chênh lệch lớn làm cho tình trạng hoạt động nhiều, tiêu hao năng lượng lớn nên theo thời gian thì khả năng sót sót giảm, dẫn đến giảm khả năng thụ tinh với trứng (Lucas và Southgate, 2003). Lượng hóa chất NH_4OH tồn đọng trong nước ảnh hưởng xấu đến chất lượng trứng và tình thể hiện qua sự suy giảm của tỷ lệ thụ tinh, tỷ lệ nở và sức sinh sản hữu hiệu. Ngoài ra, hóa chất hay chênh lệch nhiệt cũng ảnh hưởng đến chất lượng trai bố mẹ sau khi đẻ xong. Do đó, mặc dù thời gian hiệu ứng chậm, tỷ lệ đẻ thấp nhưng nghiệm thức phơi khô tạo dòng chảy là an toàn hơn cả và nên được khuyến cáo sử dụng.

Phương pháp kích thích bằng thay đổi nhiệt độ sau đó tạo dòng chảy cũng đã được sử dụng trên một số đối tượng hai mảnh vỏ khác và cho kết quả tốt. Đối với hào (*Crassostrea iredalei*) phương pháp kích thích hạ nhiệt kết hợp tạo dòng chảy cho tỉ lệ đẻ 100% trong thời gian 2 giờ sau khi kích thích (Trương Quốc Vinh, 2009). Ngô Anh Tuấn (2005) kích thích sinh sản điệp seo bằng phương pháp nhiệt độ kết hợp tạo dòng chảy đạt hiệu quả cao nhất với tỷ lệ đẻ từ 46,6-55%. Khi nghiên cứu một số chỉ tiêu kỹ thuật sinh sản nhân tạo vọp, hào, sò huyết, Phùng Bảy và cộng tác viên (2009, 2015, 2019) cho rằng phương pháp kích thích sinh sản thích hợp nhất là sốc nhiệt và tạo dòng chảy. Nguyễn Thị Xuân Thu (1998) và Hoàng Thị Bích Đào (2005) kết luận rằng kích thích động vật hai mảnh vỏ sinh sản thích hợp nhất là phơi khô và tạo dòng chảy.

3.2.2.2 Ảnh hưởng của nhiệt độ đến tỷ lệ thụ tinh và nở của trứng trai tai tượng vảy (25,27,29 °C)(TN3)

Bảng 3.9 Ảnh hưởng của nhiệt độ đến tỷ lệ thụ tinh và nở của trứng trai tai tượng vảy

Chỉ tiêu đánh giá	Nghiệm thức nhiệt độ ($^\circ\text{C}$)		
	25	27	29
Tỷ lệ thụ tinh (%)	$56,25^b \pm 0,58$	$60,50^a \pm 1,30$	$62,50^a \pm 1,30$
Tỷ lệ nở (%)	$74,00^a \pm 0,82$	$70,00^b \pm 0,82$	$57,00^c \pm 1,83$
Thời gian nở (giờ)	$24,50^a \pm 1,29$	$20,00^b \pm 0,85$	$18,25^b \pm 1,26$

Số liệu trình bày: trung bình \pm sai số chuẩn. Số liệu có chữ cái khác nhau trong cùng hàng thể hiện sự sai khác có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$).

Kết quả Bảng 3.9 cho thấy nhiệt độ ảnh hưởng rất lớn đến tỷ lệ thụ tinh, tỷ lệ nở cũng như thời gian nở.

Tỷ lệ thụ tinh đạt cao nhất ở nghiệm thức 29°C ($62,50 \pm 1,30\%$) và khác nhau không có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức 27°C ($60,50 \pm 1,30\%$). Tuy nhiên tỷ lệ thụ tinh của hai nghiệm thức này cao hơn nghiệm thức 25°C ($56,25 \pm 0,58\%$) và sự khác nhau này có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$)

Tỷ lệ nở cao nhất ở nghiệm thức 25 °C ($74,00 \pm 0,82\%$) và khác nhau có ý nghĩa thống kê so với 2 nghiệm thức còn lại ($P < 0,05$). Kế đến là tỷ lệ nở ở nghiệm thức 27°C ($60,50 \pm 1,30\%$). Tỷ lệ nở thấp nhất là ở nghiệm thức 29 °C (đạt $62,50 \pm 1,30\%$). Ngược lại, thời gian nở ra ấu trùng chữ D ở nghiệm thức 29 °C là nhanh nhất ($18,25 \pm 1,26$ phút) và kế tiếp là ở nghiệm thức 27 °C ($20,00 \pm 0,85$ phút) và chậm nhất là ở nghiệm thức 25 °C ($24,50 \pm 1,29$ phút). Thời gian nở ở hai nghiệm thức 27 °C và 29°C nhanh hơn và khác nhau có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức 25 °C ($P < 0,05$)

Nhiệt độ nước là yếu tố sinh thái ảnh hưởng lớn đến phân bố và phát triển của thủy sinh vật (O'Connor *et al.*, 2007), Các giai đoạn phát triển sớm của trai tai tượng thể hiện quy luật chung của động vật không xương sống và động vật thân mềm hai mảnh vỏ (LaBarbera, 1975; Jameson, 1976). Các giai đoạn này biểu hiện sự nhạy cảm với tác động thay đổi của các yếu tố môi trường, trong đó có nhiệt độ (Beckvar, 1981; Crawford và cộng tác viên, 1987)). Tuy nhiên sự ảnh hưởng này tùy thuộc vào loài và vùng địa lý. Trong nghiên cứu này, nghiên cứu trên đối tượng trai tai tượng vảy cho thấy tỷ lệ thụ tinh tăng theo sự tăng của nhiệt độ. Điều này được củng cố bởi kết quả nghiên cứu trên trai tai tượng vảy tại Singapore chỉ ra rằng tỷ lệ thụ tinh ở 29,5 °C cao hơn nhiều so với ở 22,5 °C ((Neo và cộng tác viên, 2013)). Nhiệt độ cao trong phạm vi thích hợp làm cho tinh trùng hoạt động tốt hơn và trong nước ít độ nhớt hơn (Greenwood và cộng tác viên, 1981; Mita và cộng tác viên, 1984)). Hơn nữa, màng bảo vệ hình thành xung quanh trứng thụ tinh ngăn chặn sự xâm nhập của các tinh trùng khác (Crawford *et al.* 1986) có thể hoạt động như một bộ đệm chống lại tác động của nhiệt độ cao (Enricuson và cộng tác viên, 2018).

Tuy nhiên ảnh hưởng thêm của nhiệt độ cao trong giai đoạn sau thụ tinh có thể ức chế sự phát triển của ấu trùng Trochophora thành ấu trùng chữ D (Veliger). Nhiệt độ cao gây nên việc tăng cường tốc độ trao đổi chất ở phôi có thể dẫn đến sự cạn kiệt nhanh chóng nguồn năng lượng dự trữ vốn đã hạn chế và dẫn đến sự hình thành các phôi dị thường không thể phát triển thêm. Kết quả thí nghiệm chúng tôi cho thấy rằng tỷ lệ nở cao nhất ở nghiệm thức nhiệt độ 25°C ($74,00 \pm 0,82\%$) và thấp nhất ở nghiệm thức 29 °C ($57,00 \pm 1,83\%$). Nhiệt độ cao không những ảnh hưởng đến khả năng sống sót của

phôi và ấu trùng Trochophora mà còn ảnh hưởng đến tỷ lệ dị hình và kích thước của ấu trùng. Ở sò điệp, người ta đã quan sát thấy rằng nhiệt độ cao hơn có tương quan với kích thước ấu trùng nhỏ hơn khi biến thái, điều này cho thấy thêm rằng quá trình phát triển này rất nhạy cảm với nhiệt độ (Cragg, 2016). Chính vì tầm quan trọng của các yếu tố sinh thái trong giai đoạn đầu của quá trình sinh sản, nên Braley (1992) đề nghị nhiệt độ trong quá trình thụ tinh và ấp nở của trai tai tượng nên từ 25-30 °C.

3.2.3. Ương nuôi ấu trùng giai đoạn sống nổi

3.2.3.1. Diễn biến các yếu tố môi trường nước ương nuôi

Bảng 3.10. Các yếu tố môi trường trong bể ương nuôi ấu trùng nổi

Chỉ tiêu	Nhiệt độ (°C)	Độ mặn (ppt)	pH	DO (mg/l)
Giao động	27,0-28,7	31,0-33,0	8,1-8,4	6,0-6,5
Trung bình	27,7 ± 0,7	32,4 ± 0,4		6,3 ± 0,5

Các yếu tố môi trường trong quá trình thí nghiệm ương nuôi ấu trùng trai tai tượng vảy được bố trí trong nhà có mái che nên có sự biến động không lớn và phù hợp.

Theo Ellis (1998), trai tai tượng nói chung phân bố tự nhiên tại những vùng biển nhiệt đới với độ trong cao. Một số yếu tố môi trường cần cho sinh trưởng và phát triển tốt nhất là nhiệt độ giao động từ 25-30 °C, độ mặn 32-35 ppt và pH 8,1-8,5 (Ellis, 1997). Các yếu tố môi trường bể nuôi vỹ trong báo cáo này đều nằm trong khoảng biến thiên trên nên phù hợp cho sinh trưởng và sống sót.

3.2.3.2. Nghiên cứu ảnh hưởng của độ mặn đến tăng trưởng và tỷ lệ sống ấu trùng trai tai tượng vỹ (24,27,30,33 ppt) (TN4)

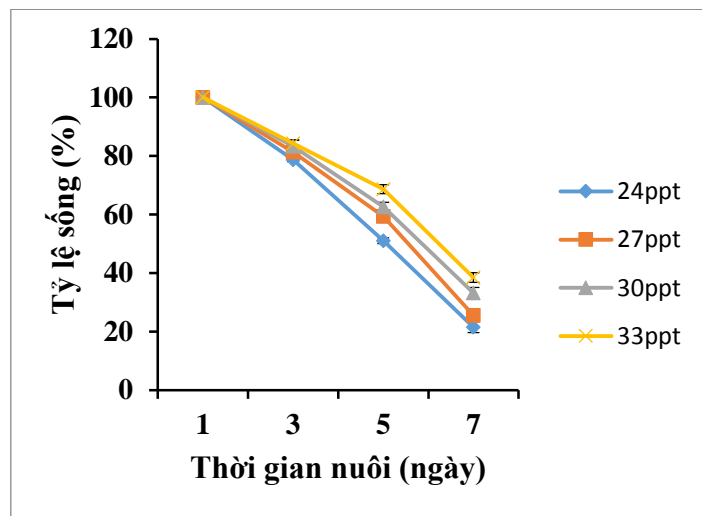
Chiều dài và tốc độ tăng trưởng đặc trưng của ấu trùng trai tai tượng vỹ giai đoạn trôi nổi (thời gian nuôi 8 ngày) được thể hiện ở Bảng 3.11.

Bảng 3.11. Chiều dài, tốc độ tăng trưởng của ấu trùng ở các độ mặn khác nhau

Chỉ tiêu	Các nghiệm thức độ mặn			
	24 ppt	27 ppt	30 ppt	33 ppt
Chiều dài ban đầu (µm)	140,12 ± 1,45	140,12 ± 1,45	140,12 ± 1,45	140,12 ± 1,45
Chiều dài cuối cùng (µm)	206,50 ^c ± 3,27	211,00 ^b ± 2,19	224,50 ^a ± 1,87	221,83 ^a ± 1,47
DGR (µm/ngày)	9,50 ^c ± 0,47	10,14 ^b ± 0,31	12,07 ^a ± 0,26	11,69 ^a ± 0,21
SGR (%/ngày)	5,60 ^c ± 0,23	5,90 ^b ± 0,15	6,72 ^a ± 0,12	6,61 ^a ± 0,09

Số liệu được trình bày dưới dạng giá trị trung bình ± sai số chuẩn (SE). Các chữ cái khác nhau trong cùng một hàng thể hiện sự sai khác có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$).

Kết quả từ Bảng 3.11 cho thấy, độ mặn ảnh hưởng đến sự tăng trưởng chiều dài của ấu trùng trai tai tượng vảy giai đoạn sống nổi. Tăng trưởng về chiều dài của ấu trùng trai ở hai độ mặn 30 ppt và 33 ppt đạt cao nhất, tiếp theo là ở độ mặn 27 ppt và thấp nhất là độ mặn 24 ppt (Bảng 3.11; $P < 0,05$). Sự sai khác về tăng trưởng của ấu trùng trai giữa hai độ mặn 30 ppt và 33 ppt là không có ý nghĩa thống kê ($P > 0,05$). Chiều dài ấu trùng tại thời điểm kết thúc thí nghiệm, tốc độ tăng trưởng bình quân ngày về chiều dài (DGR) và tốc độ tăng trưởng đặc trưng (SGR) của ấu trùng trai ở nghiệm thức độ mặn 30 ppt lần lượt là $224,50 \pm 1,87 \mu\text{m}$; $12,07 \pm 0,26 \mu\text{m}/\text{ngày}$ và $6,72 \pm 0,12 \%/ \text{ngày}$. Trong khi đó, ở nghiệm thức 24 ppt, ấu trùng trai chỉ đạt kích thước chiều dài $206,50 \pm 3,27 \mu\text{m}$; DGR là $9,50 \pm 0,47 \mu\text{m}/\text{ngày}$ và SGR là $5,60 \pm 0,23 \%/ \text{ngày}$.



Hình 3.9. Tỷ lệ sống của ấu trùng giai đoạn trôi nổi ở các độ mặn khác nhau

Kết quả ở Hình 3.9 cho thấy, tỷ lệ sống của ấu trùng trai tai tượng vảy giảm dần theo thời gian nuôi và có sự khác nhau giữa các nghiệm thức thí nghiệm. Kể từ ngày nuôi thứ 3, sự khác nhau về tỷ lệ sống của ấu trùng được thể hiện. Từ ngày nuôi thứ 5 trở đi, tỷ lệ sống của ấu trùng ở nghiệm thức độ mặn 30 ppt và nghiệm thức độ mặn 33 ppt cao hơn với hai nghiệm thức còn lại ($P < 0,05$). Nghiệm thức 24 ppt cho kết quả tỷ lệ sống của ấu trùng thấp nhất. Sau 7 ngày ương nuôi, tỷ lệ sống của ấu trùng ở nghiệm thức 30 ppt đạt $33,17 \pm 1,47\%$, trong khi đó ở nghiệm thức 24ppt, tỷ lệ sống của ấu trùng trai tai tượng vảy chỉ đạt $21,33 \pm 1,63\%$.

Độ mặn giảm là một yếu tố sinh thái gây căng thẳng sinh lý chính đối với động vật thân mềm hai mảnh vỏ biển (Pourmozaffar và cộng tác viên, 2020). Tùy thuộc vào vùng phân bố gần bờ hay xa bờ mà khả năng thích nghi với biên độ giao động của độ mặn khác nhau. Trai tai tượng khổng lồ, một đối tượng phân bố xa bờ nên độ mặn đóng vai trò quan trọng trong quá trình sống của ấu trùng (Militz và Southgate, 2021). Độ mặn

giảm làm suy giảm khả năng sống sót của ấu trùng trai khổng lồ đang phát triển, với độ mặn $\leq 26\text{‰}$ có thể gây chết hàng loạt (Sayco và cộng tác viên, 2019).

Thí nghiệm về độ mặn trong ương nuôi ấu trùng trai tai tượng nghệ cho rằng giới hạn dưới của khả năng chịu mặn đối với ấu trùng giai đoạn sống nổi là từ 15 ppt đến 20 ppt. Trong khoảng giao động từ 25 ppt đến 30 ppt, ấu trùng loài này có xu hướng sống và sinh trưởng tốt hơn khi độ mặn tăng (Milit và Southgate, 2021). Kết quả chúng tôi cho thấy rằng trai tai tượng vảy là một loài chịu đựng được độ mặn thấp (24 ppt) tuy nhiên trai sinh trưởng và phát triển tốt hơn ở độ mặn cao như nước biển tự nhiên (30 ppt - 33 ppt) so với ở các nghiệm thức độ mặn thấp.

3.2.3.3. Ảnh hưởng của sự kết hợp các loại thức ăn khác nhau đến tăng trưởng, tỷ lệ sống và tỷ lệ xuống đáy của ấu trùng trai tai tượng vảy (TN5)

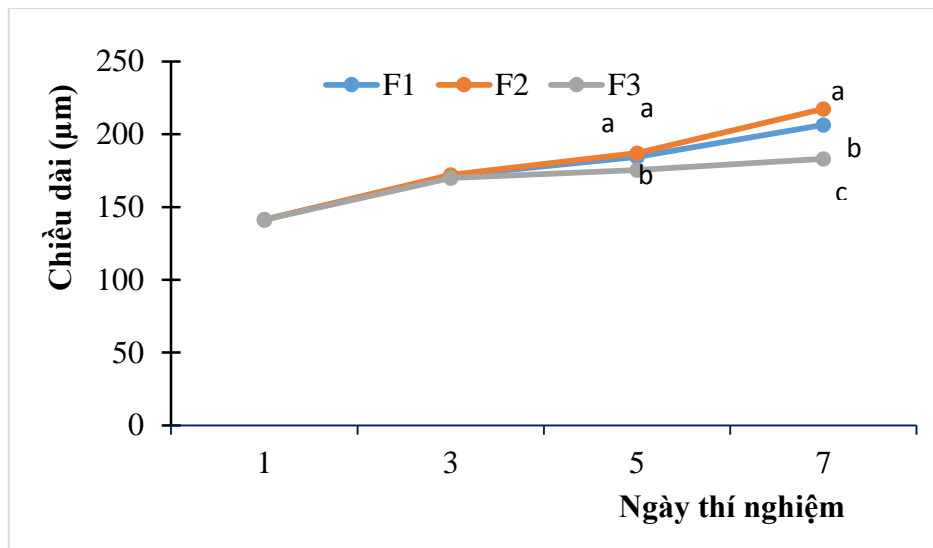
Tăng trưởng về chiều dài và tỷ lệ sống của ấu trùng trai tai tượng vảy nuôi ở các nghiệm thức thức ăn khác nhau được thể hiện ở Bảng 3.12.

Bảng 3.12. Tăng trưởng và tỷ lệ sống của ấu trùng trai tai tượng vảy ở các nghiệm thức thức ăn

Chỉ tiêu đánh giá	Nghiệm thức thức ăn		
	F1	F2	F3
Chiều dài (μm)	206,5 ^b \pm 2,6	217,5 ^a \pm 3,1	183,0 ^c \pm 1,3
SGR (%/ngày)	6,32 ^b \pm 1,76	7,18 ^a \pm 0,34	4,31 ^c \pm 0,31
Tỷ lệ sống (%)	28,6 ^a \pm 2,2	31,5 ^a \pm 1,6	17,2 ^b \pm 1,4

F1: hỗn hợp 2 loài tảo *Chaetoceros muelleri* và *Isochrysis galbana* (tỷ lệ 1:1 về thể tích), F2: hỗn hợp 3 loài vi tảo *I. galbana*, *C. muelleri* và *Nannochloropsis oculata* (với tỷ lệ 1:1:1 về thể tích) và F3: đối chứng, không cho ăn; Các chữ cái khác nhau trong cùng hàng thể hiện sự khác nhau có ý nghĩa thống kê ($P < 0.05$).

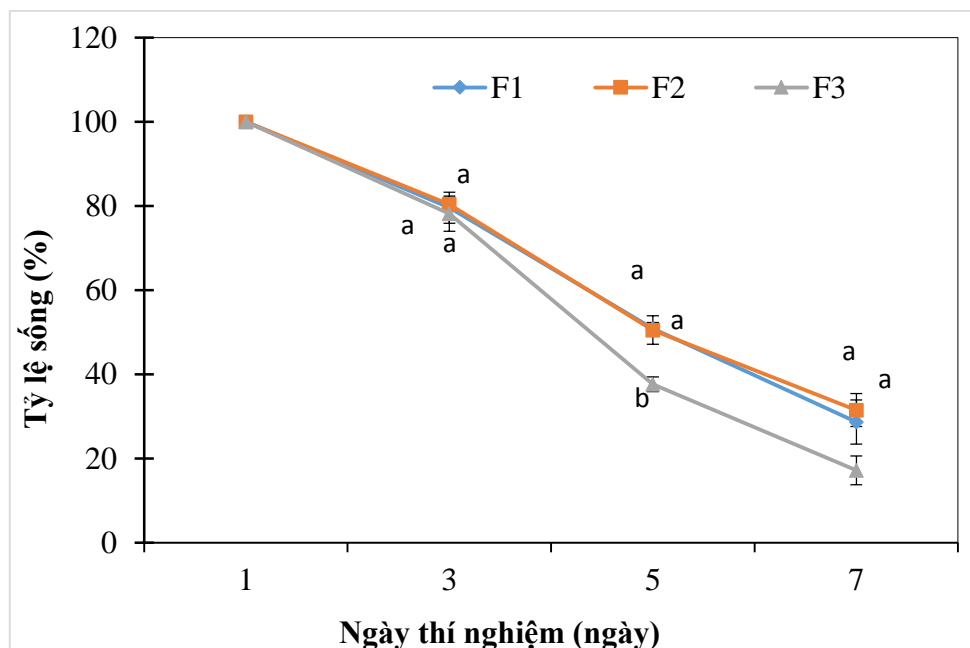
Kết quả ở Bảng 3.12 cho thấy vi tảo ảnh hưởng đến sự tăng trưởng và tỷ lệ sống của ấu trùng trai tai tượng giai đoạn sống nổi. Ấu trùng nuôi kết hợp 3 loài vi tảo *Nannochloropsis oculata*, *Isochrysis galbana* và *Chaetoceros muelleri* (F2) có chiều dài vỏ trung bình cao nhất là $217,5 \pm 3,1 \mu\text{m}$, tốc độ tăng trưởng đặc trưng (SGR) cao nhất là $7,18 \pm 0,34 \text{ %/ngày}$ và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với 2 nghiệm thức còn lại ($P < 0,05$). Tiếp theo, chiều dài vỏ trung bình và tốc độ tăng trưởng đặc trưng của ấu trùng ở nghiệm thức F1 lần lượt là $206,5 \pm 2,56 \mu\text{m}$ và $6,32 \pm 1,76 \text{ %/ngày}$. Cuối cùng, ấu trùng có chiều dài nhỏ nhất, tốc độ tăng trưởng đặc trưng thấp nhất ở nghiệm thức F3 (không bổ sung vi tảo).



Hình 3.10. Sinh trưởng chiều dài ấu trùng ở các nghiệm thức thức ăn khác nhau

F1: *Chaetoceros muellerii* và *Isochrysis galbana* (1:1), F2: *Nannochloropsis oculata*, *I. galbana* và *C. muellerii* (1:1:1) và F3: đối chứng, không cho ăn; Những chữ cái khác nhau trong cùng hàng thể hiện sự khác nhau có ý nghĩa thống kê ($P < 0.05$).

Kết thúc thí nghiệm, tỷ lệ sống của ấu trùng khi cho thức ăn là hỗn hợp 3 loài tảo *Nannochloropsis oculata*, *Isochrysis galbana* và *Chaetoceros muellerii* (F2) ($31,5 \pm 1,6\%$) cao hơn ở nghiệm thức *Isochrysis galbana* và *Chaetoceros muellerii* (F1) ($28,6 \pm 2,15\%$). Tỷ lệ sống của ấu trùng thấp nhất ở F3 (không bổ sung vi tảo), chỉ $17,2 \pm 1,4\%$.



Hình 3.11. Tỷ lệ sống của ấu trùng trai tai tượng vảy ở các nghiệm thức thức ăn khác nhau

Vi tảo đóng vai trò quan trọng như là nguồn thức ăn có giá trị cho ấu trùng của các đối tượng thủy sản. Giá trị dinh dưỡng của vi tảo có liên quan đến thành phần sinh

hóa của chúng, đặc biệt là thành phần lipid và axit béo (Sukenik và Wahnnon, 1991); Dunstan và cộng tác viên, 1992, Dunstan và cộng tác viên, 1993; Sukenik và cộng tác viên, 1993. (Dunstan *et al.*, 1994) Đặc biệt, người ta đã chứng minh rằng một số axit béo không bão hòa đa nối đôi (PUFA) như eicosapentanoic acid(EPA), arachidonic acid (ARA) và docosahexaenoic acid (DHA) được tổng hợp rất hạn chế bởi các cơ thể động vật biển mà chủ yếu được tổng hợp bởi vi tảo rất cần thiết cho sự tăng trưởng và phát triển của ấu trùng cá biển (Koven *et al.*, 1989), tôm và động vật thân mềm (De Pauw và Persoone, 1988, Soudant và cộng tác viên, 2000; Brown, 2022). Đối với động vật thân mềm hai mảnh vỏ, vi tảo là thức ăn bắt buộc trong suốt thời gian của các giai đoạn ấu trùng (Lucas và Southgate, 2003). Mỗi loài tảo có thể thiếu ít nhất 1 thành phần dinh dưỡng thiết yếu (Brown, 2002), do đó việc kết hợp các loài tảo khác nhau tạo nên sự cân bằng dinh dưỡng tốt hơn (Webb & Chu, 1983; Rico-Villa *et al.*, 2006). Vi tảo *Chaetoceros muelleri* chứa hàm lượng rất cao EPA (20:5n-3) và hàm lượng thấp ARA 20:4n-6) và DHA (22:6n-3) (Rivero-Rodríguez *et al.*, 2007), trong khi tảo *Isochrysis galbana* lại chứa hàm lượng cao của DHA (22:6n-3) và EPA (20:5n-3). Ngược lại *Nannochloropsis oculata* chứa hàm lượng rất cao của EPA 20:5(n-3) và một ít DHA 22:6(n-3) (Renaud và cộng tác viên, 1991).

Các vi tảo được sử dụng trước đây trong nuôi trai không lồ, ví dụ như *Isochrysis galbana*, *C. muelleri* và *Tetraselmis sp.* (Fitt và cộng tác viên, 1984; Estacion và cộng tác viên, 1986) đã nâng cao khả năng sống sót của ấu trùng ở trai không lồ được thử nghiệm so với ấu trùng không được cho ăn (Ellis, 1998).

Hình thức dinh dưỡng của trai tai tượng là cộng sinh với một số tảo quang hợp sống trên lớp màng áo của trai và hình thức lọc trong môi trường nước (Klumpp và Griffiths, 1994). Dinh dưỡng bằng cách lọc chủ yếu xảy ra trong giai đoạn ấu trùng nổi. Trong số đó, tảo là thức ăn quan trọng cho trai tai tượng qua quá trình lọc (Klumpp *et al.*, 1992). Tuy nhiên, việc cung cấp tảo trong giai đoạn ấu trùng vẫn còn gây tranh cãi với những ý kiến khác nhau.

Một số nghiên cứu cho thấy ấu trùng trai tai tượng được nuôi bằng các loại tảo khác nhau và ấu trùng không được cho ăn có thể phát triển thành con giống (Ambariyanto, 2004; Heslinga *et al.*, 1984). Cũng theo Ambariyanto (2004), không có sự khác biệt đáng kể về tỷ lệ sống của ấu trùng khi cho ăn các loài tảo khác nhau nhưng ấu trùng được nuôi bằng *Chaetoceros sp.* có tỷ lệ sống cao hơn so với ăn các loài tảo khác (*Nannochloropsis*

sp. và *Tetraselmis* sp.). Tuy nhiên, theo Ellis (1998), ấu trùng được cho ăn bằng hỗn hợp các loài tảo tươi *Isochrysis galbana* và *Chaetoceros muelleri*; thức ăn tổng hợp *Fripack Booster* và tảo *Tetraselmis* khô sẽ cải thiện khả năng sống sót. Mặc dù vậy, nhiều nhà nuôi vẫn không cho ấu trùng ăn, điều này làm giảm đáng kể tỷ lệ sống sót (Ellis, 1997). Gwyther và Munro (1981) cho rằng ấu trùng trai tai tượng không thể trải qua quá trình biến thái xuống đáy nếu không có thức ăn (Gwyther và Munro, 1981)

Kết quả nghiên cứu của Ngô Anh Tuấn (2005) cho đối tượng điệp seo và Phùng Bấy và cộng tác viên (2019) cho đối tượng điệp quạt, sò huyết cho rằng khi kết hợp nhiều loài tảo khác nhau sinh trưởng và tỷ lệ sống là tốt nhất.

Kết quả thí nghiệm cho thấy rằng ở nghiệm thức 1 và nghiệm thức 2 có sử dụng tảo *Isochrysis galbana* trong khẩu phần ăn đều cho tăng trưởng và tỷ lệ sống cao hơn nghiệm thức 3. Theo Lucas và Southgate (2003) thì việc sử dụng nhiều loài tảo làm thức ăn cho ấu trùng động vật thân mềm hai mảnh vỏ đảm bảo sự cân bằng dinh dưỡng và là nhu cầu thiết yếu cho sinh trưởng ấu trùng. Ngoài ra, tảo *I. galbana* có chứa hàm lượng cao của 22 axit béo không no mạch dài:6n-3 rất cần thiết cho sự phát triển giai đoạn đầu của động vật thủy sản (Lucas và Southgate, 2003).

3.2.3.4 Ảnh hưởng của mật độ tảo cộng sinh đến tăng trưởng, tỷ lệ sống và tỷ lệ xuống đáy ấu trùng trai tai tượng vảy (TN6)

- Ảnh hưởng của mật độ tảo cộng sinh đến sinh trưởng ấu trùng trai tai tượng vảy

Kích thước chiều dài và tăng trưởng đặc trưng của ấu trùng trai tai tượng vảy với các nghiệm thức mật độ tảo cộng sinh khác nhau được thể hiện ở Bảng 3.13.

Bảng 3.13. Kích thước chiều dài và tăng trưởng đặc trưng của ấu trùng trai tai tượng vảy ở các mật độ tảo cộng sinh khác nhau (μm)

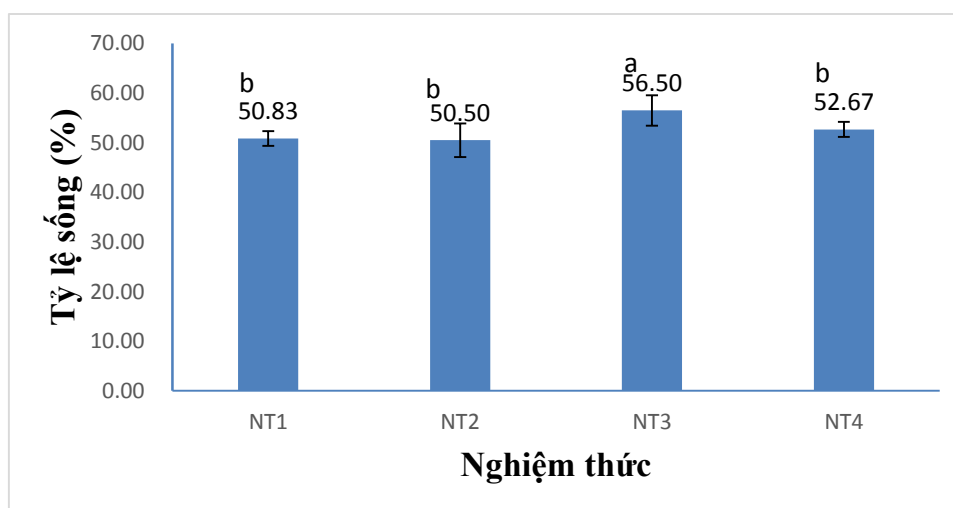
Ngày thí nghiệm	NT1	NT2	NT3	NT4
1	166,70 \pm 0,60	166,70 \pm 0,60	166,70 \pm 0,60	166,70 \pm 0,60
3	178,30 \pm 0,49 ^b	180,80 \pm 0,7 ^b	187,50 \pm 0,88 ^a	186,50 \pm 1,31 ^a
5	196,30 \pm 1,56 ^b	198,00 \pm 1,61 ^b	213,67 \pm 1,2 ^a	212,50 \pm 1,52 ^a
TĐTT SGR (%/ngày)	4,09 \pm 1,95 ^b	4,30 \pm 0,24 ^b	6,20 \pm 0,21 ^a	6,07 \pm 0,16 ^a

Ghi chú: NT1-4 tương ứng với nghiệm thức mật độ tảo cộng sinh là 1.000, 3.000, 5.000 và 7.000 tb/mL. Số liệu trình bày là giá trị trung bình \pm sai số chuẩn (SE). Trong cùng một hàng, các chữ cái viết kèm bên trên khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$).

Kết quả phân tích thống kê cho thấy mật độ tảo cộng sinh ảnh hưởng đến sự tăng trưởng của ấu trùng trai tai tượng vảy (Bảng 3.13; $P < 0,05$). Nghiệm thức NT3 và NT4 cho kết quả tăng trưởng về chiều dài ở trai tai tượng vảy cao hơn so với nghiệm thức NT1 và NT2. Ở nghiệm thức mật độ tảo cộng sinh 5.000 tb/ mL ấu trùng trai tai tượng vảy đạt chiều dài ($213,67 \pm 1,2 \mu\text{m}$) và SGR ($6,2 \pm 0,21\%/ngày$) không sai khác so với nghiệm thức mật độ tảo cộng sinh 7.000 tb/mL (tương ứng là $212,50 \pm 1,52 \mu\text{m}$ và $6,07 \pm 0,16\%/ngày$). Tăng trưởng về chiều dài và SGR của ấu trùng trai ở nghiệm thức mật độ tảo cộng sinh 1.000 tb/mL ($196,30 \pm 1,56 \mu\text{m}$ và $4,09 \pm 1,95\%/ngày$) không sai khác có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức mật độ tảo cộng sinh 3.000 tb/mL ($198,00 \pm 1,61 \mu\text{m}$ và $4,30 \pm 0,24\%/ngày$).

- Ảnh hưởng của mật độ tảo cộng sinh đến tỷ lệ sống ấu trùng trai tai tượng vảy

Tỷ lệ sống của ấu trùng trai tai tượng vảy khi nuôi sử dụng các mật độ tảo cộng sinh khác nhau được thể hiện ở Hình 3.12.

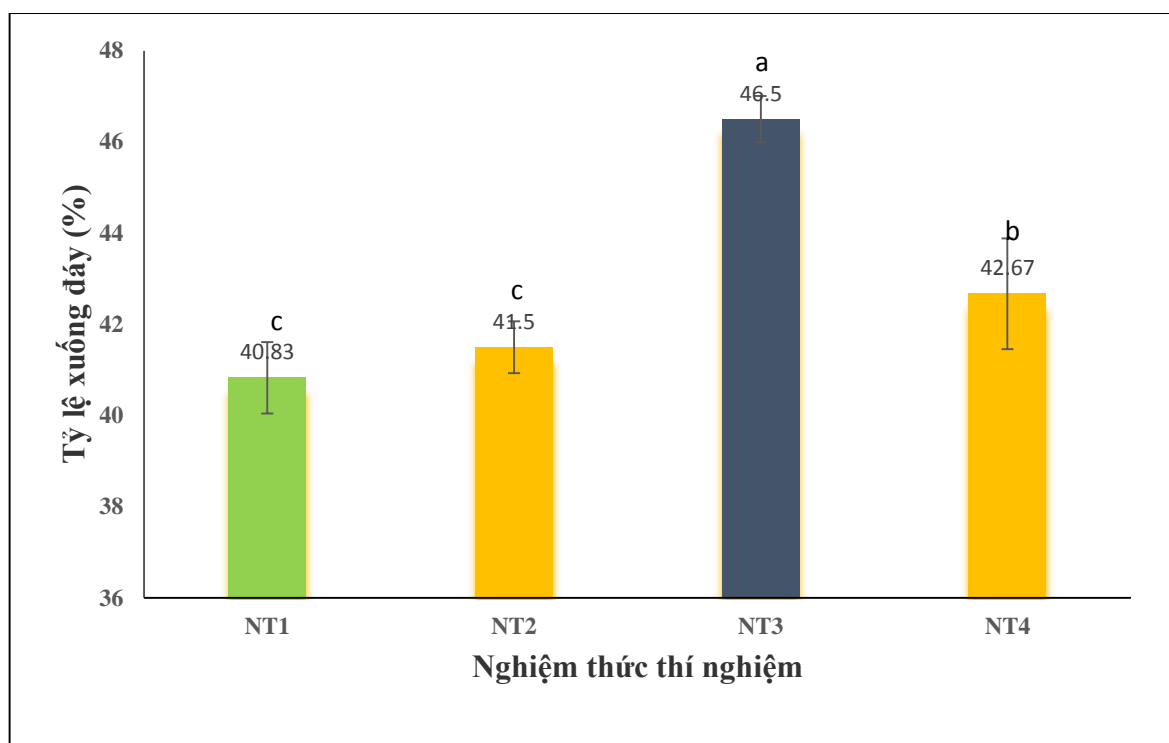


Hình 3.12. Tỷ lệ sống của ấu trùng trai tai tượng vảy ở các mật độ tảo cộng sinh khác nhau

Tỷ lệ sống của ấu trùng trai tai tượng cao nhất ở nghiệm thức 3, mật độ tảo cộng sinh 5.000 tb/mL và có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các nghiệm thức khác ($P < 0,05$). Ấu trùng ở 3 nghiệm thức còn lại không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P > 0,05$).

- Ảnh hưởng của mật độ tảo cộng sinh đến tỷ lệ xuống đáy của ấu trùng trai tai tượng vảy

Tỷ lệ xuống đáy của ấu trùng trai tai tượng vảy ở các nghiệm thức mật độ tảo cộng sinh khác nhau được thể hiện ở Hình 3.13.



Hình 3.13. Tỷ lệ xuống đáy ấu trùng trai tai tượng vảy ở các nghiệm thức mật độ tảo cộng sinh khác nhau

Hình 3.13 thể hiện tỷ lệ xuống đáy của ấu trùng trai tai tượng vảy ở các nghiệm thức mật độ tảo cộng sinh khác nhau. Tỷ lệ xuống đáy cao nhất ở nghiệm thức 3 (5.000 tế bào/mL): 46,5% và khác nhau có ý nghĩa thống kê so với 3 nghiệm thức còn lại ($P < 0,05$). Tỷ lệ xuống đáy cao tiếp theo là ở nghiệm thức 4 (7.000 tế bào/mL) và khác nhau có ý nghĩa thống kê so với 3 nghiệm thức còn lại ($P < 0,05$). Tỷ lệ xuống đáy thấp nhất ở nghiệm thức 1 (1.000 tế bào/mL) (40,83%) và khác nhau không có ý nghĩa so với nghiệm thức 2, 3.000 tế bào/mL.

Theo Morishima và cộng tác viên (2019), ấu trùng cần thu nhận nguồn tảo cộng sinh từ bên ngoài và nguồn tảo cộng sinh được lấy từ phân trai trưởng thành. Vì vậy, trong điều kiện sản xuất giống nhân tạo, việc bổ sung tảo cộng sinh vào giai đoạn ấu trùng là cần thiết để thiết lập mối quan hệ cộng sinh giữa trai và tảo. Theo Ambariyanto (2004), ấu trùng trai tai tượng vảy được gây tảo cộng sinh từ trước khi biến thái xuống đáy có sinh trưởng và tỷ lệ sống cao hơn ấu trùng được bổ sung tảo cộng sinh sau khi biến thái. Nhưng nghiên cứu về mật độ tảo cộng sinh gây cho ấu trùng trong điều kiện sản xuất giống nhân tạo vẫn chưa được nghiên cứu.

Nghiệm thức 3 cho kết quả tốt hơn các nghiệm thức còn lại có thể do một vài nguyên nhân. Nếu mật độ tảo cộng sinh thấp quá không đủ để hình thành mối quan hệ cộng sinh. Thực tế trong nghiệm thức 1 và 2, sự cộng sinh xuất hiện chậm hơn nghiệm

thức 3 và số lượng tế bào tảo cộng sinh trên màng áo ấu trùng trai ít. Ngược lại nghiệm thức 4, nơi có mật độ tảo cộng sinh cao nhất (7.000 tế bào/mL) thì làm cho môi trường ô nhiễm dẫn tới ấu trùng sinh trưởng và phát triển kém. Kết quả nghiên cứu này phù hợp với nhận xét của Ellis (1998) khi cho rằng mật độ tảo cộng sinh phù hợp trong ương nuôi ấu trùng trai tai tượng là 5.000 tế bào tảo cộng sinh/mL.

3.2.3.5. Ảnh hưởng mật độ ương lên tốc độ tăng trưởng, tỷ lệ sống ấu trùng trai tai tượng vảy (TN7)

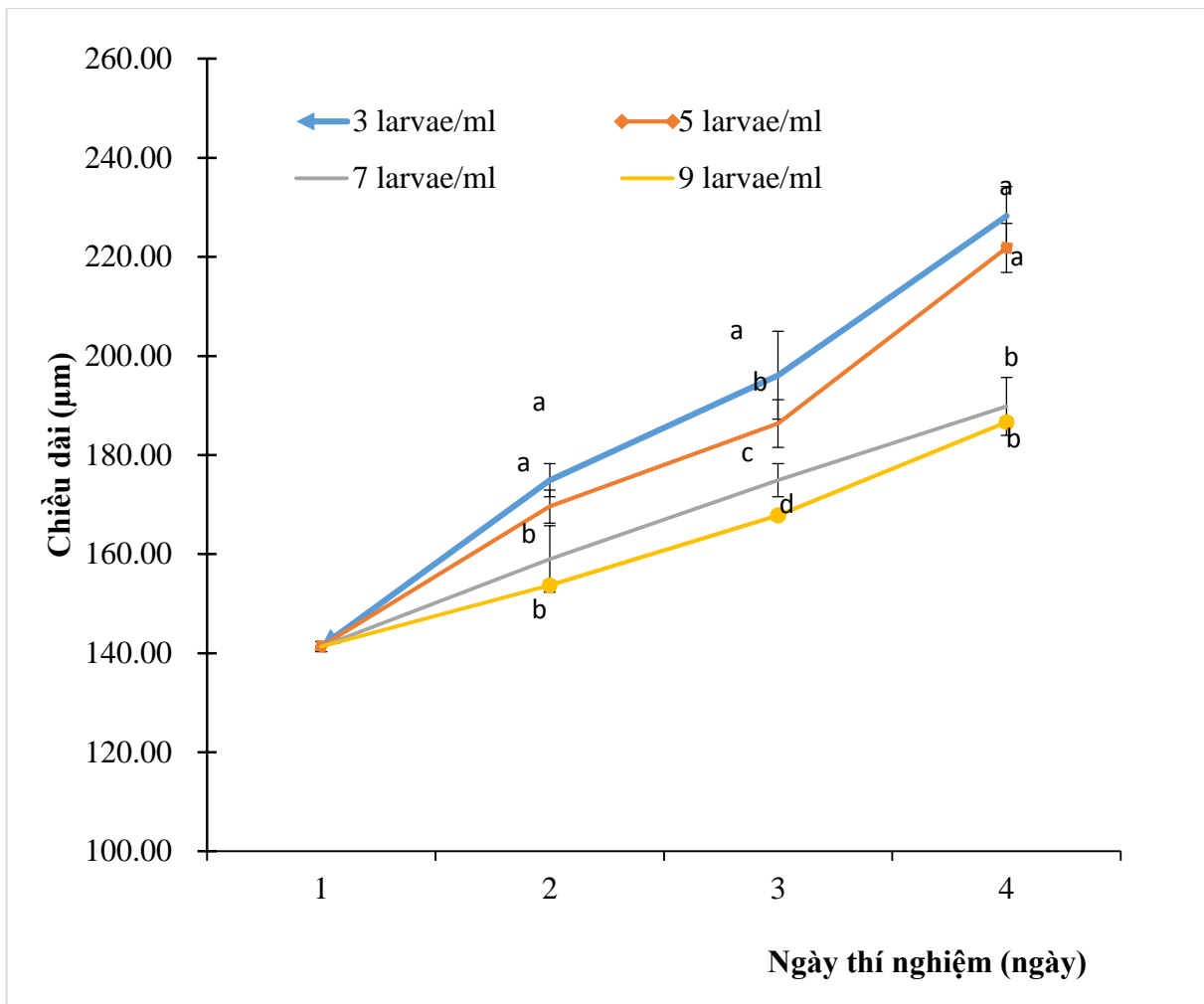
Bảng 3.14. Tăng trưởng và tỷ lệ sống của ấu trùng trai tai tượng vảy nuôi ở các mật độ khác nhau

Chỉ tiêu đánh giá	Nghiệm thức mật độ			
	D3	D5	D7	D9
Chiều dài vỏ (μm)	228,2 ^a \pm 2,43	221,8 ^a \pm 2,01	189,83 ^b \pm 2,38	186,7 ^b \pm 3,94
SGR (%/ngày)	7,99 ^a \pm 0,15	7,51 ^a \pm 0,16	4,91 ^b \pm 0,39	4,62 ^b \pm 0,36
Tỷ lệ sống (%)	42,3 ^a \pm 1,15	39,7 ^a \pm 0,81	29,3 ^b \pm 07,9	21,67 ^c \pm 1,19

D3, D5, D7, D9: lần lượt là mật độ nuôi 3, 5, 7, 9 ấu trùng/mL. Số liệu được trình bày dưới dạng trung bình \pm sai số chuẩn; các chữ cái trong cùng hàng khác nhau thể hiện sự sai khác có ý nghĩa thống kê ($P < 0.05$)

Bảng 3.14 cho thấy qua kiểm chứng ANOVA có sự khác biệt đáng kể về chiều dài trung bình, tốc độ tăng trưởng đặc trưng (SGR) và tỷ lệ sống của ấu trùng giữa các mật độ nuôi ($P < 0,05$).

Mật độ nuôi ảnh hưởng đến sinh trưởng chiều dài của ấu trùng tai tượng, trong đó mật độ càng thấp thì sinh trưởng của ấu trùng càng cao. Tốc độ tăng trưởng luôn cao ở mật độ 3; 5 ấu trùng/mL và thấp ở mật độ 7; 9 ấu trùng/mL. Kết thúc thí nghiệm, chiều dài và tốc độ sinh trưởng đặc trưng ở mật độ 3 ấu trùng mL/1 (tương ứng là 228,2 \pm 2,4 μm ; 7,99 \pm 0,15 %/ngày) và ở mật độ 5 ấu trùng mL/1 (221,8 \pm 2,0 μm ; 7,51 \pm 0,20%/ngày) khác nhau không có ý nghĩa thống kê ($P > 0,05$). Tuy nhiên, chúng khác biệt đáng kể so với mật độ của 7 ấu trùng mL-1 (189,8 \pm 2,9 μm ; 4,91 \pm 0,39%/ngày) và 9 ấu trùng/mL (186,7 \pm 4,8 μm ; 4,6 \pm 0,4%/ngày). Hơn nữa, không có sự khác biệt đáng kể giữa mật độ nuôi của 7 ấu trùng/mL và 9 ấu trùng/ mL.

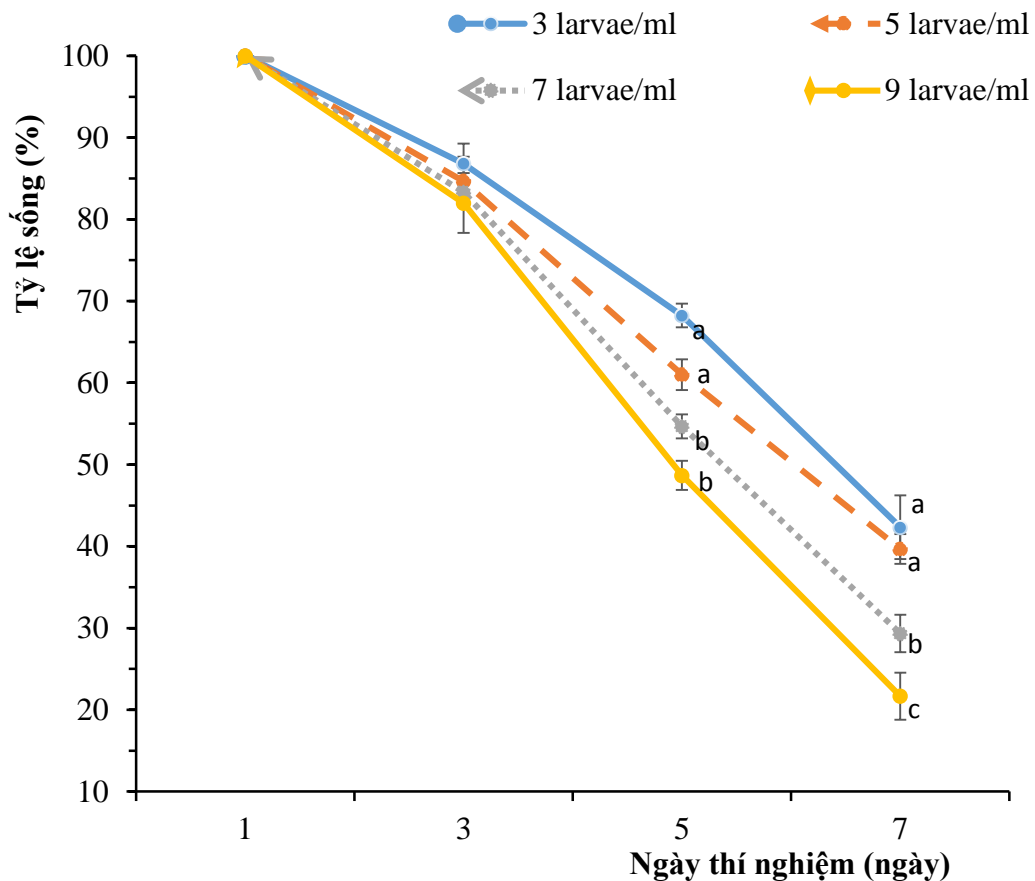


Hình 3.14. Tăng trưởng chiều dài ấu trùng ở các mật độ nuôi khác nhau

Chữ cái khác nhau trong cùng ngày thể hiện sự khác nhau có ý nghĩa ($P < 0.05$)

Không có sự khác biệt đáng kể về tỷ lệ sống giữa các nghiệm thức thí nghiệm được quan sát thấy vào ngày thứ ba của thí nghiệm. Tuy nhiên, tỷ lệ sống của ấu trùng từ ngày thí nghiệm thứ 5 giữa các nghiệm thức có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$). Kết thúc thí nghiệm, ấu trùng ở hai nghiệm thức D3 và D5 có tỷ lệ sống khác nhau nhưng không có ý nghĩa thống kê. Tỷ lệ sống của ấu trùng trai tại tượng vảy ở mật độ thấp hơn (3 và 5 ấu trùng/mL) lần lượt là $42,3 \pm 1,2 \%$ và $39,70 \pm 0,81\%$, khác biệt đáng kể so với mật độ nuôi cao hơn (7 và 9 ấu trùng/mL).

Trong bể ương, ấu trùng có thể được nuôi với mật độ 3-5 ấu trùng/ mL để nâng cao tốc độ tăng trưởng và tỷ lệ sống cũng như quản lý sản xuất giống. Tuy nhiên, để cải thiện năng suất của trại giống để sản xuất giống lớn, mật độ thả 5 ấu trùng /mL được khuyến nghị.



Hình 3.15. Tỷ lệ sống của ấu trùng ở các mật độ nuôi khác nhau

Các chữ cái khác nhau trong cùng ngày nuôi thể hiện sự khác nhau có ý nghĩa thống kê ($P < 0.05$; phép thử Duncan)

Theo nhiều nghiên cứu trước đây cho thấy mật độ nuôi ảnh hưởng đến sự sinh trưởng và tỷ lệ sống của ấu trùng động vật thân mềm hai mảnh vỏ như *Meretrix meretrix* (Liu và ctv., 2006), *Ruditapes philippinarum* (Yan và ctv., 2006), *Mulinia edulis* (Oliva và ctv., 2014) và *Tridacna squamosa* (Latama G. et al., 2000). Nên mật độ nuôi phải được quản lý một cách phù hợp. Do mật độ cao dẫn đến không đủ không gian nên ấu trùng rất khó tiêu thụ thức ăn do thường xuyên tiếp xúc giữa chúng, ấu trùng đóng hai vỏ và ngừng ăn do sốc cơ học (Lima et al., 2018; Loosanoff và Davis, 1963). Yan et al., 2006 cho thấy rằng mật độ cao thường gây bất lợi do lượng chất thải trao đổi chất được tạo ra, do đó ảnh hưởng đến sự phát triển của ấu trùng (Yan et al., 2006). Nhưng nếu mật độ nuôi quá thấp thì không gian bề và nước quý giá sẽ bị lãng phí. Squella et al. (2018) đã thử nghiệm các mật độ khác nhau ở ấu trùng *Anomalocardia brasiliana* trong giai đoạn Veliger và cho thấy rằng việc tăng mật độ ương của 10 ấu trùng/ mL lên 50 ấu trùng/ mL/dẫn đến giảm tỷ lệ sống và tăng trưởng của sinh vật (Squella et al., 2018). Yan et al. (2006) và Oliva et al. (2014) nghiên

cứu các loài *Ruditapes philippinarum* và *Mulinia edulis* cũng kết luận rằng mật độ thử nghiệm càng cao thì sự phát triển và tỷ lệ sống của ấu trùng càng chậm, kết quả tốt nhất ở mật độ thấp nhất (Oliva et al., 2014; Yan et al, 2006). Lima và cộng tác viên, (2018) nhận thấy chiều dài, chiều cao, tốc độ tăng trưởng đặc biệt, tỷ lệ sống của ấu trùng ngao cát ở mật độ 2 ấu trùng và 6 ấu trùng/mL khác biệt có ý nghĩa ($P < 0,05$) so với mật độ 10 ấu trùng/mL (Lima và cộng tác viên, 2018). Các tác giả này kết luận rằng mật độ phù hợp cho sự phát triển và sống sót của ấu trùng Veliger là 6 con/ mL. Theo Utting et al. (1991), ấu trùng ngao và hào Thái Bình Dương cỡ D có thể phát triển ở mật độ lên tới 15-20 ấu trùng/mL nhưng phát triển tốt nhất ở mật độ dưới 10 ấu trùng/mL.

3.2.4 Ương nuôi ấu trùng giai đoạn sống đáy và con giống

3.2.4.1 Biến động các yếu tố môi trường nước ương nuôi

Bảng 3.15. Các yếu tố môi trường trong quá trình nuôi thí nghiệm

Thời gian	Nhiệt độ (°C)	Độ mặn (ppt)	pH	DO (mg/l)
Buổi sáng (8:00)	27,50-28,00	30,00-33,00	8,00-8,10	5,00-6,00
Trung bình	27,68±0,28	32,18±0,45		5,29±0,65
Buổi chiều (14:00)	28,00-30,00	30,00-33,00	8,20-8,40	6,00-6,50
Trung bình	28,86±0,35	31,18±0,45		6,42±0,18

Số liệu được trình bày dưới dạng Trung bình ± sai số chuẩn

Qua Bảng 3.15 chúng ta thấy rằng các thông số môi trường như nhiệt độ, pH và hàm lượng ô xy hòa tan trong nước (DO) đo được trong buổi chiều lớn hơn buổi sáng. Tuy nhiên, riêng yếu tố độ mặn thì không thay đổi giữa hai lần đo trong ngày nhưng có sự thay đổi ít giữa các ngày thí nghiệm. Isamu (2008) đã kết luận rằng tất cả các loài trai tai tượng nói chung và loài trai tai tượng vảy nói riêng đều thích nghi với biên độ nhiệt độ trong khoảng 23-31°C và độ mặn 31 – 35ppt. Độ mặn tối thiểu mà trai tai tượng có thể sinh sống chưa được biết đến nhưng chúng được ghi nhận có thể thích nghi khi độ mặn trong môi trường giảm đi tới 20‰ (Isamu, 2008). Vì vậy, trong thí nghiệm của chúng tôi, độ mặn dao động từ 31-33ppt vẫn đảm bảo cho ấu trùng giai đoạn sống đáy sinh trưởng và phát triển tốt. Thêm vào đó, Ellis (1998) khuyến cáo trai tai tượng nên có khoảng môi trường với nhiệt độ từ 25-30°C, độ mặn từ 32-35ppt, pH từ 8,1-8,5. Braley (1992) đưa ra hàm lượng oxy cho phép >5 mg/l. Đối chiếu kết quả đo đạc các yếu tố môi trường trong nghiên cứu chúng tôi với các tác giả khác, rõ ràng mặc dù các yếu tố đó có thay đổi chút ít nhưng đều nằm trong khoảng cho phép đối với sự phát triển của ấu trùng trai tai tượng vảy. Ngoài

ra, các yếu tố môi trường trong suốt thời gian thí nghiệm không thay đổi nhiều trong ngày và giữa các ngày nên rất phù hợp cho ấu trùng trai tai tượng vảy sinh trưởng và phát triển. Vậy, các yếu tố môi trường nhiệt độ, độ mặn, pH đều nằm trong giới hạn thích hợp cho sinh trưởng và phát triển của ấu trùng nên không ảnh hưởng đến kết quả thí nghiệm.

3.2.4.2 Ảnh hưởng của chất đáy đến tăng trưởng, tỷ lệ sống và tỷ lệ xuống đáy của ấu trùng trai tai tượng vảy (TN8)

Bảng 3.16. Chiều cao trung bình của ấu trùng trai tai tượng vảy ở các nghiệm thức chất đáy khác nhau

Ngày nuôi	Chiều cao trung bình (μm)			
	Đáy lưới 200 μm	Đáy san hô chết	Đáy cát	Đáy bê composite
1	233,33 \pm 0,46 ^a	233,33\pm0,46^a	233,33 \pm 0,46 ^a	233,33 \pm 0,46 ^a
6	351,06 \pm 0,74 ^c	391,73\pm0,70^a	345,57 \pm 0,10 ^d	361,57 \pm 0,41 ^b
11	487,33 \pm 0,31 ^c	540,75\pm0,59^a	475,15 \pm 0,17 ^d	502,73 \pm 0,35 ^b
16	588,55 \pm 0,22 ^c	701,48\pm0,17^a	571,29 \pm 0,27 ^d	635,13 \pm 0,70 ^b
21	657,22 \pm 2,27 ^c	850,89\pm0,79^a	634,33 \pm 0,37 ^d	751,33 \pm 0,18 ^b
26	722,22 \pm 0,54 ^c	1012,8\pm0,54^a	685,89 \pm 0,83 ^d	890,64 \pm 0,27 ^b

Ghi chú: các chữ cái a, b, c, d khác nhau trong cùng 1 hàng chỉ sự khác nhau có ý nghĩa về mặt thống kê ($P < 0,05$)

Bảng 3.17. Tốc độ sinh trưởng tuyệt đối bình quân ngày (DGR) theo chiều cao của ấu trùng ở các nghiệm thức

Ngày nuôi	DGR theo chiều cao ($\mu\text{m}/\text{ngày}$)			
	Đáy lưới 200 μm	Đáy san hô chết	Đáy cát	Đáy bê composite
1	23,55 \pm 0,24 ^a	31,62\pm0,15^a	22,39 \pm 0,18 ^d	23,40 \pm 0,35 ^b
6	27,25 \pm 0,75 ^c	29,80\pm0,21^a	25,92 \pm 0,23 ^d	28,23 \pm 0,43 ^b
11	20,24 \pm 0,98 ^c	32,15\pm0,43^a	19,23 \pm 0,54 ^d	26,48 \pm 0,36 ^b
16	13,73 \pm 0,94 ^c	29,88\pm1,45^a	12,61 \pm 0,56 ^d	23,24 \pm 0,23 ^b
21	13,01 \pm 1,25 ^c	38,98\pm0,32^a	10,31 \pm 0,13 ^d	27,86 \pm 0,32 ^b
26	19,55 \pm 0,79 ^c	31,48\pm0,23^a	18,09 \pm 0,46 ^d	26,29 \pm 0,46 ^b

Kết quả nghiên cứu về ảnh hưởng của chất đáy khác nhau lên chiều cao và tốc độ sinh trưởng Bảng 3.16 và Bảng 3.17 cho thấy có sự khác nhau về chiều cao và tốc độ

sinh trưởng về chiều cao giữa các nghiệm thức chất đáy khác nhau. Qua 26 ngày thí nghiệm, nghiệm thức chất đáy san hô chết có chiều cao trung bình lớn nhất ($1012,8 \pm 54 \mu\text{m}$), sự khác biệt với các nghiệm thức còn lại có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$); tốc độ sinh trưởng bình quân ngày cũng cao nhất, $31,48 \pm 23 \mu\text{m}/\text{ngày}$. Tiếp theo là ấu trùng ở nghiệm thức chất đáy bê composit, với chiều cao $890,64 \pm 0,27 \mu\text{m}$ ($P < 0,05$), tốc độ sinh trưởng tuyệt đối bình quân ngày $26,29 \pm 0,46 \mu\text{m}/\text{ngày}$. Ấu trùng ở 2 nghiệm thức chất đáy còn lại là đáy lưới 200 μm và đáy cát có chiều cao trung bình ($722,22 \pm 0,54 \mu\text{m}$ và $685,89 \pm 0,83 \mu\text{m}$) và tốc độ sinh trưởng về chiều cao ($19,55 \pm 0,79 \mu\text{m}/\text{ngày}$ và $18,09 \pm 0,46 \mu\text{m}/\text{ngày}$) thấp nhất ($P < 0,05$).

Vậy, chất đáy san hô chết cho sự tăng trưởng và tốc độ sinh trưởng theo chiều cao của ấu trùng trai tai tượng cao nhất.

Bảng 3.18. Ảnh hưởng của chất đáy đến tỷ lệ xuống đáy và tỉ lệ sống của ấu trùng trai tai tượng vảy

Ngày	Chất đáy			
	Lưới 200 μm	San hô chết	Cát	Đáy bê composite
Tỷ lệ xuống đáy (%)	$30,6^c \pm 0,79$	$55,2^a \pm 0,40$	$29,7^c \pm 0,25$	$42,0^b \pm 0,87$
Tỷ lệ sống từ khi xuống đáy tới ngày 26 (%)	$26,4^c \pm 0,95$	$42,8^a \pm 0,29$	$25,5^c \pm 0,50$	$38,6^b \pm 0,57$

Ghi chú: các chữ cái a, b, c khác nhau trong cùng 1 hàng chỉ sự khác nhau có ý nghĩa về mặt thống kê ($P < 0,05$)

Kết quả cho thấy chất đáy ảnh hưởng lớn đến tỷ lệ hạ đáy và tỷ lệ sống của con giống trai tai tượng vảy. Trong 4 loại chất đáy thì đáy san hô chết cho kết quả cao nhất về tỉ lệ xuống đáy ($55,2 \pm 0,40$ %) cũng như tỷ lệ sống ($42,8 \pm 0,29$ %) của ấu trùng. Sự khác biệt này so với các nghiệm thức còn lại có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Ấu trùng được nuôi trong bể có đáy bê composit cho tỷ lệ hạ đáy ($40,0 \pm 0,87$ %) và tỷ lệ sống $38,6 \pm 0,57$ % cao thứ hai ($P < 0,05$). Hai nghiệm thức chất đáy còn lại là đáy lưới 200 μm và đáy cát có tỷ lệ hạ đáy và tỷ lệ sống của ấu trùng thấp nhất; sự khác biệt của 2 nghiệm thức này với các nghiệm thức khác có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$) nhưng giữa 2 nghiệm thức này không có sự khác biệt về mặt thống kê ($P > 0,05$).

Đáy san hô chết cho sự tăng trưởng về chiều cao của ấu trùng, tốc độ tăng trưởng theo chiều cao của ấu trùng, tỉ xuống đáy và tỷ lệ sống là cao nhất. Điều này hoàn toàn

phù hợp với đặc điểm sinh thái học ngoài tự nhiên của chúng. Theo Nguyễn Quang Đông (2013), trai tai tượng vảy là động vật thân mềm hai mảnh vỏ sống bám cố định trên nền đáy bằng các tơ chân, chúng phân bố trên các vùng rạn đá và rạn san hô. Ngoài vùng rạn san hô, các vùng khác như nền đáy đá gốc hay nền đáy mềm (cát, bùn cát) đều không phát hiện thấy loài trai tai tượng nào phân bố. Hoàng Đình Chiều (2009) cũng đồng nhất với quan điểm này. Ramah & cộng tác viên (2017) cho rằng phần đáy vỏ của trai tai tượng vảy sếp như vảy cá. Có thể đây là một trong những đặc điểm sinh thái ảnh hưởng đến sự lựa chọn chất đáy của chúng. Nguyễn Đức Thắng & cộng tác viên (2016) đã bắt gặp loài này phân bố ở độ sâu từ 3-20m ở các vùng rạn san hô ở Côn Đảo.

Vậy, chất đáy san hô chết cho sự tăng trưởng, tốc độ tăng trưởng theo chiều cao, tỉ lệ hạ đáy và tỷ lệ sống của ấu trùng trai tai tượng vảy cao nhất.

3.2.4.3 Ảnh hưởng của cường độ chiếu sáng đến tỷ lệ sống, và tăng trưởng ấu trùng trai tai tượng vảy giai đoạn sống đáy (2.000, 4.000, 6.000, 8.000 lux) (TN9)

Kết quả nghiên cứu về ảnh hưởng của cường độ ánh sáng khác nhau đến sinh trưởng kích thước ấu trùng trai tai tượng vảy được trình bày ở Bảng 3.19 và Bảng 3.20.

Tốc độ tăng trưởng bình quân theo chiều dài và chiều cao vỏ ấu trùng trai tai tượng vảy được thể hiện ở Hình 3.16.

Bảng 3.19 Chiều dài trung bình của ấu trùng trai tai tượng vảy ở các nghiệm thức cường độ ánh sáng khác nhau

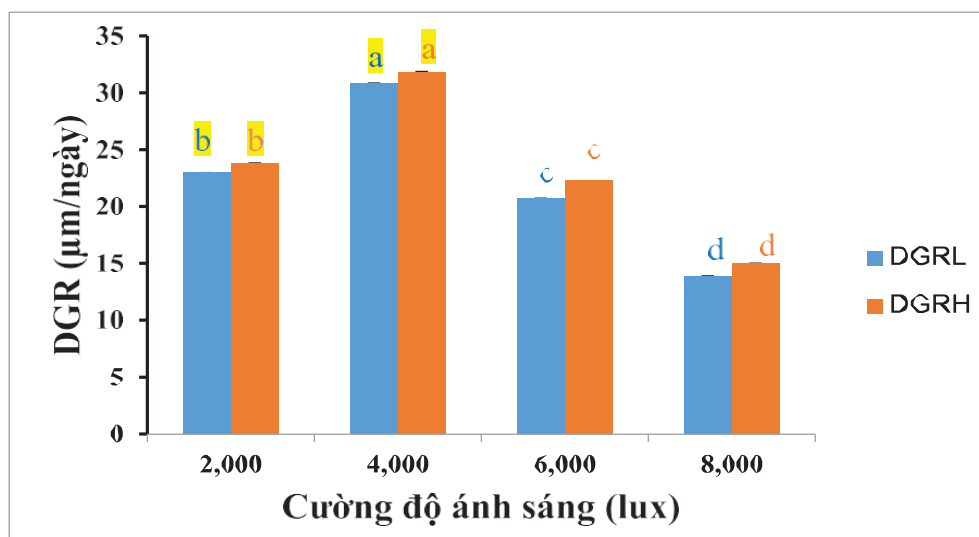
Ngày nuôi	Chiều dài trung bình (μm)			
	2.000 lux	4.000 lux	6.000 lux	8.000 lux
1	265,30 \pm 0,29 ^a	265,30 \pm 0,29 ^a	265,30 \pm 0,29 ^a	265,30 \pm 0,29 ^a
6	399,30 \pm 1,26 ^b	424,00 \pm 2,24 ^a	385,35 \pm 1,73 ^c	357,00 \pm 1,41 ^d
11	483,25 \pm 2,03 ^b	550,00 \pm 1,41 ^a	463,30 \pm 1,26 ^c	431,10 \pm 1,63 ^d
16	600,00 \pm 1,71 ^b	697,30 \pm 0,42 ^a	580,00 \pm 1,71 ^c	484,00 \pm 1,71 ^d
21	736,00 \pm 1,91 ^b	855,00 \pm 1,71 ^a	704,00 \pm 2,22 ^c	565,00 \pm 2,80 ^d
26	839,00 \pm 0,96 ^b	1.036,20 \pm 1,73 ^a	782,10 \pm 2,16 ^c	612,20 \pm 1,71 ^d

Ghi chú: các chữ cái khác nhau trong cùng 1 hàng thể hiện sự sai khác có ý nghĩa ($P < 0,05$)

Bảng 3.20. Chiều cao trung bình của ấu trùng trai tai tượng vảy ở các nghiệm thức cường độ ánh sáng khác nhau

Ngày nuôi	Chiều cao trung bình (μm)			
	2.000 lux	4.000 lux	6.000 lux	8.000 lux
1	236,20 \pm 0,14 ^a	236,20 \pm 0,14 ^a	236,20 \pm 0,14 ^a	236,20 \pm 0,14 ^a
6	369,30 \pm 1,26 ^b	390,10 \pm 0,81 ^a	352,90 \pm 1,73 ^c	327,20 \pm 1,41 ^d
11	450,80 \pm 1,71 ^b	520,30 \pm 1,41 ^a	433,90 \pm 1,26 ^c	401,20 \pm 1,63 ^d
16	572,20 \pm 1,89 ^b	667,40 \pm 1,71 ^a	550,30 \pm 1,71 ^c	454,80 \pm 11,71 ^d
21	706,10 \pm 1,91 ^b	825,40 \pm 1,71 ^a	675,50 \pm 1,71 ^c	535,60 \pm 2,08 ^d
26	831,20 \pm 1,71 ^b	1.032,10 \pm 1,91 ^a	793,20 \pm 0,58 ^c	611,50 \pm 1,29 ^d

Ghi chú: các chữ cái khác nhau (a, b, c, d) trong cùng 1 hàng thể hiện sự sai khác có ý nghĩa ($P < 0,05$)



Hình 3.16. Tốc độ tăng trưởng bình quân ngày theo chiều dài và chiều cao vỏ của ấu trùng trai tai tượng vảy ở các nghiệm thức cường độ ánh sáng khác nhau

DGR_L: tốc độ tăng trưởng bình quân ngày theo chiều dài; DGR_H: tốc độ tăng trưởng bình quân ngày theo chiều cao; Các chữ cái trên đầu cột chỉ sự sai khác có ý nghĩa thống kê về chiều dài (màu xanh dương) và chiều cao (màu cam).

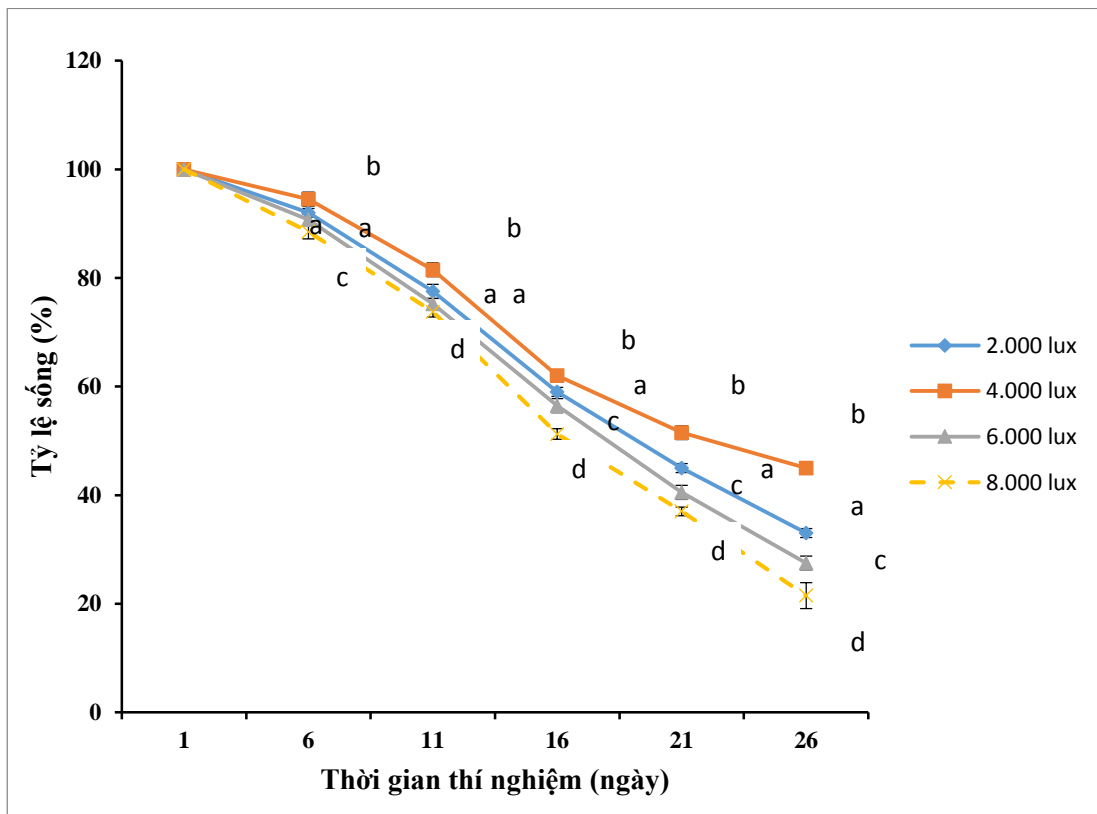
Kết quả nghiên cứu đã cho thấy khi ương nuôi ở các cường độ ánh sáng khác nhau đã cho chiều dài và chiều cao trung bình của ấu trùng trai tai tượng vảy cũng khác nhau có ý nghĩa về mặt thống kê ($P < 0,05$) (Bảng 3.19 và Bảng 3.20). Ở ngày thí nghiệm thứ 6, chiều dài và chiều cao trung bình của ấu trùng trai tai tượng ở các nghiệm thức đã có sự khác biệt rõ rệt ($P < 0,05$). Sau 26 ngày nuôi thí nghiệm, chiều dài và chiều cao của ấu trùng ở nghiệm thức cường độ ánh sáng 4.000 lux là cao nhất, đạt lần lượt là 1.036,2

$\pm 1,73 \mu\text{m}$ và $1.032,1 \pm 1,91 \mu\text{m}$. Kích thước chiều dài và chiều cao ấu trùng trai tai tượng vảy thấp nhất là ở nghiệm thức cường độ ánh sáng 8.000 lux, với giá trị lần lượt là $612,2 \pm 1,71 \mu\text{m}$ và $611,5 \pm 1,29 \mu\text{m}$.

Hình 3.16 cho thấy tốc độ sinh trưởng bình quân ngày về chiều dài và chiều cao lớn nhất ở nghiệm thức cường độ ánh sáng 4.000 lux, đạt lần lượt là 30,81 và 31,82 $\mu\text{m}/\text{ngày}$ và tốc độ sinh trưởng bình quân thấp nhất ở nghiệm thức cường độ ánh sáng 8.000 lux, chỉ đạt 13,86 và 14,97 $\mu\text{m}/\text{ngày}$. Tốc độ sinh trưởng bình quân ở 4 nghiệm thức cường độ ánh sáng khác nhau có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$).

Như vậy, cường độ ánh sáng 4.000 lux đã cho tăng trưởng về chiều dài, chiều cao và tốc độ tăng trưởng bình quân ngày (DGR) theo chiều dài, chiều cao của ấu trùng trai cao nhất và khác biệt có ý nghĩa so với các nghiệm thức khác

Ảnh hưởng của cường độ ánh sáng đến tỉ lệ sống của ấu trùng trai tai tượng vảy được trình bày ở Hình 3.17.



Hình 3.17. Ảnh hưởng của cường độ ánh sáng đến tỷ lệ sống ấu trùng trai tai tượng vảy

Kết quả phân tích thống kê cho thấy theo thời gian nuôi, tỷ lệ sống của ấu trùng trai tai tượng vảy sai khác nhau giữa các nghiệm thức cường độ ánh sáng khác nhau ($P < 0,05$; Hình 3.17). Từ ngày nuôi thứ 6 đã bắt đầu quan sát thấy tỷ lệ sống ở ấu trùng

có sự khác nhau giữa các nghiệm thức. Qua 26 ngày thí nghiệm, ở cường độ ánh sáng 4.000 lux cho tỷ lệ sống của ấu trùng trai tai tượng vảy cao nhất (đạt 45%) và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các nghiệm thức còn lại ($P < 0,05$). Ở nghiệm thức cường độ ánh sáng 8.000 lux, tỷ lệ sống của ấu trùng thấp nhất, chỉ đạt 21,5% vào thời điểm kết thúc thí nghiệm.

Trai tai tượng có thể phát triển trong môi trường biến nhiệt đối với sự hỗ trợ của quá trình quang hợp từ tảo cộng sinh Zooxanthellae. Do đó, cường độ ánh sáng ảnh hưởng đến sự tồn tại và sinh trưởng của trai tai tượng, và là một trong những yếu tố môi trường quan trọng nhất trong nuôi trai tai tượng. Đối với loài trai tai tượng vảy, cường độ ánh sáng 4.000 lux là thích hợp nhất cho sự phát triển và tỷ lệ sống của ấu trùng trai tai tượng từ khi hạ đáy đến khi hình thành con giống. Trai tai tượng có phương thức sống cộng sinh với tảo quang hợp (*Symbiodinium microadriaticum*), sống bám trên phần màng áo nhô ra ngoài vỏ để quang hợp lấy nguồn dinh dưỡng nuôi cơ thể (Klumpp et al., 1994). Trong quá trình sinh sản, các tế bào sinh dục của trai tai tượng không nhận tảo cộng sinh từ bố mẹ nên trai con phải lấy tảo cộng sinh bằng cách lọc từ môi trường. Quá trình này xảy ra ở giai đoạn ấu trùng sống trôi nổi. Sau khi biến thái, thể hệ con của trai và tảo quang hợp đã thiết lập mối quan hệ cộng sinh, và các tảo cộng sinh Zooxanthellae với tư cách là nhà sản xuất chính cung cấp hầu hết dinh dưỡng cho ấu trùng trai (Mies, 2019). Một số báo cáo đã chỉ ra rằng các tảo cộng sinh Zooxanthelle khác nhau có thể ảnh hưởng đến các đặc điểm tăng trưởng của thể hệ con (Kinzie và Chee, 1979; Fitt et al., 1986; Molea và Munro, 1994). Hệ tảo cộng sinh tiến hóa thành các ống kết nối với dạ dày, chúng chia thành các nhánh chạy qua các cơ quan trong cơ thể và gắn kết với màng áo, nhiều nhánh được chia nhỏ nữa để tạo thành hệ thống mạng lưới mạch máu trải rộng khắp màng áo và một số bộ phận khác của cơ thể (Ellis, 1998). Ở giai đoạn đầu của con giống, mối quan hệ cộng sinh giữa tảo và trai đang hình thành. Do đó, có thể mật độ tảo trên màng áo của trai lúc này chưa đủ nhiều để thích ứng với cường độ ánh sáng quá mạnh trong nghiên cứu này là 8.000 lux, điều này đã khiến tảo cộng sinh chết nhiều và được chuyển xuống dạ dày tiêu hóa, dưỡng chất từ tảo cộng sinh chết được tiêu hóa trong dạ dày có thể không ưu việt so với dưỡng chất từ tảo cộng sinh quang hợp tạo ra. Theo Ellis (1998) sự sinh trưởng của trai phụ thuộc vào đặc điểm loài và chịu ảnh hưởng lớn bởi các loài tảo cộng sinh Zooxanthelle. Do đó nếu điều kiện môi trường không thích hợp cho tảo cộng sinh phát triển có thể ảnh hưởng gián tiếp đến

sức khỏe ấu trùng trai. Ngoài ra, nguyên nhân gây ra tỷ lệ chết cao của ấu trùng trai tai tượng ở nghiệm thức cường độ ánh sáng 6.000 và 8.000 lux trong nghiên cứu này có thể không phải do ánh sáng mặt trời trực tiếp gây ra bởi vì trai tai tượng có thể sống ở vùng bãi triều (Lucas et al., 1989). Mặt khác, cường độ ánh sáng cao có thể làm thâm tảo nâu phát triển quá mức ở đáy hay ở các tấm vật bám hoặc trên vỏ của ấu trùng đã được biết đến là nguyên nhân gây tử vong ấu trùng trai và giai đoạn Juvenile (Crawford et al., 1986; Eckman et al., 2019).

Nhìn chung, ở các cường độ ánh sáng vừa phải 2.000 – 4.000 lux thích hợp với tảo cộng sinh trên màng áo, tảo quang hợp tốt, tạo ra dưỡng chất cần thiết như đường, axit amin, axit béo cung cấp cho trai tai tượng do đó đã dẫn đến tăng trưởng và tỷ lệ sống của ấu trùng ở 2 nghiệm thức này là cao nhất, trong đó ánh sáng thích hợp nhất cho ấu trùng trai tai tượng vậy là 4.000 lux. Kết quả của nghiên cứu này tương tự với kết quả của Zhang et al. (2016), ở cường độ ánh sáng 2.000-3.000 lux thích hợp cho ấu trùng pediveliger trai tai tượng vậy phát triển vỏ và phát triển cơ quan sau đó. Cường độ ánh sáng để tảo quang hợp ở các giai đoạn lớn hơn cũng sẽ khác với giai đoạn ấu trùng, cụ thể cường độ ánh sáng tăng theo kích thước của trai (Zhang et al., 2016; Braley et al., 2018). Nghiên cứu của Eckman et al. (2019) cũng đã cho thấy ở ở mức ánh sáng khoảng 2,23% so với ánh sáng ban ngày do che bằng một lớp lưới thì tỷ lệ sống của ấu trùng pediveliger trai tai tượng vậy cao nhất (~ 10%), ở nghiệm thức ánh sáng ít nhất 0,4% thì tỷ lệ này thấp đáng kể 0,54%.

3.2.4.4 Ảnh hưởng các phương pháp vận chuyển khác nhau đến tỷ lệ sống con giống trai tai tượng vậy (TN10)

Bảng 3.21. Tỷ lệ sống của con giống sau khi vận chuyển trong vòng 4 giờ bằng 3 phương pháp khác nhau

Chỉ tiêu đánh giá	Nghiệm thức vận chuyển		
	Khô, ẩm – kín (22 -25 °C)	Kín, có nước có bơm oxy (28 - 30 °C)	Hở, không ẩm (28 - 30 °C)
Tỷ lệ sống (%)	86,33 ^a ± 1,21	82,50 ^b ± 1,47	63,17 ^c ± 1,47

Ghi chú: Số liệu trình bày là giá trị trung bình ± sai số chuẩn (SE). Trong cùng một hàng, các chữ cái viết kèm bên trên khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$).

Bảng 3.21 cho thấy rằng phương pháp vận chuyển khác nhau có ảnh hưởng rõ rệt đến tỷ lệ sống của con giống tra tai tượng vảy. Phương pháp vận chuyển khô, ẩm - kín, tỷ lệ sống đạt $86,33 \pm 1,21\%$. Tiếp đến là phương pháp vận chuyển kín, dùng nước có bơm oxy tỷ lệ sống đạt $82,50 \pm 1,47\%$. Kiểm định T.Test cho thấy có sự khác biệt có ý nghĩa về tỷ lệ sống giữa 2 phương pháp vận chuyển này. Tỷ lệ sống con giống thấp nhất là ở nghiệm thức vận chuyển hở, không ẩm ở nhiệt độ ($28 - 30\text{ }^{\circ}\text{C}$), chỉ đạt $63,17 \pm 1,47\%$ và sai khác có ý nghĩa thống kê so với 2 nghiệm thức trên ($P < 0,05$). Từ đó cho thấy trai giống được vận chuyển bằng phương pháp khô, ẩm – kín (nhiệt độ $22 - 25\text{ }^{\circ}\text{C}$) là phù hợp nhất.

Phương pháp chuyển bằng phương pháp ẩm - kín, trai giống được bao bọc bởi khăn thấm nước, độ ẩm cao, nhiệt độ trong thùng khoảng $22 - 25^{\circ}\text{C}$, môi trường trong quá trình vận chuyển thích hợp, do đó trai ít tiêu tốn năng lượng cho quá trình chống chịu môi trường, quá trình trao đổi chất trong cơ thể diễn ra với tốc độ vừa phải, chúng không bị yếu đi trong quá trình vận chuyển. Đối với phương pháp vận chuyển nước có bơm oxy, trai được vận chuyển trong nước với mật độ cao trong một không gian hẹp đã làm cho trai giống bị stress, chúng nhả nhớt nhiều, ảnh hưởng đến sức khỏe của trai khi vận chuyển đường dài.

3.2.5. Kết quả nghiên cứu bệnh và dịch hại trong nuôi vỗ trai tai tượng vảy

3.2.5.1. Bệnh ký sinh trùng, vi khuẩn trên trai tai tượng vảy nuôi vỗ

*** Ký sinh trùng nội ký sinh**

Kết quả sau khi kiểm tra mang, màng áo trai giống và trai bố mẹ và các nội quan như tuyến tiêu hóa, thận không phát hiện ký sinh trùng nào ký sinh. Tuy nhiên theo một số tài liệu, ở tuyến sinh dục, thận, cơ quan tiêu hóa và mang của một số trai khổng lồ phát hiện trai bị nhiễm nhiều giun như giun dẹp, giun tròn, tuy nhiên chúng không có bất kì ảnh hưởng xấu nào đến sức khỏe của những con trai trong tự nhiên (Ellis, 1997).

*** Ký sinh trùng bám trên vỏ trai**

Sinh vật bám: Kết quả phân tích mẫu trai tai tượng vảy nuôi vỗ xác định được các sinh vật bám là sun *Balanus* sp., giun nhiều tơ *Polydora* sp., bộ chân đều *Isopoda*.

Sun (*Balanus* sp.) bám trên vỏ trai tai tượng vảy, có kích thước đường kính vỏ khoảng $10 - 20\text{mm}$, chiều cao mặt vỏ $4 - 9\text{mm}$. Sun *Balanus* sp. hình nón cụt, màu nâu tím,

có 5 mặt. Lỗ miệng rộng, hình ovan, hình đa giác, kích thước thường bằng 1/2 kích thước vỏ. Phần đỉnh vỏ có nhiều màu sắc khác nhau từ màu hồng đến màu tím đen.

Balanus sp. là loài ăn lọc nên cạnh tranh thức ăn với trai, cạnh tranh hô hấp, gây ảnh hưởng đến hoạt động khép và mở vỏ của trai ở cường độ cảm nhiễm cao. Nếu cường độ nhiễm *Balanus* sp. cao (>120 con/1 vỏ), hoặc chúng bám giữa 2 mép vỏ hay bám trên bản lề vỏ, làm cho vật chủ không có khả năng mở vỏ, dẫn đến đói mà chết. *Balanus* sp. bám đầy trên mặt vỏ bằng cách sắp xếp các cá thể liên kết và bám chặt với nhau giống như “mạng lưới” trên lớp vỏ động vật thân mềm, đây cũng là nguyên nhân gián tiếp làm động vật thân mềm phát triển kém. Trong nghiên cứu của chúng tôi trên trai tai tượng vảy nuôi vỗ, *Balanus* sp thường bám trên bề mặt vỏ, rất hiếm khi gặp chúng bám ở giữa 2 mép vỏ của 2 vỏ hay ở giữa bản lề của vỏ. Thực tế nghiên cứu của chúng tôi thấy rằng những cá thể trai bị sun bám nhiều thì màu sắc trai không sặc sỡ, trai chậm phát triển, nguy cơ nhạt màng áo rất lớn.

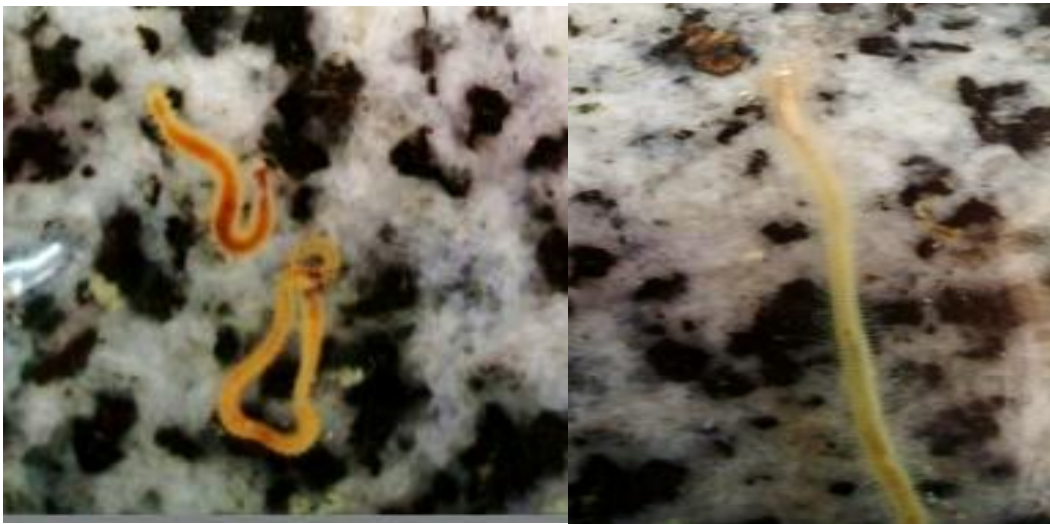


Hình 3.18. Sun *Balanus* sp. bám trên trai tai tượng vảy

Giun nhiều tơ *Polydora* sp. bám trên vỏ trai

Giun nhiều tơ *Polydora* sp. (họ *Spionidae*, lớp *Polychaeta*) cũng được tìm thấy trên trai nuôi vỗ. *Polydora* là địch hại nguy hiểm của trai, chúng bám trên bề mặt ngoài của vỏ và có thể xâm nhập vào lớp trong vỏ trai qua mép và giữa vỏ, gây bào mòn vỏ trai. Sau khi khoan thủng vỏ trai chúng đào qua lớp sừng cứng bên ngoài và xuyên qua lớp vỏ

xà cừ. Kết quả là hình thành các nốt phòng rộp ở bề mặt trong của vỏ và được bao phủ bởi chất tiết của lớp xà cừ của vật chủ. Theo Ngô Thị Thu Thảo và Choi (2006) thì giun nhiều tơ đã xuất hiện trên sò lông; song chưa có ghi nhận về tác hại của chúng. Tuy nhiên, Nell (2007) cho rằng hậu nhiễm *Polydora sp* nặng sẽ gây, yếu do phải tiết nhiều xà cừ để bảo vệ vỏ dẫn đến giá trị thương mại bị giảm; ngoài ra, chúng có thể gây chết rải rác cho trai ngọc *P. imbricata*, bào ngư *Haliotis rubra* và điệp *Pecten fumatus* (Nell, 2007).



Hình 3.19. Giun nhiều tơ *Polydora sp.* bám trên vỏ trai tai tượng vảy
Bộ chân đều *Isopoda* kí sinh



Hình 3.20. Loài *Corallana grandiventra* Ho et Tonguthai, 1992 bám trên vỏ trai

Loài *Corallana grandiventra* cơ thể lồi hình ovan kéo dài, hai mép bên gần song song, bụng hơi lồi. Giữa phần đầu ngực thường có màu đen, nhìn mặt bụng thấy rõ màu đen. Có hai mắt kép rõ ràng. Kích thước cơ thể: chiều dài 7-8 mm, chiều rộng 2,5-3,0 mm.

Ngoài ra còn có nhiều loài 2 mảnh vỏ khác sống bám trên vỏ trai tai tượng vảy. Các loài này sống bám chứ không phải ký sinh trùng vì chúng chỉ bám trên vỏ trai, không lấy chất dinh dưỡng từ trai. Tuy nhiên, chúng cũng gây ra một số ảnh hưởng đến trai như: Cạnh tranh chất dinh dưỡng, không gian sống và ánh sáng với trai. Ngoài ra, khi chúng bám quá nhiều trên vỏ trai gây mất thẩm mỹ, làm giảm giá trị sản phẩm nuôi.



Hình 3.21. Động vật 2 mảnh vỏ bám trên vỏ trai

Kết quả phân lập và định danh vi khuẩn trên trai tai tượng vảy

Chưa phát hiện và ghi nhận sự bùng phát dịch bệnh ở trai nuôi vỗ và gây ra bởi vi khuẩn. Tuy nhiên, kết quả phân lập vi khuẩn từ mẫu trai đã định danh được 01 chủng vi khuẩn có tên khoa học là *Aeromonas hydrophila*.

Mặc dù *Aeromonas hydrophila* là một loài vi khuẩn gây bệnh lở loét ở cá, có hình que ngắn có thể di động trong môi trường lỏng (TSB), cho phản ứng oxidase dương tính, có khả năng lên men glucose trong cả hai điều kiện hiếu khí và kỵ khí, tuy nhiên loài này có độ rộng muối khá cao, chúng có thể phát triển ở độ mặn từ 0- 25 ‰.

3.2.5.2. Các địch hại trong quá trình nuôi vỗ trai tai tượng vảy

- Động vật ăn thịt

Trong quá trình nuôi vỗ chúng tôi đã bắt gặp ốc lông *Cymatium* sp. Các cá thể này được cho là xâm nhập vào hệ thống nuôi vỗ trai qua con đường nước do hệ thống lọc không kỹ. Khi ở trong bể nuôi vỗ trai, chúng xâm nhập vào trai qua lỗ tơ chân. Các triệu chứng tùy thuộc vào mức độ và thời gian lây nhiễm bao gồm: Tẩy trắng hoặc mất màu màng áo; Màng áo mở rộng không hoàn toàn; trai há hốc miệng, mô màng áo kéo căng; và chết. Tuy nhiên, cũng theo nhiều tác giả thì trai càng lớn thì mức độ ăn thịt của

ốc cũng như mức độ lây lan giảm đi rất nhiều. Thống kê cho thấy rằng trai tai tượng có chiều dài 15-17 cm thì các địch hại khó có thể chui vào bên trong cơ thể trai được vì tơ chân bám chặt vào nền đáy. Ngoài ra, những cá thể trai có kích thước và khối lượng lớn có thể ngăn cản những con ốc chui vào. Vì trai tai tượng vảy có lỗ tơ chân nhỏ so với các loài trai tai tượng khác nên khả năng chui vào cơ thể trai thông qua lỗ tơ chân của các động vật ăn thịt cũng giảm (Ellis, 1998).

- Rong

Rong rêu phát triển nhiều sẽ che ánh sáng, cản trở quá trình quang hợp của tảo cộng sinh mặt khác chúng cạnh tranh các chất dinh dưỡng từ môi trường và nếu chúng phát triển mạnh sẽ thải ra một lớn CO₂ và tiêu hao ô xy vào ban đêm. Một số loài rong rêu còn thải chất độc ra môi trường. Loài rong phổ biến thường gặp trong nuôi vồ là địch hại của trai tai tượng vảy là rong mền *Cladophora* sp. Rong mền thì được phát hiện bám trên vỏ trai hay trong thành bể nuôi vồ hay ương con giống trai tại Úc và giảm tỷ lệ sống của trai (10%), giảm tỷ lệ thành thực, tốc độ tăng trưởng của trai (Ellis, 1998).

- Bệnh tẩy trắng màng áo: trong một vài thời điểm trai có hiện tượng phai màu màng áo, được cho là do sự biến động nhanh chóng điều kiện môi trường đặc biệt là nhiệt, độ mặn và ánh sáng làm cho toàn bộ tảo cộng sinh trên lớp màng áo bị chết đi. Trai có biểu hiện yếu dần (Hình 3.28). Nhiệt độ, độ mặn và ánh sáng được ghi nhận khi xuất hiện hiện tượng phai màu màng áo của trai lần lượt là lớn hơn 32 °C, nhỏ hơn 25‰, và lớn hơn 6.000 lux.



Hình 3.22. Trai tai tượng vảy bị tẩy trắng màng áo

3.3. Thực nghiệm sản xuất giống nhân tạo trai tai tượng vảy

Sau khi kết thúc các thí nghiệm của phần xây dựng cơ sở khoa học sinh sản nhân tạo trai tai tượng vảy, ứng dụng các kết quả tốt nhất của từng thí nghiệm để tiến hành thực nghiệm 04 đợt sản xuất giống với quy mô lớn hơn để kiểm chứng và điều chỉnh cho phù hợp với điều kiện thực tế sản xuất.

3.3.1. Diễn biến một số yếu tố môi trường nước trong quá trình sản xuất giống

Kết quả kiểm tra, theo dõi một số yếu tố môi trường trong quá trình thực nghiệm sản xuất giống nhân tạo trai tai tượng vảy cả trong nhà và ngoài trời có mái che được trình bày ở Bảng 3.22.

Bảng 3.22. Các yếu tố môi trường trong quá trình nuôi thực nghiệm

Thời gian	Nhiệt độ (°C)	Độ mặn (ppt)	pH	DO (mg/l)
Buổi sáng (8:00)	27,50-28,00	31,00-33,00	8,00-8,10	5,00-6,00
Trung bình	27,68±0,28	31,18±0,45		5,29±0,65
Buổi chiều (14:00)	28,00-30,00	31,00-33,00	8,20-8,30	6,00-6,50
Trung bình	28,26±0,35	31,18±0,45		6,32±0,18

Số liệu được trình bày dưới dạng khoảng biến động và $TB \pm SD$

Qua Bảng 3.22 chúng ta thấy rằng các thông số môi trường như nhiệt độ, pH và hàm lượng ô xy hòa tan trong nước (DO) đo được trong buổi chiều lớn hơn buổi sáng. Nguyên nhân của sự giao động và chênh lệch này là do ở ngoài trời, ánh sáng lớn, nhiệt độ cao và do sự phát triển của sinh vật quang hợp có trong nước dưới ánh sáng mặt trời. Trong khi đó, nguồn nước dùng để thay cho ấu trùng giai đoạn sống nổi được thực hiện trong nhà có mái che được bơm ngoài biển vào qua hệ thống lọc cơ học và dự trữ trong bể chứa ít nhất 1 ngày để ổn định nhiệt độ trước khi cho vào bể ương nuôi. Tuy nhiên, riêng yếu tố độ mặn thì không thay đổi giữa hai lần đo trong ngày nhưng có sự thay đổi ít giữa các ngày thực nghiệm. Vùng nghiên cứu có nguồn nước không bị ảnh hưởng lớn bởi nước ngọt từ các con sông đổ vào, và nằm xa khu công nghiệp.

Isamu (2008) đã kết luận rằng nhiệt độ và độ mặn tối ưu cho ấu trùng trai tai tượng sinh trưởng, phát triển lần lượt là 25-31 °C và 31 – 35 ppt. Theo Ellis (1998) khuyến cáo trai tai tượng nên có khoảng môi trường với nhiệt độ từ 25-30°C, độ mặn từ 32-35 ppt, pH từ 8,1-8,5. Braley (1992) đưa ra hàm lượng oxy cho phép >5 mg/l. Đối chiếu kết quả đo đạt các yếu tố môi trường trong nghiên cứu chúng tôi với các tác giả khác, rõ ràng mặc dù các yếu tố đó có thay đổi chút ít nhưng đều nằm trong khoảng cho

phép đối với sự phát triển của ấu trùng trai tai tượng vảy. Ngoài ra, các yếu tố môi trường trong suốt thời gian thí nghiệm không thay đổi nhiều trong ngày và giữa các ngày nên rất phù hợp cho ấu trùng trai tai tượng vảy sinh trưởng và phát triển.

3.3.2. Kết quả tuyển chọn, vận chuyển và nuôi vỗ trai bố mẹ

Trên cơ sở những kết quả theo dõi những đặc điểm sinh học sinh sản trai tai tượng vảy vừa hoàn thiện, thu gom và tuyển chọn đàn trai bố mẹ đáp ứng những tiêu chí đưa ra phục vụ cho sinh sản nhân tạo. Việc tuyển chọn trai bố mẹ có ý nghĩa hết sức quan trọng và mang tính quyết định đến thành công của quá trình nuôi vỗ thành thực, kích thích sinh sản và ương nuôi ấu trùng sau này. Kết quả thu gom, tuyển chọn trai bố mẹ phục vụ sinh sản nhân tạo được thể hiện ở Bảng 3.23.

Bảng 3.23. Kết quả thu gom, tuyển chọn trai bố mẹ

Đợt sản xuất	Thời gian	Số lượng (con)	Chiều dài (mm)	Khối lượng (g)	Độ béo (%)	Tỷ lệ thành thực (%)
1	1/4/2020	34	231,5 ^a ±36,5	2.000 ^a ± 33,6	15,2 ^c ± 2,21	52,23 ^b ± 2,34
2	12/5/2020	46	240,0 ^a ±33,7	2.100 ^a ± 31,6	17,5 ^b ± 2,08	54,36 ^b ± 3,12
3	21/6/2020	37	235,7 ^a ±28,5	2.020,5 ^a ±17,0	20,0 ^a ± 2,44	61,34 ^a ± 2,16
4	1/8/2020	76	232,5 ^a ±45,7	1.970,5 ^a ±33,1	19, 5 ^a ±2,08	71,25 ^a ±3,26
Tổng/TB		193	234,7± 36,1	2.020,5± 28,8	18,05±2,21	59,79 ± 2,54

Số liệu được trình bày dưới dạng giá trị trung bình ± độ lệch chuẩn

Trong 193 cá thể trai tuyển chọn được có chiều dài trung bình 234,7± 36,1mm và khối lượng 2.020,5± 28,8g và khối lượng khác nhau không có ý nghĩa thống kê giữa các đợt sản xuất ($P>0,05$) và độ béo 18,05 ± 2,21%, trong đó độ béo của đợt 3,4 khác nhau có ý nghĩa thống kê so với đợt 1 và 2. Tỷ lệ thành thực trung bình 59,79 ± 2,54%.

Vì khoảng cách vận chuyển từ nơi khai thác về trại thực nghiệm không xa, thời gian giao động 2-5h, nên tỷ lệ sống trai sau vận chuyển tất cả bốn đợt là 100%.

Theo kết quả nghiên cứu đặc điểm sinh học sinh sản trong báo cáo này, trai tai tượng vảy có thể sinh sản quanh năm nhưng mùa vụ sinh sản tập trung vào từ tháng 5 đến tháng 8. Để đạt được hiệu quả cao trong sinh sản bất cứ đối tượng nào trong đó có trai tai tượng vảy, dù trong mùa sinh sản hay không thì nuôi vỗ thành thực sinh dục cũng rất cần thiết, để nâng cao số cá thể thành thực sinh dục, nâng cao chất lượng trứng và tinh, từ đó tối ưu hóa quá trình sinh sản, nâng cao khả năng thụ tinh, nở cũng như nâng

cao chất lượng ấu trùng và từ đó chất lượng con giống cũng tốt hơn (Braley, 1992; Ellis, 1998). Ngoài ra, nuôi vỗ thành thực sinh dục trai còn giúp cho người sản xuất giống chủ động về mặt thời gian, từ đó chủ động về mặt con người cũng như chuẩn bị cơ sở vật chất, trang thiết bị. Thời gian nuôi vỗ thành thực sinh dục trai tai tượng vảy diễn ra tương đối dài vì trai thành thực chậm, 30-40 ngày. Thời gian nuôi vỗ ngắn hay dài tùy thuộc vào điều kiện môi trường nước, mùa vụ. Khi kiểm tra có đa số trứng phát triển ở giai đoạn III thì dừng lại.

Bảng 3.24. Kết quả nuôi vỗ thành thực sinh dục trai bố mẹ

Đợt sản xuất	Thời gian nuôi	Trai nuôi (con)	Trai sống (con)	Tỷ lệ sống (%)	Độ béo (%)	Tỷ lệ thành thực (%)
1	1/4/2020-10/5/2020	34	28	82,35	16,6 ^c ± 2,76	71,80
2	12/5/2020-22/6/2020	46	39	84,78	17,2 ^b ± 2,15	73,41
3	21/6/2020-30/7/2020	37	32	86,49	18,8 ^a ± 3,58	81,62
4	1/8/2020-10/9/2020	76	69	90,79	18,9 ^a ± 2,65	86,44
TB		193	168	86,10	17,8 ± 2,78	78,31

Số liệu được trình bày dưới dạng giá trị trung bình ± độ lệch chuẩn

Bảng 3.24 cho thấy tỷ lệ sống khi nuôi vỗ của trai tai tượng vảy rất cao, trung bình 86,10% và chỉ ghi nhận hiện tượng trai chết khi mới bắt đầu thí nghiệm, có thể do trai chết do quá trình đánh bắt hay vận chuyển. Trong cả 4 đợt sản xuất, trai đều gia tăng về độ béo và tỷ lệ thành thực so với ban đầu, với giá trị của độ béo và tỷ lệ thành thực trung bình lần lượt là 17,8 ± 2,78% và 78,31%. Ở đợt nuôi vỗ thứ 4 chỉ số độ béo và tỷ lệ thành thực của trai là lớn nhất, tương ứng 18,9 ± 2,65 % và 86,44%. Chỉ số độ béo của đợt sản xuất thứ 3, và 4 lớn hơn và sự sai khác có ý nghĩa thống kê so với hai đợt sản xuất thứ 1 và 2 (P<0,05). Như vậy, kết quả của 4 đợt nuôi vỗ đều cho kết quả tỷ lệ thành thực của trai tai tượng vảy đều đạt yêu cầu cho sinh sản, dao động từ 71,8 – 86,44%.

3.3.3. Kích thích sinh sản

Ứng dụng kết quả tốt nhất từ TN2, phương pháp kích thích sinh sản bằng phơi khô trong bóng râm kết hợp tạo dòng chảy được ứng dụng cho tất cả 4 đợt sản xuất. Kết quả kích thích sinh sản được thể hiện ở Bảng 3.25.

Bảng 3.25. Kết quả kích thích sinh sản trai tai tượng vảy

Đợt	Thời gian hiệu ứng (phút)	Tỷ lệ đẻ (%)	Tỷ lệ thụ tinh (%)	Tỷ lệ nở (%)	Sức sinh sản hữu hiệu (AT D/cá thể cái)
1	127,75 ^c ± 10,16	48,50 ^c ± 7,19	68,04 ^b ± 1,56	63,50 ^c ± 1,34	5.180 ^c ± 56,98
2	124,73 ^b ± 9,34	50,23 ^b ± 6,87	69,00 ^b ± 1,45	64,18 ^b ± 1,49	5.234 ^b ± 43,34
3	120,35 ^a ± 6,74	53,23 ^a ± 6,45	71,13 ^a ± 0,45	66,50 ^a ± 0,35	5.520 ^a ± 43,64
4	116,32 ^a ± 9,54	57,50 ^a ± 4,19	72,00 ^a ± 0,56	67,50 ^a ± 0,29	5.920 ^a ± 56,54
TB	122,15 ± 7,61	52,11 ± 6,17	70,04 ± 1,01	65,42 ± 0,87	5.463 ± 50,13

Bảng 3.25 cho thấy kết quả kích thích sinh sản trai tai tượng vảy đều cho các chỉ tiêu đạt tương đối cao và đồng đều giữa các đợt nhưng có xu hướng tăng dần từ đợt 1 đến đợt 4. Thời gian hiệu ứng kích thích trung bình là khoảng 120 phút và tỷ lệ đẻ trung bình là 52%. Tỷ lệ thụ tinh và nở của trai khá cao, trung bình lần lượt đạt 70,04 ± 1,01% và 65,42 ± 0,87%. Sức sinh sản hữu hiệu đạt khá cao, trung bình khoảng 5,4 triệu ấu trùng chữ D khỏe mạnh để ương nuôi/cá thể cái trong một lần đẻ. Kết quả phù hợp với nhận xét của Braley (1992) và Ellis (1998) khi tổng kết các đợt sản xuất giống trai tai tượng cho rằng tỷ lệ thụ tinh và nở đạt được 60-80% (Braley, 1992; Ellis, 1998).

3.3.4. Ương nuôi ấu trùng và con giống

Trong quá trình ấp trứng ở nhiệt độ 27°C với mật độ ấp 20 phôi/mL, theo dõi quá trình phát triển phôi đến khi 50% ấu trùng chữ D xuất hiện thu toàn bộ ấu trùng sang bể ương với mật độ ban đầu là 3 con/mL. Nước ương nuôi được lọc cát (thô và tinh) với kích thước hạt cát 200-300µm và được chứa trong nhà ít nhất là 2 ngày để ổn định nhiệt độ. Bể nuôi ấu trùng đặt trong nhà có hai loại: bể xi măng 4 m³ (2 x 2 x 1 m) và bể composite 1m³ hình bán cầu, sục khí nhẹ liên tục. Riêng bể cho ấu trùng xuống đáy và ương giống có hình chữ nhật đáy bằng, với kích thước 2 x 1 x 0,8 m đặt ngoài trời có che lưới lan.

Ở giai đoạn ấu trùng sống nổi, mật độ ấu trùng ban đầu ương ở tất cả các đợt thực nghiệm là 3 con/mL. Hàng ngày ấu trùng được cho ăn 2 lần, vào lúc 8h sáng và 2 giờ chiều bằng hỗn hợp 3 loài vi tảo *Nannochloropsis oculata*, *Isochrysis galbana* và *Chaetoceros muelleri* với mật độ cho ăn 10.000 tế bào/mL. Thay nước được thực hiện 2 ngày một lần vào lúc 8 giờ sáng, thay toàn bộ nước cũ. Khi ấu trùng lớn lên thì dùng lưới thay nước có cỡ lưới lớn hơn. Việc thay nước 100% sau 2 ngày với mục đích loại bỏ toàn bộ nước cũ chứa thức ăn còn dư và xác chết một số ấu trùng. Kiểm tra tăng trưởng cũng như tỷ lệ sống ấu trùng, đánh giá độ nhanh nhẹn, khả năng bơi lội của ấu trùng, loại bỏ chất dư bám bên thành hồ nuôi, dây khí. Đây cũng là quy trình chuẩn mà nhiều người trên thế giới ứng

dụng để sản xuất giống các đối tượng động vật thân mềm (Braley, 1992, Ellis, 1998). Khi ấu trùng đến ngày thứ 4, cho ấu trùng ăn tảo cộng sinh với liều lượng 5.000 tế bào/mL. Bước qua ngày thứ 5 thì chuyển toàn bộ ấu trùng ra bể ngoài trời có che lưới lan.

Đến ngày thứ 7 thì cho vật bám là đá san hô chết vào. Đá san hô chết được vệ sinh bằng Chlorine A và rửa lại bằng nước ngọt, phơi khô. Đến ngày thứ 14 thì dừng cho ăn tảo cộng sinh và vi tảo làm thức ăn. Đến lúc này, con giống hình thành, biểu hiện bằng việc tạo thành mối quan hệ cộng sinh trên màng áo trai con. Khi ở ngoài trời thì các biện pháp kỹ thuật cũng khác đi. Thay nước được thực hiện 30% hàng ngày và sau một tuần thì thay nước toàn bộ. Khi thay nước toàn bộ kết hợp với vệ sinh dây khí và thành hồ vì giai đoạn này ở ngoài trời nên rong phát triển mạnh. Sục khí cũng được điều chỉnh mạnh lên tránh nước phân tầng. Quá trình thực nghiệm kết thúc khi con giống đạt kích thước chiều dài 2cm (khoảng 3 tháng tính từ lúc đẻ).

Kết quả 4 đợt sản xuất giống trai tai tượng vảy được thể hiện ở Bảng 3.26.

Bảng 3.26. Kết quả sản xuất thử nghiệm giống trai tai tượng vảy

Đợt	Tổng trứng (Trứng)	Ấu trùng chữ D (con)	Ấu trùng có chân (con)	Ấu trùng cộng sinh (con)	Con giống 2cm (con)	Tỷ lệ sống D-giống 2cm (%)
1	48.245.210	33.771.647	16.885.824	6.754.329	1.165.789	3,45
2	63.628.910	45.856.230	22.392.670	8.957.068	1.791.414	3,91
3	55.673.245	40.821.340	20.054.960	8.021.984	1.645.326	4,03
4	123.474.950	91.234.563	47.834.550	19.133.820	4.123.457	4,52
TỔNG/TB	291.022.315	211.683.780	107.168.004	42.867.201	8.725.986	3,98

Ghi chú: Ấu trùng chữ D là ấu trùng có hình dạng chữ D sau sau ấu trùng Trochophora; Ấu trùng có chân là ấu trùng hình thành chân bò để chuẩn bị biến thái xuống đáy; Ấu trùng cộng sinh là ấu trùng đã hình thành mối quan hệ cộng sinh với tảo cộng sinh

Sức sinh sản của trai tai tượng rất lớn. Mặc dù số lượng trai tham gia sinh sản ít (193 con) nhưng tổng số trứng thu được rất lớn, 291.022.315. Số lượng ấu trùng chữ D khỏe mạnh để đưa vào ương nuôi cũng khá cao 211.683.780 ấu trùng. Số lượng ấu trùng đã hình thành quan hệ cộng sinh, đây là số lượng ấu trùng đã xuống đáy thành công đạt khá cao 42.867.201 ấu trùng. Sau thời gian 3 tháng ương nuôi, thu được 8.725.986 con giống với kích thước chiều dài trung bình 2cm. Tuy nhiên tỷ lệ sống trung bình từ ấu trùng chữ D đến con giống 2cm đạt khá thấp, chỉ 3,98%. Tỷ lệ sống này tăng dần từ đợt sản xuất đầu tiên đến đợt thứ 4, chứng tỏ kỹ thuật chăm sóc ấu trùng và con giống theo thời gian càng hoàn thiện dần.

CHƯƠNG 4: KẾT LUẬN VÀ ĐỀ XUẤT Ý KIẾN

4.1. Kết luận

➤ Đặc điểm sinh học sinh sản trai tai tượng vảy

Trai tai tượng vảy là đối tượng lưỡng tính đồng thời, tính đực chín trước. Quá trình phát triển tuyến sinh dục chia làm 5 giai đoạn: I: giai đoạn chưa hoạt động, II: giai đoạn sinh trưởng, III: giai đoạn phát triển, IV: giai đoạn thành thục và sinh sản, V: giai đoạn sau khi đẻ và thoái hóa.

Kích thước thành thục sinh dục lần đầu của trai theo chiều dài là 19,1cm. Trai tai tượng vảy có khả năng sinh sản quanh năm nhưng tập trung vào mùa vụ sinh sản chính từ tháng 5 tới tháng 8 hàng năm.

Sức sinh sản tuyệt đối trung bình của trai tai tượng vảy là $5.211.900 \pm 167.319$ trứng/cá thể cái, sức sinh sản tương đối là 2.035 ± 44 trứng/g khối lượng toàn thân và 8.968 ± 323 trứng/g khối lượng thân mềm. Sức sinh sản hữu hiệu là $5.463.000 \pm 50,13$ ấu trùng chữ D/ cá thể cái trong một lần sinh sản.

➤ Cơ sở khoa học và thực nghiệm sản xuất giống trai tai tượng vảy

Trong nuôi vỗ thành thục sinh dục trai tai tượng vảy, cường độ ánh sáng 2.000-4.000 lux là phù hợp. Kích thích sinh sản trai tai tượng vảy bằng phương pháp phơi khô trong bóng râm (nhiệt độ 30 °C trong vòng 30 phút) kết hợp dòng chảy cho tỷ lệ thụ tinh, nở và sức sinh sản hữu hiệu là cao nhất. Nhiệt độ thụ tinh 27-29 °C là phù hợp.

Trong ương nuôi ấu trùng giai đoạn sống nổi, điều kiện độ mặn 30-33ppt, mật độ ương 3-5 ấu trùng chữ D/mL, thức ăn là sự kết hợp các loài vi tảo *Nannochloropsis oculata*, *Chaetoceros muelleri* và *Isochrysis galbana* với tỷ lệ 1:1:1 về mật độ với mật độ cho ăn 15.000 tế bào/mL, mật độ tảo cộng sinh (*Symbiodinium microadriaticum*) 5.000 tế bào/mL là thích hợp nhất cho sinh trưởng và tỷ lệ sống của ấu trùng trai tai tượng vảy.

Kỹ thuật ương ấu trùng trai tai tượng vảy giai đoạn sống đáy và trai giống: độ mặn 30-33ppt, ánh sáng 2.000- 4.000 lux và vật bám là đá san hô chết là thích hợp nhất. Trai sinh trưởng nhanh và tỷ lệ sống cao.

Đối với trai giống, phương pháp vận chuyển kín ở nhiệt độ 22°C - 25°C, mật độ 1.000 con/thùng xốp (kích cỡ 40 x 60 x 40cm), thời gian vận chuyển 5 giờ là thích hợp nhất với tỷ lệ sống cao nhất.

Qua 4 đợt thực nghiệm sản xuất giống, tỷ lệ sống trung bình từ ấu trùng chữ D đến con giống 2cm là 3,98 % và thu được 8.725.986 con giống

4.2. Đề xuất ý kiến

Trong nghiên cứu này, tảo cộng sinh được thu từ việc cắt màng áo trai bố mẹ, phân lập và bảo quản dùng trong một thời gian ngắn (1 tuần). Tuy nhiên, song song với việc thu tảo cộng sinh là giết trai bố mẹ và khâu bảo quản phức tạp. Trai tai tượng vảy thu nhận các dưỡng chất cho quá trình hình thành sản phẩm sinh dục chính là từ môi quan hệ cộng sinh với vi tảo, nhưng nếu bổ sung nguồn thức ăn phù hợp cho quá trình nuôi vỗ thì chất lượng sản phẩm sinh dục cũng như chất lượng ấu trùng cũng được nâng lên. Do đó, để đảm bảo hoạt động sản xuất giống trai tai tượng vảy được thành công và ổn định, cần nghiên cứu sâu hơn các khía cạnh sau:

Nghiên cứu phân lập, lưu giữ, nhân sinh khối tảo cộng sinh và thời điểm cho tảo cộng sinh trong ương nuôi ấu trùng để nâng cao tỷ lệ sống giống trai tai tượng vảy.

Nghiên cứu bổ sung các loại thức ăn trong quá trình nuôi vỗ thành thực sinh dục trai bố mẹ để nâng cao chất lượng sản phẩm sinh dục, ấu trùng và con giống.

DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH KHOA HỌC ĐÃ CÔNG BỐ

1. **Phùng Bẩy, Tôn Nữ Mỹ Nga, Nguyễn Thị Thùy Trang, 2018.** Kết quả bước đầu nghiên cứu ảnh hưởng của chất đáy lên tỷ lệ sống và tốc độ tăng trưởng của ấu trùng trai tai tượng vảy giai đoạn sống đáy. Tạp chí Khoa học-Công nghệ Thủy sản, số 3/2018. Tr. 1-9.
2. **Phùng Bẩy, Tôn Nữ Mỹ Nga, Nguyễn Văn Minh, Ngô Anh Tuấn, 2023.** Nghiên cứu ảnh hưởng của cường độ ánh sáng đến tăng trưởng và tỉ lệ sống của ấu trùng trai tai tượng vảy (*Tridacna squamosa* Lamarck, 1819) giai đoạn sống đáy. Tạp chí Khoa học-Công nghệ Thủy sản, số 4/2023, Tr. 87-95.
3. **Phùng Bẩy, Nguyễn Văn Minh, Ngô Anh Tuấn, 2023.** Ảnh hưởng của mật độ tảo cộng sinh và độ mặn đến tăng trưởng và tỷ lệ sống của ấu trùng trai tai tượng vảy (*Tridacna squamosa* Lamarck, 1819). Tạp chí Khoa học-Công nghệ Thủy sản, số 4/2023, Tr. 106-115.
4. **Phung Bay, Ngo Anh Tuan and Nguyen Van Minh, 2023.** Effects of microalgae and stocking density on growth and survival rate of giant clam (*Tridacna squamosa* Lamarck,1819)larvae. International Conference on Marine Sustainable Development and Innovation 2023. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. doi:10.1088/1755-1315/1278/1/012002.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

TÀI LIỆU TIẾNG VIỆT

1. Phùng Bấy, Lê Minh Viễn, Nguyễn Văn Tùng, (2009), “Nghiên cứu xây dựng quy trình công nghệ sản xuất giống và nuôi thương phẩm vọp *Geloina coaxans* (Gmelin, 1791)”. Báo cáo tổng kết đề tài do Suda tài trợ. Viện Nghiên cứu Nuôi trồng thủy sản III.
2. Phùng Bấy, (2010), “Nghiên cứu đặc điểm sinh học sinh sản của vọp *Geloina coaxans* (Gmelin, 1791) phân bố tại Cần Giờ, Thành Phố Hồ Chí Minh”. *Tuyển tập các công trình nghiên cứu khoa học công nghệ (2005-2009), kỷ niệm 25 năm thành lập Viện Nghiên cứu Nuôi trồng thủy sản III*, 351-360.
3. Phùng Bấy và Đoàn Trần Tấn Đào, (2010), “Ảnh hưởng của thức ăn đến sinh trưởng và tỷ lệ sống của ấu trùng hầu Bò Đào Nha (*Crassostrea angulata* Lamarck, 1819)”. *Tạp chí Nông nghiệp và phát triển Nông thôn*, 3: 17-25
4. Phùng Bấy, Nguyễn Chính, Nguyễn Văn Hùng, Thái Ngọc Chiến, Nguyễn Thị Bích Ngọc, Nguyễn Thị Hương và Nguyễn Văn Uân, (2010), “Nghiên cứu sản xuất giống và ương nuôi trai ngọc môi vàng (*Pinctada maxima* Jameson, 1901) ». *Tuyển tập các công trình nghiên cứu khoa học công nghệ (2005-2009), kỷ niệm 25 năm thành lập Viện Nghiên cứu Nuôi trồng thủy sản III*, Trang 306-328.
5. Phùng Bấy và Nguyễn Thị Xuân Thu, (2010), “Kết quả bước đầu thử nghiệm các phương pháp sản xuất giống hầu đơn *Crassostrea angulata* và *Crassostrea iredalei*”, *Tuyển tập các công trình nghiên cứu khoa học công nghệ (2005-2009), kỷ niệm 25 năm thành lập Viện Nghiên cứu Nuôi trồng thủy sản III*, Trang 343-350.
6. Phùng Bấy, (2014), “Nuôi hầu tại Việt Nam: lịch sử, hiện trạng và định hướng quản lý trong tương lai”. *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn, Chuyên đề kỷ niệm 35 năm ngày thành lập Viện Nghiên cứu Nuôi trồng thủy sản III*, Trang 10-15.
7. Phùng Bấy, Đoàn Trần Tấn Đào và Huỳnh Đức Tâm, (2014). Ưu thế vượt trội của hầu đơn tam bội Thái Bình Dương (*Crassostrea gigas* Thunberg, 1973) nuôi thương phẩm tại đầm Nha Phu, Khánh Hòa. *Tuyển tập các công trình nghiên cứu khoa học công nghệ (2010-2014)*.
8. Phùng Bấy, Nguyễn Thị Xuân Thu, Mai Duy Minh, Trần Thị Hiền và Stan Allen, (2014a), “Ảnh hưởng của nồng độ hóa chất và nhiệt độ đến khả năng tạo tam bội, tốc độ sinh trưởng và tỷ lệ sống của ấu trùng hầu Bò Đào Nha (*Crassostrea angulata* Lamarck, 1819)”. *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn, Chuyên đề kỷ niệm 35 năm ngày thành lập Viện Nghiên cứu Nuôi trồng thủy sản III*, Trang 38-43.

9. Phùng Bẩy, Nguyễn Thị Xuân Thu, Đoàn Trần Tấn Đào, Huỳnh Đức Tâm, và Phan Thị Thương Huyền, (2014b), “Ưu thế vượt trội của hầu đơn tam bội Thái bình dương (*Crassostre gigas* Thunberg, 1793) nuôi thương phẩm tại đầm Nha Phu, tỉnh Khánh Hòa”. *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn, Chuyên đề kỷ niệm 35 năm ngày thành lập Viện Nghiên cứu Nuôi trồng thủy sản III*, Trang 49-53.
10. Lưu Thị Dung và Phạm Quốc Hùng (2015). *Giáo trình Mô phôi học thủy sản*. Nhà xuất bản Nông nghiệp, 2015: 142 tr.
11. Phan Thị Thương Huyền, Ngô Anh Tuấn, Phùng Bẩy, Nancy Nevejan, Huỳnh Đức Tâm, (2015). “Ảnh hưởng của thức ăn, chế độ cho ăn lên sinh trưởng và tỷ lệ sống tu hài (*Lutraria rhynchaena* Jonas, 1844) giai đoạn xuống đáy đến kích cỡ giống 5mm”. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ nhiệt đới*, 08. 38-47.
12. Phùng Bẩy, Nancy Neverjen, Peter Bossier, Trần Thị Hiền, Trần Thanh Hương, (2015), “Tối ưu hóa sản xuất ấu trùng động vật thân mềm hai mảnh vỏ tại miền Trung Việt Nam”. Báo cáo tổng kết Dự án hợp tác quốc tế với Bỉ. 65trang
13. Phùng Bẩy, Tôn Nữ Mỹ Nga, Võ Hồng Phương, (2017), “Ảnh hưởng của mật độ đến sinh trưởng và tỷ lệ sống của ấu trùng nổi điệp quạt (*Chlamys nobilis* Reeve, 1852). *Tạp chí Khoa học-Công nghệ thủy sản số 3/2017*-Trường đại học Nha Trang. Trang 2-8
14. Đặng Thúy Bình, (2011), “Bảo tồn và lưu giữ nguồn gen các loài ốc cối (*Conus spp.*) và trai tai tượng (*Tridacna spp.*) ven biển Trung và Nam Bộ, Việt Nam.” Viện Công nghệ sinh học và Môi trường, trường Đại học Nha Trang.
15. Hoàng Đình Chiêu, (2009), “Tình hình khai thác, nuôi và xuất khẩu Trai Tai Tượng (*Tridacnidae*) tại Nha Trang. “Viện nghiên cứu hải sản.
16. Nguyễn Văn Chung và Đào Tấn Hồ, (2003), Sinh vật đáy, Biển Đông, tập IV, *Sinh vật và sinh thái biển*, Nhà xuất bản KHKT Hà nội, tr, 37-50.
17. Đỗ Anh Duy, Nguyễn Quang Hùng, Trần Văn Hường, Đồng Thị Dung và Nguyễn Thị Thu Hà., (2012),”Kết quả nghiên cứu các giai đoạn phát triển của tuyến sinh dục trai tai tượng vảy (*Tridacna squamosa* Lamarck, 1819) bằng phương pháp mô học.” *Tạp chí Khoa học và Phát triển* 2012.
18. Vũ Trọng Đại, (2022), “Nghiên cứu đặc điểm sinh học sinh sản và sản xuất giống nhân tạo nghêu lưa *Paphia undulata* Born (1780). Luận án tiến sĩ nông nghiệp, Đại học Nha Trang, 180 trang

19. Hoàng Thị Bích Đào, (2005), “Đặc điểm sinh học sinh sản và thử nghiệm sản xuất giống nhân tạo sò huyết”, Luận án tiến sĩ nông nghiệp, Đại học Nha Trang, 150 trang.
20. Đoàn Trần Tấn Đào, Phùng Bảy và Nguyễn Đình Trung, (2013). Nghiên cứu ảnh hưởng của độ mặn lên sinh trưởng và tỷ lệ sống của hầu giống tam bội Thái Bình Dương (*Crassostrea gigas* Thunberg, 1973). Tuyển tập báo cáo Hội nghị khoa học trẻ ngành thủy sản toàn quốc lần thứ IV, trang 197-201.
21. Nguyễn Quang Đông và Nguyễn Quang Hùng, (2015) “Một số đặc điểm sinh học trai tai tượng vảy (*Tridacna squamosa* Lamarck, 1819) tại 04 đảo khảo sát của biển Việt Nam”. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ thủy sản*, 1/2015.
22. Nguyễn Quang Hùng, (2011), *Nghiên cứu phục hồi và phát triển nguồn lợi trai tai tượng (Họ Tridacnidae) ở vùng biển Việt Nam*. Báo cáo tổng kết đề tài cấp Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn, 2011. 97Tr.
23. Bùi Lai, (2006), Nghiên cứu nguồn lợi, đặc điểm sinh học, thử nghiệm sinh sản nhân tạo, đề xuất giải pháp bảo vệ, phát triển nguồn lợi ốc vú nàng và trai tai tượng tại Côn Đảo, Bà Rịa - Vũng Tàu, Viện Sinh học Nhiệt đới thành phố Hồ Chí Minh.
24. Sách Đỏ Việt Nam, (2000), Phần động vật, Nhà xuất bản khoa học tự nhiên và công nghệ, Hà Nội, tr. 379-382.
25. Sách đỏ Việt Nam, (2007), Phần Động vật. Nhà xuất bản khoa học và công nghệ, tr 155.
26. Tôn Nữ Mỹ Nga, (2010), “Ảnh hưởng của mật độ nuôi đến sinh trưởng và tỷ lệ sống của ấu trùng hầu Bồ Đào Nha (*Crassostrea angulata* Lamarck, 1819)”. *Tạp chí Khoa học Công nghệ thủy sản*, Đại học Nha Trang. Số 3/2010. Trang 50-57.
27. Tôn Nữ Mỹ Nga và Phùng Bảy, (2017a), “Ảnh hưởng của thức ăn đến sinh trưởng và tỷ lệ sống của ấu trùng trai tai tượng vảy (*Tridacna squamosa* Lamarck, 1819)”. *Tạp chí Khoa học-Công nghệ thủy sản*, 1: 45-51.
28. Tôn Nữ Mỹ Nga và Phùng Bảy, (2017b), “Ảnh hưởng của thức ăn đến sinh trưởng và tỷ lệ sống của ấu trùng nổi điệp quạt (*Chlamys nobilis* Reeve, 1852)”. *Tạp chí Khoa học-Công nghệ thủy sản* số 3/2017-Trường đại học Nha Trang. Trang 57-63.
29. Nguyễn Trọng Nho và Ngô Anh Tuấn, (2001), Một số đặc điểm sinh học và nguồn lợi điệp quạt (*Chlamys nobilis* Reeve, 1852) tại vùng biển ven bờ tỉnh Bình Thuận (Giai đoạn 1985-1986). Tuyển tập báo cáo khoa học Hội thảo động vật thân mềm toàn quốc lần thứ nhất, Nha Trang 25-27/3/1999, Tr. 131-140.
30. Nguyễn Hữu Phụng, (1995), Điều tra nguồn lợi đặc sản vùng biển ven bờ và ven đảo Việt Nam. Báo cáo tổng kết đề tài KT.03.08, Viện Hải Dương Học, Nha Trang, tr. 34-42.

31. Nguyễn Hữu Phụng và Võ Sỹ Tuấn, (1996), Nguồn lợi thân mềm hai mảnh vỏ (Bivalvia) chủ yếu ở biển Việt Nam, *Tuyển tập nghiên cứu biển*, NXB Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội, tập VII, tr. 9-16.
32. Huỳnh Minh Sang, Hứa Thái An, Lê Thị Thu Thảo, (2022). Đặc điểm sinh học sinh sản của Chíp Chíp (*Paratapes undulatus* Born, 1778) ở vùng cửa sông thuộc địa phận thành phố Đà Nẵng, *Tuyển tập Hội nghị Biển đông*, Nha Trang 13-14/9/2022, 319-330.
33. Đặng Ngọc Thanh, Nguyễn Xuân Dục, (2003), Đặc trưng sinh thái vùng triều. Nxb. Đại học Quốc gia Hà Nội.
34. Ngô Thị Thu Thảo và K.S. Choi. (2006). Khảo sát hiện tượng nhiễm giun nhiều tơ *Polydora* sp. ở sò lông. *Tạp chí khoa học Đại học Cần Thơ. Số đặc biệt chuyên đề Thủy sản (quyển II):* 62-69.
35. Nguyễn Thị Xuân Thu, (1998), *Nghiên cứu đặc điểm sinh sản, sinh trưởng và kỹ thuật sản xuất giống nhân tạo điệp quạt Chlamys nobilis* Reeve, 1852, Luận án tiến sĩ nông nghiệp, Đại học Nha Trang, 172 trang.
36. Đỗ Công Thung và Sarti. M, (2004), *Bảo tồn đa dạng sinh học dải ven bờ Việt Nam*, NXB Đại học quốc gia Hà nội, tr. 36-82.
37. Đỗ Công Thung và Lê Thị Thúy, (2015). Lớp thân mềm hai mảnh vỏ (Bivalvia) kinh tế biển Việt Nam. Nhà xuất bản Khoa học tự nhiên và Công nghệ.
38. Ngô Anh Tuấn, (2004) Ảnh hưởng của thức ăn lên sinh trưởng và tỷ lệ sống ấu trùng điệp seo (*Comptopallium radula* Linnaeus, 1758). *Tuyển tập báo cáo khoa học Hội thảo động vật thân mềm toàn quốc lần thứ 3, 09/2003.* Trang 210-219
39. Ngô Anh Tuấn, (2005) *Đặc điểm sinh học sinh sản và thử nghiệm sản xuất giống nhân tạo điệp seo (Comptopallium radula* Linnaeus, 1758). *Luận án Tiến sĩ Nông nghiệp, trường Đại học Thủy sản.*
40. Ngô Anh Tuấn, (2012) *Kỹ thuật nuôi động vật thân mềm.* Nhà xuất bản Nông Nghiệp, TP Hồ Chí Minh, 238 tr.
41. Ngô Anh Tuấn, Châu Văn Thanh và Vũ Trọng Đại, (2007). Một số đặc điểm sinh học sinh sản của hào (*Crassostrea belcheri* Sowerby, 1871) ở sông Chà Và tỉnh Bà Rịa-Vũng Tàu. *Tuyển tập báo cáo khoa học Hội thảo động vật thân mềm toàn quốc lần thứ 4, 09/2005.* Trang 263-273.

TÀI LIỆU TIẾNG ANH

42. Adams T. (1988) 'Giant Clams in Fiji. South Pacific Commission workshop on inshore fisheries resource, Mournea New Caledonia, March, 1988. Background Paper 50'.

43. Aji L. P (2011) 'Review: Spawning Induction in Bivalve. Vol. 14(2), pp. 33–36.', *Journal Penelitian Sains*, 14(2), pp. 33–36.
44. Alcazar, S.N., Soils, E.P., and Alcala, A.C. (1987) 'Serotonin-Induced spawning and larval rearing of the China clam, *Hippopus porcellanus* Rosewater (Bivalvia: Tridacnidae). *Silliman Journal*, 33,65-72.'
45. Ambariyanto, A. (2004) 'Improving Survivorship of Giant Clams Larvae', in *Bilateral Workshop on Coastal Resources Exploration and Conservation, Bali, 13 – 15 October 2004*.
46. Belda, C., Lucas, J., and Yellowlees, D. (1993) 'Nutrient limitation in the giant clam-zooxanthellae symbiosis: effects of nutrient supplements on growth of the symbiotic partners', *Marine Biology*, 117, pp. 655–664.
47. Boo, M.V, Chew, S.F, Ip, Y.K, (2021) The colorful mantle of the giant clam *Tridacna squamosa* expresses a homolog of electrogenic sodium: Bicarbonate cotransporter 2 that mediates the supply of inorganic carbon to photosynthesizing symbionts. *PLOS ONE* 16(10): e0258519. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0258519>.
48. Braley, R.. (1992) *The giant clam: hatchery and nursery culture manual*, ACIAR Monograph No. 15.
49. Brown, M.R. (2002) 'Nutritional value of microalgae for aquaculture. In: Cruz-Suárez, L. E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Gaxiola-Cortés, M. G., Simoes, N. (Eds.). *Avances en Nutrición Acuícola VI. Memorias del VI Simposium Internacional de Nutrición Acuícola*. 3 al 6 '.
50. Calumpong, H.P. (1992) 'The giant clam: an ocean culture manual, ACIAR Monograph No. 16, 68p.'
51. Copland, J .W., and Lucas, J.S., 1988. *Giant clam in Asia and the Pacific*. Australia Centre for International Agricultural Research - Canberra. pp.140 - 166..
52. Cragg, S.M. (2016) 'Biology and ecology of scallop larvae. In: *Scallops: biology, ecology, aquaculture and fisheries* (S.E. Shumway & G.J. Parsons, eds), pp. 31–83. *Developments in Aquaculture and Fisheries Science* vol. 40. Elsevier Publishing, Amsterdam, Netherlands.'
53. Crawford, C., Nash, W.. and Lucas, J.. (1986) 'Spawning induction, and larval and juvenile rearing of the giant clam, *Tridacna gigas*.' , *Aquaculture*, 58, pp. 281–295.
54. Crawford, C.M., Lucas, J.S. and Munro, J.L. (1987) 'The mariculture of giant clams. *Interdisciplinary Science Reviews*, 12: 333–340.'

55. Dawson, B. (1986) 'Report on a Study of the Market for Giant Clam Products in Taiwan, Japan, Hong Kong and Singapore. FFA Report No. 86/37, South Pacific Forum Fisheries Agency, Honiara, Solomon Islands. September 1986, 34 pages.'
56. Dunstan, G. *et al.* (1994) 'Essential polyunsaturated fatty acids from fourteen species of diatom (Bacillariophyceae). *Phytochemistry*, 35: 155-161'.
57. Eckman, W, Vicentuan-Cabaitan, K, and Todd, P.. (2014) 'Observations on the hyposalinity tolerance of Fluted giant clam (*Tridacna squamosa* Lamarck, 1819) larvae', *Nature in Singapore*, 7, pp. 111–116.
58. Ellis, S. (1998) 'Spawning and Early Larval Rearing of Giant Clams (Bivalvia : Tridacnidae)', in *Center for Tropical and Subtropical Aquaculture*, pp. 1–55.
59. Ellis, S. (2000) Nursery and grow-out techniques for giants clams (Bivalvia: Tridacnidae), *Center for Tropical and Subtropical Aquaculture*.
60. El-Sokkary, S.G, Abd El-Wakeil , K.F, Obuid-Allah, A.H, Omer, M.Y, (2023) Influences of habitat and seasonal changes on gonadal maturation of *Echinometra mathaei* (Echinodermata: Echinoidea) and *Tridacna squamosa* (Mollusca: Bivalvia) in the Red Sea, Egypt.
61. Enricuson, O. *et al.* (2018) 'Elevated seawater temperatures affect embryonic and larval development in the giant clam *Tridacna gigas* (Cardiidae: Tridacninae)', *Molluscan Studies*, 85(1), pp. 1–7.
62. Fitt, W, K. (1988) 'Role of zooxanthellae in the mariculture of giant clams In Giant Clams in Asia and the Pacific, J.W Copland. & J.S. Lucas (eds).', *ACIAR Monograph*, 9, pp. 166–167.
63. Fitt, W.K., Heslinga, G.. and Watson, T.. (1993) 'F Utilization of dissolved inorganic nutrients in growth and mariculture of the tridacnid clam *Tridacna derasa*. *Aquaculture* 109:27-38.'
64. Huynh Minh Sang, Ho Son Lam, Truong Ba Hai, (2019) Reproductive biology of sagor catfish (*Hexanematichthys sagor* Hamilton, 1822) in Can Gio water, Vietnam. *Indian Journal of Geo Marine Sciences* 48 (06): 835-840.
65. Gervis, M. *et al.* (1996) 'Giant clam farming in the South Pacific, past experience and future prospects. Proceedings of the international workshop held from 20th November - 24th November 1995 at Ministry of Fisheries, Tonga. 423 pp'.
66. Govan, H., Fabro, L.. and Ropeti, E. (1993) "Controlling predators of cultured tridacnid clams. In: Fitt W.K. (editor). *Biology and mariculture of giant clams*", in *ACIAR Proceedings #47*, pp. 111-118.'

67. Greenwood, P.J. Bennett, T. (1981) 'Some effects of temperature-salinity combinations on the early development of the sea urchin *Parechinus angulosus* (Leske). Fertilization. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 51: 119–131.'
68. Hamner, W.M. (1978) 'Intraspecific competition in *Tridacna crocea*, a burrowing bivalve. *Oecologia (Berl.)* 34:267-281.
69. Hart, A., Bell, J. and Foyle, T. (1998) 'Growth and survival of the giant clams, *Tridacna derasa*, *T. maxima* and *T. crocea*, at village farms in the Solomon Islands. *Aquaculture* 165:203–220'.
70. Heslinga, G.A., Perron, F.E., and Orak, O. (1984) 'Mass Culture of Giant Clams (F. Tridacnidae) in Palau.', *Aquaculture*, 39, pp. 197–215.
71. Heslinga, G.A., Watson, T.C. and Isarnu, T. (1990) 'Giant clam farming. Pacific Fisheries Development Foundation (NMFS/NOM). Honolulu, Hawaii. 179 pp.'
72. Hirose, E., Iwai, K. and Maruyama, T. (2006) 'Establishment of the photosymbiosis in the early ontogeny of three giant clams.', *Marine Biology*, 148, pp. 551–558.
73. Jameson, S.. (1976) 'Early life history of the giant clams: *Tridacna crocea* (Lamarck), *Tridacna maxima* (Röding), and *Hippopus hippopus* (Linnaeus). *Pacific Science* 30: 219–233.' King M., 2001. Fisheries biology assessment and management. Fishing News Books.
74. King M., 2001. Fisheries biology assessment and management. Fishing News Books.
75. Klumpp, D., and Griffiths, C. (1994) 'Contributions of phototrophic and heterotrophic nutrition to the metabolic and growth requirements of four species of giant clam (Tridacnidae). *Marine Ecology Progress Series* 115, pp. 103–115.
76. Klumpp, D.W., Bayne, B.L. and Hawkins, A.J.S. (1992) 'Nutrition of the giant clam *Tridacna gigas* (L.) I. Contribution of filter feeding and photosynthates to respiration and growth', *Experimental Marine Biology and Ecology*, 155(1), pp. 105–122.
77. Knop, D. (1996) *Giant clams: a comprehensive guide to the identification and care of Tridacnid clams*. Dahne Verlag, Ettlingen, Germany.
78. Labarbera, M. (1975) 'Larval and post larval development of giant clams *Tridacna maxima* and *Tridacna squamosa* (Bivalvia: Tridacnidae). *Malacologia* 15: 69–79.'
79. Lamarck, J.. (1819) *Zoological Philosophy*. London.
80. Latama, G., Ningsih, A.N. and Hasyim., I.Y. (2000) "Growth and survival of Juvenile Giant clam *Tridacna squamosa* as a function of density.," Phuket marine Biological Center Special Publication.'

81. Lewis, A.D., and Ledua, E. (1988) 'A possible new species of *Tridacna* (Tridacnidae: Mollusca) from Fiji. In: Copland, J.W., and Lucas, J.S., ed., *Giant dams In Asia and the Pacific*. Canberra, ACIAR Monograph No. 9, 82-84.'
82. Lima, P. C. M. d., Lavander, H.D., Silva, L.O.B. d and Gálvez, A.O. (2018) 'Larviculture of the sand clam cultivated in different densities. *Boletim do Instituto de Pesca* 44, e271.'
83. Long C, Zhang Y, Li, Y, Li J, Zhou Z, Qin Y, Li X, Ma H, Wei J, Zhou Y, Noor Z, Long, L, (2021) Effects of *Symbiodiniaceae* Phylotypes in Clades A–E on Progeny Performance of Two Giant Clams (*Tridacna squamosa* and *T. crocea*) During Early History Life Stages in the South China Sea. *Frontiers in Marine Science*. Volume 8, Article 633761
84. Liu B, Tang B, Zhang, T, Dong, B, (2006) 'Effect of stocking density on growth, settlement and survival of clam larvae, *Meretrix meretrix*. *Aquaculture* 258, 344-349.'
85. Liu C, Li X, Wu C, Wang A, Gu Z, (2020) Effects of three light intensities on the survival, growth performance and biochemical composition of two size giant clams *Tridacna crocea* in the Southern China Sea. *Aquaculture*, 528: 735548.
86. Loosanoff, V.L. and Davis, H.C. (1963) 'Rearing of Bivalve Mollusks. In "Advances in Marine Biology" (F. S. Russell, ed.), Vol. 1, pp. 1-136'.
87. Lucas J S (1988) 'Giant clams: description, distribution and life history. In: Copland, J.W., and Lucas, J.S., ed., *Giant dams In Asia and the Pacific*. Canberra, ACIAR Monograph No. 9. 21-31.
88. Lucas, J. S. (1996) 'Mariculture of giant clams. In: Friend, K (editor). *Present and future of aquaculture research and development in the Pacific Island countries*. Proceedings of the international workshop held from 20th November - 24th November 1995 at Ministry of Fisheries'.
89. Lucas, J. S., Ledua, E. and Braley., R.D. (1991) '*Tridacna tevoroa* Lucas, J., Ledua, E. and Braley: a recently-described species of giant clam (bivalvia: Tridacnidae) from Fiji and Tonga. *The Nautilus*, 105(3), 92-103.'
90. Lucas, J.S. and Southgate, P.C. (2003) *Aquaculture: Farming Aquatic Animals and Plants*. Wiley Blackwell.
91. Militz, T. A., Southgate, P.C. (2021) 'Culture of giant clams. In S. Shumway (Ed.), *Molluscan shellfish aquaculture: A practical guide* (pp. 61–85). 5m Publishing'.
92. Mingoa Licuanan, E.D and Gomez, S.. (2002) 'Giant clam conservation in Southeast Asia.', *Tropical Coasts*, 3, pp. 24–56.

93. Mita, M., Hino, A. and Yasumasu, I. (1984) 'Effect of Temperature on Interaction between Eggs and Spermatozoa of Sea Urchin', *Biological Bulletin*, 166(1), p. 68.
94. Moir, B.G. (1986) 'A Review of Tridacnid Ecology and Some Possible Implications for Archaeological Research', *Asian Perspectives*, 27(1), pp. 95–121.
95. Morishima, S.Y. *et al.* (2019) 'Study on expelled but viable zooxanthellae from giant clams, with an emphasis on their potential as subsequent symbiont sources', *PLoS ONE*, 14(7), pp. 1–20. Available at: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0220141>.
96. Nash, W. J. ; Pearson, R. G. ; Westmore, S.P. (1988) 'A histological study of reproduction in the giant clam *Tridacna gigas* in the north-central Great Barrier Reef.', *Giant clams in Asia and the Pacific*, 9, pp. 89–93.
97. Nell, J.. (2007) 'Controlling mudworm in oysters. Primefact 590. NSW Department of Primary Industries, Port Stephens Fisheries Centre, Nelson Bay, NSW, 4pp'.
98. Neo, M.L. Todd, P.A. Teo, S.L.-M. Chou, L.M. (2013) 'The effects of diet, temperature and salinity of larvae of the fluted giant clam, *Tridacna squamosa*. Journal of Conchology, 41: 369–376.'
99. Norton, J.H. and Jones, a. . (1992) 'The giant clams: an anatomical and histological atlas. Canberra, ACIAR Monograph No. 14, 142p'
100. Norton, J.H. Shepherd M. A, Abdou-Naguit M A..., Lindsay, S. (1993) 'Mortalities in the Giant Clam *Hippopus hippopus* Associated with Rickettsiales-like Organisms', *Journal of Invertebrate Pathology*, 62(2), pp. 207–209.
101. Obis, (2015). Distribution records of *Tridacna squamosa* Lamarck, 1819. Available: Ocean Biogeography Information System. Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO. <http://www.iobis.org>. (Accessed 21 October 2015)
102. O'Connor, M.. and Bruno, J.F., Gaines, S.D., Halpern, B.S., Lester, S.E., Kinlan, B.P. & Weiss, J.M. (2007) 'Temperature control of larval dispersal and the implications for marine ecology, evolution, and conservation. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 104: 1266–1271.'
103. Oliva, D, Munoz, A.A, Gutierrez, R, Herrera, L, (2014) 'Effect of stocking density and food ration on growth and survival of veliger and pediveliger larvae of the taquilla clam *Mulinia edulis* reared in the laboratory. Revista De Biologia Marina Y Oceanografia 49, 567-575.'
104. Pang, C.Z, Boo, M.V, Ip, Y.K and Chew, S.F, (2022) Symbiotic Dinoflagellates of the Giant Clam, *Tridacna squamosa*, Express Ammonium Transporter 2 at the Plasma Membrane and Increase Its Expression Levels During Illumination. *Front. Mar. Sci.* 9:835574. doi: 10.3389/fmars.2022.835574.

105. Perron, F., Heslinga, G. and Fagolimul, J. (1985) “The gastropod *Cymatium muricinum*, a predator on juvenile giant clams”, *Aquaculture*, 48, pp. 211-221’.
106. Pourmozaffar, S., Jahromi, S. T., Rameshi, H., Sadeghi, A., Bagheri, T. and Behzadi, S., Gozari, M., Zahedi, M. R., & Lazarjani, S.A. (2020) ‘The role of salinity in physiological responses of bivalves. *Reviews in Aquaculture*, 12, 1548–1566. <https://doi.org/10.1111/raq.12397>’.
107. Quayle D. B. and Newkirk G. F (1989) ‘Farming Bivalvia Molluscs Method Study and Development. The World. *Advances in World Aquaculture*, Volume 1.’
108. Renaud, S.M., Parry, D.L., Thinh, L. et al. (1991) ‘Effect of light intensity on the proximate biochemical and fatty acid composition of *Isochrysis* sp. and *Nannochloropsis oculata* for use in tropical aquaculture. *J Appl Phycol* 3, 43–53 (1991). <https://doi.org/10.1007/BF00003918>’.
109. Richard, G. (1978) ‘Quantitative balance and production of *Tridacna maxima* in the Takapoto lagoon . In: *Proceedings of the Third International Coral Reef Symposium*. pp 599-605 .
110. Rico-Villa, B¹, Jean-Rene, L.C, Christian, M, Rene, R., (2006) ‘Influence of phytoplankton diet mixtures on microalgae consumption, larval development and settlement of the Pacific oyster *Crassostrea gigas* (Thunberg). *Aquaculture* 256: 377–388.
111. Rivero-Rodríguez, S., Beaumont, A.. and Concepción Lora-Vilchi, M. (2007) ‘The effect of microalgal diets on growth, biochemical composition, and fatty acid profile of *Crassostrea corteziensis* (Hertlein) juveniles’, *Aquaculture*, 263, pp. 199–210.
112. Rosewater. J (1965) ‘The family Tridacnidae in the IndoPacific.’, *Indo-Pacific Mollusca*, 1, pp. 347–396.
113. Rosewater, J. (1982) ‘A new species of Hippopus (Bivalvia: Tridacnidae). *Nautilus*. 96, 3-6.
114. Sayco, S. L. G., Conaco, C., Neo, M. L., Cabaitan, P.C. (2019) ‘Reduced salinities negatively impact fertilization success and early larval development of the giant clam *Tridacna gigas* (Cardiidae: Tridacninae). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 516, 35–43. <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2019.04.004>’.
115. Sheehan, D.C. and Hrapchak, B.B. (1980) *Theory and practice of histotechnology*. 2nd Edition, The CV Mosby Company, St Louis.
116. Sirenko, B.I. and Scarlato, O.A (1991) ‘*Tridacna rosewateri* (sp. n.). A new species of giant clam from Indian Ocean (Bivalvia: Tridacnidae). *La Conchiglia*, No. 261, 4-9’.

117. Soudant, P., Chu, F. and Samain, J. (2000) 'Lipids requirements in some economically important marine bivalves. *Journal of Shellfish Research* 19: 605.'
118. Sukenik, A and Wahnou, R. (1991) 'Biochemical quality of marine unicellular algae with special emphasis on lipid composition. I. *Isochrysis galbana*', 97(1), pp. 61–72.
119. Utting, S., Spencer, B. and Ministry of Agriculture, F., and Food, L.D. o. F.R. (1991) 'The hatchery culture of bivalve mollusc larvae and juveniles.'
120. Webb, K.L. and Chu, F.E. (1983) 'Phytoplankton as a food source for bivalve larvae. In: G. D. Pruder, C. J. Langdon and D. E. Conklin (Editors), *Proceedings of the Second International Conference on Aquaculture Nutrition: Biochemical and Physiological Approaches to Shellfish Nutrition, L*'.
121. Yan, X., Zhang, G. and Yang, F. (2006) 'Effects of diet, stocking density, and environmental factors on growth, survival, and metamorphosis of Manila clam *Ruditapes philippinarum* larvae. *Aquaculture* 253, 350-358.'

PHỤ LỤC
PHỤ LỤC CÁC HÌNH ẢNH QUÁ TRÌNH THỰC HIỆN LUẬN ÁN



Thu mẫu phân tích đặc điểm sinh học
sinh sản



Máy Autoclave hấp triệt trùng môi trường



Tủ lạnh lưu giữ mẫu



Máy ly tâm



Kính hiển vi 400X xem mẫu vật



Cân điện tử cân mẫu trai và môi trường



Máy Lamilar flow cấy vi khuẩn và vi tảo



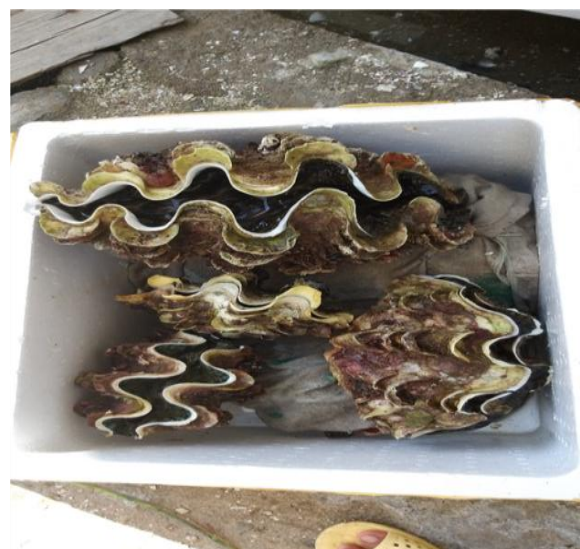
Hóa chất pha môi trường nuôi cấy vi tảo và vi khuẩn



Kiểm tra mẫu cắt lát trên kính hiển vi



Cắt màng áo thu tảo cộng sinh



Vận chuyển trai bố mẹ về nơi SX giống



Bể nuôi vỗ thành thực trai bố mẹ



Kính thích trai sinh sản



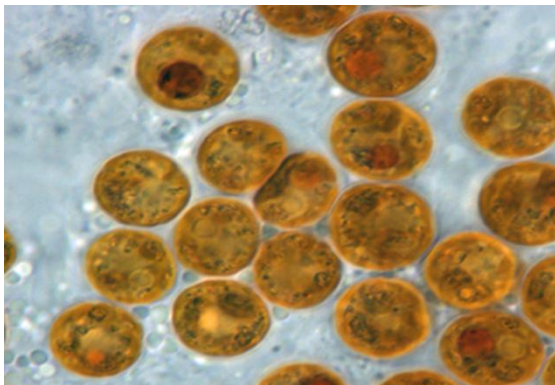
Hệ thống bể nuôi ấu trùng



Bể thí nghiệm ương nuôi ấu trùng



Khay thay nước



Hình thái ngoài của vi tảo cộng sinh



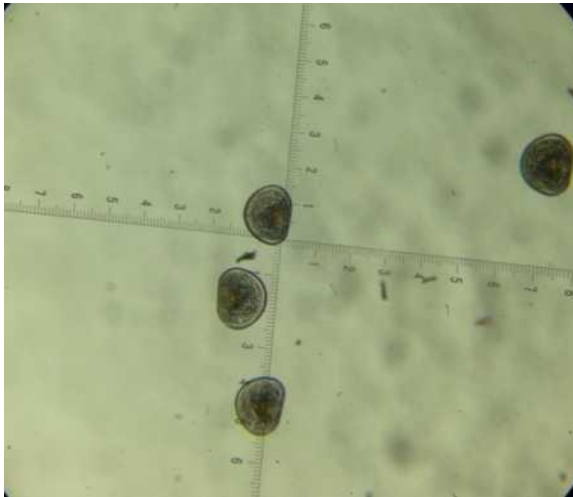
Phòng lưu giữ vi tảo



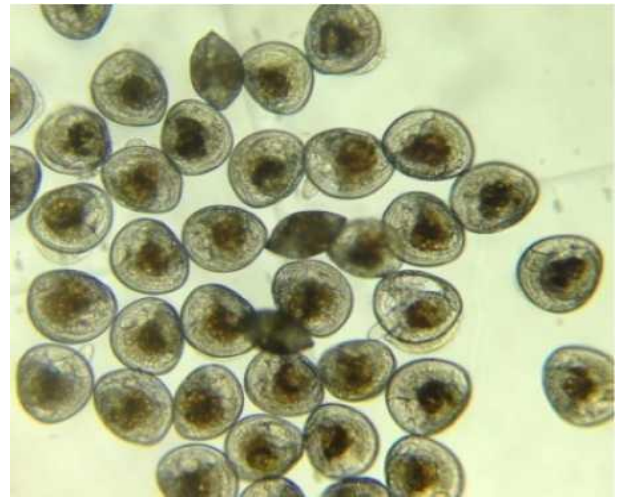
Nuôi cấy vi tảo liên tục



Nuôi cấy sinh khối vi tảo ngoài trời



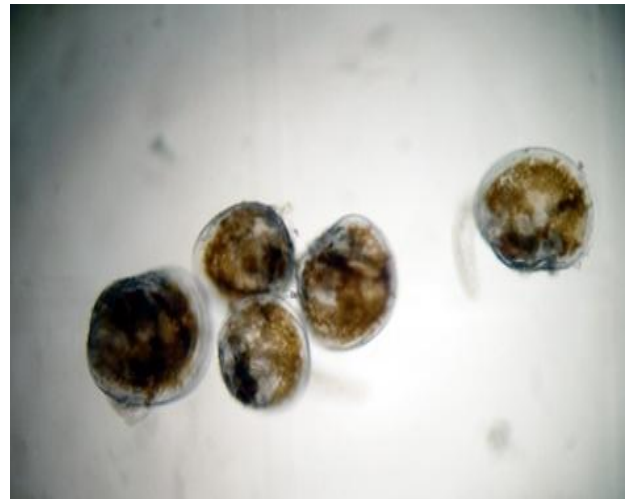
Ấu trùng chữ D



Ấu trùng chân bò Pediveliger



Ấu trùng bắt đầu ăn tảo cộng sinh



Ấu trùng đã hình thành cộng sinh



Vật bám là đá san hô chết



Ương con giống



Traï giông 0,5-1cm bám vào đá san hô



Traï giông 2-4cm



Buồng đếm tảo



Buồng đếm ấu trùng



PHỤ LỤC XỬ LÝ SỐ LIỆU CỦA LUẬN ÁN

1. Đặc điểm sinh học sinh sản

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Fa	11-15	4.31E5	24303.635	1.215E4	392327.49	469672.51	410000	466000
	16-20	2.34E6	229736.080	1.149E5	1972438.63	2703561.37	2066000	2610000
	21-25	4.41E6	292948.232	1.465E5	3941853.99	4874146.01	4066000	4690000
	26-30	7.28E6	134257.216	6.713E4	7063866.81	7491133.19	7100000	7400000
	31-35	1.16E7	281010.083	1.405E5	11157850.25	12052149.75	1.E7	1.E7
	Total	20	5.21E6	4028271.850	9.007E5	3326610.74	7097189.26	410000
Fatt	11-15	345.25	7.719	3.860	332.97	357.53	338	356
	16-20	1188.75	60.665	30.333	1092.22	1285.28	1121	1259
	21-25	1980.00	53.647	26.823	1894.64	2065.36	1936	2049
	26-30	2810.50	35.875	17.937	2753.42	2867.58	2777	2843
	31-35	3851.00	93.263	46.632	3702.60	3999.40	3754	3949
	Total	20	2035.10	1255.399	280.716	1447.56	2622.64	338
Fat m	11-15	1364.50	35.313	17.656	1308.31	1420.69	1331	1414
	16-20	5559.00	195.733	97.866	5247.55	5870.45	5297	5738
	21-25	8475.75	261.742	130.871	8059.26	8892.24	8298	8865
	26-30	1.29E4	1199.486	599.743	11014.85	14832.15	11563	13942
	31-35	1.65E4	160.215	80.108	16263.31	16773.19	16408	16755
	Total	20	8968.20	5496.572	1229.071	6395.73	11540.67	1331

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Fa	Between Groups	3.076E14	4	7.690E13	1.628E3	.000
	Within Groups	7.085E11	15	4.724E10		
	Total	3.083E14	19			
Fatt	Between Groups	2.989E7	4	7473675.325	2.251E3	.000
	Within Groups	49808.500	15	3320.567		
	Total	2.994E7	19			
Fat m	Between Groups	5.693E8	4	1.423E8	452.556	.000
	Within Groups	4717505.500	15	314500.367		
	Total	5.740E8	19			

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

Fa

Duncan

nghie mthuc	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
11-15	4	4.31E5				
16-20	4		2.34E6			
21-25	4			4.41E6		
26-30	4				7.28E6	
31-35	4					1.16E7
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

--	--	--	--	--	--

Fatt

Duncan

nghie mthuc	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
11-15	4	345.25				
16-20	4		1188.75			
21-25	4			1980.00		
26-30	4				2810.50	
31-35	4					3851.00
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.						

Fatm

Duncan

nghie mthuc	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
11-15	4	1364.50				
16-20	4		5559.00			
21-25	4			8475.75		
26-30	4				1.29E4	
31-35	4					1.65E4
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.						

Cơ sở khoa học sinh sản nhân tạo

Thí nghiệm 1:

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
tylesong	2.000 lux	6	.6880	.00709	.00289	.6806	.6955	.68	.69
	4.000 lux	6	.6783	.00536	.00219	.6727	.6840	.67	.68
	6.000 lux	6	.6342	.01349	.00551	.6201	.6484	.62	.66
	Total	18	.6669	.02564	.00604	.6541	.6796	.62	.69
dobeo	2.000 lux	6	.2449	.00431	.00176	.2404	.2495	.24	.25
	4.000 lux	6	.2090	.01198	.00489	.1965	.2216	.19	.22
	6.000 lux	6	.1937	.00624	.00255	.1872	.2003	.19	.20
	Total	18	.2159	.02339	.00551	.2043	.2275	.19	.25
tylethanhtuc	2.000 lux	6	.5557	.00894	.00365	.5463	.5651	.55	.57
	4.000 lux	6	.5083	.00936	.00382	.4985	.5181	.50	.52
	6.000 lux	6	.4584	.01211	.00494	.4457	.4711	.44	.48
	Total	18	.5075	.04198	.00989	.4866	.5283	.44	.57

Test of Homogeneity of Variances

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
tylesong	2.883	2	15	.087
dobeo	3.341	2	15	.063
tylethanhtuc	.336	2	15	.720

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
tylesong	Between Groups	.010	2	.005	56.729	.000
	Within Groups	.001	15	.000		
	Total	.011	17			
dobeo	Between Groups	.008	2	.004	61.868	.000
	Within Groups	.001	15	.000		
	Total	.009	17			
tylethanhtuc	Between Groups	.028	2	.014	135.545	.000
	Within Groups	.002	15	.000		
	Total	.030	17			

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

Tỷ lệ sống

Duncan

nghiemthuc	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
6.000 lux	6	.6342	
4.000 lux	6		.6783
2.000 lux	6		.6880
Sig.		1.000	.093

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Độ béo

Duncan

nghiemthuc	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
6.000 lux	6	.1937		
4.000 lux	6		.2090	
2.000 lux	6			.2449
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Tỷ lệ thành thực

Duncan

nghiemthuc	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
6.000 lux	6	.4584		
4.000 lux	6		.5083	
2.000 lux	6			.5557
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Thí nghiệm 2:

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum	
					Lower Bound	Upper Bound			
Thoigianhi euung	PKDC	6	1.3683E2	4.26224	1.74005	132.3604	141.3063	131.00	144.00
	PKDCDM	6	1.1283E2	1.47196	.60093	111.2886	114.3781	111.00	115.00
	SOCNHIET	6	86.8333	2.13698	.87242	84.5907	89.0760	84.00	89.00
	HOACHAT	6	83.0000	1.41421	.57735	81.5159	84.4841	81.00	85.00
	Total	24	1.0488E2	22.32821	4.55773	95.4466	114.3034	81.00	144.00
tylede	PKDC	6	47.5000	.54772	.22361	46.9252	48.0748	47.00	48.00
	PKDCDM	6	53.6667	1.63299	.66667	51.9529	55.3804	52.00	56.00
	SOCNHIET	6	59.5000	1.51658	.61914	57.9085	61.0915	57.00	61.00
	HOACHAT	6	67.1667	2.04124	.83333	65.0245	69.3088	64.00	70.00
	Total	24	56.9583	7.55547	1.54225	53.7679	60.1487	47.00	70.00
tylethutinh	PKDC	6	64.8333	1.16905	.47726	63.6065	66.0602	63.00	66.00
	PKDCDM	6	58.3333	.51640	.21082	57.7914	58.8753	58.00	59.00
	SOCNHIET	6	52.1667	1.60208	.65405	50.4854	53.8479	51.00	55.00
	HOACHAT	6	42.0000	1.26491	.51640	40.6726	43.3274	40.00	43.00
	Total	24	54.3333	8.66611	1.76896	50.6740	57.9927	40.00	66.00
tyleno	PKDC	6	60.5000	2.07364	.84656	58.3238	62.6762	57.00	62.00
	PKDCDM	6	56.0000	2.60768	1.06458	53.2634	58.7366	53.00	60.00
	SOCNHIET	6	51.3333	.81650	.33333	50.4765	52.1902	50.00	52.00
	HOACHAT	6	43.3333	1.21106	.49441	42.0624	44.6043	42.00	45.00
	Total	24	52.7917	6.70483	1.36862	49.9605	55.6229	42.00	62.00
ssshh	PKDC	6	4.9197E3	81.47310	33.26126	4834.1659	5005.1674	4789.00	4992.00
	PKDCDM	6	4.5823E3	9.20145	3.75648	4572.6770	4591.9897	4575.00	4599.00
	SOCNHIET	6	4.1883E3	36.26936	14.80691	4150.2710	4226.3957	4155.00	4251.00
	HOACHAT	6	3.7225E3	43.95793	17.94575	3676.3690	3768.6310	3679.00	3808.00
	Total	24	4.3532E3	458.72943	93.63775	4159.5039	4546.9128	3679.00	4992.00

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Thoigianhieung	Between Groups	11332.125	3	3777.375	561.691	.000
	Within Groups	134.500	20	6.725		
	Total	11466.625	23			
tylede	Between Groups	1265.792	3	421.931	178.910	.000
	Within Groups	47.167	20	2.358		
	Total	1312.958	23			
tylehutih	Between Groups	1698.333	3	566.111	390.421	.000
	Within Groups	29.000	20	1.450		
	Total	1727.333	23			
tyleno	Between Groups	967.792	3	322.597	97.510	.000
	Within Groups	66.167	20	3.308		
	Total	1033.958	23			
ssshh	Between Groups	4790100.458	3	1596700.153	640.583	.000
	Within Groups	49851.500	20	2492.575		
	Total	4839951.958	23			

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

Thời gian hiệu ứng

Duncan

nghiemthuc	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
HOACHAT	6	83.0000			
SOCNHIET	6		86.8333		
PKDCDM	6			1.1283E2	
PKDC	6				1.3683E2
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Tỷ lệ đẻ

Duncan

nghiemthuc	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
PKDC	6	47.5000			
PKDCDM	6		53.6667		
SOCNHIET	6			59.5000	
HOACHAT	6				67.1667
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Tỷ lệ thụ tinh

Duncan

nghiemthuc	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
HOACHAT	6	42.0000			
SOCNHIET	6		52.1667		
PKDCDM	6			58.3333	
PKDC	6				64.8333
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Tỷ lệ nở

Duncan

nghiemthuc	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
HOACHAT	6	43.3333			
SOCNHIET	6		51.3333		
PKDCDM	6			56.0000	
PKDC	6				60.5000
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Sức sinh sản hữu hiệu

Duncan

nghiemthuc	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
HOACHAT	6	3.7225E3			
SOCNHIET	6		4.1883E3		
PKDCDM	6			4.5823E3	
PKDC	6				4.9197E3
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Thí nghiệm 3:

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum	
					Lower Bound	Upper Bound			
tylethuti nh	25do	4	.5975	.02061	.01030	.5647	.6303	.57	.62
	27do	4	.6498	.01622	.00811	.6240	.6756	.63	.67
	29do	4	.6752	.01654	.00827	.6489	.7015	.66	.69
	Total	12	.6409	.03747	.01082	.6171	.6647	.57	.69
tyleno	25do	4	.8331	.01214	.00607	.8138	.8525	.82	.85
	27do	4	.7754	.01143	.00572	.7573	.7936	.76	.79
	29do	4	.6066	.02223	.01111	.5713	.6420	.58	.63
	Total	12	.7384	.10142	.02928	.6740	.8028	.58	.85
thoigian no	25do	4	24.5000	1.29099	.64550	22.4457	26.5543	23.00	26.00
	27do	4	20.0000	.81650	.40825	18.7008	21.2992	19.00	21.00
	29do	4	18.2500	1.25831	.62915	16.2478	20.2522	17.00	20.00
	Total	12	20.9167	2.93748	.84798	19.0503	22.7831	17.00	26.00

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
tylethutinh	Between Groups	.013	2	.006	19.599	.001
	Within Groups	.003	9	.000		
	Total	.015	11			
tyleno	Between Groups	.111	2	.055	215.313	.000
	Within Groups	.002	9	.000		
	Total	.113	11			
thoigianno	Between Groups	83.167	2	41.583	31.851	.000
	Within Groups	11.750	9	1.306		
	Total	94.917	11			

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

Tỷ lệ thụ tinh

Duncan

NGIE MTH UC	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
25do	4	.5975	
27do	4		.6498
29do	4		.6752
Sig.		1.000	.076

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Tỷ lệ nở

Duncan

NGIE MTH UC	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
29do	4	.6066		
27do	4		.7754	
25do	4			.8331
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Thời gian nở

Duncan

NGIE MTH UC	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
29do	4	18.2500	
27do	4	20.0000	
25do	4		24.5000
Sig.		.058	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Oneway

```

ONEWAY tylethutinh tyleno thoigianno BY NGIEMTHUC
/STATISTICS DESCRIPTIVES
/MISSING ANALYSIS
/POSTHOC=DUNCAN ALPHA(0.05).
    
```

[DataSet0]

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum	
					Lower Bound	Upper Bound			
tylethutinh	25do	4	.5975	.02061	.01030	.5647	.6303	.57	.62
	27do	4	.6498	.01622	.00811	.6240	.6756	.63	.67
	29do	4	.6752	.01654	.00827	.6489	.7015	.66	.69
	Total	12	.6409	.03747	.01082	.6171	.6647	.57	.69
tyleno	25do	4	.8331	.01214	.00607	.8138	.8525	.82	.85
	27do	4	.7754	.01143	.00572	.7573	.7936	.76	.79
	29do	4	.6066	.02223	.01111	.5713	.6420	.58	.63
	Total	12	.7384	.10142	.02928	.6740	.8028	.58	.85
thoigianno	25do	4	24.5000	1.29099	.64550	22.4457	26.5543	23.00	26.00
	27do	4	20.0000	.81650	.40825	18.7008	21.2992	19.00	21.00
	29do	4	18.2500	1.25831	.62915	16.2478	20.2522	17.00	20.00
	Total	12	20.9167	2.93748	.84798	19.0503	22.7831	17.00	26.00

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
tylethutinh	Between Groups	.013	2	.006	19.599	.001
	Within Groups	.003	9	.000		
	Total	.015	11			
tyleno	Between Groups	.111	2	.055	215.313	.000
	Within Groups	.002	9	.000		
	Total	.113	11			
thoigianno	Between Groups	83.167	2	41.583	31.851	.000
	Within Groups	11.750	9	1.306		
	Total	94.917	11			

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

tylethutinh

Duncan

NGIEMT HUC	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
25do	4	.5975	
27do	4		.6498
29do	4		.6752
Sig.		1.000	.076

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

tyleno

Duncan

NGIE MTH UC	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
29do	4	.6066		
27do	4		.7754	
25do	4			.8331
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

thoigianno

Duncan

NGIE MTH UC	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
29do	4	18.2500	
27do	4	20.0000	
25do	4		24.5000
Sig.		.058	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

SAVE OUTFILE='D:\TIEN SI\Luan an 6.4\nhietdothutinh.sav'
/COMPRESSED.

Thí nghiệm 4. ảnh hưởng của độ mặn ương ấu trùng
Kiểm định DunCan

cd4

Duncan

nghiemthuc	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	
27ppt	3	159.5333	
30	3	165.0000	
33	3	171.8667	
Sig.			.066

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

cd6

Duncan

nghiemthuc	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	
27ppt	3	178.4000	
30	3	182.3333	
33	3	187.4000	
Sig.			.242

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

tdst

Duncan

nghiemthuc	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
27ppt	3	193.3333	
30	3		227.6667
33	3		232.8333
Sig.		1.000	.285

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Duncan

nghiemthuc	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
27ppt	3	5.2269	
30	3		7.9556
33	3		8.3254
Sig.		1.000	.631

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

TDSTTUYETDOI

Duncan

nghiemthuc	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
27ppt	3	7.4286	
30	3		12.3333
33	3		13.0714
Sig.		1.000	.501

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

TLS8

Duncan

nghiemthuc	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
27ppt	3	26.6667	
30	3		34.6667
33	3		38.6667
Sig.		1.000	.212

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Thí nghiệm 2.4. Ảnh hưởng của mật độ ương ấu trùng
Kiểm định Dun Can

cd3					cd5				
Duncan					Duncan				
matdo	N	Subset for alpha = 0.05			matdo	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3			1	2	3
md9	3	1.5370E2			md9	3	1.6783E2		
md7	3	1.5900E2	1.5900E2		md7	3	1.7490E2	1.7490E2	
md5	3		1.6960E2	1.69	md5	3		1.8373E2	1.8373E2
md3	3			1.74	md3	3			1.9610E2
Sig.		.382	.101		Sig.		.299	.203	.088

Means for groups in homogeneous sub Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

cd7			
Duncan			
matdo	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
md9	3	186.67	
md7	3	189.83	
md5	3		218.43
md3	3		228.50
Sig.		.704	.246

Means for groups in homogeneous Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

tdstcd			
Duncan			
matdo	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
md9	3	4.61	
md7	3	4.91	
md5	3		7.26
md3	3		8.01
Sig.		.730	.404

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

tls3		
Duncan		
matdo	N	Subset for alpha = 0.05
		1
md9	3	84.67
md5	3	85.00
md7	3	85.00
md3	3	86.17
Sig.		.668

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

tls5				
Duncan				
matdo	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
md9	3	48.67		
md7	3		54.83	
md5	3			61.00
md3	3			
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

tls7

Duncan

matdo	N	Subset for alpha = 0		
		1	2	
md9	3	30.67		
md7	3		36.00	
md5	3			
md3	3			
Sig.		1.000	1.000	

Means for groups in homogeneous sub are displayed.

Thí nghiệm ảnh hưởng độ mặn nuôi ấu trùng

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
chieudaic uoi	24 ppt	6	2.0650E2	3.27109	1.33542	203.0672	209.9328	203.00	211.00
	27 ppt	6	2.1100E2	2.19089	.89443	208.7008	213.2992	208.00	214.00
	30 ppt	6	2.2450E2	1.87083	.76376	222.5367	226.4633	222.00	227.00
	33 ppt	6	2.2183E2	1.47196	.60093	220.2886	223.3781	220.00	224.00
	Total	24	2.1596E2	7.89870	1.61232	212.6230	219.2937	203.00	227.00
DGR	24 ppt	6	9.5000	.46730	.19077	9.0096	9.9904	9.00	10.14
	27 ppt	6	10.1429	.31298	.12778	9.8144	10.4713	9.71	10.57
	30 ppt	6	12.0714	.26726	.10911	11.7910	12.3519	11.71	12.43
	33 ppt	6	11.6905	.21028	.08585	11.4698	11.9112	11.43	12.00
	Total	24	10.8512	1.12839	.23033	10.3747	11.3277	9.00	12.43
SGR	24 ppt	6	.0555	.00226	.00092	.0531	.0579	.05	.06
	27 ppt	6	.0586	.00148	.00061	.0570	.0602	.06	.06
	30 ppt	6	.0675	.00119	.00049	.0662	.0687	.07	.07
	33 ppt	6	.0658	.00095	.00039	.0648	.0667	.06	.07
	Total	24	.0618	.00525	.00107	.0596	.0640	.05	.07
tylesong	24 ppt	6	.2236	.02193	.00895	.2006	.2466	.20	.25
	27 ppt	6	.2579	.01935	.00790	.2376	.2782	.23	.28
	30 ppt	6	.3381	.02061	.00841	.3165	.3598	.32	.37
	33 ppt	6	.3170	.00792	.00323	.3086	.3253	.30	.33
	Total	24	.2841	.04970	.01015	.2631	.3051	.20	.37

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
chieudaicuo	Between Groups	1329.125	3	443.042	83.724	.000
	Within Groups	105.833	20	5.292		
	Total	1434.958	23			
DGR	Between Groups	27.125	3	9.042	83.724	.000
	Within Groups	2.160	20	.108		
	Total	29.285	23			
SGR	Between Groups	.001	3	.000	81.186	.000
	Within Groups	.000	20	.000		
	Total	.001	23			
tylesong	Between Groups	.050	3	.017	49.756	.000
	Within Groups	.007	20	.000		
	Total	.057	23			

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

chieudaicuo

Duncan

nghiemthuc	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
24 ppt	6	2.0650E2		
27 ppt	6		2.1100E2	
33 ppt	6			2.2183E2
30 ppt	6			2.2450E2
Sig.		1.000	1.000	.058

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

DGR

Duncan

nghie mthuc	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
24 ppt	6	9.5000		
27 ppt	6		10.1429	
33 ppt	6			11.6905
30 ppt	6			12.0714
Sig.		1.000	1.000	.058

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

SGR

Duncan

nghie mthuc	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
24 ppt	6	.0555		
27 ppt	6		.0586	
33 ppt	6			.0658
30 ppt	6			.0675
Sig.		1.000	1.000	.071

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

tylesong

Duncan

nghie mthuc	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
24 ppt	6	.2236		
27 ppt	6		.2579	
33 ppt	6			.3170
30 ppt	6			.3381
Sig.		1.000	1.000	.059

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Ảnh hưởng của chất đậy lên sinh trưởng

Kiểm định DunCan

Chieucaol

cc8

Duncan

nghiemthuc	N	Subset for alpha
		1
san ho chet	3	
luoi	3	
day be	3	
cat	3	

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Duncan

nghiemthuc	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
cat	3			
luoi	3			
day be	3	4.7833E2		
san ho	3	1.000		5.9167E2
chet			5.5833E2	6.1167E2
Sig.			1.000	.133

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

cc15

Duncan

nghiemthuc	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
cat	3	6.9833		
luoi	3		8.1000E2	
day be	3			8.8167
san ho chet	3			9.1100
Sig.		1.000	1.0	.150

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Duncan

cc22

nghiemth uc	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
cat	3	8.8333	1.1367E	3
luoi	3	E2		
day be	3	9.1667		3
san ho	3	E2	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

cc2

Duncan

9

nghiemth uc	N	Subset for alpha =	
		1	2
cat	3	1.0350E3	1.6033E3
luoi	3	1.2183E3	
day be	3		1.7400E3
san ho	3		
Sig.		.068	.154

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

cc36

Duncan

nghiemth uc	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
cat	3	1.3083	2.2700E	3
luoi	3	1.3333		
day be	3			
san ho	3			2.6667E
Sig.		.86	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

cc43

tdsttuyetdoi

Duncan

nghiemthuc	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
cat	3	1.5817E3		
luoi	3	1.7500E3		
day be	3		2.8033	
san ho chet	3			3.2367
Sig.		.137	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Duncan

nghiemthu	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
c				
cat	3	32.65		
luoi	3	36.74		
day be	3		61.8254	
san ho chet	3			72.2222
Sig.		.140	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

dsttuongdoi

Duncan

nghiemthuc	N	Subset for alpha =	
		1	2
cat	3	4.8080	
luoi	3	5.0844	
day be	3		6.2130
san ho chet	3		6.5923
Sig.		.170	.072

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Descriptives

Duncan

	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
nghiemthuc				
cat	3	29.7487		
luoi	3	30.2740		
day be	3		42.0000	
sanho	3			55.7000
Sig.		.908	1.000	1.000

Duncan

	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
nghiemthuc				
cat	3	4.2333		
luoi	3	4.8333		
day be	3		10.2667	
sanho	3			13.6333
Sig.		.217	1.000	1.000

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
tylehaday luoi	3	30.2740	1.65213	.95386	26.1699	34.3781	28.78	32.05
sanho	3	55.7000	9.20315	5.31344	32.8381	78.5619	49.57	66.28
cat	3	29.7487	4.34812	2.51039	18.9473	40.5500	25.00	33.54
day be	3	42.0000	2.97045	1.71499	34.6210	49.3790	39.06	45.00
Total	12	39.4307	11.97326	3.45638	31.8232	47.0381	25.00	66.28
tylesong luoi	3	4.8333	.32146	.18559	4.0348	5.6319	4.60	5.20
sanho	3	13.6333	.51316	.29627	12.3586	14.9081	13.20	14.20
cat	3	4.2333	.30551	.17638	3.4744	4.9922	3.90	4.50
day be	3	10.2667	.86217	.49777	8.1249	12.4084	9.50	11.20
Total	12	8.2417	4.10066	1.18376	5.6362	10.8471	3.90	14.20

tylehaday tylesong

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Thí nghiệm 9

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1	4	1.5708	.00000	.00000	1.5708	1.5708	1.57	1.57
	4	1.5708	.00000	.00000	1.5708	1.5708	1.57	1.57
	4	1.5708	.00000	.00000	1.5708	1.5708	1.57	1.57
	4	1.5708	.00000	.00000	1.5708	1.5708	1.57	1.57
	16	1.5708	.00000	.00000	1.5708	1.5708	1.57	1.57
6	4	1.1436	.01973	.00986	1.1122	1.1750	1.12	1.17
	4	1.2393	.03984	.01992	1.1759	1.3027	1.19	1.29
	4	1.1498	.02319	.01159	1.1129	1.1867	1.12	1.17
	4	1.0870	.02778	.01389	1.0428	1.1313	1.06	1.12
	16	1.1549	.06186	.01546	1.1220	1.1879	1.06	1.29
11	4	.8792	.02864	.01432	.8336	.9248	.85	.91
	4	.9530	.02230	.01115	.9175	.9885	.93	.98
	4	.8519	.01449	.00724	.8289	.8750	.83	.86
	4	.8294	.01423	.00711	.8068	.8521	.82	.85
	16	.8784	.05153	.01288	.8509	.9059	.82	.98
16	4	.6311	.01011	.00506	.6150	.6472	.62	.64
	4	.6688	.01041	.00520	.6522	.6853	.66	.68
	4	.6005	.01565	.00782	.5756	.6254	.58	.62
	4	.5381	.01113	.00557	.5204	.5558	.52	.55
	16	.6096	.05057	.01264	.5827	.6366	.52	.68
21	4	.4668	.00914	.00457	.4522	.4813	.46	.48
	4	.5411	.01506	.00753	.5171	.5650	.52	.56
	4	.4170	.01412	.00706	.3945	.4395	.40	.43
	4	.3790	.00879	.00439	.3650	.3930	.37	.39
	16	.4510	.06353	.01588	.4171	.4848	.37	.56
26	4	.3363	.00865	.00432	.3225	.3501	.33	.35
	4	.4668	.00791	.00395	.4542	.4794	.46	.47
	4	.2786	.01343	.00671	.2572	.3000	.26	.29
	4	.2167	.02438	.01219	.1780	.2555	.19	.24
	16	.3246	.09631	.02408	.2733	.3759	.19	.47

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	
tlsngay1	Between Groups	.000	3	.000	.	
	Within Groups	.000	12	.000		
	Total	.000	15			
tlsngay6	Between Groups	.048	3	.016	19.288	.000
	Within Groups	.010	12	.001		
	Total	.057	15			
tlsngay11	Between Groups	.035	3	.012	26.709	.000
	Within Groups	.005	12	.000		
	Total	.040	15			
tlsngay16	Between Groups	.037	3	.012	84.267	.000
	Within Groups	.002	12	.000		
	Total	.038	15			
tlsngay21	Between Groups	.059	3	.020	133.497	.000
	Within Groups	.002	12	.000		
	Total	.061	15			
tlsngay26	Between Groups	.136	3	.045	199.436	.000
	Within Groups	.003	12	.000		
	Total	.139	15			

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

tlsngay6

Duncan

Nghiem thuc	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
8000lux	4	1.0870		
2000lux	4		1.1436	
6000lux	4		1.1498	
4000lux	4			1.2393
Sig.		1.000	.765	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

tlsngay11

Duncan

Nghiem thuc	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
8000lux	4	.8294		
6000lux	4	.8519	.8519	
2000lux	4		.8792	
4000lux	4			.9530
Sig.		.152	.088	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

tlsngay16

Duncan

Nghiem thuc	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
8000lux	4	.5381			
6000lux	4		.6005		
2000lux	4			.6311	
4000lux	4				.6688
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

tlsngay21

Duncan

Nghiem thuc	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
8000lux	4	.3790			
6000lux	4		.4170		
2000lux	4			.4668	
4000lux	4				.5411
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

tlsngay26

Duncan

Nghiem thuc	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
8000lux	4	.2167			
6000lux	4		.2786		
2000lux	4			.3363	
4000lux	4				.4668
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
DGR 2000 lux	4	22.9580	.03830	.01915	22.8971	23.0189	22.91	22.99
4000 lux	4	30.6580	.06831	.03416	30.5493	30.7667	30.59	30.75
6000 lux	4	20.6680	.08641	.04320	20.5305	20.8055	20.59	20.79
8000 lux	4	13.8580	.06831	.03416	13.7493	13.9667	13.79	13.95
Total	16	22.0355	6.19578	1.54894	18.7340	25.3370	13.79	30.75
chieu dai1 2000 lux	4	2.6530E2	.00000	.00000	265.3000	265.3000	265.30	265.30
4000 lux	4	2.6530E2	.00000	.00000	265.3000	265.3000	265.30	265.30
6000 lux	4	2.6530E2	.00000	.00000	265.3000	265.3000	265.30	265.30
8000 lux	4	2.6530E2	.00000	.00000	265.3000	265.3000	265.30	265.30
Total	16	2.6530E2	.00000	.00000	265.3000	265.3000	265.30	265.30
chieu dai6 2000 lux	4	3.9925E2	1.25831	.62915	397.2478	401.2522	398.00	401.00
4000 lux	4	4.2400E2	4.24264	2.12132	417.2490	430.7510	420.00	429.00
6000 lux	4	3.8350E2	1.73205	.86603	380.7439	386.2561	382.00	386.00
8000 lux	4	3.5700E2	1.41421	.70711	354.7497	359.2503	356.00	359.00
Total	16	3.9094E2	25.23349	6.30837	377.4915	404.3835	356.00	429.00
chieu dai11 2000 lux	4	4.8325E2	4.03113	2.01556	476.8356	489.6644	480.00	489.00
4000 lux	4	5.5000E2	1.41421	.70711	547.7497	552.2503	549.00	552.00
6000 lux	4	4.6325E2	1.25831	.62915	461.2478	465.2522	462.00	465.00
8000 lux	4	4.3100E2	1.63299	.81650	428.4015	433.5985	429.00	433.00
Total	16	4.8188E2	45.00352	11.25088	457.8943	505.8557	429.00	552.00

chieu 2000 lux	4	6.0025E2	1.70783	.85391	597.5325	602.9675	598.00	602.00
dai16 4000 lux	4	6.9725E2	1.70783	.85391	694.5325	699.9675	695.00	699.00
6000 lux	4	5.8025E2	1.70783	.85391	577.5325	582.9675	578.00	582.00
8000 lux	4	4.8375E2	1.70783	.85391	481.0325	486.4675	482.00	486.00
Total	16	5.9038E2	78.31549	19.57887	548.6436	632.1064	482.00	699.00
chieu 2000 lux	4	7.3550E2	1.91485	.95743	732.4530	738.5470	734.00	738.00
dai21 4000 lux	4	8.5450E2	1.91485	.95743	851.4530	857.5470	853.00	857.00
6000 lux	4	7.0375E2	2.21736	1.10868	700.2217	707.2783	701.00	706.00
8000 lux	4	5.6450E2	2.08167	1.04083	561.1876	567.8124	562.00	567.00
Total	16	7.1456E2	106.66956	26.66739	657.7223	771.4027	562.00	857.00
chieu 2000 lux	4	8.3925E2	.95743	.47871	837.7265	840.7735	838.00	840.00
dai26 4000 lux	4	1.0318E3	1.70783	.85391	1029.0325	1034.4675	1030.00	1034.00
6000 lux	4	7.8200E2	2.16025	1.08012	778.5626	785.4374	780.00	785.00
8000 lux	4	6.1175E2	1.70783	.85391	609.0325	614.4675	610.00	614.00
Total	16	8.1619E2	154.89447	38.72362	733.6501	898.7249	610.00	1034.00

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
DGR	Between Groups	575.760	3	191.920	4.203E4	.000
	Within Groups	.055	12	.005		
	Total	575.815	15			
chieudai1	Between Groups	.000	3	.000	.000	1.000
	Within Groups	.000	12	.000		
	Total	.000	15			
chieudai6	Between Groups	9477.188	3	3159.062	514.017	.000
	Within Groups	73.750	12	6.146		
	Total	9550.938	15			
chieudai11	Between Groups	30312.250	3	10104.083	1.796E3	.000
	Within Groups	67.500	12	5.625		
	Total	30379.750	15			
chieudai16	Between Groups	91964.750	3	30654.917	1.051E4	.000
	Within Groups	35.000	12	2.917		
	Total	91999.750	15			
chieudai21	Between Groups	170626.188	3	56875.396	1.372E4	.000
	Within Groups	49.750	12	4.146		
	Total	170675.938	15			
chieudai26	Between Groups	359850.188	3	119950.062	4.203E4	.000
	Within Groups	34.250	12	2.854		
	Total	359884.438	15			

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

DGR

Duncan

nghiemthuc	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
8000 lux	4	13.8580			
6000 lux	4		20.6680		
2000 lux	4			22.9580	
4000 lux	4				30.6580
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

chieudai1

Duncan

nghiemthuc	N	Subset for alpha = 0.05
		1
2000 lux	4	265.3000
4000 lux	4	265.3000
6000 lux	4	265.3000
8000 lux	4	265.3000
Sig.		1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

chieudai6

Duncan

nghiemthuc	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
8000 lux	4	3.5700E 2			
6000 lux	4		3.8350E 2		
2000 lux	4			3.9925E 2	
4000 lux	4				4.2400E 2
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

chieudai11

Duncan

nghiemthuc	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
8000 lux	4	4.3100E 2			
6000 lux	4		4.6325E 2		
2000 lux	4			4.8325E 2	
4000 lux	4				5.5000E 2
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

chieudai16

Duncan

nghiemthuc	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
8000 lux	4	4.8375E 2			
6000 lux	4		5.8025E 2		
2000 lux	4			6.0025E 2	
4000 lux	4				6.9725E 2
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

chieudai21

Duncan

nghiemthuc	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
8000 lux	4	5.6450E 2			
6000 lux	4		7.0375E 2		
2000 lux	4			7.3550E 2	
4000 lux	4				8.5450E 2
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

chieudai26

Duncan

nghiemthuc	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
8000 lux	4	6.1175E 2			
6000 lux	4		7.8200E 2		
2000 lux	4			8.3925E 2	
4000 lux	4				1.0318E 3
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
DGR	2000 lux	4	23.7820	.06831	.03416	23.6733	23.8907	23.71	23.87
	4000 lux	4	31.8220	.06831	.03416	31.7133	31.9307	31.75	31.91
	6000 lux	4	22.2520	.02309	.01155	22.2153	22.2887	22.23	22.27
	800 lux	4	14.9720	.05164	.02582	14.8898	15.0542	14.91	15.03
	Total	16	23.2070	6.18138	1.54535	19.9132	26.5008	14.91	31.91
chieuca o1	2000 lux	4	2.3620E2	.00000	.00000	236.2000	236.2000	236.20	236.20
	4000 lux	4	2.3620E2	.00000	.00000	236.2000	236.2000	236.20	236.20
	6000 lux	4	2.3620E2	.00000	.00000	236.2000	236.2000	236.20	236.20
	800 lux	4	2.3620E2	.00000	.00000	236.2000	236.2000	236.20	236.20
	Total	16	2.3620E2	.00000	.00000	236.2000	236.2000	236.20	236.20
chieuca o6	2000 lux	4	3.6925E2	1.25831	.62915	367.2478	371.2522	368.00	371.00
	4000 lux	4	3.9000E2	.81650	.40825	388.7008	391.2992	389.00	391.00
	6000 lux	4	3.5350E2	1.73205	.86603	350.7439	356.2561	352.00	356.00
	800 lux	4	3.2700E2	1.41421	.70711	324.7497	329.2503	326.00	329.00
	Total	16	3.5994E2	23.78927	5.94732	347.2611	372.6139	326.00	391.00
chieuca o11	2000 lux	4	4.5075E2	1.70783	.85391	448.0325	453.4675	449.00	453.00
	4000 lux	4	5.2000E2	1.41421	.70711	517.7497	522.2503	519.00	522.00
	6000 lux	4	4.3325E2	1.25831	.62915	431.2478	435.2522	432.00	435.00
	800 lux	4	4.0100E2	1.63299	.81650	398.4015	403.5985	399.00	403.00
	Total	16	4.5125E2	44.96740	11.24185	427.2886	475.2114	399.00	522.00
chieuca o16	2000 lux	4	5.7225E2	1.89297	.94648	569.2379	575.2621	571.00	575.00
	4000 lux	4	6.6725E2	1.70783	.85391	664.5325	669.9675	665.00	669.00
	6000 lux	4	5.5025E2	1.70783	.85391	547.5325	552.9675	548.00	552.00
	800 lux	4	4.5375E2	1.70783	.85391	451.0325	456.4675	452.00	456.00
	Total	16	5.6088E2	78.38867	19.59717	519.1046	602.6454	452.00	669.00
chieuca o21	2000 lux	4	7.0550E2	1.91485	.95743	702.4530	708.5470	704.00	708.00
	4000 lux	4	8.2450E2	1.91485	.95743	821.4530	827.5470	823.00	827.00
	6000 lux	4	6.7525E2	1.70783	.85391	672.5325	677.9675	673.00	677.00
	800 lux	4	5.3450E2	2.08167	1.04083	531.1876	537.8124	532.00	537.00
	Total	16	6.8494E2	106.62924	26.65731	628.1188	741.7562	532.00	827.00
chieuca o26	2000 lux	4	8.3075E2	1.70783	.85391	828.0325	833.4675	829.00	833.00
	4000 lux	4	1.0318E3	1.70783	.85391	1029.0325	1034.4675	1030.00	1034.00
	6000 lux	4	7.9250E2	.57735	.28868	791.5813	793.4187	792.00	793.00
	800 lux	4	6.1050E2	1.29099	.64550	608.4457	612.5543	609.00	612.00
	Total	16	8.1638E2	154.53452	38.63363	734.0294	898.7206	609.00	1034.00

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
DGR	Between Groups	573.104	3	191.035	6.097E4	.000
	Within Groups	.038	12	.003		
	Total	573.142	15			
chieuca01	Between Groups	.000	3	.000	.000	1.000
	Within Groups	.000	12	.000		
	Total	.000	15			
chieuca06	Between Groups	8467.188	3	2822.396	1.557E3	.000
	Within Groups	21.750	12	1.812		
	Total	8488.938	15			
chieuca01 1	Between Groups	30303.500	3	10101.167	4.408E3	.000
	Within Groups	27.500	12	2.292		
	Total	30331.000	15			
chieuca01 6	Between Groups	92134.750	3	30711.583	9.961E3	.000
	Within Groups	37.000	12	3.083		
	Total	92171.750	15			
chieuca02 1	Between Groups	170503.188	3	56834.396	1.559E4	.000
	Within Groups	43.750	12	3.646		
	Total	170546.938	15			
chieuca02 6	Between Groups	358190.250	3	119396.750	6.097E4	.000
	Within Groups	23.500	12	1.958		
	Total	358213.750	15			

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

DGR

Duncan

nghiemthuc	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
800 lux	4	14.9720			
6000 lux	4		22.2520		
2000 lux	4			23.7820	
4000 lux	4				31.8220
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

chieuca01

Duncan

nghiemthuc	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	
2000 lux	4	236.2000	
4000 lux	4	236.2000	
6000 lux	4	236.2000	
800 lux	4	236.2000	
Sig.		1.000	

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

chieuca06

Duncan

nghiemthuc	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
800 lux	4	3.2700E2			
6000 lux	4		3.5350E2		
2000 lux	4			3.6925E2	
4000 lux	4				3.9000E2
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

chieuca011

Duncan

nghiemthuc	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
800 lux	4	4.0100E2			
6000 lux	4		4.3325E2		
2000 lux	4			4.5075E2	
4000 lux	4				5.2000E2
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

chieuca016

Duncan

nghiemthuc	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
800 lux	4	4.5375E2			
6000 lux	4		5.5025E2		
2000 lux	4			5.7225E2	
4000 lux	4				6.6725E2
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

chieuca021

Duncan

nghiemthuc	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
800 lux	4	5.3450E2			
6000 lux	4		6.7525E2		
2000 lux	4			7.0550E2	
4000 lux	4				8.2450E2
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

chieuca026

Duncan

nghiemthuc	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
800 lux	4	6.1050E2			
6000 lux	4		7.9250E2		
2000 lux	4			8.3075E2	
4000 lux	4				1.0318E3
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

