

**BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
TRƯỜNG ĐẠI HỌC NHA TRANG**

VŨ TRỌNG ĐẠI

**NGHIÊN CỨU ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC SINH SẢN
VÀ SẢN XUẤT GIỐNG NHÂN TẠO
NGHÊU LỰA *Paphia undulata* (Born, 1780)**

LUẬN ÁN TIẾN SĨ

KHÁNH HÒA – 2022

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
TRƯỜNG ĐẠI HỌC NHA TRANG

VŨ TRỌNG ĐẠI

**NGHIÊN CỨU ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC SINH SẢN
VÀ SẢN XUẤT GIỐNG NHÂN TẠO
NGHÊU LỰA *Paphia undulata* (Born, 1780)**

Chuyên ngành đào tạo: Nuôi trồng thủy sản

Mã số: 9620301

LUẬN ÁN TIẾN SĨ

NGƯỜI HƯỚNG DẪN KHOA HỌC:

1. TS. NGÔ ANH TUẤN
2. PGS. TS. NGÔ THỊ THU THẢO

KHÁNH HÒA – 2022

LỜI CAM ĐOAN

Tôi cam đoan luận án: “Nghiên cứu đặc điểm sinh học sinh sản và sản xuất giống nhân tạo nghêu lẹa (*Paphia undulata*)” là công trình khoa học do chính bản thân nghiên cứu liên tục trong nhiều năm, các số liệu và kết quả trình bày trong luận án là trung thực và chưa từng được ai công bố trong bất kỳ công trình nào.

Nghiên cứu sinh

Vũ Trọng Đại

LỜI CẢM ƠN

Luận án: Nghiên cứu đặc điểm sinh học sinh sản và sản xuất giống nhân tạo nghêu lụa (*Paphia undulata*) được thực hiện và hoàn thành với sự giúp đỡ của nhiều cá nhân và tổ chức. Qua đây, nghiên cứu sinh xin được bày tỏ lòng biết ơn tới:

- Cán bộ hướng dẫn khoa học TS. Ngô Anh Tuấn và PGS. TS. Ngô Thị Thu Thảo đã tận tình chỉ dẫn, đưa ra những lời khuyên quý báu và giúp đỡ nghiên cứu sinh trong suốt thời gian thực hiện các nội dung của luận án.

- Quý Phòng, Ban của Trường Đại học Nha Trang, quý thầy, cô là giảng viên của Viện NTTS và các nhà khoa học của các Trường, Viện đã góp ý và giúp đỡ trong quá trình học tập, nghiên cứu.

Nghiên cứu sinh xin gửi lời cảm ơn chân thành tới Ban Lãnh đạo Viện Nuôi trồng Thủy sản, quý thầy, cô đồng nghiệp của Viện NTTS đã giúp đỡ và chia sẻ kinh nghiệm trong quá trình học tập, nghiên cứu.

Xin gửi lời cảm ơn tới các em sinh viên khóa 56, 57, 58 chuyên ngành Nuôi trồng thủy sản, Trường Đại học Nha Trang đã tham gia hỗ trợ thực hiện các nội dung luận án.

Nghiên cứu sinh 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!

Nghiên cứu sinh

Vũ Trọng Đại

TÓM TẮT

Nghêu lụa *P. undulata* là loài động vật thân mềm hai mảnh vỏ có thịt thơm ngon, giá trị dinh dưỡng và giá trị kinh tế cao. Ở nước ta, nghêu lụa đang được khai thác chủ yếu ở các tỉnh ven biển miền Trung từ Phú Yên tới Bình Thuận và khu vực biển Tây Nam Bộ như Kiên Giang, Cà Mau phục vụ cho nhu cầu nội địa và xuất khẩu. Tuy nhiên, do chủ yếu từ khai thác tự nhiên nên sản lượng nghêu lụa không ổn định và suy giảm trong những năm gần đây. Từ đó nghề sản xuất giống và nuôi nghêu nói chung và nghêu lụa nói riêng đã mở rộng quy mô sản xuất. Tuy nhiên, bên cạnh đó vẫn tồn tại nhiều vấn đề: nguồn giống cung cấp còn thiếu, không ổn định, chưa chủ động trong sản xuất.

Luận án Nghiên cứu đặc điểm sinh học sinh sản và kỹ thuật sản xuất giống nghêu lụa được thực hiện từ tháng 1/2017 đến tháng 12/2019 tại Khánh Hòa nhằm xác định các đặc điểm sinh học sinh sản và các thông số kỹ thuật thích hợp trong sản xuất giống, làm cơ sở khoa học xây dựng quy trình kỹ thuật sản xuất giống nghêu lụa.

Kết quả nghiên cứu như sau:

Đặc điểm sinh học sinh sản của nghêu lụa tại Khánh Hòa: quá trình phát triển tuyến sinh dục của nghêu lụa chia làm 5 giai đoạn: I: giai đoạn chưa phát triển, II: giai đoạn phát triển, III: giai đoạn thành thực sinh dục, IV: giai đoạn sinh sản, V: giai đoạn tái phát dục. Tỷ lệ giới tính đực : cái của nghêu lụa là: 1,00 : 1,08. Nghêu lụa có khả năng sinh sản quanh năm nhưng tập trung vào 2 vụ sinh sản chính, vụ 1 từ tháng 4 tới tháng 5, vụ 2 từ tháng 9 tới tháng 10. Kích thước thành thực sinh dục lần đầu của nghêu lụa theo chiều dài là 43 mm đối với nghêu đực và 44 mm đối với nghêu cái. Sức sinh sản tuyệt đối trung bình của nghêu lụa là $1.137.467 \pm 280.054$ trứng/cá thể, sức sinh sản tương đối lần lượt là 114.195 ± 17.330 trứng/g khối lượng toàn thân và 354.736 ± 59.766 trứng/g khối lượng thân mềm. Sức sinh sản thực tế của nghêu trung bình là 353.889 ± 165.205 trứng/lần đẻ/cá thể. Trong điều kiện môi trường: độ mặn: 30 – 31 ‰, pH: 7,5 - 8,5, ôxy hòa tan: ≥ 5 mgO₂/L, nhiệt độ: 28 – 29°C, quá trình phát triển ấu trùng của nghêu lụa trải qua 4 giai đoạn: ấu trùng bánh xe, ấu trùng chữ D, ấu trùng đỉnh vỏ, ấu trùng sống đáy trong khoảng 25 ngày.

Kỹ thuật sản xuất giống nghêu lụa tại Khánh Hòa:

Trong nuôi vỗ thành thực nghêu lụa: vi tảo (*Chlorella sp.*, *I. galbana*) là thức ăn phù hợp nhất, cho kết quả tối ưu nhất của các chỉ tiêu: độ béo, chỉ số CI, tỷ lệ thành thực, tỷ lệ sống và thành phần sinh hóa của nghêu lụa. Điều kiện chiếu sáng 500 – 3.000 lux cho tỷ lệ sống, khả năng thành thực của nghêu lụa bố mẹ và tỷ lệ thụ tinh, tỷ lệ nở của trứng cao nhất.

Kích thích nghêu lụa sinh sản sử dụng 3 phương pháp là sốc nhiệt, chiếu đèn tia cực tím và ngâm trong dung dịch NH_4OH đều có hiệu quả; nhưng phương pháp sốc nhiệt cho hiệu quả sinh sản của nghêu lụa là tốt nhất.

Kỹ thuật ương ấu trùng nghêu lụa giai đoạn ấu trùng trôi nổi: điều kiện độ mặn 31‰, mật độ ương 1- 3 con/mL, thức ăn là các loại vi tảo (*N. oculata*, *Chlorella sp.*, *I. galbana*) là thích hợp nhất cho sinh trưởng và tỷ lệ sống của ấu trùng nghêu lụa.

Kỹ thuật ương ấu trùng nghêu lụa giai đoạn sống đáy và nghêu giống: độ mặn 31‰ kết hợp thức ăn là vi tảo (*N. oculata*, *Chlorella sp.*, *I. galbana*) hoặc hỗn hợp vi tảo và thức ăn tổng hợp (Lansy, Fippak); mật độ ương 2 con/cm² kết hợp điều kiện bể ương không chất đáy là thích hợp nhất cho sinh trưởng và tỷ lệ sống của nghêu lụa giai đoạn ấu trùng sống đáy và nghêu giống.

Đối với nghêu giống, phương pháp vận chuyển kín ở nhiệt độ 25°C - 26°C, mật độ 10.000 con/túi, thời gian vận chuyển 6 giờ là thích hợp nhất với tỷ lệ sống cao nhất và mức tiêu thụ ôxy của nghêu thấp nhất.

Xây dựng được quy trình kỹ thuật sản xuất giống nghêu lụa tại Khánh Hòa và thực nghiệm sản xuất được 17,37 triệu con giống nghêu lụa (cỡ 3 – 5 mm), tỷ lệ sống trung bình 4,6%, năng suất 190.000 con/m².

ABSTRACT

Short-necked clam *Paphia undulata* belongs to the family Veneridae, and contains a high nutritional value and potential economic aquaculture species. In Vietnam, this species is exploited mainly in the central from Phu Yen to Binh Thuan and the Southwest region such as Kien Giang and Ca Mau for domestic consumption and export. However, due to all production from the sea, therefore, this clam production has been unstable and declined in recent years. Since, hatchery and farming of clams have expanded for both in production and scale. However, there are still many problems: the seed resources were unstable and inactive production.

Thesis: Research on reproductive biological characteristics and production techniques of short-necked clams was carried out from January 2017 to December 2019 in Khanh Hoa to determine reproductive biological characteristics and optimal technical parameters in seed production, as a scientific basis for building the technical procedure of seed production of short-necked clam.

The result of thesis:

The reproductive biological characteristics of short-necked clam in Khanh Hoa province: the process of gonadal development of short-necked clam is divided into 5 stages: I: immature stage, II: development stage, III: sexual maturity stage, IV: reproductive stage, V: redevelopment stage. The male: female ratio was 1.00 : 1.08. The short-necked clam could be spawning year-round but performed the best in the two main seasons, from April to May and from September to October. The size of initial sexual maturity in length was 43 mm for males and 44 mm for females. The mean of absolute fecundity was $1,137,467 \pm 280,054$ eggs/individual, relative fecundity was $114,195 \pm 17,330$ eggs/g body weight and $354,736 \pm 59,766$ eggs/g meat weight, respectively. The mean of real fecundity was $353,889 \pm 165,205$ eggs/spawning.

The environmental parameters: salinity: 30 – 31 ‰, pH: 7.5 – 8.5, DO: ≥ 5 mg/l, temperature: 28 – 29°C, the larval development of short-necked clam underwent 4 stages: trochophora, D stage, Umbo and Spat, taken place in 25 days.

Algae species of *Chlorella* sp. and *I. galbana* was the most suitable food for maturity culture with the best value of fat content, CI index, maturity rate, survival rate and biochemical composition of broodstock. The lighting conditions of 500 – 3,000 lux showed the highest survival rate, maturity rate of broodstock and fertilization rate, and hatching rate. The broodstock of short-necked clam responded to three stimulated spawning methods: temperature shock, light of ultraviolet and ammonia solution, but temperature shock was the optimal method.

In the veliger stage: larval rearing 1- 3 individual/mL at a salinity of 31‰ and algae (*N. oculata*, *Chlorella* sp., *I. galbana*) used as live feed were the most suitable rearing conditions for the growth and survival rate of larvae.

In the spat stage and seed: salinity of 31‰ combined with algae (*N. oculata*, *Chlorella* sp., *I. galbana*) and formulated food (Lansy, Fippak) were the most suitable condition for growth and survival rate. The stocking density of 2 individual/cm² combined with no bottom substance was the most suitable for growth and survival rate.

The most appropriate transportation method of seed was closed method with a density of 10,000 seed/bag, a transportation time of 6 hours, which presented the highest survival rate and lowest oxygen consumption.

The technical procedure of seed production of short-necked clam was built and applied to produce 17.37 million seeds with an average survival rate of 4.6% (size of seed from 3 to 5 mm) and a productivity of 190,000 seed/m².

MỤC LỤC

LỜI CAM ĐOAN.....	i
LỜI CẢM ƠN.....	ii
TÓM TẮT.....	iii
ABSTRACT	v
MỤC LỤC	vii
DANH MỤC BẢNG	xii
DANH MỤC HÌNH	xiv
DANH MỤC CÁC TỪ VIẾT TẮT.....	xvi
NHỮNG ĐÓNG GÓP MỚI CỦA LUẬN ÁN.....	xvii
MỞ ĐẦU	1
CHƯƠNG 1 - TỔNG QUAN NGHIÊN CỨU.....	3
1.1 Tình hình nghiên cứu đặc điểm sinh học giống nghêu <i>Paphia</i>	3
1.1.1 Vị trí phân loại và hình thái cấu tạo	3
1.1.2 Đặc điểm phân bố và môi trường sống.....	5
1.1.3 Đặc điểm dinh dưỡng	6
1.1.4 Đặc điểm sinh trưởng	9
1.1.5 Đặc điểm sinh sản.....	13
1.2 Tình hình nghiên cứu sản xuất giống các loài nghêu <i>Paphia</i> trên thế giới.....	18
1.2.1 Nghiên cứu sản xuất giống nhân tạo.....	18
1.2.2 Các nghiên cứu phương pháp kích thích sinh sản	19
1.2.3 Các nghiên cứu nâng cao hiệu quả ương nuôi ấu trùng và nghêu giống.....	21
1.3 Các nghiên cứu sản xuất giống nghêu trong nước	25
CHƯƠNG 2 - VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	28
2.1 Đối tượng, thời gian và địa điểm nghiên cứu.....	28
2.1.1 Đối tượng nghiên cứu.....	28
2.1.2 Thời gian nghiên cứu.....	28
2.1.3 Địa điểm nghiên cứu	28
2.2 Nội dung nghiên cứu	28
2.3 Phương pháp nghiên cứu	30

2.3.1 Nghiên cứu đặc điểm sinh học sinh sản của nghêu lụa.....	30
2.3.1.1 Phương pháp thu mẫu.....	30
2.3.1.2 Các giai đoạn phát triển tuyến sinh dục	30
2.3.1.3 Tỷ lệ giới tính	31
2.3.1.4 Mùa vụ sinh sản và hệ số thành thực sinh dục	31
2.3.1.5 Kích thước thành thực sinh dục lần đầu	32
2.3.1.6 Sức sinh sản.....	32
2.3.1.7 Các giai đoạn phát triển phôi và ấu trùng.....	32
2.3.2 Nghiên cứu kỹ thuật nuôi vỗ thành thực và kích thích sinh sản nghêu lụa	33
2.3.2.1 Ảnh hưởng của thức ăn lên tỷ lệ sống và khả năng thành thực sinh dục (TN1)	33
2.3.2.2 Ảnh hưởng của cường độ chiếu sáng lên tỷ lệ sống, khả năng thành thực và sinh sản (TN2)	34
2.3.2.3 Ảnh hưởng của phương pháp kích thích lên hiệu quả sinh sản (TN3).....	35
2.3.3 Nghiên cứu kỹ thuật ương ấu trùng nghêu lụa giai đoạn sống trôi nổi	36
2.3.3.1 Ảnh hưởng của độ mặn lên sinh trưởng và tỷ lệ sống của ấu trùng nghêu lụa (TN4)	36
2.3.3.2 Ảnh hưởng của thức ăn lên sinh trưởng và tỷ lệ sống của ấu trùng nghêu lụa (TN5)	37
2.3.3.3 Ảnh hưởng của mật độ ương lên sinh trưởng và tỷ lệ sống của ấu trùng nghêu lụa (TN6).....	38
2.3.4 Nghiên cứu kỹ thuật ương ấu trùng nghêu lụa giai đoạn sống đáy và nghêu giống	38
2.3.4.1 Ảnh hưởng kết hợp của thức ăn và độ mặn lên sinh trưởng và tỷ lệ sống của ấu trùng và nghêu giống (TN7)	38
2.3.4.2 Ảnh hưởng kết hợp của mật độ và chất đáy lên sinh trưởng và tỷ lệ sống của ấu trùng và nghêu giống (TN8)	40
2.3.4.3 Ảnh hưởng của mật độ và thời gian vận chuyển lên tỷ lệ sống và tiêu hao ôxy hòa tan của nghêu giai đoạn giống (TN9)	41
2.3.5 Thực nghiệm sản xuất giống nhân tạo và xây dựng quy trình kỹ thuật sản xuất giống nhân tạo nghêu lụa tại Khánh Hòa.....	42

2.3.5.1 Kỹ thuật tuyển chọn, nuôi vỗ thành thực và kích thích sinh sản.....	42
2.3.5.2 Kỹ thuật ương nuôi ấu trùng giai đoạn trôi nổi	42
2.3.5.3 Kỹ thuật ương nuôi ấu trùng giai đoạn sống đáy và nghêu giống.....	43
2.3.6 Kỹ thuật nuôi cấy tạo sinh khối làm thức ăn cho nghêu	43
2.4 Phương pháp thu mẫu và xác định các chỉ tiêu nghiên cứu	44
2.4.1 Phương pháp thu mẫu và các công thức tính toán.....	44
2.4.2 Phương pháp xác định các yếu tố môi trường	49
2.4.3 Phương pháp phân tích thành phần sinh hóa.....	49
2.5 Phương pháp phân tích số liệu	50
CHƯƠNG 3: KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN	51
3.1 Đặc điểm sinh học sinh sản của nghêu lụa	51
3.1.1 Chỉ tiêu hình thái, khối lượng của nghêu lụa	51
3.1.2 Đặc điểm các giai đoạn phát triển tuyến sinh dục của nghêu lụa.....	53
3.1.3 Tỷ lệ giới tính của nghêu lụa	58
3.1.4 Mùa vụ sinh sản và hệ số thành thực sinh dục	60
3.1.5 Kích thước thành thực sinh dục lần đầu của nghêu lụa.....	62
3.1.6 Sức sinh sản.....	64
3.1.7 Các giai đoạn phát triển phôi và ấu trùng nghêu lụa	67
3.1.7.1 Hoạt động sinh sản và quá trình phát triển phôi.....	67
3.1.7.2 Các giai đoạn phát triển ấu trùng và con giống nghêu lụa	68
3.2 Kỹ thuật nuôi vỗ thành thực và kích thích nghêu lụa sinh sản	71
3.2.1 Ảnh hưởng của thức ăn lên tỷ lệ sống và khả năng thành thực của nghêu lụa (TN1) 71	
3.2.1.1 Biến động các yếu tố môi trường trong thí nghiệm.....	71
3.2.1.2 Kết quả nuôi vỗ thành thực nghêu lụa	71
3.2.1.3 Thành phần sinh hóa của nghêu lụa	73
3.2.2 Ảnh hưởng của chế độ chiếu sáng lên tỷ lệ sống, khả năng thành thực và sinh sản của nghêu lụa (TN2)	76
3.2.2.1 Biến động điều kiện môi trường thí nghiệm	76
3.2.2.2 Kết quả nuôi vỗ thành thực nghêu lụa bố mẹ	76
3.2.2.3 Kết quả kích thích sinh sản.....	79

3.2.3 Ảnh hưởng của phương pháp kích thích lên hiệu quả sinh sản của nghêu lụa (TN3)	80
3.2.3.1 Biến động điều kiện môi trường thí nghiệm	80
3.2.3.2 Kết quả kích thích sinh sản nghêu lụa	80
3.3 Kỹ thuật ương nuôi ấu trùng nghêu lụa giai đoạn sống trôi nổi.....	84
3.3.1 Điều kiện môi trường thí nghiệm.....	84
3.3.2 Ảnh hưởng của độ mặn lên sinh trưởng và tỷ lệ sống của ấu trùng nghêu lụa giai đoạn sống trôi nổi (TN4)	85
3.3.2.1 Sinh trưởng của ấu trùng nghêu lụa.....	85
3.3.2.2 Tỷ lệ sống của ấu trùng nghêu lụa.....	88
3.3.3 Ảnh hưởng của thức ăn lên sinh trưởng và tỷ lệ sống của ấu trùng nghêu lụa giai đoạn sống trôi nổi (TN5)	90
3.3.3.1 Sinh trưởng của ấu trùng nghêu lụa.....	90
3.3.3.2 Tỷ lệ sống của ấu trùng nghêu lụa.....	94
3.3.4 Ảnh hưởng của mật độ ương lên sinh trưởng và tỷ lệ sống của ấu trùng nghêu lụa (TN6).....	95
3.3.4.1 Sinh trưởng của ấu trùng nghêu lụa.....	95
3.3.4.2 Tỷ lệ sống của ấu trùng nghêu lụa.....	100
3.4 Kỹ thuật ương nuôi ấu trùng giai đoạn sống đáy và nghêu giống.....	101
3.4.1 Ảnh hưởng kết hợp của thức ăn và độ mặn lên sinh trưởng và tỷ lệ sống của ấu trùng sống đáy và nghêu giống (TN7)	101
3.4.1.1 Điều kiện môi trường thí nghiệm	101
3.4.1.2 Sinh trưởng của ấu trùng và nghêu lụa giống.....	103
3.4.1.3 Tỷ lệ sống của ấu trùng sống đáy và nghêu lụa giống	109
3.4.2 Ảnh hưởng kết hợp của chất đáy và mật độ lên sinh trưởng và tỷ lệ sống của ấu trùng sống đáy và nghêu lụa giống (TN8)	111
3.4.2.1 Điều kiện môi trường thí nghiệm	111
3.4.2.2 Sinh trưởng của ấu trùng sống đáy và nghêu lụa giống	112
3.4.2.3 Tỷ lệ sống của ấu trùng sống đáy và nghêu lụa giống	119
3.4.3 Ảnh hưởng kết hợp của mật độ và thời gian vận chuyển lên tỷ lệ sống và tiêu hao oxy hòa tan (ppm/g/phút) của nghêu lụa giống (TN9)	121

3.4.3.1 Ảnh hưởng lên tỷ lệ sống của nghêu giống	121
3.4.3.2 Ảnh hưởng lên khả năng tiêu hao ôxy của nghêu lựa giai đoạn giống	123
3.5 Thực nghiệm sản xuất giống và xây dựng quy trình kỹ thuật sản xuất giống nghêu lựa tại Khánh Hòa	125
3.5.1 Thực nghiệm sản xuất giống nghêu lựa.....	125
3.5.1.1 Tuyển chọn và nuôi vỗ thành thực nghêu lựa bố mẹ.....	125
3.5.1.2 Kích thích sinh sản	127
3.5.1.3 Ương nuôi ấu trùng và nghêu giống.....	127
3.5.2 Quy trình kỹ thuật sản xuất giống nhân tạo nghêu lựa.....	129
3.5.2.1 Chỉ tiêu kỹ thuật và qui mô sản xuất	129
3.5.2.2 Cơ sở hạ tầng và trang thiết bị.....	130
3.5.2.3 Nội dung quy trình.....	131
CHƯƠNG 4: KẾT LUẬN VÀ ĐỀ XUẤT	136
4.1 KẾT LUẬN	136
4.2 ĐỀ XUẤT.....	137
TÀI LIỆU THAM KHẢO.....	138
PHỤ LỤC MỘT SỐ HÌNH ẢNH THỰC HIỆN LUẬN ÁN.....	149
PHỤ LỤC KẾT QUẢ XỬ LÝ SỐ LIỆU	152

DANH MỤC BẢNG

Bảng 3. 1: Chiều dài, khối lượng và độ béo của nghêu lựa theo thời gian.....	51
Bảng 3. 2: Khối lượng và độ béo của nghêu lựa theo nhóm kích thước	52
Bảng 3. 3: Đặc điểm các giai đoạn phát triển tuyến sinh dục của nghêu lựa	54
Bảng 3. 4: Tỷ lệ giới tính của nghêu lựa theo thời gian	58
Bảng 3. 5: Tỷ lệ giới tính của nghêu lựa theo nhóm kích thước	59
Bảng 3. 6: Sức sinh sản tuyệt đối và tương đối của nghêu lựa theo nhóm kích thước .	64
Bảng 3. 7: Sức sinh sản thực tế của nghêu lựa theo nhóm kích thước	66
Bảng 3. 8: Diễn biến các yếu tố môi trường của thí nghiệm.....	71
Bảng 3. 9: Kết quả nuôi vỗ nghêu sử dụng các loại thức ăn khác nhau.....	72
Bảng 3. 10: Thành phần sinh hóa của nghêu sử dụng các loại thức ăn khác nhau	73
Bảng 3. 11: Kết quả nuôi vỗ thành thực nghêu ở các cường độ chiếu sáng khác nhau.	76
Bảng 3. 12: Hiệu quả sinh sản của nghêu ở các cường độ chiếu sáng khác nhau....	79
Bảng 3. 13: Diễn biến các yếu tố môi trường bể nuôi vỗ thành thực	80
Bảng 3. 14: Chỉ tiêu ban đầu của nghêu trước khi kích thích sinh sản	80
Bảng 3. 15: Hiệu quả sinh sản của nghêu khi sử dụng các phương pháp kích thích	81
Bảng 3. 16: Sinh trưởng của ấu trùng nghêu lựa ở các độ mặn khác nhau	85
Bảng 3. 17: Tỷ lệ sống (%) của ấu trùng nghêu lựa ở các độ mặn khác nhau	89
Bảng 3. 18: Sinh trưởng của ấu trùng nghêu lựa dùng các thức ăn khác nhau	90
Bảng 3. 19: Tỷ lệ sống (%) của ấu trùng nghêu lựa sử dụng các loại thức ăn khác nhau	94
Bảng 3. 20: Sinh trưởng của ấu trùng nghêu lựa ở các mật độ khác nhau	96
Bảng 3. 21: Tỷ lệ sống (%) của ấu trùng nghêu lựa ở các mật độ khác nhau	100
Bảng 3. 22: Diễn biến các yếu tố môi trường thí nghiệm	102
Bảng 3. 23: Tăng trưởng chiều dài (mm) của nghêu lựa ở các nghiệm thức thức ăn và độ mặn khác nhau	103
Bảng 3. 24: Tốc độ tăng trưởng bình quân (ADG, mm/ngày) của nghêu lựa ở các nghiệm thức thức ăn và độ mặn khác nhau trong thời gian thí nghiệm	105
Bảng 3. 25: Tốc độ tăng trưởng đặc trưng (SGR, %/ngày) của nghêu lựa ở các nghiệm thức thức ăn và độ mặn khác nhau	107

Bảng 3. 26: Tỷ lệ sống (%) của nghêu lùa ở các nghiệm thức thức ăn và độ mặn khác nhau	109
Bảng 3. 27: Diễn biến các yếu tố môi trường thí nghiệm	111
Bảng 3. 28: Tăng trưởng chiều dài (mm) của nghêu lùa ở các nghiệm thức chất đáy và mật độ khác nhau	112
Bảng 3. 29: Tốc độ tăng trưởng bình quân (ADG, mm/ngày) của nghêu lùa ở các nghiệm thức chất đáy và mật độ khác nhau	114
Bảng 3. 30: Tốc độ tăng trưởng đặc trưng (SGR, %/ngày) của nghêu lùa ở các nghiệm thức chất đáy và mật độ khác nhau.....	116
Bảng 3. 31: Tỷ lệ sống (%) của nghêu lùa ở các nghiệm thức chất đáy và mật độ khác nhau	119
Bảng 3. 32: Tỷ lệ sống (%) của nghêu lùa giống ở các nghiệm thức mật độ và thời gian vận chuyển khác nhau.....	121
Bảng 3. 33: Tiêu hao ôxy hòa tan (ppm/g/phút) của nghêu lùa giống ở các nghiệm thức mật độ và thời gian vận chuyển khác nhau	123
Bảng 3. 34: Kết quả tuyển chọn nghêu lùa bố mẹ.....	125
Bảng 3. 35: Kết quả nuôi vỗ thành thực nghêu lùa bố mẹ	126
Bảng 3. 36: Kết quả kích thích sinh sản nghêu lùa	127
Bảng 3. 37: Điều kiện ương nuôi trong thực nghiệm sản xuất giống nghêu lùa....	128
Bảng 3. 38: Kết quả thực nghiệm sản xuất giống nghêu lùa.....	129

DANH MỤC HÌNH

Hình 1. 1: Nghêu lùa <i>Paphia undulata</i> (Born, 1780).....	3
Hình 1. 2: Các giai đoạn phát triển tuyến sinh dục của nghêu đực (Nabuab và ctv., 2010)	14
Hình 1. 3: Các giai đoạn phát triển tuyến sinh dục của nghêu cái (Nabuab và ctv., 2010)	15
Hình 2. 1: Sơ đồ khối nội dung nghiên cứu.....	29
Hình 3. 1: Vị trí cơ quan sinh dục của nghêu khi thành thực	54
Hình 3. 2: Các giai đoạn phát triển tuyến sinh dục của nghêu đực	56
Hình 3. 3: Các giai đoạn phát triển tuyến sinh dục của nghêu cái	57
Hình 3. 4: Các giai đoạn phát triển tuyến sinh dục và hệ số thành thực của nghêu lùa	60
Hình 3. 5: Biến động nhiệt độ và lượng mưa của Khánh Hòa trong thời gian nghiên cứu (nguồn: Đài khí tượng thủy văn Nam Trung Bộ, 2017)	61
Hình 3. 6: Kích thước thành thực sinh dục lần đầu của nghêu lùa.....	63
Hình 3. 7: Các giai đoạn phân cắt trứng và phát triển phôi của nghêu lùa	68
Hình 3. 8: Các giai đoạn phát triển ấu trùng và nghêu giống.....	70
Hình 3. 9: Chiều dài và hệ số CV của ấu trùng chữ D	82
Hình 3. 10: Tăng trưởng chiều dài (μm) của ấu trùng nghêu lùa ở các độ mặn khác nhau	86
Hình 3. 11: Tốc độ tăng trưởng bình quân (ADG) của ấu trùng nghêu lùa ở các độ mặn khác nhau	87
Hình 3. 12: Tốc độ tăng trưởng đặc trưng (SGR) của ấu trùng nghêu lùa ở các độ mặn khác nhau.....	87
Hình 3. 13: Tăng trưởng chiều dài (μm) của ấu trùng nghêu lùa sử dụng các loại thức ăn khác nhau	91
Hình 3. 14: Tốc độ tăng trưởng bình quân (ADG) của ấu trùng nghêu lùa sử dụng các loại thức ăn khác nhau	91
Hình 3. 15: Tốc độ tăng trưởng đặc trưng (SGR) của ấu trùng nghêu lùa sử dụng các loại thức ăn khác nhau	92
Hình 3. 16: Tăng trưởng chiều dài (μm) của ấu trùng nghêu lùa ở các mật độ khác nhau	96

Hình 3. 17: Tốc độ tăng trưởng bình quân (ADG) của ấu trùng nghêu lựa ở các mật độ ương khác nhau.....	97
Hình 3. 18: Tốc độ tăng trưởng đặc trưng (SGR) của ấu trùng nghêu lựa ở các mật độ ương khác nhau.....	98
Hình 3. 19: Chiều dài (mm) của nghêu lựa ở các nghiệm thức thức ăn và độ mặn sau 25 ngày thí nghiệm	104
Hình 3. 20: Tốc độ tăng trưởng bình quân (mm/ngày) của nghêu lựa ở các nghiệm thức thức ăn và độ mặn sau 25 ngày thí nghiệm	106
Hình 3. 21: Tốc độ tăng trưởng đặc trưng (%/ngày) của nghêu lựa ở các nghiệm thức thức ăn và độ mặn sau 25 ngày thí nghiệm	108
Hình 3. 22: Tăng trưởng chiều dài (mm) của nghêu lựa ở các nghiệm thức mật độ và chất đáy sau 25 ngày thí nghiệm	114
Hình 3. 23: Tốc độ tăng trưởng bình quân (ADG, mm/ngày) của nghêu lựa ở các nghiệm thức mật độ và chất đáy sau 25 ngày thí nghiệm	116
Hình 3. 24: Tốc độ tăng trưởng đặc trưng (SGR, %/ngày) của nghêu lựa ở các nghiệm thức mật độ và chất đáy sau 25 ngày thí nghiệm	118

DANH MỤC CÁC TỪ VIẾT TẮT

ADG - Average Daily Growth	Tốc độ tăng trưởng bình quân ngày
Bivalvia	Động vật thân mềm hai mảnh vỏ
ctv	Cộng tác viên
ĐVTM	Động vật thân mềm
ĐVPD	Động vật phù du
F_a	Sức sinh sản tuyệt đối
F_{rg}	Sức sinh sản tương đối
L	Chiều dài
NTTS	Nuôi trồng thủy sản
NT	Nghiệm thức
SGR (%) – Specific Growth Rate	Tốc độ tăng trưởng đặc trưng
Spat	Ấu trùng giai đoạn sống đáy
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences
TATH	Thức ăn tổng hợp
TB	Giá trị trung bình
TĐTT	Tốc độ tăng trưởng
TK	Tảo khô
TLS (%)	Tỷ lệ sống
TN	Thí nghiệm
TVPD	Thực vật phù du
Veliger	Ấu trùng giai đoạn trôi nổi
VT	Vi tảo
W_{tt}	Khối lượng toàn thân
W_{tm}	Khối lượng thân mềm
F_a	Sức sinh sản tuyệt đối
F_{rg}	Sức sinh sản tương đối

NHỮNG ĐÓNG GÓP MỚI CỦA LUẬN ÁN

Luận án là công trình nghiên cứu có hệ thống và đầy đủ nhất về đối tượng nghêu lùa lần đầu tiên công bố ở trong nước, từ đặc điểm sinh học sinh sản đến kỹ thuật sản xuất giống nhân tạo:

Đặc điểm sinh học sinh sản của nghêu lùa: Tại Khánh Hòa, quá trình phát triển tuyến sinh dục của nghêu lùa chia làm 5 giai đoạn: I: giai đoạn chưa phát triển, II: giai đoạn phát triển, III: giai đoạn thành thực sinh dục, IV: giai đoạn sinh sản, V: giai đoạn tái phát dục. Tỷ lệ giới tính đực : cái của nghêu lùa là: 1,00 : 1,08. Nghêu lùa có khả năng sinh sản quanh năm nhưng tập trung vào 2 mùa vụ sinh sản chính, vụ 1 từ tháng 4 tới tháng 5, vụ 2 từ tháng 9 tới tháng 10. Kích thước thành thực sinh dục lần đầu của nghêu lùa theo chiều dài là 43 mm đối với nghêu đực và 44 mm đối với nghêu cái. Trong điều kiện môi trường: độ mặn: 30 – 31 ‰, pH: 7,5 - 8,5, ôxy hòa tan: ≥ 5 mg/L, nhiệt độ: 28 – 29°C, quá trình phát triển ấu trùng của nghêu lùa trải qua 4 giai đoạn: ấu trùng bánh xe, ấu trùng chữ D, ấu trùng đỉnh vỏ, ấu trùng sống đáy trong khoảng thời gian 25 ngày.

Kỹ thuật nuôi vỗ thành thực nghêu lùa: điều kiện chiếu sáng 500 – 3.000 lux, thức ăn vi tảo (*Chlorella* sp., *I. galbana*) là điều kiện tốt nhất cho nuôi vỗ thành thực nghêu lùa. Phương pháp sốc nhiệt là tốt nhất để kích thích nghêu lùa sinh sản.

Kỹ thuật ương nuôi ấu trùng và nghêu lùa giống: giai đoạn ấu trùng trôi nổi, độ mặn 31‰, mật độ ương 1- 3 con/mL, thức ăn là các loại vi tảo (*N. oculata*, *Chlorella* sp., *I. galbana*) là thích hợp nhất cho sinh trưởng và tỷ lệ sống của ấu trùng. Ở giai đoạn ấu trùng sống đáy và nghêu giống: Độ mặn 31‰ kết hợp thức ăn là vi tảo (*N. oculata*, *Chlorella* sp., *I. galbana*) hoặc hỗn hợp vi tảo và thức ăn tổng hợp (Lansy, Frippak) là thích hợp nhất cho sinh trưởng và tỷ lệ sống của ấu trùng và nghêu giống. Mật độ ương 2 con/cm² kết hợp điều kiện bể ương không chất đáy là thích hợp nhất cho sinh trưởng và tỷ lệ sống của nghêu lùa giai đoạn ấu trùng sống đáy và nghêu giống.

Phương pháp vận chuyển nghêu giống thích hợp nhất là phương pháp vận chuyển kín ở nhiệt độ 25 - 26°C, mật độ 10.000 con/túi, thời gian vận chuyển 6 giờ cho tỷ lệ sống cao nhất và mức tiêu thụ ôxy của nghêu thấp nhất.

Xây dựng được quy trình kỹ thuật sản xuất giống nhân tạo nghêu lùa tại Khánh Hòa và ứng dụng vào sản xuất được 17,37 triệu con giống sau 03 đợt (cỡ 3 – 5 mm), tỷ lệ sống trung bình 4,6%, năng suất 190.000 con/m².

MỞ ĐẦU

Nghêu lụa *Paphia undulata* thuộc họ nghêu Veneridae, là loài động vật thân mềm hai mảnh vỏ có hàm lượng dinh dưỡng và giá trị kinh tế cao. Hàm lượng protein trong cơ thịt tươi của nghêu lụa chiếm 12,8%, hàm lượng của 18 axit amin chiếm 46,21% khối lượng khô, trong đó 8 axit amin thiết yếu chiếm tỷ lệ 34,67%. Thịt nghêu lụa có các axit béo chưa bão hòa với tỷ lệ 51,9%, trong đó DHA và EPA là 32,8%. Thịt nghêu lụa còn có hàm lượng Taurine cao (3,02% khối lượng khô) và Kali (3,41 mg/g khối lượng khô) (Yin và ctv., 2011). Trên thế giới, trong nhóm ĐVTM, nghêu lụa là đối tượng khai thác chính ở các nước: Malaysia (Saleh và ctv., 1987), Trung Quốc (Zhijiang và ctv., 1991), Ấn Độ (Thomas và Nasser, 2009), Thái Lan (Chanrachkij, 2013), Philippines (Annabelle và ctv., 2010).

Ở nước ta, các loài động vật thân mềm hai mảnh vỏ (Bivalvia) là những đối tượng nuôi phổ biến, có giá trị kinh tế và đã trở thành mặt hàng xuất khẩu mũi nhọn, được nhiều nước trên thế giới ưa chuộng. Năm 2019, diện tích nuôi thương phẩm các đối tượng Bivalvia là 41.200 ha, tổng sản lượng gần 370.000 tấn, kim ngạch xuất khẩu đạt 93,642 triệu USD, trong đó chủ yếu là các loài nghêu, ngao thuộc họ Veneridae (Tổng cục Thủy sản, 2020). Hiện nay nghêu lụa đang được khai thác ở các tỉnh ven biển miền Trung (Hứa Thái Tuyên và ctv., 2006) và các tỉnh khu vực Tây Nam Bộ (Kiên Giang và Cà Mau) (Đỗ Chí Sỹ, 2014), mà chưa có bất cứ hoạt động nuôi thương phẩm nào nên sản lượng không ổn định, chưa đáp ứng được nhu cầu tiêu thụ trong nước và xuất khẩu.

Trên thế giới, nghêu lụa đã được nghiên cứu về đặc điểm sinh học sinh sản (Zhijiang và ctv., 1991; Jindalikit, 2000; Nabuab và ctv., 2010), đặc điểm sinh thái (Thomas và Nasser, 2009; Qing-heng, 2011), đặc điểm phân bố và nguồn lợi (Agasen và ctv., 1998; Chanrachkij, 2013) và thử nghiệm sản xuất giống (Nuanmanee, 1988; Annabelle và ctv., 2010; Zhen-rong, 2011). Ở nước ta các nghiên cứu về nghêu lụa mới thực hiện về đặc điểm phân bố, sinh trưởng, hiện trạng khai thác và thông tin ban đầu về mùa vụ sinh sản (Hứa Thái Tuyên và ctv., 2006; Đỗ Chí Sỹ, 2014); Các nghiên cứu chuyên sâu mang tính hệ thống về đặc điểm sinh học sinh sản và các thông số kỹ thuật thích hợp cho sản xuất giống nghêu lụa chưa được thực hiện.

Đáp ứng yêu cầu thực tiễn trên, luận án: “Nghiên cứu đặc điểm sinh học sinh sản và sản xuất giống nhân tạo nghêu lụa *Paphia undulata* (Born, 1780)” được thực hiện với mục tiêu:

Mục tiêu tổng quát: xác định được các thông số kỹ thuật thích hợp trong sản xuất giống làm cơ sở khoa học xây dựng quy trình kỹ thuật sản xuất giống nghêu lụa.

Mục tiêu cụ thể:

1. Xác định được các đặc điểm sinh học sinh sản của nghêu lụa.
2. Xác định được hệ thống các thông số kỹ thuật thích hợp trong sản xuất giống nghêu lụa, từ kỹ thuật nuôi vỗ, kích thích sinh sản nghêu bố mẹ đến kỹ thuật ương nuôi ấu trùng và nghêu giống; từ đó xây dựng quy trình kỹ thuật sản xuất giống nhân tạo nghêu lụa tại Khánh Hòa.

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

1. Nghiên cứu đặc điểm sinh học sinh sản của nghêu lụa
2. Nghiên cứu các chỉ tiêu kỹ thuật sản xuất giống nghêu lụa: nghiên cứu kỹ thuật nuôi vỗ thành thực và kích thích sinh sản nghêu bố mẹ, nghiên cứu kỹ thuật ương nuôi ấu trùng giai đoạn trôi nổi, giai đoạn sống đáy và nghêu giống. Nghiên cứu kỹ thuật vận chuyển nghêu lụa giống.
3. Thực nghiệm sản xuất giống và xây dựng quy trình kỹ thuật sản xuất giống nhân tạo nghêu lụa.

Ý nghĩa khoa học và thực tiễn của đề tài:

Luận án là nguồn tài liệu cung cấp cơ sở dữ liệu về đặc điểm sinh học sinh sản của nghêu lụa, góp phần quan trọng phục vụ công tác giảng dạy, nghiên cứu và cung cấp cơ sở khoa học quan trọng phục vụ cho việc xây dựng chính sách bảo vệ và khai thác bền vững nguồn lợi nghêu lụa ngoài tự nhiên.

Kết quả nghiên cứu xác định được các thông số thích hợp trong sản xuất giống nghêu lụa, là cơ sở quan trọng để xây dựng thành công quy trình kỹ thuật sản xuất giống, chủ động được nguồn giống có chất lượng đáp ứng cho nhu cầu nuôi thương phẩm nghêu lụa, nhằm phát triển kinh tế biển. Đồng thời, việc nghiên cứu xây dựng thành công quy trình sản xuất giống nhân tạo nghêu lụa, tiến tới phát triển nghề nuôi thương phẩm, giúp giải quyết việc làm và tăng thu nhập cho người lao động ven biển.

CHƯƠNG 1 - TỔNG QUAN NGHIÊN CỨU

1.1 Tình hình nghiên cứu đặc điểm sinh học giống nghêu *Paphia*

1.1.1 Vị trí phân loại và hình thái cấu tạo

Theo Habe và Sadao (1966), vị trí phân loại của nghêu lụa như sau:

Ngành: Mollusca

Lớp: Bivalvia

Bộ: Veneroidea

Họ: Veneridae

Giống: *Paphia* (Röding, 1798)

Loài: *Paphia undulata* (Born, 1780)



Hình 1. 1: Nghêu lụa *Paphia undulata* (Born, 1780)

Đặc điểm hình thái cấu tạo của các loài thuộc giống nghêu *Paphia* được mô tả bởi Purchon (1977), Quayle và Newkirk (1989): nghêu có hai vỏ dày, chắc chắn, có dạng thon dài, dính chặt vào nhau bằng một bản lề và góc vỏ có các răng khớp rất khít. Nghêu lụa *P. undulata* có hai vỏ thon dài, chắc chắn và đồng dạng với nhau. Đỉnh vỏ hơi nhô cao và ngả về phía sau, mặt lưng vỏ lõm vào theo hướng nhô lên của đỉnh vỏ. Vỏ nghêu lụa trơn nhẵn, mặt ngoài màu nâu nhạt, mặt trong màu trắng ngà. Phía trên vỏ có các đường vân sinh trưởng song song với nhau, uốn cong theo mép vỏ với tâm là đỉnh vỏ. Tầng xà cừ trên vỏ có những đường vân màu nâu đen bao phủ và nối với nhau như hình mạng lưới. Mặt trong của vỏ có màu trắng và hai vỏ được

nối với nhau bởi bản lề có cấu tạo bằng chất sừng (Chanrachkij, 2013). Theo Chen và ctv. (2003) nghêu lưa có hình dạng cấu tạo ngoài dạng ovan dẹp, với kích thước chiều dài vỏ gấp 2,9 lần chiều cao và gấp 1,7 lần chiều rộng.

Về đặc điểm hình thái cấu tạo trong, các loài nghêu có hai tấm màng áo nằm sát vỏ dính nhau ở phần lưng bao phủ toàn bộ nội tạng. Màng áo mỏng ở phần giữa, xung quanh mép màng áo dày và có các cơ bám vào mặt trong của vỏ, các sợi cơ xếp song song với nhau và hướng thẳng với mép vỏ. Hai màng áo ở phần sau phía dưới cơ khép vỏ sau dính lại với nhau và kéo dài tạo thành ống hút và thoát nước, hai ống này có cơ bám vào vỏ hình bán nguyệt. Giữa hai màng áo có xoang trông là xoang màng áo (Trương Quốc Phú, 1999).

Theo Nguyễn Chính (1996), các loài nghêu có hệ hô hấp gồm hai đôi mang dạng tấm. Mỗi bên gồm hai tấm, mỗi tấm gồm nhiều sợi tơ kết hợp lại với nhau bằng một màng mỏng có nhiều nếp gấp tạo nên những rãnh chạy song song với các tơ mang. Mang của nghêu thuộc dạng mang thật, có phần ngọn của lá mang ngoài dính vào màng áo và phần ngọn của lá mang trong dính vào nội tạng. Các nếp gấp phần đầu (gần miệng) nhỏ và mỏng hơn ở phần sau.

Hệ tiêu hóa ở nghêu bao gồm các cơ quan xúc biện, miệng, thực quản, dạ dày, ruột và hậu môn. Xúc biện ở nghêu gồm hai đôi tương ứng với hai lá mang, các lá xúc biện nằm xung quanh miệng và đầu các lá mang. Miệng ở nghêu có cấu tạo rất đơn giản, chỉ là một lỗ mở của ống tiêu hoá, vị trí của miệng nằm giữa hai cơ kéo chân trước, phía trên của cơ khép vỏ trước. Dạ dày nghêu có dạng hình túi, vách mỏng và có nhiều nếp gấp nằm trong khối gan tụy màu nâu đen. Đoạn ruột tiếp theo dạ dày tương đối to hơn đoạn ruột sau, ruột cuộn lại phía dưới dạ dày sau đó chạy ngang qua gốc chân và vòng trên mặt lưng, xuyên qua tâm thất cuối cùng đổ ra hậu môn nằm ở mặt lưng của cơ khép vỏ sau. Hệ tuần hoàn của nghêu gồm có tim ở mặt lưng, phía dưới đỉnh vỏ. Tim gồm một tâm thất và hai tâm nhĩ được bao bọc bởi màng xoang bao tim. Màng xoang bao tim mỏng trong suốt, có thể nhìn thấy bên trong. Máu của nghêu không màu. Hệ bài tiết của nghêu gồm một đôi thận có màu vàng nhạt nằm đối xứng nhau ở hai bên khối nội tạng phía dưới xoang bao tim (Trương Quốc Phú, 1999).

1.1.2 Đặc điểm phân bố và môi trường sống

Trên thế giới, nghêu lùa có phân bố rộng từ Biển Đỏ tới Úc và Nhật Bản (Abbott và Dance, 1986). Tại Trung Quốc, nghêu lùa *P. undulata* phân bố ở các bãi triều ven biển nơi có chất đáy cát bùn, độ mặn dao động từ 24,0 – 36,0 ‰, thích hợp nhất là từ 30,0 – 32,0 ‰ (Chen và ctv., 2007). Theo Manalo và Campos (2010), nghêu lùa là đối tượng có giá trị kinh tế cao và được khai thác chính ở các nước khu vực Đông Nam Á như Philippines, Thái Lan và Malaysia để phục vụ cho xuất khẩu và tiêu thụ nội địa. Nghêu lùa phân bố nhiều ở các vùng triều và dưới triều với chất đáy là bùn cát ở độ sâu khoảng 30 m. Tại Philippines, các loài nghêu *P. undulata*, *P. textile* có phân bố chính tại các vùng biển miền Trung và miền Nam, nơi có chất đáy là bùn cát, độ sâu 4 – 16 m (Nabuab và ctv., 2010; Argente và Estacion, 2014).

Giống nghêu *Paphia* phân bố tại Thái Lan gồm có 3 loài: *P. undulata*, *P. alapapilionis* và *P. crassisulca*, đây là các loài có giá trị kinh tế cao và là đối tượng khai thác truyền thống. Nghêu lùa *P. undulata* là loài có trữ lượng lớn nhất, phân bố chính ở vùng biển có các đặc điểm như sau: chất đáy là bùn cát, độ sâu 3 – 15 m, độ mặn dao động từ 22,1 – 36,5 ‰ (trung bình $31,2 \pm 1,3$ ‰), pH dao động 7,3 – 8,5, hàm lượng ôxy hoà tan trung bình: $5,8 \pm 1,07$ mg/L, tổng chất rắn lơ lửng: 8.0 – 487,0 mg/L (Chanrachkij, 2013). Tuy nhiên, mật độ phân bố của nghêu lùa biến động theo thời gian và không gian, chịu ảnh hưởng của điều kiện môi trường bãi phân bố. Theo Ritnim và Meksumpun (2010) tại khu vực cửa sông Tha Chin mật độ phân bố của nghêu lùa không đều, nghêu chỉ phân bố ở khu vực xa cửa sông, dao động từ 32,0 tới 2,192 cá thể/m². Ở khu vực gần cửa sông, lượng sulfua trong nước ngọt từ sông đổ ra đạt giá trị 1,87 mg/g sẽ làm giảm mật độ của nghêu.

Theo Wang và ctv. (2013), loài *P. amabilis* có phân bố chính ở vùng biển phía Nam của Châu Á, nơi có chất đáy là cát và bùn, độ sâu tới 70 m. Đây là loài có giá trị kinh tế cao, được sản xuất giống và nuôi thương phẩm phổ biến ở Trung Quốc và Nhật Bản do chúng có cơ thịt màu đỏ tươi với hàm lượng catinoid cao. Tại Ấn Độ loài *P. malabarica* và *P. laterisulca* có phân bố với trữ lượng lớn ở khu vực ven bờ phía Tây Ấn Độ, nơi có độ sâu trung bình 4,0 m, chất đáy là cát bùn (Raghavan và Gopinathan, 2008; Mohite và Mohite, 2009; Taware và Muley, 2014).

Ở nước ta, nghêu lùa có phân bố rộng từ các tỉnh ven biển miền Bắc (Quảng Ninh, Hải Phòng), miền Trung (Bình Định, Phú Yên, Khánh Hòa, Ninh Thuận, Bình Thuận) tới khu vực Tây Nam Bộ như Kiên Giang, Cà Mau (Hứa Thái Tuyên và ctv., 2006; Đỗ Chí Sỹ, 2014). Theo kết quả nghiên cứu của Nguyễn Tác An và Nguyễn Văn Lục (1994), bãi phân bố của các loài nghêu có nền đáy là cát mịn đến cát trung có pha lẫn hàm lượng bùn lóng và mùn bã hữu cơ (10 – 18%). Tương tự, Nguyễn Hữu Phụng (1996) cũng khẳng định các loài nghêu chỉ phân bố ở những vùng bãi triều có nền đáy là cát bùn, cát bùn pha lẫn vỏ ĐVTM, nền đáy tương đối bằng phẳng, toi xốp với thành phần chất đáy có tỷ lệ cát 68-75%, tỷ lệ sét 21-31%, đất thịt có tỷ trọng thấp < 7%.

Tại Bình Thuận, nghêu lùa phân bố chính từ Phan Rí đến Hàm Tân với độ sâu phân bố từ 5 – 24 m, chất đáy là cát, cát bùn, cát mịn và cả ở những nơi đáy cát có pha vỏ các loài động vật khác cùng mùn bã hữu cơ (Hứa Thái Tuyên và ctv., 2006). Theo Đỗ Chí Sỹ (2014), nghêu lùa có phân bố chính tại vùng biển Tây Cà Mau với diện tích bãi khoảng 130.000 ha và tập trung chủ yếu ở khu vực huyện U Minh, Phú Tân và Trần Văn Thời với độ sâu bãi từ 5 – 7 m, chất đáy là bùn và bùn cát. Mật độ phân bố của nghêu biến động trong năm, chịu ảnh hưởng lớn các yếu tố môi trường như: độ mặn, thành phần trầm tích đáy, chế độ dòng chảy. Vào mùa khô mật độ phân bố của nghêu cao nhưng thấp vào mùa mưa. Bên cạnh đó, các hoạt động khai thác không hợp lý cũng là nguyên nhân dẫn tới sự biến động của nguồn lợi nghêu tại đây.

1.1.3 Đặc điểm dinh dưỡng

Đặc điểm dinh dưỡng của nghêu lùa giống như các loài động vật hai mảnh vỏ, đã được nhiều tác giả nghiên cứu như: Purchon (1977), Quayle và Nerkirt (1989)... Theo Goldstein và Roels (1980), Riisgard (1988), Manzi và Castagna (1989), vi tảo được xác định là thức ăn phù hợp cho các giai đoạn phát triển của các loài nghêu (trích theo Brown và ctv., 1997). Chọn được loại thức ăn thích hợp là yếu tố quan trọng góp phần nâng cao hiệu quả của quá trình sản xuất giống từ giai đoạn nuôi thành thực đàn bố mẹ tới ương nuôi ấu trùng và con giống. Mặc dù có nhiều loài tảo được sử dụng làm thức ăn cho các loài nghêu nhưng không phải tất cả đều mang lại hiệu quả tối ưu về sinh trưởng và phát triển của đối tượng nuôi. Giá trị dinh dưỡng

của vi tảo dùng làm thức ăn cho động vật thân mềm thể hiện qua thành phần sinh hóa và nhu cầu dinh dưỡng cụ thể của các đối tượng nuôi (Brown và ctv., 1997).

Nghêu lựa *P. undulata* có hình thức bắt mồi là ăn lọc bị động nhờ vào hoạt động của các tấm mang. Trong quá trình hô hấp, các hạt thức ăn có trong nước sẽ được đi qua mang, ở đó có các tiêm mao nằm trên tấm mang bắt lấy thức ăn nhờ vào dịch nhờn. Do phương thức bắt mồi là bị động nên nghêu không có khả năng chọn lọc theo loại thức ăn nhưng chúng có khả năng vẫn có sự chọn lựa thức ăn theo kích thước. Theo đó, những loại thức ăn có kích thước lớn bị thải ra ngoài còn những loại thức ăn có kích thước nhỏ ($< 10 \mu\text{m}$) sẽ được làm mềm và cuốn thành viên chuyển vào miệng (Quayle và Nerkirt, 1989). Kết quả nghiên cứu của Nguyễn Tác An và Nguyễn Văn Lục (1994) cho thấy, thức ăn chính của nghêu là tảo silic chiếm 65% và mùn bã hữu cơ chiếm 35%. Bên cạnh tảo silic thì tảo giáp, tảo lam, tảo lục... cũng là nguồn thức ăn cho nghêu. Theo Nguyễn Hữu Phụng (1996), thành phần thức ăn của các loài nghêu gồm có mùn bã hữu cơ chiếm 75-90%, tảo chiếm 10-25%. Trong thành phần tảo thì tảo silic (Bacillariophyta) chiếm 90-95%, tảo giáp (Pyrrophyta) chiếm 3,3-6,6%, tảo lam (Cyanophyta), tảo lục (Chlorophyta) và tảo vàng ánh (Chrysophyta) chiếm 0,8 – 1%. Thức ăn của nghêu từ giai đoạn ấu trùng là các loài vi khuẩn, mùn bã hữu cơ, tảo đơn bào có kích thước nhỏ. Đến giai đoạn con non và trưởng thành thì thức ăn chính của nghêu là các loài tảo, ấu trùng của các loài giáp xác, nguyên sinh động vật và mùn bã hữu cơ có kích thước lớn hơn.

Theo Lê Thanh Tùng (2011) thành phần thức ăn của nghêu tại bãi triều ven biển phía Bắc nước ta gồm 189 loài thực vật phù du, thuộc 5 ngành khác nhau là tảo Silic, tảo giáp, tảo lam, tảo lục và tảo mắt. Trong đó, tảo silic luôn chiếm ưu thế với số lượng 121 loài (chiếm 66%), sau đó là tảo giáp với 31 loài (chiếm 17%), tảo mắt có 13 loài (chiếm 7%), tảo lam và tảo lục có 12 loài (chiếm 6%). Tại vùng biển phía Tây Cà Mau, nguồn thức ăn của nghêu lựa là mùn bã, mảnh vụn hữu cơ lơ lửng trong nước chiếm 69,2 – 70,6% tổng khối lượng thức ăn; tiếp đó là thực vật phù du (TVPD) chiếm khoảng 14,4 - 19,1% và động vật phù du (ĐVPD) chỉ chiếm 0,8 - 1,1% (Đỗ Chí Sỹ, 2014). Đối với thành phần thức ăn là TVPD, gồm có 21 loài, chủ yếu là các loài tảo silic. Cả 3 thành phần thức ăn chủ yếu của nghêu lựa là mảnh vụn hữu cơ lơ lửng trong nước, TVPD, ĐVPD biến đổi theo thời gian. Vào các tháng mùa khô

(tháng 11 đến tháng 4 năm sau), lượng mưa thấp, lượng thức ăn là mảnh vụn hữu cơ lơ lửng trong nước giảm, TVPD tăng. Vào các tháng mùa mưa, các quá trình diễn ra ngược với mùa khô (Đỗ Chí Sỹ, 2014).

Theo Brown và ctv. (1997) các loài tảo phổ biến hiện đang được sử dụng làm thức ăn cho các loài động vật thủy sản hiện nay có hàm lượng Protein cao nhất dao động từ 6,0 – 52,0 %; Carbohydrate từ 5,0 – 23,0 % và Lipid từ 7,0 – 23,0 %. Chọn vi tảo là nguồn thức ăn cho các loài ĐVTM hai mảnh vỏ phải đảm bảo phù hợp về kích cỡ, khả năng tiêu hóa tốt, giá trị dinh dưỡng cao và khả năng sản xuất sinh khối lớn trong điều kiện thông thường (Muller-Feuga và ctv., 2003). Theo Marshall và ctv. (2010), thành phần dinh dưỡng của các loài tảo sử dụng làm thức ăn là một trong những yếu tố chính quyết định sinh trưởng và tỷ lệ sống của ĐVTM.

Trong nuôi vỗ thành thực, mức độ và tỷ lệ thành thực của nghêu cũng như các loài ĐVTM hai mảnh vỏ phụ thuộc vào hàm lượng Lipid và Carbohydrate có trong các loại tảo sử dụng cho ăn (Martinez và ctv., 2000). Theo Helm và ctv. (1973) Lipid và Carbohydrate có vai trò quan trọng trong việc hình thành giao tử và quá trình thành thực sinh dục. Carbohydrate cung cấp nguồn năng lượng chính cho quá trình hình thành giao tử, còn Lipid đóng vai trò như chất nền trong quá trình này và được sử dụng trong suốt thời gian diễn ra hoạt động sinh sản của chúng.

Mỗi loài tảo có kích thước tế bào, giá trị dinh dưỡng khác nhau hoặc thiếu một thành phần dinh dưỡng thiết yếu nào đó. Vì vậy, thức ăn sử dụng cho các loài nghêu là hỗn hợp nhiều loài tảo để mang lại hiệu quả tốt nhất do chúng bổ trợ cho nhau về giá trị dinh dưỡng và phù hợp cỡ môi. Một số loài vi tảo như: *Nannochloropsis oculata*, *Isochrysis galbana*, *Isochrysis* sp., *Pavlova lutheri*, *Chaetoceros* sp. là những loài phổ biến sử dụng làm thức ăn cho ĐVTM hai mảnh vỏ nói chung và các loài nghêu nói riêng nhờ đáp ứng được cả hai tiêu chí nêu trên (Brown và ctv., 1997). Tuy nhiên, việc kết hợp các loài tảo làm thức ăn phải hợp lý cả về tỷ lệ và thành phần thích ứng với nhu cầu dinh dưỡng của từng đối tượng nuôi cụ thể thì mới đem lại hiệu quả cao. Một số loài tảo mặc dù có giá trị dinh dưỡng cao, phù hợp cho ấu trùng nhưng lại không được sử dụng rộng rãi trong các trại giống bởi vì khó sản xuất ở quy mô lớn, như loài *Chaetoceros calcitrans forma pumilum* hiếm khi nuôi tới thể tích 20 lít, hay *Tetraselmis suecica* bám dính lên thành bể nuôi gây hôi thối.

Bên cạnh đó, nhu cầu sử dụng vi tảo làm thức ăn ở các loài ĐVTM hai mảnh vỏ thay đổi tùy theo giai đoạn phát triển của đối tượng. Giai đoạn nuôi vỗ thành thực đàn bố mẹ đòi hỏi lượng thức ăn phải đủ về số lượng cũng như chất lượng. Giai đoạn ấu trùng nguồn tảo sử dụng làm thức ăn phải đầy đủ chất lượng cũng như phải sạch khuẩn. Giai đoạn con giống chất lượng nguồn tảo làm thức ăn có thể thấp hơn nhưng thành phần sinh hóa phải đáp ứng được nhu cầu phát triển của cơ thể (Coutteau và Sorgeloos, 1992). Do đó một cơ sở nuôi động vật thân mềm luôn đòi hỏi nhu cầu cao về sản xuất sinh khối tảo.

Hiện nay, trong sản xuất giống ĐVTM nhiều nghiên cứu đã được thực hiện nhằm tìm những loại thức ăn thay thế vi tảo như: tảo khô, tảo cô đặc bảo quản lạnh hay bổ sung bột khoai tây... (trích theo Brown và ctv., 1997). Tuy nhiên, kết quả ương nuôi ấu trùng ĐVTM mang lại chưa được như mong đợi khi so sánh với việc sử dụng thức ăn là vi tảo. Vì vậy, vi tảo vẫn đang được sử dụng phổ biến và là nguồn thức ăn không thể thiếu trong quá trình ương nuôi ấu trùng nghêu lựa nói riêng cũng như các loài ĐVTM hai mảnh vỏ nói chung. Theo Brown và ctv. (1989), ngoài vai trò là nguồn dinh dưỡng thiết yếu cho ấu trùng và con giống của các loài động vật thủy sản, thì các loài vi tảo còn có tác dụng ổn định môi trường như cung cấp oxy hòa tan và hấp thụ NH_3 trong các hệ thống ương nuôi ấu trùng.

Như vậy, việc lựa chọn và phối trộn các loại vi tảo để làm thức ăn cho ấu trùng và con giống trong sản xuất giống ĐVTM cũng như các loài thuộc giống *Paphia* đảm bảo đủ về số lượng và chất lượng, phù hợp về cỡ môi là chiến lược quan trọng quyết định đến thành công của quá trình sản xuất giống và nâng cao được hiệu quả về sinh trưởng và tỷ lệ sống của ấu trùng. Do đó, trong phạm vi của luận án, thực hiện các thí nghiệm nghiên cứu ảnh hưởng của các loại thức ăn gồm vi tảo, tảo khô và hỗn hợp vi tảo kết hợp thức ăn tổng hợp để đánh giá khả năng thành thực sinh dục của nghêu lựa cũng như sinh trưởng và tỷ lệ sống của ấu trùng nghêu lựa từ giai đoạn trôi nổi tới nghêu giống.

1.1.4 Đặc điểm sinh trưởng

Sự sinh trưởng của động vật thân mềm hai mảnh vỏ nói chung và các loài nghêu nói riêng là khác nhau, tùy theo loài, vị trí địa lý phân bố, thời tiết, khí hậu. Tốc độ tăng trưởng của nghêu phụ thuộc vào vùng phân bố nhiều hay ít thức ăn. Nghêu phân bố ở vùng cửa sông phong phú về thành phần thực vật phù du và mùn bã hữu cơ nên

thường có tốc độ sinh trưởng nhanh. Nghêu sống vùng triều thấp thường sinh trưởng nhanh hơn nghêu phân bố ở vùng triều cao. Ngoài ra, chúng còn phụ thuộc vào nhiều nhân tố như độ mặn, nhiệt độ, sóng gió. Sự sinh trưởng có thể thay đổi từ năm này đến năm khác ở các khu vực mà có nhiệt độ biến đổi theo mùa. Vào mùa xuân và mùa hè khi nhiệt độ nước ấm lên, hàm lượng thức ăn phong phú thì tốc độ sinh trưởng tăng lên nhanh chóng. Vào mùa đông khi nhiệt độ xuống thấp và nguồn thức ăn ít, nghêu hầu như không sinh trưởng hoặc tốc độ sinh trưởng âm (Quayle và Newkirk, 1989). Nghiên cứu về đặc điểm sinh trưởng sẽ cung cấp cơ sở khoa học quan trọng cho các nhà quản lý xây dựng các chính sách thích hợp để đảm bảo cân bằng giữa hoạt động khai thác có hiệu quả và bảo vệ nguồn lợi bền vững.

Đặc điểm sinh trưởng của nghêu lụa *P. undulata* đã được nhiều tác giả nghiên cứu (Bumrungsak, 1983; Jindalikit, 2000) và kết quả nghiên cứu cho thấy đặc điểm sinh trưởng của các quần thể nghêu lụa đều có sự khác nhau phụ thuộc vào địa lý phân bố của chúng. Tại tỉnh Surathani, Thái Lan, nghêu có hệ số sinh trưởng cao nhất là $K = 1,74/\text{năm}$ nhưng ở các khu vực khác thì hệ số sinh trưởng của nghêu chỉ đạt xấp xỉ $K = 0,9/\text{năm}$. Theo Bumrungsak (1983), kích thước thành thực sinh dục của nghêu lụa tại tỉnh Trat, Thái Lan đạt cao nhất là 40,1 – 47,0 mm đối với nghêu đực và 42,5 – 46,4 mm đối với nghêu cái. Tuy nhiên, đối với quần thể nghêu lụa phân bố ở tỉnh Samut Sakhon thì kích thước thành thực sinh dục của nghêu là nhỏ hơn, 23 mm đối với nghêu đực và 24 mm đối với nghêu cái.

Jindalikit (2000) đã nghiên cứu về tốc độ sinh trưởng của nghêu lụa tại vịnh Ao Mahachai, Thái Lan. Nghêu đạt chiều dài tối đa sau 2 năm tuổi. Sau khi kết thúc quá trình phân cắt phôi, nghêu có thể đạt chiều dài 4 mm sau một tháng, 12,4 mm sau 3 tháng, 22 mm sau 6 tháng và sau 24 tháng nghêu có chiều dài trung bình là 50 mm. Theo Chanrachkij (2013), tại Thái Lan quần thể nghêu lụa có kích thước chiều dài tối đa lý thuyết dao động trong khoảng 53 – 64 mm, trong đó, nghêu lụa khai thác ở tỉnh Suratthani có kích cỡ nhỏ nhất là 53 mm và kích cỡ nghêu lớn nhất là 64 mm đối với quần thể nghêu thu ở tỉnh Trat.

Theo Jack và ctv. (2005) các loài nghêu lụa khác nhau, phân bố ở ngoài môi trường tự nhiên hay trong môi trường nuôi dưỡng thì có tốc độ sinh trưởng khác nhau. Thời gian cần thiết để nghêu lụa đạt kích thước thương phẩm là một yếu tố giới hạn

quan trọng trong quá trình nuôi. Một số loài nghêu có tốc độ sinh trưởng tối đa đạt kích cỡ thương phẩm trong thời gian nuôi từ 12 đến 24 tháng, thì khoảng 10 đến 16 tháng đầu chúng sinh trưởng nhanh hơn, có thể đạt gấp 2 lần kích cỡ so với loài nghêu sinh trưởng chậm. Tốc độ sinh trưởng có thể bị ảnh hưởng bởi kiểu gen hoặc yếu tố di truyền. Ngoài ra, các yếu tố môi trường như nhiệt độ nước, thức ăn, độ mặn, chất lượng nước và chế độ thủy triều cũng ảnh hưởng tới tốc độ sinh trưởng của nghêu lùa.

Annabelle và Villarta (2010) đã nghiên cứu về đặc điểm sinh trưởng và hệ số khai thác của quần đàn nghêu lùa *P. undulata* tại Philippines. Chiều dài tối đa của nghêu lùa tại đây là 79 mm với hệ số sinh trưởng $K = 1,0/\text{năm}$. Kết hợp với các đặc điểm sinh trưởng khác của quần đàn nghêu lùa đã được nghiên cứu tại đây, Villarta và Norte-Campos (2010), cho rằng để khắc phục tình trạng khai thác quá mức, có thể dẫn tới cạn kiệt nguồn lợi thì cần thiết phải đưa ra những giải pháp để bảo vệ nguồn lợi nghêu lùa như: quy định kích thước chiều dài khai thác tối thiểu là 45 mm, và cấm khai thác nghêu trong mùa sinh sản chính của chúng ngoài tự nhiên (từ tháng 8 tới tháng 11). Tương tự, Nabuab và ctv. (2010) cũng khuyến cáo không nên khai thác nghêu có kích thước nhỏ hơn 45 mm và trong mùa sinh sản của chúng để tránh ảnh hưởng đến nguồn lợi nghêu ngoài tự nhiên.

Cũng tại Philippine, loài nghêu *P. textile* có kích thước chiều dài tối đa là 69,9 mm với hệ số sinh trưởng $K = 1,0/\text{năm}$ và hệ số khai thác bền vững là 2,65/năm (Argente và Estacion, 2014). Kết quả nghiên cứu cũng cho thấy, mặc dù biến động của điều kiện môi trường trong hai khu vực nghiên cứu là tương tự nhau nhưng tốc độ sinh trưởng của nghêu chịu ảnh hưởng rõ rệt bởi công cụ khai thác, những công cụ khai thác ít gây xáo trộn nền đáy sẽ ít ảnh hưởng tới tốc độ sinh trưởng của nghêu.

Theo Thomas và Nasser (2009), nghêu *P. malabarica* phân bố tại Ấn Độ có kích thước nhỏ hơn so với các loài khác, chiều dài tối đa là 59 mm và hệ số sinh trưởng năm là 0,92. Vòng đời chúng kéo dài 2,5 tới 3 năm tuổi, với kích thước tương ứng lần lượt là 35,5 mm và 49,6 mm ở độ tuổi 1 và 2 năm tuổi. Kích thước nghêu được khai thác chủ yếu tại đây có kích thước khá lớn (35 mm – 38 mm) với hệ số khai thác 2,83, trong khi kích thước thành thực sinh dục lần đầu của chúng là 22 mm tương ứng sau 7 tháng tuổi. Như vậy, nguồn lợi nghêu *P. malabarica* tại đây đang

được khai thác đúng theo kích cỡ quy định, đảm bảo cân bằng giữa khai thác và bảo vệ nguồn lợi bền vững.

Tại Việt Nam, quần thể nghêu lụa tại Bình Thuận có chiều cao trung bình là 29,04 mm (lớn nhất là 44 mm và nhỏ nhất là 15 mm). Tại khu vực Phan Rí, nghêu có kích thước lớn nhất so với hai khu vực còn lại (trung bình 35,56 mm so với 27,07 mm ở Hàm Tân và 27,36 mm ở vùng Phan Thiết). Tốc độ tăng trưởng về kích thước chiều cao, chiều dài và chiều rộng của nghêu lụa cũng biến đổi khác nhau ở các bãi khai thác khác nhau. Nghêu lụa ở vùng Phan Thiết có tốc độ tăng trưởng chiều dài chậm hơn so với vùng Hàm Tân và Phan Rí. Nghêu lụa ở vùng Hàm Tân có chiều rộng ban đầu nhỏ hơn, nhưng sau đó tốc độ tăng trưởng nhanh hơn so với hai vùng còn lại. Độ béo của nghêu lụa (thông qua hệ số K) cũng biến đổi theo vị trí các vùng khai thác. Nghêu lụa ở Hàm Tân có độ béo tương đối thấp và độ béo cao nhất là Nghêu lụa ở Phan Rí (Hứa Thái Tuyên và ctv., 2006)

Đỗ Chí Sỹ (2014) công bố đặc điểm sinh trưởng của quần thể nghêu lụa tại vùng biển Tây tỉnh Cà Mau như sau: Chiều cao lớn nhất của nghêu lụa ghi nhận là 33 mm, nhỏ nhất là 15 mm. Phương trình tương quan cho thấy, nghêu lụa là loài đồng sinh trưởng (hệ số $b = 3,0548$) đối với khối lượng toàn thân, nhưng không đồng sinh trưởng (hệ số $b = 2,78706$) đối với khối lượng phần mềm. Nghêu lụa sinh trưởng tương đối nhanh thể hiện qua hệ số sinh trưởng $K = 0,41$, chiều dài tối đa là 50 mm, tương ứng với khối lượng toàn thân là 117g và 6 năm tuổi. Kết quả tính toán các thông số sinh trưởng của phương trình von Bertalanffy, cho giá trị dao động sinh trưởng của quần thể nghêu lụa là 0,86, chứng tỏ sự biến động sinh trưởng theo mùa của nghêu lụa là khá mạnh, tạo ra các biên độ dao động sinh trưởng tới 86% so với mức sinh trưởng bình thường. So sánh với các kết quả nghiên cứu về sinh trưởng của nghêu lụa ở vùng biển tỉnh Bình Thuận năm 2006, thì quần thể nghêu lụa ở vùng biển phía Tây tỉnh Cà Mau có tốc độ sinh trưởng nhanh hơn.

Như vậy, hiểu rõ về các đặc điểm sinh trưởng của nghêu lụa sẽ cung cấp những cơ sở khoa học quan trọng, làm tiền đề để tiếp tục nghiên cứu về các đặc điểm sinh học sinh sản và kỹ thuật sản xuất giống đối tượng này cũng như đề xuất các giải pháp thích hợp để khai thác một cách hiệu quả nguồn lợi nghêu lụa theo hướng bền vững.

1.1.5 Đặc điểm sinh sản

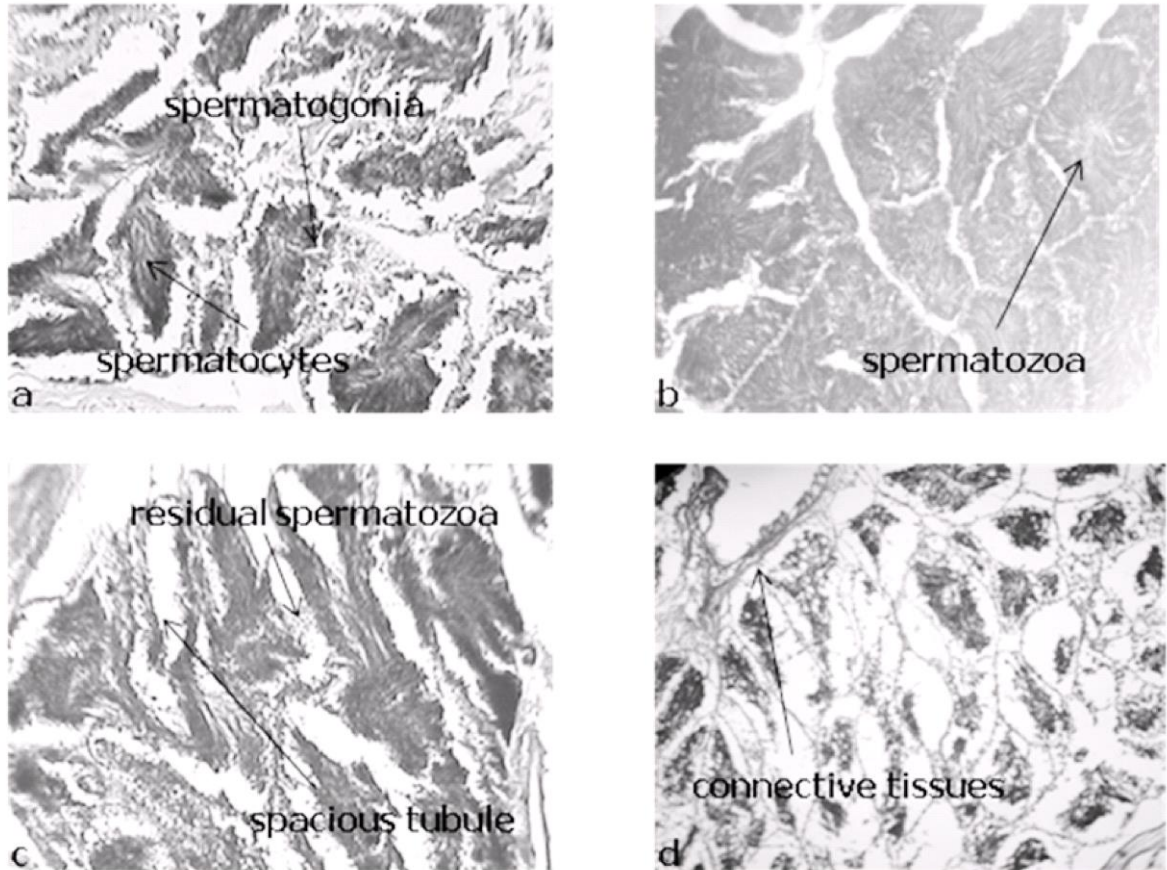
Các nghiên cứu về đặc điểm sinh sản của các loài thuộc giống *Paphia* đã được thực hiện từ sớm và tương đối đầy đủ, từ mùa vụ sinh sản, tỷ lệ đực cái và các giai đoạn phát triển tuyến sinh dục (Nagabhushanam và Dhamne, 1977; Shamsuddin và ctv., 1987; Rao, 1988; Zhijiang và ctv., 1991; Hong, 2002; Sotto và ctv., 2007; Thomas và Nasser, 2009; Nabuab và ctv., 2010). Từ đó làm cơ sở khoa học quan trọng cho các nghiên cứu về kỹ thuật kích thích sinh sản và ương nuôi ấu trùng của các đối tượng này.

Theo Nagabhushanam và Dhamne (1977), nghêu *P. laterisulca* là loài phân tính đực cái và dễ dàng phân biệt được giới tính khi chúng thành thực, tuyến sinh dục của nghêu đực có màu trắng sữa, còn tuyến sinh dục của nghêu cái có màu vàng nhạt. Tỷ lệ đực : cái trung bình của loài trong tự nhiên là 1: 1,14, vào thời điểm mùa vụ sinh sản thì tỷ lệ cá thể cái chiếm ưu thế hơn so với cá thể đực. Ở loài *P. malabarica*, kích thước thành thực sinh dục lần đầu tối thiểu là 20 mm, với mùa vụ sinh sản kéo dài từ tháng 10 tới tháng 2 năm sau. Thomas và Nasser (2009) công bố loài *P. malabarica* có kích thước thành thực lần đầu thấp là 22 mm, tương ứng với khoảng 7 tháng tuổi và chúng đạt tỷ lệ thành thực tối đa trước khi đạt tới cỡ 1 năm tuổi. Cơ cấu giới tính của nghêu thay đổi phụ thuộc và kích thước chiều dài của chúng, những cá thể có kích thước lớn hơn 30 mm thì tỷ lệ giới tính cái chiếm ưu thế (Rao, 1988).

Nghêu lùa *P. undulata* có cơ cấu giới tính gồm 3 dạng là đực, cái và lưỡng tính; Tuy nhiên, tỷ lệ các cá thể lưỡng tính chiếm một tỷ lệ nhỏ trong quần thể nghêu và đặc biệt, chúng có hiện tượng chuyển đổi giới tính từ nghêu cái sang nghêu đực (Wu, 2002). Tương tự, Nabuab và ctv. (2010) cũng xác định cơ cấu giới tính của nghêu lùa tại Philippine gồm có ba dạng là đực cái và lưỡng tính; Trong đó, tỷ lệ đực cái trung bình là 1: 1,02 và tỷ lệ lưỡng tính rất nhỏ. Kích thước thành thực sinh dục lần đầu của nghêu đực là 42,6 mm và nghêu cái là 44,8 mm.

Quá trình phát triển tuyến sinh dục của các loài *Bivalvia* đã được nhiều tác giả nghiên cứu (Tuaycharoen, 1984; Quayle và Newkirk, 1989) và chia thành 5 giai đoạn như sau: giai đoạn 0: giai đoạn không xác định, giai đoạn I: giai đoạn tiền giao tử, giai đoạn II: giai đoạn phát triển tích cực, giai đoạn III: giai đoạn thành thực và sinh sản, giai đoạn IV: giai đoạn nghỉ/tái phát dục. Kết quả nghiên cứu của Nagabhushanam và Dhamne (1977) và Nabuab và ctv. (2010), quá trình phát triển tuyến sinh dục của loài

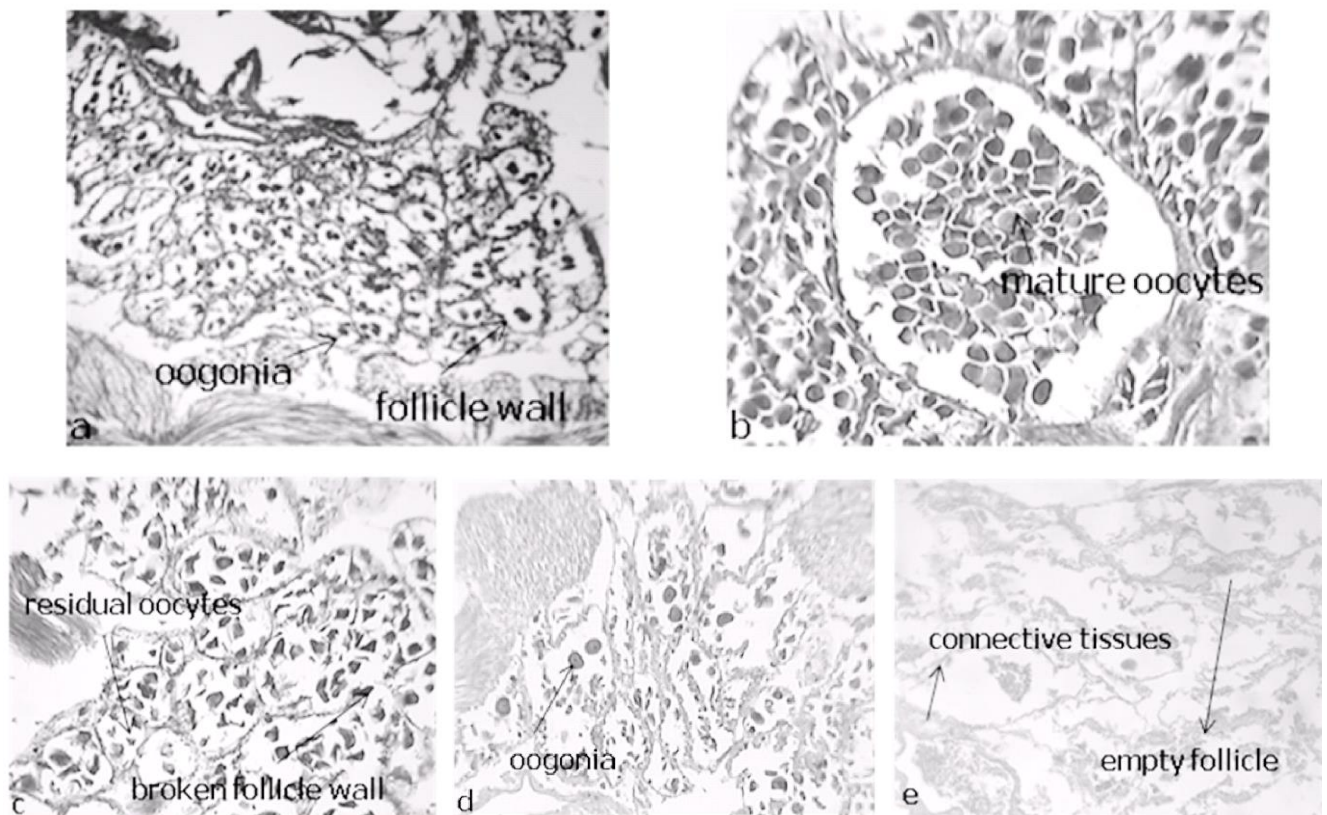
P. laterisulca và *P. undulata* trải qua 5 giai đoạn: (I) chưa phát triển, (II) phát triển, (III) thành thực sinh dục, (IV) sinh sản, (V) thoái hóa và tái phát dục, trong đó giai đoạn tái phát dục chỉ ghi nhận ở nghêu cái.



Hình 1. 2: Các giai đoạn phát triển tuyến sinh dục của nghêu đực (Nabuab và ctv., 2010)
(a: Giai đoạn đang phát triển; b: Giai đoạn thành thực sinh dục; c: Giai đoạn sinh sản; d: Giai đoạn tái phát dục)

Giai đoạn I: giai đoạn chưa thành thực. Giai đoạn này chưa xác định được vùng sinh dục hoặc nang trứng. Không có sự tăng sinh giao tử và chưa phân biệt được đực cái. Giai đoạn II: giai đoạn phát triển. Ở giai đoạn này đã phân biệt được giới tính của nghêu. Ở nghêu đực, các ống sinh tinh phát triển, bên trong có các túi chứa tinh và tinh bào. Ở trung tâm của các túi chứa tinh một vài tế bào tinh trùng bắt đầu tăng sinh. Đối với nghêu cái, túi noãn phát triển qua các giai đoạn, các noãn bào bắt đầu bám vào và phát triển đầy nang trứng. Giai đoạn III: giai đoạn thành thực sinh dục. Ở nghêu đực các ống dẫn tinh phát triển kéo dài dạng hình hoa thị và bên trong chứa đầy tinh trùng. Ở nghêu cái, các nang trứng chứa đầy trứng thành thực với nhân và hạt nhân nổi lên rõ rệt. Giai đoạn IV: giai đoạn sinh sản. Ở nghêu đực các ống dẫn

ting xuất hiện các dòng tinh trùng rõ rệt. Tinh trùng vẫn còn trong các khoang tế bào nhưng xuất hiện nhiều khe hở. Ở con cái, các nang trứng trông rỗng, chỉ còn lại một vài trứng đã thành thực. Trên vách nang trứng xuất hiện nhiều khe hở. Giai đoạn V: giao đoạn tái phát dục. Trong giai đoạn này, ở nghêu đực có các mô liên kết xuất hiện. Đa số các ống dẫn tinh trông rỗng nhưng chúng vẫn có hình tròn do một số tinh trùng còn sót lại. Ở nghêu cái, các mô liên kết cũng xuất hiện và có tế bào trứng ở nhiều giai đoạn. Đa số các nang tế bào trông rỗng. Giai đoạn VI: giai đoạn thoái hóa. Giai đoạn này chỉ xuất hiện ở nghêu cái, các nang bào rỗng, chứa các tế bào trứng còn sót lại ở các mô liên kết (Nabuab và ctv., 2010).



Hình 1.3: Các giai đoạn phát triển tuyến sinh dục của nghêu cái (Nabuab và ctv., 2010)
 (a: Giai đoạn đang phát triển; b: Giai đoạn thành thực sinh dục; c: Giai đoạn sinh sản; d: Giai đoạn tái phát dục; e: Giai đoạn tiêu biến)

Theo Quayle và Newkirk (1989), các loài động vật thân mềm hải mảnh vỏ như nghêu có chung phương thức sinh sản là noãn sinh với mùa vụ sinh sản phụ thuộc vào biến động của các yếu tố môi trường như: độ mặn, thủy triều, dòng chảy, đặc biệt là nhiệt độ. Ở vùng ôn đới, các giai đoạn phát triển tuyến sinh dục của nghêu liên quan đến sự gia tăng nhiệt độ vào mùa xuân. Khi nhiệt độ đạt đến ngưỡng sinh sản, tuyến sinh dục phát triển ở giai đoạn thành thực, nên mùa xuân thường là mùa vụ sinh

sản chính của nghêu. Ở vùng nhiệt đới, nghêu có mùa sinh sản kéo dài và kém tập trung hơn so với vùng ôn đới. Trong mùa sinh sản, các cá thể nghêu đã thành thực chứa đầy trứng và tinh trùng trong các ống dẫn, khi gặp các điều kiện môi trường thuận lợi (thay đổi về nhiệt độ, dòng chảy, mưa gió...) nhờ sự co giãn của cơ khép vỏ, vỏ mở ra và khép lại rất nhanh, mạnh tạo thành áp lực ép đẩy tinh trùng hoặc trứng thoát ra ngoài qua ống siphon (Shamsuddin và ctv., 1987). Mohite và ctv. (2009) đã xác định được mùa vụ sinh sản của loài *P. malabarica* tại vùng biển Ấn Độ bắt đầu từ tháng 9 tới tháng 1 năm sau và liên quan tới chỉ số độ béo. Độ béo của nghêu tăng lên và đạt giá trị cao từ tháng 6 tới tháng 11, sự thay đổi của nhiệt độ và độ mặn diễn ra sau đó đóng vai trò như là tác nhân kích thích dẫn đến hiện tượng nghêu sinh sản đồng loạt trong tháng 9 và kéo dài tới tháng 1 năm sau.

Ở loài *P. laterisulca*, nghiên cứu của Nagabhushanam và Dhamne (1977) cho thấy mùa vụ sinh sản của nghêu kéo dài hơn bắt đầu từ giữa tháng 9 tới tháng 3 năm sau với hai đỉnh sinh sản là tháng 10 – 11 và tháng 2 – 3. Chỉ số thành thực sinh dục biến động theo mùa vụ sinh sản, đạt giá trị lớn nhất trong tháng 8 trước khi nghêu sinh sản, sau đó chỉ số thành thực giảm mạnh trong tháng 9 và tháng 10, trùng với thời điểm sinh sản rộ của nghêu. Tương tự, các thành phần sinh hóa của nghêu cũng biến động theo mùa vụ sinh sản. Hàm lượng nước (86,14%), protein (40,53%), chất béo (10,8%) và glycogen (7,66%) đều đạt giá trị cao nhất ở thời điểm nghêu thành thực sinh dục và giảm mạnh trong thời gian nghêu sinh sản (Nagabhushanam và Dhamne, 1977).

Theo Zhijiang và ctv. (1991) nghêu lụa *P. undulata* phân bố tại Trung Quốc trải qua 5 giai đoạn phát triển tuyến sinh dục: (I) giai đoạn tăng sinh trong thời gian từ tháng 3 tới tháng 4; (II) giai đoạn phát triển từ tháng 4 đến tháng 5; (III) giai đoạn chín muồi sinh dục từ tháng 5 tới tháng 10; (IV) giai đoạn sinh sản từ tháng 5 tới tháng 10; (V) giai đoạn nghỉ, kéo dài từ tháng 11 tới tháng 2 năm sau. Như vậy, mùa vụ sinh sản chính của nghêu lụa tại Trung Quốc, kéo dài từ giữa tháng 5 tới cuối tháng 10, trong đó chúng có hai đợt sinh sản rộ là cuối tháng 5 và đầu tháng 10. Nghiên cứu của Chanrachkij (2013) cho thấy nghêu lụa *P. undulata* phân bố tại Thái Lan có khả năng sinh sản rải rác quanh năm nhưng tập trung vào hai vụ chính, trong đó vụ 1: từ tháng 1 tới tháng 5 và vụ 2: từ tháng 8 tới tháng 11. Tuy nhiên, mùa vụ sinh sản của nghêu lụa phụ thuộc vào vị trí địa lý phân bố của chúng. Tại vịnh Ao Mahachai, tỉnh Samut

Sakhon, Thái Lan thì nghêu lùa chỉ có một mùa vụ sinh sản chính trong năm, kéo dài từ tháng 8 tới cuối tháng 10, do lượng lớn nước ngọt từ sông Tachin đổ ra trong tháng 11 làm cho tỷ lệ sống của nghêu giảm mạnh (Jindalikit, 2000). Tại Philippine, Nabuab và ctv. (2010) kết luận nghêu lùa sinh sản rải rác quanh năm nhưng mùa vụ chính tập chung vào tháng 8 tới tháng 11 hàng năm, trùng với thời điểm mùa mưa nên độ mặn giảm và lượng dinh dưỡng cao đã kích thích cho nghêu sinh sản rộ.

Kết quả nghiên cứu của Sotto và ctv. (2007) kết luận nghêu *P. textile* có mùa vụ sinh sản quanh năm, với kích thước thành thực sinh dục lần đầu là 40 mm. Wang và ctv. (2013) công bố loài *P. amabilis* phân bố tại Trung Quốc có mùa vụ sinh sản quanh năm, nhưng tập trung vào 2 mùa vụ chính là tháng 4 tới tháng 5 và tháng 9 tới tháng 10. Đây cũng được xem là thời gian thích hợp nhất cho sản xuất giống đối tượng này.

Ở nước ta, các nghiên cứu về đặc điểm sinh sản của nghêu lùa còn hạn chế. Hứa Thái Tuyên và ctv. (2006) đã công bố những thông tin ban đầu về mùa vụ sinh sản của nghêu lùa tại vùng biển Bình Thuận và kết luận mùa vụ sinh sản của nghêu lùa biến đổi theo thời gian và địa điểm khảo sát. Tuy nhiên, nghêu lùa là loài sinh sản rải rác quanh năm, trong đó mùa vụ chính tập trung vào tháng 6 - 9. Nghêu lùa ở nhóm chiều cao 11 – 15 mm đã có tuyến sinh dục phát triển ở giai đoạn I. Tuy nhiên, nhóm kích thước chiều cao 16 – 20 mm mới xuất hiện một số cá thể thành thực sinh dục và tham gia sinh sản lần đầu (khoảng 29%). Kết quả nghiên cứu của Đỗ Chí Sỹ (2014) khẳng định nghêu lùa phân bố tại vùng biển Cà Mau, có khả năng sinh sản rải rác quanh năm; tuy nhiên, chúng sinh sản rộ tập trung vào giai đoạn từ tháng 3 đến tháng 6 hàng năm.

Tóm lại, nghêu lùa phân bố ở các vùng sinh thái khác nhau thì có mùa vụ sinh sản không đồng nhất và liên quan tới biến động của các yếu tố môi trường trong vùng phân bố. Do đó, cần thiết phải thực hiện nghiên cứu xác định các đặc điểm sinh học sinh sản của nghêu lùa như: tỉ lệ giới tính, các giai đoạn phát triển tuyến sinh dục, mùa vụ sinh sản, kích thước thành thực sinh dục lần đầu... để cung cấp cơ sở khoa học quan trọng phục vụ xây dựng chính sách bảo vệ và khai thác bền vững nguồn lợi nghêu lùa ngoài tự nhiên cũng như góp phần xây dựng thành công quy trình kỹ thuật sản xuất giống đối tượng này ở nước ta.

1.2 Tình hình nghiên cứu sản xuất giống các loài nghêu *Paphia* trên thế giới

1.2.1 Nghiên cứu sản xuất giống nhân tạo

Tại Malaysia, nghêu lựa được tiêm serotonin để kích thích sinh sản, sau 30 phút nghêu bắt đầu sinh sản, quá trình sinh sản diễn ra không liên tục và kéo dài trong khoảng 2 giờ với sinh sản thực tế có thể đạt tới 1,5 triệu trứng (Shamsuddin và ctv., 1987). Sau 16 – 20 giờ, quá trình phát triển phôi hoàn thành và hình thành ấu trùng chữ D, kích thước 65 – 70 μm . Ấu trùng chữ D sẽ chuyển sang giai đoạn ấu trùng sống đáy với kích thước chiều dài 324 μm sau 15 ngày ương. Ấu trùng sống đáy hoàn tất quá trình biến thái, có hình dạng giống nghêu trưởng thành ở ngày thứ 18 và đạt chiều dài 17,9 mm sau 3 tháng ương nuôi (Shamsuddin và ctv., 1987).

Tại Thái Lan nghêu lựa cũng đã được nghiên cứu sản xuất giống từ rất sớm. Pongthana (1988) đã thành công trong việc nghiên cứu sản xuất nghêu đạt cỡ giống cấp 2 (1,0 – 1,3 cm). Sau khi sinh sản trong vòng 12 giờ, trứng thụ tinh sẽ hoàn tất quá trình phân cắt và phát triển phôi, chuyển sang giai đoạn ấu trùng chữ D với kích thước 70 μm . Sau 13 ngày ương, ấu trùng chuyển sang giai đoạn hậu kỳ đỉnh vỏ và hoàn thành quá trình biến thái. Ở giai đoạn này ấu trùng được cho ăn bằng 3 loài tảo là *I. galbana*, *Thalassiosira pseudonana* và *Ch. calcitrans*. Điều kiện môi trường trong quá trình ương nuôi ấu trùng nhiệt độ được duy trì trong khoảng 28 – 30°C, độ mặn 32 – 34‰ và tỷ lệ sống trung bình của ấu trùng sau 30 ngày là 28,4 %.

Theo Annabelle và ctv. (2010), sau 30 phút từ khi sinh sản quá trình thụ tinh và phân cắt trứng của nghêu lựa sẽ diễn ra và phát triển thành phôi nang (có kích thước 40 μm) sau 1 giờ 34 phút. Ấu trùng quay Trochophora được hình thành sau 7 giờ 13 phút và có kích thước 60 μm ; sau 11 giờ 55 phút chuyển sang giai đoạn ấu trùng chữ D, kích thước trung bình là 80 μm . Ấu trùng Veliger bản lề thẳng xuất hiện và kéo dài trong khoảng 9 ngày, sau đó chuyển sang giai đoạn ấu trùng đỉnh vỏ (Umbo) với hình dạng rõ ràng của đường tiêu hóa và kích thước ấu trùng đạt 140 μm . Sau 13 ngày, ấu trùng xuất hiện chân bò, tấm mang và ống thoát hút nước để chuẩn bị chuyển sang giai đoạn sống đáy và đạt kích thước trung bình 220 μm . Sau 30 ngày, ấu trùng hoàn tất quá trình biến thái với sự phát triển đầy đủ của các cơ quan, sắc tố và vân trên vỏ bắt đầu hình thành. Kích thước ấu trùng đạt trung bình khoảng 1,0 mm. Đặc điểm quá trình phát triển phôi và các giai đoạn phát triển của ấu trùng nghêu lựa cũng

đã được nghiên cứu bởi Yue và ctv. (2016). Kết quả cho thấy, các giai đoạn ấu trùng của nghêu lẹ có kích thước nhỏ hơn so với các loại khác thuộc họ Veneridae. Ở giai đoạn ấu trùng chữ D kích thước chiều dài của ấu trùng là $90,37 \pm 1,53 \mu\text{m}$, giai đoạn ấu trùng hậu kỳ đỉnh vỏ có kích thước là $110,24 \pm 1,39 \mu\text{m}$.

Tại Trung Quốc, Yi và ctv. (2010) nghiên cứu sản xuất giống nghêu lẹ và xác định được các yếu tố môi trường thích hợp cho ương ấu trùng và nghêu lẹ giống: nhiệt độ $23,0 - 29,6^\circ\text{C}$, độ mặn $28,0 - 34,0 \text{‰}$, pH $7,8 - 8,4$ và DO $4,0 - 7,0 \text{ mg/L}$. Giai đoạn ấu trùng chữ D hình thành khoảng 17 giờ tính từ khi trứng được thụ tinh với chiều dài $180 \mu\text{m}$. Guo và ctv. (2016) đánh giá quá trình phát triển phôi và sinh trưởng của ấu trùng nghêu lẹ *P. undulata* trong các điều kiện ương có nồng độ khí CO_2 khác nhau. Kết quả cho thấy, tỷ lệ nở của trứng nghêu chịu ảnh hưởng rõ rệt của nồng độ CO_2 và thấp nhất là 75% ở nồng độ CO_2 cao nhất $3.000 \mu\text{atm}$. Tương tự, tỷ lệ ấu trùng dị hình cũng tăng lên tỷ lệ thuận với hàm lượng CO_2 , từ 10,7% ở nồng độ $\text{CO}_2 = 2.000 \mu\text{atm}$ tới 96,6% khi nồng độ $\text{CO}_2 = 3.000 \mu\text{atm}$. Ở giai đoạn ấu trùng trôi nổi, nồng độ $\text{CO}_2 = 1.500 \mu\text{atm}$ cho kết quả về sinh trưởng, tỷ lệ sống và tỷ lệ chuyển giai đoạn của ấu trùng là tốt nhất (lần lượt $14,5 \mu\text{m/ngày}$, 85% và 51,1%).

Gireesh (2003) đã nghiên cứu sản xuất giống nghêu *P. malabarica* tại Ấn Độ và xác định được điều kiện môi trường tốt nhất cho sinh trưởng và phát triển của ấu trùng là độ mặn $30,0 - 33,0 \text{‰}$, pH $8,0 - 8,5$. Loài *P. amabilis* được Wang và ctv.. (2013) nghiên cứu sản xuất giống tại Trung Quốc. Trong điều kiện nhiệt độ $28,5^\circ\text{C}$ và độ mặn 30‰ ấu trùng chữ D hình thành sau 18 – 20 giờ từ khi nghêu sinh sản với kích thước chiều dài $164,0 \mu\text{m}$. Sau 3 ngày ương, hình thành ấu trùng đỉnh vỏ với chiều dài $183,0 \mu\text{m}$. Sau 8 – 13 ngày, ấu trùng hoàn tất quá trình biến thái và chuyển sang giai đoạn sống đáy.

1.2.2 Các nghiên cứu phương pháp kích thích sinh sản

Theo Aji (2011), có 3 phương pháp kích thích sinh sản được sử dụng chung cho các loài ĐVTM hai mảnh vỏ, gồm: phương pháp kích thích bằng các tác nhân hóa học, sinh học và vật lý. Cả 3 phương pháp kích thích trên đều có tác dụng đối với hoạt động sinh sản của các loài nghêu, tuy nhiên hiệu quả mang lại khác nhau tùy thuộc vào loài và mức độ thành thực tuyển sinh dục (Aguilar và ctv., 2001). Phương pháp kích thích bằng các tác nhân hóa học có thể sử dụng là tiêm serotonin (Gibbons và Castagna,

1985) hoặc các loại kích dục tố như: testosterone, estradiol, progesterone trực tiếp vào phần thân mềm của nghêu hoặc ngâm đàn bố mẹ trong nước có chứa các dung dịch như H_2O_2 , NH_4OH , thay đổi các yếu tố: độ mặn, pH... (Shamsuddin và ctv., 1987).

Phương pháp kích thích bằng tác nhân sinh học được thực hiện bằng cách sử dụng dịch sản phẩm sinh dục của các cá thể đã thành thực làm tác nhân kích thích sinh sản. Phương pháp này thường được sử dụng để kích thích sinh sản cho một số đối tượng có khả năng thành thực sinh dục tốt như hào, nghêu, điệp. Theo Heslinga và ctv. (1990) tuyến sinh dục của các loài nghêu khi thành thực có vai trò như là chất hấp dẫn, kích thích cho các cá thể khác sinh sản theo. Khi có cá thể sinh sản, các cá thể còn lại sẽ sinh sản đồng loạt theo hiệu ứng dây chuyền. Tuy nhiên, phương pháp này chỉ có hiệu quả kích thích sinh sản chủ yếu đối với cá thể đực mà ít hiệu quả đối với cá thể cái (Belda và Annabelle Del Norte, 1988).

Ở các loài ĐVTM hai mảnh vỏ như nghêu, chúng còn có xu hướng ưa sinh sản tại vùng có nhiều thức ăn là các loài tảo đơn bào, do đó một số loài tảo đơn bào còn được sử dụng như là tác nhân sinh học kích thích cho chúng sinh sản (Breese và Robinson, 1981).

Các tác nhân kích thích sinh sản vật lý gồm: nhiệt độ (nhiệt khô và nhiệt ướt), dòng chảy, ánh sáng, chiếu tia cực tím được sử dụng phổ biến để kích thích sinh sản cho các loài nghêu (Zhijiang và ctv., 1991; Aguilar và ctv., 2001; Annabelle và ctv., 2010; Aji, 2011). Trong các trại sản xuất, điều chỉnh thay đổi đột ngột các yếu tố trên, đơn lẻ hay kết hợp, mô phỏng theo thay đổi của điều kiện thời tiết ngoài tự nhiên như sự lên xuống của thủy triều, mưa, nắng gắt... trong ngưỡng giới hạn chịu đựng của đối tượng chính là tác nhân kích thích cho chúng sinh sản. Các tác nhân gây sốc vật lý như trên thường có hiệu quả kích thích sinh sản đối với các loại ĐVTM vùng nhiệt đới và ôn đới nhưng phụ thuộc vào mức độ thành thực của đàn bố mẹ.

Tại Malaysia, nghêu lụa được kích thích sinh sản bằng tiêm serotonin. Sau 30 phút nghêu bắt đầu sinh sản, quá trình sinh sản diễn ra không liên tục và kéo dài trong khoảng 2 giờ (Shamsuddin và ctv., 1987). Pongthana (1988) nghiên cứu sử dụng các phương pháp sốc nhiệt, ngâm và tiêm serotonin để kích thích sinh sản ở nghêu lụa. Kết quả cho thấy, cả ba phương pháp đều có tác dụng kích thích cho nghêu sinh sản.

Ở loài *P. textilis*, Aguilar và ctv. (2001) đã sử dụng 3 loại hóa chất khác nhau: H_2O_2 , KCl và NH_4OH để kích thích sinh sản ở nghêu đực. Kết quả cho thấy cả 3 loại hóa chất trên đều có tác dụng kích thích nghêu sinh sản, trong đó nghêu tiêm KCl thu được mật độ tinh trùng cao nhất, tuy nhiên thời gian nghêu sinh sản nhanh nhất ở nghiệm thức tiêm H_2O_2 .

Theo Helm và ctv. (2004), các phương pháp kích thích sinh sản bằng tác nhân hóa học, sinh học và vật lý đều có những ưu nhược điểm riêng ảnh hưởng tới hiệu quả sinh sản của đối tượng. Về thời gian sinh sản thì phương pháp sử dụng các tác nhân hóa học sẽ cho hiệu quả nhanh nhất, tuy nhiên chất lượng của trứng thu được kém thể hiện thông qua tỷ lệ thụ tinh và tỷ lệ sống của ấu trùng thấp, cũng như ảnh hưởng tới đàn bố mẹ sau khi sinh sản do ảnh hưởng của loại hóa chất sử dụng. Mặc dù, thời gian hiệu ứng lâu hơn, nghêu sinh sản chậm nhưng khi sử dụng các phương pháp kích thích sốc vật lý và sinh học thì tỷ lệ thụ tinh và tỷ lệ sống của ấu trùng cao hơn nhiều. Mặt khác, các tác nhân kích thích sốc vật lý và sinh học thực hiện đơn giản và ít tốn kém so với phương pháp kích thích bằng hóa học.

Như vậy, tùy theo loài và mức độ thành thực sinh dục mà có thể sử dụng phương pháp kích thích sinh sản thích hợp để nâng cao hiệu quả sinh sản của các loài ĐVTM hai mảnh vỏ, thông qua thời gian hiệu ứng và hiệu quả sinh sản thực tế trong mỗi lần sinh sản. Do đó, luận án thực hiện nội dung nghiên cứu ảnh hưởng của 3 phương pháp kích thích sinh sản là phương pháp sốc nhiệt, phương pháp ngâm trong dung dịch NH_4OH và phương pháp chiếu đèn tia cực tím để đánh giá hiệu quả sinh sản của nghêu lựa bố mẹ.

1.2.3 Các nghiên cứu nâng cao hiệu quả ương nuôi ấu trùng và nghêu giống

Nhiều nghiên cứu về ảnh hưởng của độ mặn lên sinh trưởng và tỷ lệ sống của các loài nghêu đã được thực hiện và cho thấy tỷ lệ sống của nghêu ở các độ mặn khác nhau phụ thuộc vào kích thước chiều dài của chúng. Theo Chalanda (1978) nghêu lựa có kích thước lớn thì khả năng chịu đựng được sự biến động của độ mặn tốt hơn nghêu nhỏ. Nghêu có chiều dài 3,4 cm sẽ có tỷ lệ chết là 50 % ở độ mặn 21,0 ‰ trong vòng 1 giờ 30 phút – 2 giờ 30 phút. Nghêu có kích thước lớn hơn (4,5 cm), ghi nhận tỷ lệ chết 50 % ở độ mặn 20 ‰. Nghiên cứu Yodchai và ctv. (1983) cho thấy ở điều kiện độ mặn 14,3 ‰, nghêu lựa có chiều dài 4,6 cm sẽ có tỷ lệ chết là 50 % sau

khoảng thời gian là 24h. Theo Wang và ctv. (2009) độ mặn và pH có ảnh hưởng rõ rệt tới tốc độ lọc của nghêu lẹ. Kết quả nghiên cứu cho thấy, khoảng độ mặn từ 28,0 – 32,0 ‰ tốc độ lọc thức ăn của nghêu là cao nhất có ý nghĩa so với các khoảng độ mặn khác. Tốc độ lọc của nghêu cũng tăng lên trong khoảng pH thích hợp là 7,0 – 8,0 và đạt giá trị cao nhất ở mức pH 8,0. Nhiệt độ là yếu tố sinh thái quan trọng ảnh hưởng tới sinh trưởng và tỷ lệ sống của nghêu lẹ. Nghêu bắt đầu chết khi nhiệt độ nước đạt 39°C và chết hoàn toàn khi nhiệt độ đạt ngưỡng 42°C (Chalanda, 1978). Theo Anake và ctv. (2007) nhiệt độ là yếu tố quyết định tới mật độ phân bố của nghêu lẹ tại Vịnh Thái Lan. Nhiệt độ thích hợp cho sinh trưởng và phát triển của nghêu lẹ dao động từ 22,0 – 34,0°C. Nghiên cứu của Zhang và ctv. (2019) khẳng định khi nhiệt độ tăng từ 10°C lên 32°C sẽ làm nhịp tim, cường độ hô hấp và lọc thức ăn của nghêu lẹ tăng lên và đạt giá trị tối ưu. Nhiệt độ cũng ảnh hưởng tới tốc độ sinh trưởng của nghêu lẹ, ở nhiệt độ 10°C và 16°C nghêu lẹ sinh trưởng âm. Nghêu lẹ bắt đầu sinh trưởng ở 18°C và đạt giá trị cao nhất ở 32°C. Như vậy nghêu lẹ có khả năng thích nghi tốt với sự thay đổi nhiệt độ ở vùng triều nơi phân bố.

Manalo và Campos (2010) khi nghiên cứu ảnh hưởng của điều kiện chiếu sáng, loại tảo và mật độ tế bào tảo lên tốc độ lọc của nghêu lẹ, công bố tốc độ lọc trung bình của nghêu lẹ là cao nhất, tương ứng $0,57 \pm 0,04$ (L/h/cá thể) trong điều kiện không có ánh sáng. Trong số các loài vi tảo làm thức ăn là *I. galbana*, *Tetraselmis tetrahele* và *Ch. calcitrans* thì *I. galbana* được nghêu lẹ sử dụng nhiều nhất với tỷ lệ lọc là $0,67 \pm 0,05$ L/h/cá thể. Mật độ tế bào tảo cũng ảnh hưởng tới tốc độ lọc của nghêu, tốc độ lọc tăng dần vào đạt giá trị cao nhất tương ứng với mật độ tảo là 25×10^4 tb/mL và sau đó tốc độ lọc giảm dần ở mật độ tảo cao hơn. Như vậy, cường độ chiếu sáng, loại tảo và mật độ tế bào tảo có ảnh hưởng rõ rệt tới tốc độ lọc của nghêu lẹ, từ đó ảnh hưởng tới sinh trưởng và tỷ lệ sống của chúng.

Li và ctv. (2011) nghiên cứu về ảnh hưởng của độ mặn và kích thước cơ thể lên mức tiêu thụ oxy và tỷ lệ bài tiết amoniac của nghêu lẹ. Nghêu được chia làm hai nhóm kích thước lớn ($4,51 \pm 0,17$ cm) và kích thước nhỏ ($3,69 \pm 0,11$ cm), trong các khoảng độ mặn 20 ‰, 24 ‰, 28 ‰, 32 ‰ và 36 ‰, nhiệt độ nước là 25°C. Kết quả cho thấy mức ôxy tiêu thụ và hàm lượng ammonia thải ra của nghêu lẹ tăng lên trong khoảng độ mặn thích hợp (20 tới 28 ‰) nhưng lại giảm ở độ mặn cao (28,0 – 36 ‰).

Trong điều kiện độ mặn như nhau thì nghêu có kích thước lớn ($4,51 \pm 0,17$ cm) sẽ có mức tiêu hao oxy thấp hơn so với nghêu có kích thước nhỏ ($3,69 \pm 0,11$ cm).

Ở loài *P. malabarica*, Sivalingam và ctv. (2000), nghiên cứu ảnh hưởng của mật độ ương tới sinh trưởng và tỷ lệ sống của ấu trùng giai đoạn sống đáy. Kết quả cho thấy ở mật độ ương 1 con/3 mL cho sinh trưởng của ấu trùng tốt nhất, tương ứng chiều dài 2,73 mm. Tỷ lệ sống của ấu trùng đạt cao nhất là 82,8% ở mật độ ương 1 con/5mL. Như vậy mật độ ương 1 con/3 – 5 mL là thích hợp nhất cho ấu trùng nghêu *P. malabarica* giai đoạn sống đáy. Theo Raghavan (2003) khi ương ấu trùng nghêu *P. malabarica*, sử dụng thức ăn là tảo *N. salina* mật độ 5.000 tb/mL mang lại hiệu quả tốt nhất về thời gian chuyển giai đoạn (9 – 11 ngày), tốc độ sinh trưởng ($19,8 \mu\text{m}/\text{ngày}$) và tỷ lệ sống của ấu trùng (83,0%). Raghavan và Gopinathan (2004) khi nghiên cứu ảnh hưởng của độ mặn và pH tới tăng trưởng và tỷ lệ chuyển giai đoạn của ấu trùng nghêu *P. malabarica* kết luận, tốc độ tăng trưởng và tỷ lệ chuyển giai đoạn từ ấu trùng đỉnh vỏ sang ấu trùng sống đáy đạt cao nhất là $5,1 \mu\text{m}/\text{ngày}$ và 93,4% khi ương ở độ mặn 33,0 ‰. Trong khi đó, pH dao động trong khoảng 8,0 – 8,1 là thích hợp nhất cho ương nuôi ấu trùng với tốc độ sinh trưởng và tỷ lệ sống tương ứng là $7,0 \mu\text{m}/\text{ngày}$ và 84,5%.

Kripa và ctv. (2006) nghiên cứu khả năng chịu sốc độ mặn của loài *P. malabarica* giai đoạn giống với kích thước chiều dài 6,5 – 10 mm. Ở các độ mặn thấp là 5 và 10‰ nghêu chết hoàn toàn sau 8 ngày thí nghiệm. Độ mặn 15 ‰, nghêu chết hoàn toàn sau 10 ngày. Mức độ mặn cao hơn, ghi nhận tỷ lệ chết của nghêu giảm mạnh sau 10 ngày thí nghiệm, lần lượt là 33% và 16% tương ứng với độ mặn 20 ‰ và 25 ‰. Tỷ lệ sống của nghêu là 100% sau 30 ngày thí nghiệm ở độ mặn 30 ‰ và 35 ‰. Kết quả nghiên cứu cho thấy nghêu giống cỡ 6,5 – 10,0 mm phải được nuôi thương phẩm ở khu vực có độ mặn ≥ 25 ‰, nếu độ mặn vùng nuôi giảm thấp hơn 25 ‰ thì thời gian không được kéo dài quá 10 ngày.

Sinh trưởng và tỷ lệ sống của ấu trùng nghêu *P. malabarica* giai đoạn trôi nổi còn chịu tác động bởi cường độ ánh sáng. Theo Raghavan và Gopinathan (2008) khi ương ấu trùng với mật độ ương 1 – 3 con/mL trong điều kiện ánh sáng < 5.000 lux cho kết quả tốt nhất về sinh trưởng và tỷ lệ sống của ấu trùng so với điều kiện ánh sáng ngoài trời. Ngoài ra, nghiên cứu Nagvenkar và Jagtap (2013) cho thấy biến động

của các thành phần dinh dưỡng ở loài *P. malabarica* như protein, lipid và chỉ số điều kiện liên quan tới sự thay đổi của các yếu tố môi trường và đạt giá trị cao nhất trong thời gian từ tháng hai tới tháng 5 hàng năm, trùng với thời điểm trước mùa sinh sản rộ. Tác giả cũng khuyến cáo, đây chính là thời điểm tốt nhất để thu hoạch nghêu, do mang lại giá trị dinh dưỡng cao nhất trong năm.

Ở loài *P. textzle*, Zhi-min và ctv. (2011) kết luận ngưỡng độ mặn phù hợp cho sinh trưởng và phát triển của nghêu giống là 22,3 – 35,9 ‰, tuy nhiên khoảng độ mặn tối ưu cho sinh trưởng của nghêu là 26,0 – 27,3 ‰, tương ứng với tốc độ tăng trưởng tốt nhất về chiều dài (143 μm /ngày) và khối lượng (2,21 mg/ngày). Như vậy, vùng nuôi nghêu *P. textzle* thích hợp là dưới hạ triều, nơi có độ mặn cao và ổn định. Theo Taware và Muley (2014) độ mặn ảnh hưởng tới khả năng hô hấp của nghêu *P. laterisulca*. Nghêu có kích thước nhỏ sẽ chịu tác động nhiều hơn tương ứng với lượng tiêu hao ôxy cao nhất với sự thay đổi của độ mặn so với nghêu có kích thước lớn. Sự biến động độ mặn theo mùa ở khu vực ven bờ ảnh hưởng tới khả năng hô hấp của nghêu, trong đó nhóm nghêu có kích thước nhỏ chịu tác động nhiều hơn so với nhóm nghêu có kích thước lớn.

Tóm lại, tốc độ sinh trưởng và tỷ lệ sống của các loài nghêu phụ thuộc lớn vào các yếu tố sinh thái như nhiệt độ, độ mặn, pH, điều kiện chiếu sáng, tốc độ dòng chảy, thức ăn... Sự biến động của các yếu tố sinh thái này trong các mùa vụ khác nhau, các vùng khác nhau dẫn đến tốc độ sinh trưởng và tỷ lệ sống của nghêu biến động theo thời gian và vùng phân bố. Các nghiên cứu về đặc điểm sinh thái sẽ cung cấp những luận cứ khoa học quan trọng về ảnh hưởng của các yếu tố môi trường tới sinh trưởng và tỷ lệ sống của nghêu, cung cấp cơ sở khoa học quan trọng để thiết kế thí nghiệm nghiên cứu nhằm tìm ra các thông số kỹ thuật thích hợp trong sản xuất giống và nâng cao hiệu quả của quá trình ương nuôi ấu trùng. Kế thừa các kết quả nghiên cứu trên, luận án tiến hành nghiên cứu ảnh hưởng của các yếu tố như: mật độ, độ mặn, thức ăn và chất đáy lên sinh trưởng và tỷ lệ sống của ấu trùng và nghêu lựa giống, nhằm xác định được các chỉ tiêu kỹ thuật làm cơ sở để xây dựng quy trình kỹ thuật sản xuất giống nghêu lựa tại Khánh Hòa.

1.3 Các nghiên cứu sản xuất giống nghêu trong nước

Ở nước ta, hai loài ngao đầu *Meretrix meretrix* và nghêu trắng *M. lyrata* là những đối tượng nuôi phổ biến, có giá trị kinh tế cao và đã trở thành mặt hàng thủy sản xuất khẩu mũi nhọn, được nhiều nước trên thế giới ưa chuộng. Năm 2009, vùng nuôi nghêu trắng *M. lyrata* tại tỉnh Bến Tre lần đầu tiên được cấp chứng nhận MSC (Marine Stewardship Council) của Hội đồng biển quốc tế và đáp ứng được tiêu chuẩn HACCP (Hazard Analysis Critical Control Point), từ đó nghề sản xuất giống và nuôi nghêu đã được đầu tư nghiên cứu và mở rộng quy mô sản xuất. Đặc biệt, cuối năm 2020, vùng nuôi nghêu trắng tại tỉnh Nam Định lần đầu tiên trên thế giới được Hội đồng quản lý nuôi trồng thủy sản cấp chứng nhận ASC (Aquaculture Stewardship Council), mở ra cơ hội xuất khẩu chính ngạch vào các thị trường khó tính trên thế giới. Theo Tổng cục thủy sản, tổng sản lượng động vật thân mềm cả nước năm 2021 đạt trên 300.000 tấn, trong đó diện tích nuôi nghêu là 15.720 ha, sản lượng khoảng 190.000 tấn, tương đương năng suất 11,82 tấn/ha. Khánh Hòa là tỉnh có điều kiện thuận lợi để phát triển nghề nuôi thương phẩm động vật thân mềm dựa vào diện tích lớn các eo vịnh, đầm phá như: đầm Nha Phu, Vịnh Cam Ranh, Vịnh Vân Phong. Các đối tượng động vật thân mềm hai mảnh vỏ được nuôi phổ biến tại Khánh Hòa gồm có hào Thái Bình Dương, Tu hài, ngao hai côi, trai ngọc. Riêng nghêu lụa là đối tượng còn khá mới, hiện nay người dân mới thử nghiệm nuôi với diện tích nhỏ tại đầm Nha Phu và Vịnh Cam Ranh. Sản lượng nghêu lụa hiện nay hoàn toàn được khai thác ngoài tự nhiên tại các địa phương: Ninh Hòa, Cam Ranh và Vạn Ninh.

Hiện nay, các nghiên cứu về sản xuất giống các loài thuộc họ nghêu Veneridae chủ yếu được thực hiện trên đối tượng nghêu trắng *M. lyrata*, những công bố trên các đối tượng khác còn hạn chế. Nghiên cứu sản xuất giống nghêu trắng *M. lyrata* lần đầu được công bố bởi Nguyễn Đình Hùng và ctv. (2003). Nghêu bố mẹ được tuyển chọn trong mùa sinh sản và kích thích sinh sản bằng phương pháp sốc nhiệt khô sẽ cho hiệu quả tốt nhất. Trong quá trình ương nuôi ấu trùng, sử dụng thức ăn chính là hai loài vi tảo *I. galbana*, *Chaetoceros* sp. (tỉ lệ 6:4); chế độ thay nước là 60 – 70% mỗi ngày. Tỷ lệ sống đến giai đoạn xuống đáy dao động ở các đợt là 8 – 25%, điều kiện nhiệt độ 27,5 – 31,0°C và độ mặn là 18 – 25 ‰.

Theo Như Văn Cẩn và ctv. (2009), các phương pháp kích thích sinh sản ở nghêu trắng là các yếu tố sinh thái (nhiệt độ, dòng chảy, pH), ngâm hóa chất (dung dịch H_2O_2 , NH_4OH) hoặc tiêm serotonin. Nghiên cứu ảnh hưởng của mật độ đến sinh trưởng và tỷ lệ sống của nghêu trắng cho thấy mật độ nuôi ảnh hưởng rõ rệt tới tốc độ sinh trưởng của nghêu. Nghêu giống có chiều dài 1,0 cm thì mật độ nuôi 0,2 kg/m^2 cho hiệu quả cao nhất. Nghêu giống lớn hơn (chiều dài 1,7 cm) thì mật độ nuôi cho hiệu quả kinh tế nhất là 0,34 kg/m^2 . Trong cùng mật độ nuôi (0,3 kg/m^2), nghêu cỡ nhỏ (chiều dài 1,0 cm) có tốc độ sinh trưởng nhanh hơn so với nghêu cỡ lớn (chiều dài 1,7 cm) (Như Văn Cẩn và ctv., 2009). Như vậy, tốc độ tăng trưởng và tỷ lệ sống của nghêu tỷ lệ nghịch với mật độ nuôi, mật độ càng cao thì tốc độ sinh trưởng càng chậm và tỷ lệ sống càng giảm.

Ngô Thị Thu Thảo và Lâm Thị Quang Mẫn (2012a) khi nghiên cứu ảnh hưởng của độ mặn và thời gian phơi bãi đối với nghêu trắng *M. lyrata* cho thấy tỷ lệ sống của nghêu đạt cao nhất ở nghiệm thức 10‰ kết hợp với thời gian phơi bãi 2 giờ (87,78%). Ở nghêu lớn thì tỷ lệ sống cao nhất ở nghiệm thức 10‰ và phơi bãi 4 giờ (97,8%). Độ mặn 30‰ kết hợp với thời gian phơi bãi 6 giờ đã làm giảm đáng kể tỷ lệ sống của nghêu ở các kích cỡ thí nghiệm (11,1 và 12,2%). Nhiệt độ và độ mặn cũng ảnh hưởng đồng thời lên tỷ lệ sống của nghêu trắng *M. lyrata* với nhiệt độ 28°C và độ mặn 10‰ cho tỷ lệ sống của nghêu tốt nhất. Khi ương nghêu ở độ mặn 30‰ và nhiệt độ 34°C thì tỷ lệ chết của nghêu tăng lên với kích cỡ cơ thể, tương ứng 40%, 62,2% và 100% với nghêu nhỏ, nghêu trung và nghêu lớn (Ngô Thị Thu Thảo và Lâm Thị Quang Mẫn, 2012b).

Theo Ngô Thị Thu Thảo và ctv. (2012) bổ sung chế phẩm sinh học có tác dụng nâng cao tốc độ sinh trưởng, tỷ lệ sống của nghêu trắng *M. lyrata* ở giai đoạn giống. Nghêu chiều dài $11,85 \pm 0,33$ mm sau 90 ngày nuôi với mật độ 400 con/L có tốc độ tăng trưởng về chiều dài, khối lượng và tỷ lệ sống cao nhất ở nghiệm thức được bổ sung trực tiếp chế phẩm sinh học có thành phần *Bacillus subtilis* và *Lactobacillus acidophilus* với lượng 0,5 mg/L.

Khi nghiên cứu sản xuất giống nhân tạo nghêu trắng tại Khánh Hòa, Vũ Trọng Đại và ctv. (2016) kết luận cả 3 phương pháp kích thích là ngâm trong dung dịch H_2O_2 , NH_4OH và sốc nhiệt đều có tác dụng kích thích cho nghêu sinh sản với tỷ lệ thụ tinh trung bình của trứng là $81,6 \pm 3,6\%$, trong đó tỷ lệ nở của ấu trùng cao nhất

là $80,8 \pm 2,4\%$ khi kích thích sinh sản bằng phương pháp sốc nhiệt. Ở giai đoạn ương nuôi ấu trùng trôi nổi và sống đáy, sử dụng thức ăn là hỗn hợp gồm ba loài vi tảo *Chlorella sp.*, *N. oculata* và *I. galbana* với tỷ lệ 1 : 1 : 2, cho tốc sinh trưởng và tỷ lệ sống của ấu trùng cao nhất.

Tóm lại: nghêu lẹa là đối tượng có tiềm năng lớn cho nuôi trồng thủy sản ở nước ta do giá trị kinh tế cao và thị trường xuất khẩu rộng. Hiện nay, các nghiên cứu về nghêu lẹa ở trong nước mới thực hiện về đặc điểm phân bố, đặc điểm sinh trưởng và thông tin ban đầu về mùa vụ sinh sản phục vụ cho khai thác tại Bình Thuận và Cà Mau. Chưa có các nghiên cứu đầy đủ, mang tính hệ thống về đặc điểm sinh học sinh sản và đặc biệt, các nghiên cứu về kỹ thuật sản xuất giống nghêu lẹa chưa được thực hiện. Vì vậy, để đưa nghêu lẹa từ một đối tượng tiềm năng đang khai thác tự nhiên trở thành đối tượng cho nuôi trồng thủy sản thì việc nghiên cứu đầy đủ, có hệ thống từ các đặc điểm sinh học sinh sản đến các chỉ tiêu kỹ thuật trong nuôi vỗ thành thực và ương nuôi ấu trùng và nghêu lẹa giống là rất cần thiết nhằm xây dựng quy trình kỹ thuật sản xuất giống, chủ động được nguồn giống nhân tạo có chất lượng đáp ứng cho nhu cầu nuôi thương phẩm của người dân ven biển, từ đó tạo việc làm, nâng cao thu nhập cho người dân. Đồng thời, việc xác định được các đặc điểm sinh học sinh sản và xây dựng thành công quy trình kỹ thuật sản xuất giống nhân tạo nghêu lẹa sẽ cung cấp cơ sở khoa học quan trọng phục vụ cho việc xây dựng chính sách bảo vệ và khai thác bền vững nguồn lợi nghêu lẹa ngoài tự nhiên, cũng như góp phần phát triển nghề nuôi nghêu lẹa thương phẩm ở nước ta.

CHƯƠNG 2 - VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Đối tượng, thời gian và địa điểm nghiên cứu

2.1.1 Đối tượng nghiên cứu

Đối tượng nghiên cứu: *Paphia undulata* (Born, 1780).

Tên tiếng Việt: nghêu lưa, sò lưa.

Tên tiếng Anh: short-necked clam, undulated surf clam.

Phạm vi nghiên cứu: Đặc điểm sinh học sinh sản và kỹ thuật sản xuất giống nhân tạo nghêu lưa tại tỉnh Khánh Hòa.

2.1.2 Thời gian nghiên cứu

Thời gian nghiên cứu đặc điểm sinh học sinh sản của nghêu lưa từ tháng 01 năm 2017 đến tháng 12 năm 2017.

Thời gian nghiên cứu sản xuất giống nhân tạo nghêu lưa từ tháng 01 năm 2018 tới tháng 12 năm 2019.

2.1.3 Địa điểm nghiên cứu

Mẫu nghêu lưa nghiên cứu đặc điểm sinh học sinh sản được thu trực tiếp từ người dân khai thác ở các vùng biển huyện Vạn Ninh, Thị xã Ninh Hòa và thành phố Cam Ranh, tỉnh Khánh Hòa.

Phân tích đặc điểm sinh học sinh sản của nghêu lưa được thực hiện tại Phòng thí nghiệm của Trung tâm Thí nghiệm thực hành, Trường Đại học Nha Trang.

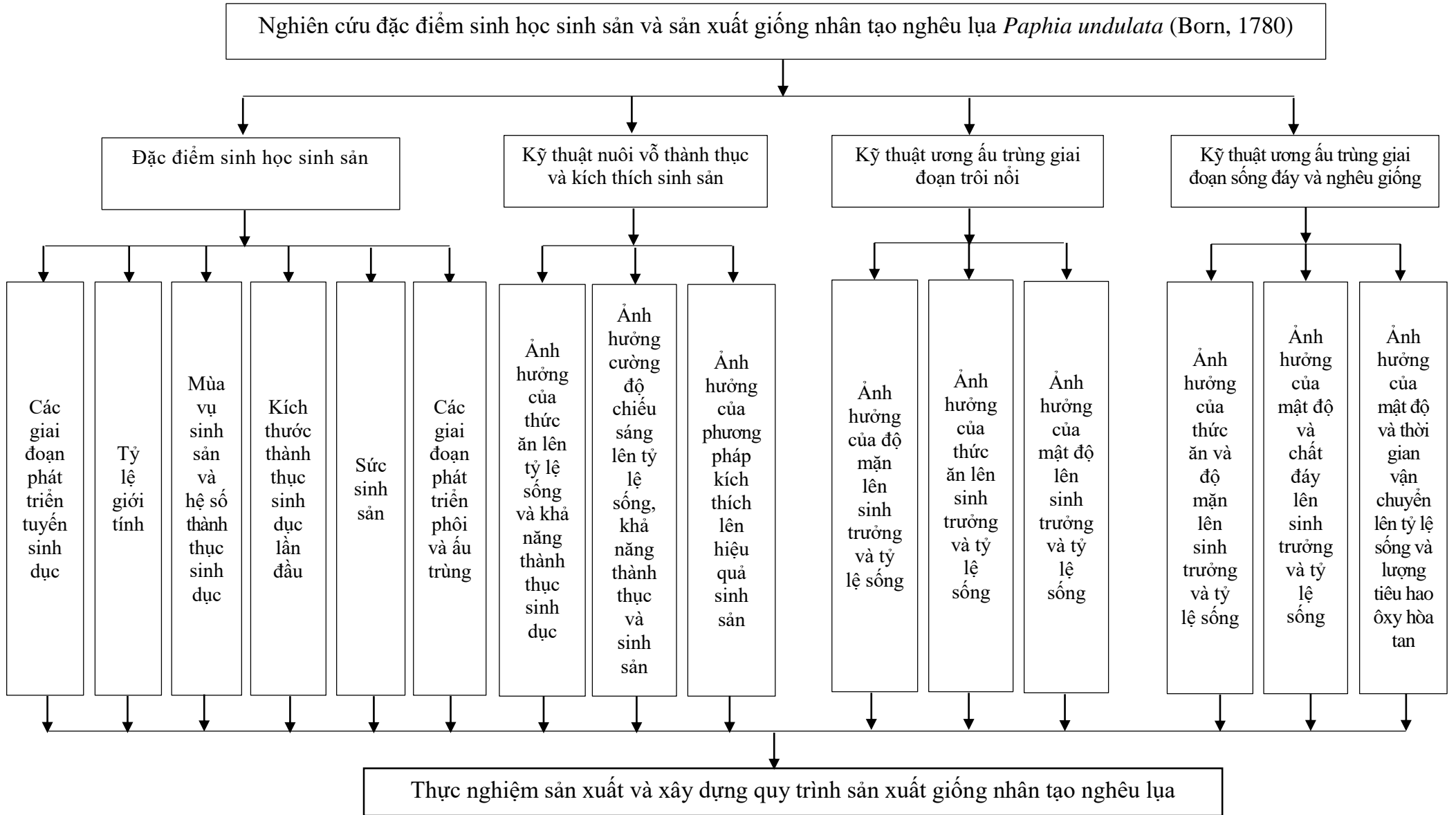
Các thí nghiệm nghiên cứu kỹ thuật ương nuôi ấu trùng nghêu lưa giai đoạn trôi nổi, giai đoạn sống đáy và nghêu giống thực hiện tại Trại sản xuất giống Động vật thân mềm, địa chỉ: Thôn Cát Lợi, Xã Vĩnh Lương, Thành phố Nha Trang, Tỉnh Khánh Hòa.

Phân tích thành phần sinh hóa của nghêu thực hiện tại Phòng thí nghiệm Khoa Thủy sản, Trường Đại học Cần Thơ.

2.2 Nội dung nghiên cứu

Luận án thực hiện 3 nội dung nghiên cứu:

1. Nghiên cứu đặc điểm sinh học sinh sản của nghêu lưa tại Khánh Hòa:
2. Nghiên cứu kỹ thuật sản xuất giống nghêu lưa tại Khánh Hòa.
3. Thực nghiệm sản xuất và xây dựng quy trình kỹ thuật sản xuất giống nhân tạo nghêu lưa tại Khánh Hòa.



Hình 2. 1: Sơ đồ khối nội dung nghiên cứu

2.3 Phương pháp nghiên cứu

2.3.1 Nghiên cứu đặc điểm sinh học sinh sản của nghêu lùa

2.3.1.1 Phương pháp thu mẫu

Nghêu lùa được thu trực tiếp từ người dân khai thác từ các địa phương trong tỉnh Khánh Hòa (Huyện Vạn Ninh, Thị xã Ninh Hòa, Thành phố Cam Ranh), sau đó được vận chuyển bằng phương pháp khô âm về phòng thí nghiệm của Trường Đại học Nha Trang. Tại phòng thí nghiệm, nghêu được kiểm tra đạt yêu cầu: còn sống, vỏ nguyên vẹn, không bị dập vỡ. Sau đó mẫu nghêu được trộn lẫn giữa các vùng thu mẫu và thu ngẫu nhiên với các kích cỡ chiều dài khác nhau, dao động từ 37 tới 54 mm tương ứng với kích cỡ nghêu hiện đang được khai thác để xác định các đặc điểm sinh học sinh sản. Số lượng mẫu thu: 120 con/tháng, thời gian thu mẫu định kỳ vào cuối tháng, thời gian thu mẫu liên tục trong 12 tháng từ tháng 1/2017 tới tháng 12/2017.

2.3.1.2 Các giai đoạn phát triển tuyến sinh dục

Giới tính của nghêu lùa 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 40 lần. Thu mẫu tươi sản phẩm sinh dục của nghêu, phết lên lam kính và nhỏ nước muối sinh lý lên mẫu, đậy lam kính và quan sát trên kính hiển vi có độ phóng đại 40 lần để xác định giới tính dựa trên các tương ứng với sản phẩm sinh dục là tinh trùng hoặc trứng.

Các giai đoạn phát triển tuyến sinh dục của nghêu được xác định dựa vào phương pháp tiêu bản mô học theo phương pháp của Sheckan và Hrapchack (1980). Phương pháp được tóm tắt như sau: mẫu cơ quan sinh dục nghêu được cố định bằng formol 10%, loại nước bằng Ethanol và làm trong bằng Xilen. Đúc mẫu parafin và cắt lát mỏng từ 2 – 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 lam, 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 quang học Olympus BX41 có gắn máy ảnh, độ phóng đại 40 lần. Xác định các giai đoạn phát triển tuyến sinh dục của nghêu lùa theo thang 5 bậc của Quayle và Newkirt (1989) và Nabuab và ctv. (2010).

Mẫu tươi tuyến sinh dục của nghêu 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 nghêu).

2.3.1.3 Tỷ lệ giới tính

Tỷ lệ giới tính của nghêu lựa được xác định dựa vào tỷ lệ số lượng cá thể đực và cá thể cái đã xác định được qua các tháng thu mẫu trên tổng số các mẫu thu hàng tháng. Công thức tính tỷ lệ giới tính:

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

$$m(\%) = \frac{b}{c} \times 100 \quad (2.2)$$

với f là tỷ lệ cái (%)

m là tỷ lệ đực (%)

a là số cá thể cái (con)

b là số cá thể đực (con)

c là tổng số mẫu (con)

2.3.1.4 Mùa vụ sinh sản và hệ số thành thực sinh dục

Mùa vụ sinh sản của nghêu được xác định dựa trên số mẫu nghêu 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. Tháng có từ 50% số cá thể thành thực và đang tham gia sinh sản trở lên được coi là mùa vụ sinh sản chính của nghêu.

Hệ số thành thực của nghêu được tính trong từng tháng thu mẫu, xác định dựa trên quan sát tiêu bản mô học theo phương pháp của Quayle và Newkirk (1989) với thang giá trị từ 1-5, trong đó 1: giai đoạn chưa phát triển; 2: giai đoạn phát triển; 3: giai đoạn thành thực sinh dục, 4: giai đoạn sinh sản và 5: giai đoạn tái phát dục. Công thức tính hệ số thành thực:

$$GI(\%) = \frac{(\sum n_i \times i)}{N} \quad (2.3)$$

với GI là hệ số thành thực (%)

n là số cá thể cái tương ứng với các giai đoạn phát triển tuyến sinh dục (con)

i là các giai đoạn phát triển tuyến sinh dục

N là tổng số mẫu quan sát

2.3.1.5 Kích thước thành thực sinh dục lần đầu

Kích thước thành thực sinh dục lần đầu của nghêu lựa được tính toán riêng cho nghêu đực và nghêu cái trong mùa vụ sinh sản chính. Xác định kích thước thành thực lần đầu dựa vào kích thước chiều dài của nghêu khi biểu diễn bằng đồ thị trên đường cong của tỷ lệ % số cá thể đã thành thực sinh dục hoặc đang sinh sản. Điểm trên đường cong mà tại đó có tỷ lệ 50% tổng số cá thể thành thực sinh dục thì được xác định là kích thước thành thực sinh dục lần đầu (L_{50}).

2.3.1.6 Sức sinh sản

Sức sinh sản tuyệt đối và tương đối của nghêu được xác định theo phương pháp thể tích. Cân toàn bộ khối lượng phần thân mềm của nghêu khi ráo nước, sau đó hòa toàn bộ buồng trứng trong nước và đếm số lượng noãn bào thành thực bằng buồng đếm động vật phù du Sedgewick rafter. Sức sinh sản tuyệt đối (F_a) của nghêu 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:

$$F_{rg1} = \frac{F_a}{W_{tt}} \quad (2.4)$$

$$F_{rg2} = \frac{F_a}{W_{tm}} \quad (2.5)$$

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

F_{rg1} là sức sinh sản tương đối 1 (trứng/g khối lượng toàn thân)

F_{rg2} là sức sinh sản tương đối 2 (trứng/g khối lượng thân mềm)

W_{tt} là khối lượng toàn thân (g)

W_{tm} 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 nghêu cái trong một lần sinh sản.

2.3.1.7 Các giai đoạn phát triển phôi và ấu trùng

Nghêu lựa bố mẹ được cho sinh sản để theo dõi quá trình phát triển phôi và ấu trùng. 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 kỹ thuật nuôi vỗ thành thực và kích thích sinh sản nghêu lùa

2.3.2.1 Ảnh hưởng của thức ăn lên tỷ lệ sống và khả năng thành thực sinh dục (TN1)

❖ Vật liệu thí nghiệm

Nghêu lùa được thu từ người dân khai thác tại Khánh Hòa và được tuyển chọn sơ bộ trước khi thí nghiệm: nghêu mới được khai thác, vỏ nguyên vẹn, phản xạ đóng mở vỏ linh hoạt, ống hút thoát nước nguyên vẹn. Sau khi tuyển chọn, nghêu được đựng trong túi lưới và chuyển về trại thí nghiệm bằng phương pháp vận chuyển khô âm (sử dụng xe ô tô).

Tại trại thí nghiệm, nghêu được tuyển chọn đảm bảo các tiêu chí: chiều dài ≥ 44 mm, khối lượng 15 – 25 g/con.

❖ Điều kiện thí nghiệm

Thí nghiệm được bố trí ngẫu nhiên trong các bể nhựa hình tròn, thể tích 250 lít, đặt trong nhà có mái che bằng tôn lạnh. Bể, dây khí và đá bọt được vệ sinh sạch bằng formalin 15 ppm, sau đó rửa lại bằng xà phòng và nước ngọt. Phơi bể 1 – 2 ngày cho hết mùi formalin, rửa lại bằng nước ngọt trước khi sử dụng. Nguồn nước thí nghiệm được lọc qua bể lọc cơ học rồi bơm qua hệ thống lọc bông kích thước 0,5 μm trước khi sử dụng. Điều kiện môi trường của nguồn nước được kiểm tra và điều chỉnh phù hợp với sinh trưởng và phát triển của nghêu: độ mặn 30 – 32 ‰, nhiệt độ 27 – 29°C, pH 7,5 – 8,2. Mỗi bể thí nghiệm được bố trí 01 vòi sục khí, chế độ sục khí nhẹ, liên tục trong thời gian thí nghiệm.

Nghêu được xác định các chỉ tiêu chiều dài, khối lượng, độ béo, chỉ số điều kiện, tỷ lệ thành thực và thành phần sinh hóa ban đầu trước thí nghiệm. Giải phẫu, quan sát mức độ phát triển của tuyến sinh dục để đánh giá tỷ lệ thành thực của nghêu. Nghêu đã thành thực sinh dục là nghêu có cơ quan sinh dục đang phát triển ở giai đoạn III và IV. Quan sát bằng mắt thường, tuyến sinh dục của nghêu phát triển bao trùm lên phần nội tạng, ở nghêu đực tuyến sinh dục có màu trắng sữa, ở nghêu cái tuyến sinh dục có màu vàng nhạt. Quan sát dưới kính hiển vi, sản phẩm sinh dục của nghêu cái khi thành thực là trứng có hình tròn, kích thước đều nhau; sản phẩm sinh dục của nghêu đực là tinh trùng vận động linh hoạt.

Hàng ngày theo dõi các yếu tố môi trường của thí nghiệm. Cho ấu trùng ăn hai lần/ngày vào 7h00 và 17h00, các loại thức ăn sử dụng tương ứng với các nghiệm thức thí nghiệm. Định kỳ 2 ngày/lần, si phôn kết hợp thay 50% lượng nước trong thùng thí nghiệm. Thức ăn là vi tảo được lọc qua vợt lọc tảo (kích thước mắt lưới 5 – 6 μm) để loại bỏ xác tảo và cặn vẩn trước khi cho ăn. Tảo khô và thức ăn tổng hợp được ngâm trong nước ngọt, cà qua vợt lọc tảo để loại bỏ cặn trước khi cho ăn.

❖ Thiết kế thí nghiệm:

Sử dụng 3 nghiệm thức (NT) thức ăn khác nhau: NT1: thức ăn là vi tảo (*Chlorella* sp., *I. galbana*); NT2: thức ăn là tảo khô (*Spirulina*); NT3: thức ăn là hỗn hợp gồm vi tảo và thức ăn tổng hợp (Lansy và Frippak). Mật độ nuôi 200 con/bể.

Vi tảo được nuôi sinh khối trong các bình nhựa 20 lít và thùng nhựa 250 lít tại Trại. Tảo khô *Spirulina* và thức ăn tổng hợp Lansy, Frippak được mua từ các cửa hàng thức ăn thủy sản, được nhập khẩu từ Đài Loan (tảo khô) và Thái Lan (thức ăn tổng hợp).

NT1 cho ăn với tỷ lệ phối trộn 1:1, mật độ cho ăn 80.000 – 100.000 tb/mL. NT2 cho ăn với liều lượng 1,0 g/ngày. NT3 cho ăn xen kẽ, với tỷ lệ 1:1, mật độ vi tảo sử dụng 40.000 – 50.000 tb/mL và hàm lượng thức ăn tổng hợp 0,5 g/ngày. Các nghiệm thức được lặp lại 5 lần, thời gian thực hiện 21 ngày. Kết thúc thí nghiệm, xác định tỷ lệ sống, chỉ số độ béo, chỉ số điều kiện, tỷ lệ thành thực sinh dục và thành phần sinh hóa của thịt nghêu.

2.3.2.2 Ảnh hưởng của cường độ chiếu sáng lên tỷ lệ sống, khả năng thành thực và sinh sản (TN2)

❖ Vật liệu thí nghiệm

Nguồn gốc và tiêu chuẩn đàn nghêu sử dụng tương tự TN1.

❖ Điều kiện thí nghiệm

TN2 được bố trí có điều kiện giống TN1. Mật độ nuôi 200 con/bể và sử dụng thức ăn là các loại vi tảo (*Chlorella* sp. và *I. galbana*). Thời gian, số lần và phương pháp cho ăn tương tự như TN1.

❖ Thiết kế thí nghiệm:

Thí nghiệm đánh giá ảnh hưởng của ba cường độ chiếu sáng khác nhau trong ngày: NT1: cường độ chiếu sáng dao động 20 – 300 lux (trong trại giống), NT2: cường độ chiếu sáng dao động 500 – 3.000 lux (ngoài trại giống, dưới mái che bằng tôn nhựa

màu trắng và che thêm lưới lan màu đen) và NT3: cường độ chiếu sáng dao động 5.000 – 8.000 lux (ngoài trại giống, dưới mái tôn nhựa màu trắng).

Mỗi nghiệm thức được lặp lại 5 lần, thời gian thực hiện 21 ngày. Kết thúc thí nghiệm, xác định tỷ lệ sống, độ béo, tỷ lệ thành thực sinh dục của nghêu. Lấy ngẫu nhiên 100 con/nghiệm thức kích thích sinh sản bằng phương pháp sốc nhiệt để đánh giá hiệu quả sinh sản thông qua các chỉ tiêu: thời gian hiệu ứng, tỷ lệ đẻ, sức sinh sản thực tế, tỷ lệ thụ tinh và tỷ lệ nở.

Phương pháp cho nghêu sinh sản: Chuẩn bị bể và nguồn nước cho nghêu sinh sản tương tự như bể thí nghiệm nuôi vỗ. Nguồn nước bổ sung EDTA, liều lượng 10 ppm. Nghêu được vệ sinh sạch, xếp vào rổ nhựa hình chữ nhật (kích thước: 50 × 25 × 10 cm), phía trên phủ miếng bông thấm nước biển rồi phơi trong bóng mát 30 phút dưới trời nắng (nhiệt độ 32 - 34°C). Sau đó, chuyển nghêu vào treo trong bể để có nhiệt độ nước 28 - 29°C, mở sục khí mạnh hướng trực tiếp vào rổ nghêu để kích thích sinh sản.

2.3.2.3 Ảnh hưởng của phương pháp kích thích lên hiệu quả sinh sản (TN3)

❖ Nguồn gốc nghêu thí nghiệm

Nguồn gốc và tiêu chuẩn nghêu tương tự TN1.

❖ Điều kiện thí nghiệm

Bể nuôi vỗ chuẩn bị tương tự TN1, bể đặt dưới mái che bằng tôn nhựa màu trắng che lưới lan màu đen (kết quả TN2). Thời gian nuôi vỗ 21 ngày, mật độ 200 con/bể. Nghêu được cho ăn bằng vi tảo: *Chlorella* sp. và *I. galbana* (kết quả TN 1). Cách cho ăn, quản lý, chăm sóc bể nuôi và điều kiện bể cho sinh sản tương tự TN2.

❖ Thiết kế thí nghiệm:

Đối với các loài động vật thân mềm hai mảnh vỏ, các tác nhân kích thích sinh sản được sử dụng phổ biến gồm tác nhân vật lý (nhiệt độ, dòng chảy, ánh sáng, chiếu tia cực tím) và tác nhân hóa học (ngâm trong dung dịch NH₄OH, H₂O₂) (Zhijiang và ctv., 1991; Aguilar và ctv., 2001; Annabelle và ctv., 2010; Aji, 2011). Khi nghêu đã thành thực sinh dục, dưới tác dụng của các tác nhân kích thích như sốc nhiệt, chiếu đèn tia cực tím, ngâm trong dung dịch NH₄OH là điều kiện kích thích cho nghêu sinh sản đồng loạt. Đây là các phương pháp đơn giản nhưng mang lại hiệu quả sinh sản cao. Trong luận án, sử dụng 3 phương pháp kích thích sinh sản tương ứng với 3 NT: NT1: phương

pháp sốc nhiệt, NT2: phương pháp chiếu đèn tia cực tím và NT3: phương pháp ngâm trong dung dịch NH_4OH . Số lượng nghêu là 100 con/nghiệm thức.

NT1: nghêu được vệ sinh sạch, xếp vào rổ nhựa hình chữ nhật (kích thước dài \times rộng \times cao: $40 \times 20 \times 5$ cm), phía trên phủ miếng bông thấm nước biển rồi phơi trong bóng mát 30 phút dưới trời nắng (nhiệt độ $32 - 34^\circ\text{C}$). Sau đó, rổ nghêu được chuyển vào treo trong bể để có nhiệt độ nước $28 - 29^\circ\text{C}$, độ mặn 31 ‰, mở sục khí mạnh hướng trực tiếp vào rổ nghêu để kích thích sinh sản.

NT2: nghêu được vệ sinh sạch, xếp vào rổ nhựa hình chữ nhật (kích thước dài \times rộng \times cao: $30 \times 20 \times 5$ cm) rồi chuyển vào thùng xốp có kích thước dài \times rộng \times cao: $60 \times 40 \times 30$ cm. Phía trong cửa nắp thùng gắn 4 bóng đèn tia cực tím, công suất 15 W/bóng. Đóng kín nắp thùng xốp và bật đèn tia cực tím trong 15 phút, sau đó chuyển các rổ nhựa chứa nghêu vào treo lơ lửng trong bể để có nhiệt độ nước $28 - 29^\circ\text{C}$, độ mặn 31 ‰ và mở sục khí mạnh để kích thích nghêu sinh sản.

NT3: nghêu được vệ sinh sạch, xếp vào rổ nhựa hình chữ nhật (kích thước dài \times rộng \times cao: $30 \times 20 \times 5$ cm) rồi ngâm trong dung dịch NH_4OH nồng độ 1%. Sau 20 phút, lấy rổ nghêu ra rửa qua nước biển sạch rồi treo lơ lửng trong bể để có nhiệt độ nước $28 - 29^\circ\text{C}$, độ mặn 31 ‰ và mở sục khí mạnh để kích thích nghêu sinh sản.

Mỗi nghiệm thức được lặp lại 5 lần, các chỉ tiêu đánh giá: thời gian hiệu ứng, sức sinh sản thực tế, tỷ lệ sinh sản, tỷ lệ thụ tinh, tỷ lệ nở và kích thước ấu trùng chữ D mới nở.

2.3.3 Nghiên cứu kỹ thuật ương ấu trùng nghêu lựa giai đoạn sống trôi nổi

2.3.3.1 Ảnh hưởng của độ mặn lên sinh trưởng và tỷ lệ sống của ấu trùng nghêu lựa (TN4)

❖ Vật liệu thí nghiệm

Ấu trùng sử dụng cho thí nghiệm là ấu trùng giai đoạn chữ D một ngày tuổi được sản xuất tại Trại giống động vật thân mềm tại xã Vĩnh Lương, thành phố Nha Trang, tỉnh Khánh Hòa.

❖ Điều kiện thí nghiệm

Đơn vị thí nghiệm là xô nhựa màu xanh thể tích 18 lít được đặt trong nhà có mái che bằng tôn lạnh. Cách vệ sinh xô thí nghiệm, chuẩn bị và điều kiện nguồn nước thí nghiệm tương tự TN1. Định lượng ấu trùng vào các xô thí nghiệm, mật độ ương ban đầu 2 con/mL.

Hàng ngày theo dõi các yếu tố môi trường của thí nghiệm. Cho ấu trùng ăn hai lần/ngày vào 7h00 và 17h00, thức ăn là các loài vi tảo: *N. oculata*, *Chlorella* sp., *I. galbana*, tỷ lệ phối trộn 1:1:1, mật độ cho ăn 30.000 – 50.000 tb/mL. Trước khi cho ăn, tảo được lọc qua lưới lọc tảo để loại bỏ chất vẩn, xác tảo. Định kỳ 2 ngày/lần, si phôn kết hợp thay 50% lượng nước trong xô thí nghiệm và theo dõi hoạt động của ấu trùng như khả năng vận động, bắt mồi trong suốt quá trình thí nghiệm.

❖ Thiết kế thí nghiệm:

Thí nghiệm bố trí gồm 4 nghiệm thức tương ứng với 4 thang độ mặn là: NT1 độ mặn 23 ‰, NT2 độ mặn 27 ‰, NT3 độ mặn 31 ‰ và NT4 độ mặn 35 ‰. Sử dụng nước máy sinh hoạt để điều chỉnh độ mặn các nghiệm thức tương ứng. Nguồn nước máy được chứa trong bể composite và sục khí 24 giờ trước khi sử dụng. Độ mặn ban đầu của các thí nghiệm là 31 ‰ (tương ứng với NT3), 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 ‰ đến khi đạt được các mức độ mặn tương ứng với các nghiệm thức thí nghiệm.

Mỗi nghiệm thức được lặp lại 4 lần, thời gian thí nghiệm là 15 ngày. Định kỳ 5 ngày/lần, thu ngẫu nhiên 30 mẫu/nghiệm thức 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.

2.3.3.2 Ảnh hưởng của thức ăn lên sinh trưởng và tỷ lệ sống của ấu trùng ghêu lưa (TN5)

❖ Vật liệu thí nghiệm

Ấu trùng giai đoạn chữ D một ngày tuổi sử dụng thí nghiệm có nguồn gốc như TN4.

❖ Điều kiện thí nghiệm

Điều kiện thí nghiệm tương tự TN4, mật độ ương ban đầu 2 con/mL, độ mặn 31 ‰ (kết quả TN4). Hàng ngày theo dõi các yếu tố môi trường của thí nghiệm. Cho ấu trùng ăn hai lần/ngày vào 7h00 và 17h00. Định kỳ 2 ngày/lần, si phôn kết hợp thay 50% lượng nước trong xô thí nghiệm và theo dõi hoạt động của ấu trùng như khả năng vận động, bắt mồi trong suốt quá trình thí nghiệm.

❖ Thiết kế thí nghiệm:

Thí nghiệm thiết kế gồm 3 nghiệm thức tương ứng với 3 loại thức ăn khác nhau, NT1: thức ăn là vi tảo (*N. oculata*, *Chlorella* sp., *I. galbana*); NT2: thức ăn là tảo khô

(Spirulina); NT3: thức ăn là hỗn hợp gồm vi tảo và thức ăn tổng hợp (Lansy, Frippak). NT1 cho ăn với tỷ lệ phối trộn giữa các loại vi tảo là 1:1:1, mật độ cho ăn 30.000 – 50.000 tb/mL. NT2 cho ăn với liều lượng 1,0 g/m³/ngày. NT3 cho ăn với tỷ lệ phối trộn mỗi loại tương ứng 1:1, mật độ vi tảo sử dụng 10.000 – 15.000 tb/mL và liều lượng thức ăn tổng hợp 0,5 g/m³/ngày.

Mỗi nghiệm thức được lặp lại 4 lần, thời gian thí nghiệm là 15 ngày. Định kỳ 5 ngày/lần, thu ngẫu nhiên 30 mẫu/nghiệm thức 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, %/ngày) và tỷ lệ sống (%) của ấu trùng.

2.3.3.3 Ảnh hưởng của mật độ ương lên sinh trưởng và tỷ lệ sống của ấu trùng nghêu lựa (TN6)

❖ Vật liệu thí nghiệm

Ấu trùng giai đoạn chữ D một ngày tuổi sử dụng thí nghiệm có nguồn gốc như TN4.

❖ Điều kiện thí nghiệm

Điều kiện thí nghiệm tương tự TN4, độ mặn 31 ‰ (kết quả TN4). Hàng ngày theo dõi các yếu tố môi trường của thí nghiệm. Cho ấu trùng ăn hai lần/ngày vào 7h00 và 17h00, thức ăn là các loài vi tảo: *N. oculata*, *Chlorella* sp., *I. galbana*, tỷ lệ phối trộn 1:1:1, mật độ tảo cho ăn 30.000 – 50.000 tb/mL (kết quả TN5). Trước khi cho ăn, lọc tảo qua vợt lọc để loại bỏ chất vẩn, xác tảo. Định kỳ 2 ngày/lần, si phông kết hợp thay 50% lượng nước trong xô thí nghiệm và theo dõi hoạt động của ấu trùng như khả năng vận động, bắt mồi trong suốt quá trình thí nghiệm.

❖ Thiết kế thí nghiệm:

Thí nghiệm nghiên cứu ảnh hưởng của 4 mật độ ương khác nhau, NT1: 1 con/mL, NT2: 3 con/mL, NT3: 5 con/mL, NT4: 7 con/mL.

Mỗi nghiệm thức được lặp lại 4 lần, thời gian thí nghiệm là 15 ngày. Định kỳ 5 ngày/lần, thu ngẫu nhiên 30 mẫu/nghiệm thức 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 %/ngày) và tỷ lệ sống (%) của ấu trùng.

2.3.4 Nghiên cứu kỹ thuật ương ấu trùng nghêu lựa giai đoạn sống đáy và nghêu giống

2.3.4.1 Ảnh hưởng kết hợp của thức ăn và độ mặn lên sinh trưởng và tỷ lệ sống của ấu trùng và nghêu giống (TN7)

❖ Vật liệu thí nghiệm

Ấu trùng nghêu lựa giai đoạn hậu kỳ đỉnh vỏ sau khi ương 10 ngày từ khi nghêu sinh sản được sử dụng cho thí nghiệm. Thu ấu trùng từ bể ương tại Trại sản xuất giống động vật thân mềm tại xã Vĩnh Lương, thành phố Nha Trang, tỉnh Khánh Hòa để bố trí thí nghiệm.

❖ Điều kiện thí nghiệm

Các nghiệm thức thí nghiệm được bố trí trong các thùng xốp có kích thước dài × rộng × cao: 60 × 40 × 30 cm, đặt trong nhà có mái che bằng tôn lạnh. Nguồn nước biển được lọc qua bể lọc cơ học rồi bơm qua qua hệ thống lọc bông kích thước 0,5 μm trước khi sử dụng cho thí nghiệm. Chuẩn bị nguồn nước và vệ sinh dụng cụ thí nghiệm tương tự như TN1. Mỗi nghiệm thức được bố trí 01 vòi sục khí, chế độ sục khí nhẹ, liên tục trong thời gian thí nghiệm.

Hàng ngày theo dõi các yếu tố môi trường của thí nghiệm. Cho ấu trùng ăn hai lần/ngày vào 7h00 và 17h00. Định kỳ 2 ngày/lần, si phôn kết hợp thay 50% lượng nước trong xô thí nghiệm và theo dõi hoạt động của ấu trùng như khả năng vận động, bắt mồi trong suốt quá trình thí nghiệm.

❖ Thiết kế thí nghiệm:

Thí nghiệm thiết kế đánh giá tác động đồng thời của 3 loại thức ăn là: vi tảo, tảo khô Spirulina, hỗn hợp vi tảo và thức ăn tổng hợp (Lansy, Frippak) ở 4 mức độ mặn khác nhau: 23, 27, 31 và 35 ‰.

Vi tảo sử dụng gồm: *N. oculata*, *Chlorella* sp., *I. galbana*, cho ăn với tỷ lệ phối trộn 1:1:1, mật độ cho ăn 50.000 – 80.000 tb/mL. Tảo khô Spirulina cho ăn với liều lượng 1,0 g/m³/ngày. Hỗn hợp vi tảo và thức ăn tổng hợp cho ăn với tỷ lệ phối trộn mỗi loại tương ứng 1:1, mật độ vi tảo sử dụng 25.000 – 40.000 tb/mL và liều lượng thức ăn tổng hợp 0,5 g/m³/ngày.

Sử dụng nước máy sinh hoạt để điều chỉnh độ mặn các nghiệm thức tương ứng. Nguồn nước máy được chứa trong bể composite và sục khí 24h trước khi sử dụng. Độ mặn ban đầu của các thí nghiệm là 31‰, 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 ‰ đến khi đạt được các mức độ mặn tương ứng với các nghiệm thức thí nghiệm.

Mỗi nghiệm thức thí nghiệm được lặp lại 4 lần, thời gian thí nghiệm là 25 ngày. Định kỳ 5 ngày/lần, thu ngẫu nhiên 30 mẫu/nghiệm thức để xác định các chỉ tiêu: chiều

dài (mm), tốc độ tăng trưởng bình quân ngày về chiều dài (ADG, mm/ngày), tốc độ tăng trưởng đặc trưng về chiều dài (SGR %/ngày) và tỷ lệ sống (%) của ấu trùng.

2.3.4.2 Ảnh hưởng kết hợp của mật độ và chất đáy lên sinh trưởng và tỷ lệ sống của ấu trùng và nghêu giống (TN8)

❖ Vật liệu thí nghiệm

Ấu trùng nghêu lựa giai đoạn hậu kỳ đỉnh vỏ có nguồn gốc giống TN7.

❖ Điều kiện thí nghiệm

Thí nghiệm được chuẩn bị và bố trí tương tự TN7, độ mặn của các nghiệm thức 31,0 ‰. Hàng ngày theo dõi các yếu tố môi trường của thí nghiệm. Cho ấu trùng ăn hai lần/ngày vào 7h00 và 17h00, thức ăn là các loài vi tảo: *N. oculata*, *Chlorella* sp., *I. galbana*, tỷ lệ phối trộn 1:1:1, mật độ tảo cho ăn 50.000 – 80.000 tb/mL. Trước khi cho ăn, lọc tảo qua vợt lọc để loại bỏ chất vẩn, xác tảo. Định kỳ 2 ngày/lần, si phôn kết hợp thay 50% lượng nước trong xô thí nghiệm và theo dõi hoạt động của ấu trùng như khả năng vận động, bắt mồi trong suốt quá trình thí nghiệm.

❖ Thiết kế thí nghiệm:

Thí nghiệm thiết kế đánh giá tác động đồng thời của 4 mức mật độ ương là 2, 4, 6 và 8 con/cm² ở các loại chất đáy khác nhau là đáy cát, đáy cát bùn và không sử dụng chất đáy.

Nghiệm thức đáy cát: Cát sử dụng trong thí nghiệm là cát trắng, mịn. Cát được sàng lọc qua lưới mịn, sau đó rửa sạch bằng nước ngọt rồi đun sôi để loại bỏ mầm bệnh, sau đó để ráo nước, phơi nắng trước khi sử dụng. Trước khi bố trí ấu trùng vào thí nghiệm, rải một lớp cát mịn dày 2 – 5 mm lên đáy thùng xốp.

Nghiệm thức đáy cát bùn: Bùn nhuyễn được lấy ngoài biển, được rửa sạch bằng nước ngọt rồi đun sôi để loại bỏ mầm bệnh, trộn với cát mịn đã được chuẩn bị sẵn với tỷ lệ cát : bùn là 2:1. Rải một lớp cát bùn dày 2 – 5 mm lên đáy thùng xốp, tắt sục khí để cho bùn lắng hoàn toàn trước khi bố trí thí nghiệm.

Ở nghiệm thức không chất đáy: sử dụng đáy thùng xốp cho nghêu trực tiếp xuống đáy.

Mỗi nghiệm thức thí nghiệm được lặp lại 4 lần, thời gian thí nghiệm là 25 ngày. Định kỳ 5 ngày/lần, thu ngẫu nhiên 30 mẫu/nghiệm thức để xác định các chỉ tiêu: tốc độ tăng trưởng bình quân ngày về chiều dài (ADG, mm/ngày), tốc độ tăng trưởng đặc trưng về chiều dài (SGR %/ngày) và tỷ lệ sống (%) của ấu trùng.

2.3.4.3 Ảnh hưởng của mật độ và thời gian vận chuyển lên tỷ lệ sống và tiêu hao oxy hòa tan của nghêu giai đoạn giống (TN9)

❖ Vật liệu thí nghiệm

Nghêu lựa giống được sản xuất tại Trại, chia làm hai loại theo chiều dài trước khi thí nghiệm: nghêu giống cỡ nhỏ (chiều dài $1,2 \pm 0,27$ mm) và nghêu giống cỡ lớn (chiều dài $3,4 \pm 0,56$ mm).

❖ Điều kiện thí nghiệm

Nghêu giống được thu trực tiếp từ các bể sản xuất, lọc qua vợt để phân cỡ trước khi bố trí thí nghiệm.

Phương pháp đóng giống nghêu:

Nguồn nước biển sử dụng đóng nghêu giống được lọc qua bể lọc cơ học rồi bơm qua hệ thống lọc bông kích thước $0,5 \mu\text{m}$ trước khi sử dụng. Các yếu tố môi trường của nguồn nước đóng nghêu giống tương tự như nguồn nước trong bể ương giống. Nghêu giống được đựng trong các thau nhựa chứa nước biển đã chuẩn bị, sử dụng đá lạnh để hạ nhiệt độ nước đóng giống xuống $25 - 26^\circ\text{C}$ để hạn chế hoạt động của nghêu khi vận chuyển. Sử dụng túi nhựa PE trong suốt kích thước dài \times rộng: 40×15 cm để đóng nghêu giống (túi đóng tôm post). Hai túi PE được lồng vào nhau, bên ngoài bọc túi dứa màu trắng, kích thước dài \times rộng: 30×20 cm để chống vật sắc nhọn làm thủng túi nhựa PE trong quá trình thí nghiệm. Mỗi túi chứa 200 mL nước đóng giống đã hạ nhiệt độ, mật độ giống tương đương với các nghiệm thức thí nghiệm. Sau khi cho nghêu giống vào túi, ép đẩy hết không khí trong túi ra rồi bơm oxy nguyên chất vào và buộc chặt miệng túi bằng dây cao su. Các túi giống được đựng trong thùng xốp kích thước dài \times rộng \times cao: $60 \times 40 \times 30$ cm. Trước khi đậy nắp thùng và dán kín bằng băng keo, bỏ vào 01 chai nhựa đựng đá lạnh để giữ nhiệt độ ổn định trong khoảng $25 - 26^\circ\text{C}$ trong quá trình thí nghiệm.

❖ Thiết kế thí nghiệm:

Thí nghiệm đánh giá tác động đồng thời của hai yếu tố là 3 mức mật độ nghêu giống: 10.000, 15.000 và 20.000 con/túi trong 3 thời gian khác nhau sau khi đóng giống là 6 giờ, 12 giờ và 18 giờ. Nghiệm thức đối chứng là nghêu giống cùng kích cỡ được lưu giữ tại bể ương trong điều kiện sản xuất thông thường của trại giống. Mỗi nghiệm thức thí nghiệm được lặp lại 4 lần, thực hiện riêng cho hai cỡ nghêu giống cỡ nhỏ và

nghêu giống cỡ lớn. Các chỉ tiêu xác định: tỷ lệ sống (%) và lượng tiêu hao ôxy hòa tan (ppm/g/phút) của nghêu.

2.3.5 Thực nghiệm sản xuất giống nhân tạo và xây dựng quy trình kỹ thuật sản xuất giống nhân tạo nghêu lụa tại Khánh Hòa

Ứng dụng các kết quả tốt nhất của các thí nghiệm trên, tiến hành thực nghiệm 03 đợt sản xuất giống nhân tạo nghêu lụa tại Trại sản xuất giống động vật thân mềm tại xã Vĩnh Lương, thành phố Nha Trang, tỉnh Khánh Hòa. Kết quả của 03 đợt sản xuất giống được kiểm nghiệm, đánh giá từ đó xây dựng quy trình kỹ thuật sản xuất giống nhân tạo nghêu lụa tại Khánh Hòa.

2.3.5.1 Kỹ thuật tuyển chọn, nuôi vỗ thành thực và kích thích sinh sản

Nghêu bố mẹ được khai thác tại vùng biển Khánh Hòa. Nghêu được tuyển chọn sơ bộ trước khi đưa về trại cho đẻ. Để có được nguồn nghêu bố mẹ tốt, chỉ tuyển chọn nghêu mới được khai thác, không sử dụng nghêu đã đánh bắt lâu ngày. Nghêu sau khi tuyển chọn được đựng trong túi lưới (kích thước dài \times rộng: 50 cm \times 80 cm), mật độ 10 kg/túi và chuyển về trại sản xuất giống bằng phương pháp vận chuyển hờ (sử dụng xe ô tô). Thời gian vận chuyển 2 giờ, quãng đường vận chuyển 80 km.

Các tiêu chí để tuyển chọn nghêu bố mẹ: nghêu có màu sắc tự nhiên, không dị hình, vỏ nguyên vẹn, không có vật bám, chiều dài \geq 43,0 mm, khối lượng 15 – 25 g/con. Nghêu được kiểm tra mức độ thành thực sinh dục và nuôi vỗ áp dụng kết quả tốt nhất từ TN1 và TN2: thức ăn là các loài vi tảo (*Chlorella* sp., *I. galbana*), cường độ chiếu sáng (500 – 3.000 lux). Khi nghêu đã thành thực sinh dục, tiến hành kích thích sinh sản từ kết quả tốt nhất của TN3. Kích thích nghêu sinh sản vào chiều tối. 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. Sử dụng ống nhựa mềm hút ấu trùng qua vợt lọc cỡ 60 μ m để thu và chuyển ấu trùng vào bể ương.

2.3.5.2 Kỹ thuật ương nuôi ấu trùng giai đoạn trôi nổi

Ấu trùng nghêu giai đoạn trôi nổi được ương trong các bể xi măng, kích thước dài \times rộng \times cao: 3,5 \times 2,0 \times 1,5 m. Chăm sóc ấu trùng và quản lý bể ương từ kết quả tốt nhất của các thí nghiệm: TN4, TN5, TN6. Khi xuất hiện ấu trùng hậu kỳ đỉnh vỏ, có điểm mắt xuất hiện và thò chân, tiến hành thu và chuyển ấu trùng sang bể ương giai đoạn sống đáy.

2.3.5.3 Kỹ thuật ương nuôi ấu trùng giai đoạn sống đáy và nghêu giống

Sử dụng bể xi măng, kích thước dài × rộng × cao: 5,0 × 2,0 × 0,6 m để ương ấu trùng giai đoạn sống đáy tới nghêu giống. Chăm sóc ấu trùng và quản lý bể ương từ kết quả tốt nhất của các thí nghiệm: TN7, TN8.

Thời gian ương kéo dài 20 – 30 ngày, nghêu giống đạt cỡ ≥ 2 mm, tiến hành thu hoạch. Sử dụng túi lưới buộc vào lù xả đáy, tháo cạn nước trong bể ương giống. Thu toàn bộ con giống trên nền đáy, lọc qua vợt loại bỏ rác bẩn, tiến hành phân cỡ và xác định số lượng nghêu giống.

Bảng 2. 1: Điều kiện chăm sóc và quản lý ấu trùng và nghêu giống

Chỉ tiêu	Giai đoạn ấu trùng sống trôi nổi	Giai đoạn ấu trùng sống đáy và nghêu giống
Điều kiện môi trường	pH: 7,5 – 8,5, độ mặn: 31,0 – 32,0‰, DO: 5 – 7 mgO ₂ /L	pH: 7,5 – 8,5, độ mặn: 31,0 – 32,0‰, DO: 5 – 7 mgO ₂ /L
Mật độ	1 – 3 con/mL	1 – 2 con/cm ²
Thức ăn	Vi tảo (<i>N. oculata</i> , <i>Chlorella</i> sp., <i>I. galbana</i>)	Vi tảo, hỗn hợp vi tảo và thức ăn tổng hợp (Lansy, Frippak)
Chất đáy	Không	Không
Chế độ sục khí	Nhẹ	Mạnh
Thay nước	Không	2 ngày/lần

2.3.6 Kỹ thuật nuôi cấy tảo sinh khối làm thức ăn cho nghêu

Tảo được nuôi sinh khối làm thức ăn cho nghêu lựa theo quy trình nuôi cấy tảo của Trường Đại học Nha Trang. Sử dụng các thùng nhựa trong suốt thể tích 20 lít và thùng nhựa màu trắng thể tích 250 lít để nuôi sinh khối tảo. Khu vực nuôi cấy tảo được che bằng mái tôn nhựa màu trắng. Vào thời điểm nắng gắt, khu nuôi tảo được che thêm một lớp lưới lan màu đen. Thời điểm trời mưa, nắng yếu và buổi tối, khu nuôi tảo được chiếu sáng bằng bóng đèn nê-ông màu trắng, công suất 45W đảm bảo đủ ánh sáng cho tảo phát triển.

Chuẩn bị nguồn nước nuôi tảo: nước biển có độ mặn 30 – 32 ‰ được bơm qua bể lọc cơ học rồi bơm qua hệ thống lọc bông kích thước 0,5 μ m trước khi chứa trong các bể chứa bằng composite. Nguồn nước được diệt khuẩn bằng Chlorine, nồng độ 20 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: *N. oculata*, *I. galbana*, *Chlorella* sp., có nguồn gốc từ Phòng tảo của Viện NTTS, Trường Đại học Nha Trang.

Môi trường nuôi cấy: sử dụng môi trường dinh dưỡng f2 để nuôi cấy tảo. Hỗn hợp môi trường gồm: dung dịch đa lượng, dung dịch vi lượng, vitamin.

Phương pháp nuôi sinh khối tảo:

- Bơm nước biển đã được xử lý vào trong bình nhựa thể tích 20 lít, lượng nước chiếm 2/3 thể tích bình, hạ độ mặn phù hợp với sinh trưởng của tảo, tương ứng 28 ‰.

- Bổ sung môi trường dinh dưỡng nuôi tảo theo tỷ lệ 1 mL môi trường/1 lít nước trong bình. Mở sục khí vừa, đảo đều nước trong bình.

- Cấp tảo giống vào bình nuôi (mật độ $1 - 2 \cdot 10^6$ tb/mL), lượng tảo giống chiếm 1/3 thể tích bình còn lại.

Chăm sóc quản lý tảo nuôi cấy: khu nuôi tảo thường xuyên được theo dõi biến động các yếu tố như nhiệt độ, ánh sáng, độ mặn. Tránh sự thay đổi đột ngột của các yếu tố trên vào mùa mưa là nguyên nhân làm cho tảo tàn. Đảm bảo duy trì sục khí 24/24 giờ, định kỳ lấy mẫu xác định mật độ tế bào tảo. Các dụng cụ vớt lọc tảo, ống hút mẫu... phải sử dụng riêng cho từng loài tảo, tránh nhiễm tạp trong khi nuôi cấy.

Thu hoạch: sau 48 – 72 giờ nuôi cấy, có thể thu hoạch tảo tùy theo loài và mật độ tế bào tảo giống cấy ban đầu. Tảo được thu vào cuối pha sinh trưởng để có hiệu quả nhất. Thu toàn bộ bình tảo làm thức ăn cho ấu trùng hoặc tiếp tục nuôi cấy ra thể tích lớn hơn (trong bể nhựa màu trắng, thể tích 250 lít) tùy thuộc vào nhu cầu tảo sử dụng làm thức ăn.

2.4 Phương pháp thu mẫu và xác định các chỉ tiêu nghiên cứu

2.4.1 Phương pháp thu mẫu và các công thức tính toán

Mẫu ngẫu nhiên được xác định các chỉ tiêu hình thái: chiều dài và khối lượng. Chiều dài của nghêu (L): là khoảng cách lớn nhất từ mặt trước tới mặt sau của vỏ, được đo bằng thước kẹp Palme (độ chính xác 1,0 mm). Khối lượng của nghêu được cân bằng cân điện tử Sartorius Portable PT210 (độ chính xác 0,01g): các chỉ tiêu xác định là khối lượng toàn thân (W_{tt}), khối lượng thân mềm thấm khô (W_{tm}).

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

$$FI (\%) = \frac{W_{tm}}{W_{tt}} \times 100 \quad (2.6)$$

Với FI: Độ béo (%)

W_{tm} : Khối lượng thân mềm thấm khô (g)

W_{tt} : Khối lượng toàn thân

Phương pháp xác định chỉ số điều kiện (chỉ số thể trạng): mẫu nghêu được thu ngẫu nhiên, cân khối lượng toàn thân. Giải phẫu tách riêng phần thân mềm và vỏ. Phần thân mềm được sấy ở nhiệt độ 60°C trong 48 giờ liên tục, công thức tính:

$$CI = \frac{W_{tmsk}}{W_{tt}} \times 1000 \quad (2.7)$$

Với CI: Chỉ số điều kiện (mg/g)

W_{tmsk} : Khối lượng thân mềm sấy khô (g)

W_{tt} : Khối lượng toàn thân (g)

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

$$MR (\%) = \frac{M}{N} \times 100 \quad (2.8)$$

Với MR: Tỷ lệ thành thực (%)

M : Số lượng nghêu thành thực (con)

N : Tổng số lượng nghêu lấy mẫu (con)

Tỷ lệ sống của nghêu bố mẹ: là tỷ lệ giữa số nghêu còn sống sau thí nghiệm trên tổng số nghêu ban đầu:

$$SR (\%) = \frac{B}{A} \times 100 \quad (2.9)$$

Với SR: Tỷ lệ sống của nghêu bố mẹ (%)

A : Số lượng nghêu ban đầu (con)

B : Số lượng nghêu còn lại (con)

Thời gian hiệu ứng: là khoảng thời gian tính từ khi cho nghêu vào bể đẻ sau khi kích thích cho tới khi quan sát thấy nghêu lựa đã sinh sản trong bể đẻ. Khi nghêu 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 nghêu sinh sản: kết thúc thí nghiệm, giải phẫu toàn bộ lượng nghêu cho sinh sản, quan sát tuyến sinh dục bằng mắt thường và trên kính hiển vi để xác định tỷ lệ sinh sản. Nghêu đã tham gia sinh sản có tuyến sinh dục xếp đi, màu sắc nhợt nhạt. Nghêu đã thành thực mà chưa sinh sản khi quan sát trên kính hiển vi có tuyến sinh dục phát triển ở giai đoạn III và IV. Quan sát bằng mắt thường thấy nghêu đẻ tuyến sinh dục màu trắng sữa, nghêu cái tuyến sinh dục màu vàng nhạt.

Công thức tính:

$$SpR (\%) = \frac{S}{N} \times 100 \quad (2.10)$$

Với SpR : Tỷ lệ nghêu sinh sản (%)

S : Số lượng nghêu sinh sản (con)

N : Số lượng nghêu ban đầu (con)

Phương pháp thu mẫu xác định sức sinh sản thực tế: tiến hành cho nghêu sinh sản riêng theo từng cá thể trong các xô-can khác nhau. Sau khi nghêu sinh sản, thu và trộn sản phẩm sinh dục từ các xô-can với tỷ lệ đục : cái tương ứng là 1 : 3 vào xô nhựa để thụ tinh cho trứng. Sử dụng ống nhựa đường kính 21 mm, dài 100 cm để thu mẫu. Dùng dụng cụ đảo nước đều trong xô nhựa, tay phải cầm ống thu mẫu đưa xuống bể theo phương thẳng đứng từ tầng mặt tới sát đáy. Dùng ngón tay cái bịt kín đầu trên của ống rồi rút ống ra. Cho đầu dưới của ống vào trong cốc đốt, bỏ ngón tay cái ra khỏi đầu ống để mẫu nước chảy vào cốc đốt. Thu mẫu tại 05 điểm/nghiệm thức: 04 điểm xung quanh và 01 điểm ở giữa, sau đó trộn đều thể tích nước thu được. Lấy ngẫu nhiên 5 lần, mỗi lần 10 mL nước mẫu để xác định tổng số lượng trứng. Công thức tính:

$$RF = n \times V \quad (2.11)$$

Với RF : Sức sinh sản thực tế (trứng/cá thể cái)

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

V : Tổng thể tích của bể thí nghiệm

Phương pháp thu mẫu xác định tỷ lệ thụ tinh: sử dụng ống nhựa và phương pháp thu mẫu tương tự như trên. Lấy ngẫu nhiên 5 lần, mỗi lần 10 mL nước mẫu 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:

$$FR (\%) = \frac{F}{E} \times 100 \quad (2.12)$$

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: dụng cụ và phương pháp lấy mẫu giống phương pháp xác định số lượng trứng. Lấy ngẫu nhiên 5 lần, mỗi lần 10 mL nước mẫu để xác định tổng số lượng ấu trùng bánh xe (ấu trùng Trochophora). Tỷ lệ nở được xác định là tỷ lệ giữa số lượng ấu trùng luân cầu trên tổng số lượng trứng đã thụ tinh. Công thức tính:

$$HR (\%) = \frac{T}{F} \times 100 \quad (2.13)$$

Với HR : Tỷ lệ nở (%)
 T : Số lượng ấu trùng Trochophora
 F : Tổng số trứng đã thụ tinh

Phương pháp thu mẫu ấu trùng nghêu giai đoạn sống trôi nổi: sử dụng ống nhựa đường kính 21 mm, dài 60 cm để thu mẫu. Duy trì sục khí bình thường, tay phải cầm ống thu mẫu đưa xuống xô thí nghiệm theo phương thẳng đứng từ tầng mặt tới sát đáy. Dùng ngón tay cái bịt kín đầu trên của ống rồi rút ống ra. Cho đầu dưới của ống vào trong cốc đốt, bỏ ngón tay cái ra khỏi đầu ống để mẫu nước chảy vào cốc đốt. Mỗi lần thu mẫu, lấy ở 05 điểm/nghiêm thức: 04 điểm xung quanh và 01 điểm ở giữa, sau đó trộn đều thể tích nước thu được. Lấy ngẫu nhiên 100 mL nước cho vào cốc đốt, cố định mẫu bằng dung dịch formalin 10%. Hút toàn bộ ấu trùng lắng xuống đáy để đếm toàn bộ số lượng ấu trùng. Lấy ngẫu nhiên 30 ấu trùng để đo kích thước chiều dài bằng thước đo gắn trên trục vi thị kính của kính hiển vi. Tỷ lệ sống của ấu trùng được xác định bằng phương pháp ước lượng mật độ qua từng đợt thu mẫu.

Công thức tính tỷ lệ sống của ấu trùng nghêu giai đoạn trôi nổi:

$$SR_V(\%) = \frac{S}{D} \times 100 \quad (2.14)$$

- Với SR_V : Tỷ lệ sống của ấu trùng giai đoạn trôi nổi (%)
 S : Số lượng ấu trùng giai đoạn sống đáy (con)
 D : Số lượng ấu trùng giai đoạn chữ D (con)

Phương pháp thu mẫu ấu trùng giai đoạn sống đáy và nghêu giống: Sử dụng khung thu mẫu đáy, diện tích 100 cm^2 ($10 \times 10 \text{ cm}$) để lấy mẫu. Tắt sục khí, đưa khung thu mẫu xuống sát đáy, dùng ống dây khí hút nhẹ toàn bộ nền đáy trong diện tích khung mẫu. Lấy mẫu ở 05 điểm (04 điểm ở góc và 01 điểm ở giữa), trộn đều mẫu, lọc qua vợt loại bỏ cát, chất vẩn, thu ấu trùng và nghêu giống. Mẫu nghêu có kích thước $< 1,0 \text{ mm}$ được đo chiều dài bằng thước đo gắn trên trục vi thị kính của kính hiển vi. Mẫu có kích thước $> 1,0 \text{ mm}$, xác định chiều dài bằng thước kẻ Vogel Germany (độ chính xác $0,5 \text{ mm}$). Tỷ lệ sống của ấu trùng được xác định bằng phương pháp ước lượng mật độ qua từng đợt thu mẫu.

Công thức tính tỷ lệ sống của ấu trùng nghêu giai đoạn sống đáy và nghêu giống:

$$SR_S(\%) = \frac{J}{S} \times 100 \quad (2.15)$$

- Với SR_S : Tỷ lệ sống của ấu trùng giai đoạn sống đáy và nghêu giống (%)
 J : Số lượng nghêu giống (con)
 S : Số lượng ấu trùng giai đoạn sống đáy (con)

Công thức tính tốc độ tăng trưởng đặc trưng, tốc độ tăng trưởng bình quân ngày về chiều dài của ấu trùng và nghêu giống:

$$SGR(\%) = \frac{\ln(L_2) - \ln(L_1)}{t_2 - t_1} \quad (2.16)$$

$$ADG = \frac{L_2 - L_1}{t_2 - t_1} \quad (2.17)$$

- Với SGR : Tốc độ tăng trưởng đặc trưng (%/ngày)
 ADG : Tốc độ tăng trưởng bình quân ngày ($\mu\text{m}/\text{ngày}$, $\text{mm}/\text{ngày}$)
 L_1 : Chiều dài của mẫu lần đầu (μm , mm)
 L_2 : Chiều dài của mẫu lần sau (μm , mm)
 t_1 : Thời gian thu mẫu lần đầu (ngày)
 t_2 : Thời gian thu mẫu lần sau (ngày)

Phương pháp đo lượng tiêu hao ôxy hòa tan của nghêu: lượng tiêu hao ôxy hòa tan được xác định bằng máy đo Optical Oxygen Meter – FireStingO₂ của Đức. Cách tiến hành: Mở túi đóng nghêu giống, dùng pipet hút nghêu vào các ống đo (10 cá thể/ống). Thời gian đo kéo dài 10 phút, bao gồm 3 ống đo tương ứng với các nghiệm thức thí nghiệm và 1 ống đo nghêu đối chứng. Công thức tính:

$$OC = \frac{(B - A - C)}{t_2 - t_1} \quad (2.18)$$

Với

- OC : Lượng ôxy tiêu hao (ppm/g/phút)
- B : Lượng ôxy đo lần đầu (ppm/g/phút)
- A : Lượng ôxy đo lần sau (ppm/g/phút)
- C : Lượng ôxy đối chứng (ppm/g/phút)
- t_1 : Thời gian đầu (phút)
- t_2 : Thời gian sau (phút)

2.4.2 Phương pháp xác định các yếu tố môi trường

Yếu tố môi trường trong các nghiệm thức được xác định vào lúc 6h00 và 14h00 hàng ngày.

Nhiệt độ đo bằng nhiệt kế có độ chính xác 0,1°C.

Độ mặn đo bằng khúc xạ kế (Atago, Nhật Bản) có độ chính xác 1 ‰.

Các yếu tố: pH, N-NO₂ (mg/L), KH (mgCaCO₃/L) được đo bằng test Sera (Đức). Độ pH của nước được kiểm tra và duy trì ổn định thông qua việc sử dụng vôi bột (CaO) và khoáng Pentomin.

Hàm lượng ôxy hòa tan (DO, mgO₂/L) được đo bằng máy Hanna HI9142, độ chính xác 0,1 mgO₂/L.

Cường độ ánh sáng đo bằng máy đo Spec Scientific 850070 (AJ, Đài Loan), đơn vị đo lux.

Mật độ tế bào tảo được xác định bằng buồng đếm hồng cầu Neubauer theo phương pháp mô tả bởi Guillard (1973).

2.4.3 Phương pháp phân tích thành phần sinh hóa

Lấy ngẫu nhiên cá thể nghêu bố mẹ, xác định kích thước chiều dài và khối lượng toàn thân. Giải phẫu tách riêng phần thân mềm và vỏ, cân khối lượng thân mềm của nghêu sau khi đã thấm khô nước. Phần thân mềm còn lại của cơ thể nghêu được sấy ở

nhệt độ 60°C trong 24 giờ sau đó được nghiền mịn bằng cối sứ, mẫu nghiền xong được giữ trong điều kiện nhiệt độ -20°C cho đến khi phân tích.

Thành phần sinh hóa của nghêu: Protein, Lipid, Tro được phân tích theo phương pháp AOAC (2000). Hàm lượng Protein thô được phân tích bằng phương pháp Kjeldah. Lipid thô được xác định qua quá trình ly trích mẫu trong hệ thống Soxhlet. Hàm lượng tro xác định theo phương pháp đốt cháy mẫu và nung trong tủ nung ở nhiệt độ 560°C trong 8 giờ. Ẩm độ được xác định bằng cách sấy mẫu ở nhiệt độ 105°C trong 24 giờ.

2.5 Phương pháp phân tích số liệu

Số liệu thu thập và lưu trữ trên bảng tính của phần mềm Microsoft Excel 2013. Sử dụng phép kiểm định χ^2 để so sánh tỷ lệ giới tính, tỷ lệ các giai đoạn phát triển tuyến sinh dục của nghêu lựa trong nghiên cứu với tỷ lệ lý thuyết là 1: 1. Các giá trị trung bình của các nghiệm thức thí nghiệm được so sánh thống kê bằng phương pháp phân tích phương sai một yếu tố (One-way Anova) và hai yếu tố (Two-way Anova) tương ứng. Đánh giá sự sai khác giữa các giá trị sau phân tích phương sai (Post Hoc Test) bằng kiểm định Duncan trên phần mềm SPSS 20,0. Sự sai khác giữa các giá trị trung bình được xác định ở mức ý nghĩa $p < 0,05$.

CHƯƠNG 3: KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Đặc điểm sinh học sinh sản của nghêu lùa

3.1.1 Chỉ tiêu hình thái, khối lượng của nghêu lùa

Trong 12 tháng thu mẫu, tổng số 1.440 mẫu nghêu lùa đã được thu để phân tích đặc điểm sinh học sinh sản. Các chỉ tiêu về chiều dài, khối lượng và độ béo của nghêu được trình bày trong Bảng 3.1.

Bảng 3. 1: Chiều dài, khối lượng và độ béo của nghêu lùa theo thời gian

Thời gian	L (mm)	W _{tt} (g)	W _{tm} (g)	Độ béo (%)
1/2017	41,02 ± 1,92 ^{ab}	7,58 ± 1,23 ^b	2,45 ± 0,45 ^a	32,62 ± 5,93 ^{def}
2/2017	44,56 ± 6,54 ^c	11,22 ± 4,05 ^e	3,90 ± 1,83 ^d	34,00 ± 7,39 ^g
3/2017	47,46 ± 3,37 ^d	10,65 ± 2,33 ^{de}	4,14 ± 0,76 ^{de}	40,27 ± 10,48 ⁱ
4/2017	49,58 ± 6,45 ^e	13,05 ± 4,99 ^f	4,67 ± 1,87 ^g	36,27 ± 6,98 ^h
5/2017	51,38 ± 3,10 ^f	13,03 ± 2,50 ^f	4,54 ± 0,95 ^{fg}	26,54 ± 4,21 ^a
6/2017	43,88 ± 1,66 ^c	9,24 ± 0,99 ^c	2,79 ± 0,54 ^b	30,13 ± 4,54 ^b
7/2017	51,43 ± 3,58 ^f	13,94 ± 2,66 ^g	4,51 ± 1,66 ^{fg}	32,14 ± 4,03 ^c
8/2017	46,68 ± 2,44 ^d	11,22 ± 2,17 ^e	4,36 ± 0,88 ^{ef}	39,20 ± 5,57 ⁱ
9/2017	41,68 ± 3,27 ^b	9,16 ± 2,52 ^c	3,27 ± 1,03 ^c	36,04 ± 6,70 ^h
10/2017	46,98 ± 3,16 ^d	10,43 ± 2,14 ^d	3,15 ± 0,72 ^c	30,65 ± 6,41 ^{bc}
11/2017	46,68 ± 3,62 ^d	10,22 ± 2,49 ^d	3,10 ± 0,70 ^c	31,11 ± 6,79 ^{bcd}
12/2017	40,56 ± 2,44 ^a	7,08 ± 1,41 ^a	2,55 ± 0,79 ^a	32,95 ± 7,95 ^{ef}
TB	45,99 ± 3,75	10,52 ± 2,14	3,81 ± 0,77	33,46 ± 3,99

Số liệu trình bày: trung bình ± độ lệch chuẩn (n=120). Số liệu có chữ cái khác nhau trong cùng cột thể hiện sự sai khác có ý nghĩa (p<0,05).

Nghêu lùa có kích thước chiều dài trung bình không đồng đều giữa các tháng, thấp nhất 40,56 ± 2,44 mm ở tháng 12 và cao nhất 51,43 ± 3,58 mm ở tháng 7 (p<0,05). Kích thước mẫu nghêu lùa thu tại vùng biển Khánh Hòa tăng dần từ các tháng đầu năm và đạt giá trị lớn nhất ở vào các tháng giữa năm, trùng với mùa vụ khai thác chính, sau đó giảm dần ở các tháng cuối năm. Chiều dài trung bình của mẫu nghêu trong cả 12 tháng nghiên cứu là 45,99 ± 3,75 mm, tương ứng với kích thước nghêu thương phẩm được khai thác phổ biến hiện nay ở Bình Thuận (Hứa Thái Tuyển và ctv., 2006) và Cà Mau (Đỗ Chí Sỹ, 2009).

Khối lượng toàn thân của nghêu lùa cũng biến động theo thời gian nghiên cứu, với giá trị lớn nhất ở tháng thứ 7 ($13,94 \pm 2,66$ g) và thấp nhất ở tháng thứ 12 ($7,08 \pm 1,41$ g) ($p < 0,05$). Tương tự, khối lượng thân mềm thấm khô của nghêu cũng sai khác có ý nghĩa giữa các tháng với giá trị thấp nhất ở tháng 1 ($2,45 \pm 0,45$ g) và cao nhất ở tháng 4 ($4,67 \pm 1,87$ g). Nhìn chung, khối lượng toàn thân và khối lượng thân mềm của mẫu nghêu chia thành hai đỉnh cao trong năm, với đợt 1 kéo dài từ tháng 4 tới tháng 5 và đợt 2 kéo dài trong tháng 7 và tháng 8. Khối lượng thân mềm trung bình của nghêu trong 12 tháng nghiên cứu là $3,81 \pm 0,77$ g tương ứng khoảng 35% tổng khối lượng toàn thân ($10,52 \pm 2,14$ g).

Độ béo của nghêu biến động theo thời gian trong năm và có sự sai khác có ý nghĩa giữa các tháng. Độ béo đạt giá trị cao nhất là $40,27 \pm 10,48$ % và $39,20 \pm 5,57$ % vào tháng 3 và tháng 8, thấp nhất vào tháng 5 ($26,54 \pm 4,21$ %) ($p < 0,05$). Như vậy, biến động độ béo của nghêu chia thành hai đỉnh cao trong năm, tương ứng với mùa vụ sinh sản chung của các loài ĐVTM hai mảnh vỏ nói chung và các loại nghêu nói riêng. Theo Quayle and Newkirk (1989), trước thời điểm sinh sản, nghêu tích lũy chất dinh dưỡng để tạo noãn hoàng do đó độ béo tăng cao, sau khi sinh sản, độ béo của nghêu sẽ giảm thấp. Độ béo trung bình của nghêu trong 12 tháng nghiên cứu là $33,46 \pm 3,99$ %, cao hơn nhiều so với độ béo của nghêu trắng *M. lyrata* và ngao đầu *M. meretrix* tại Nam Định (Nguyễn Xuân Thành, 2016).

Bảng 3. 2: Khối lượng và độ béo của nghêu lùa theo nhóm kích thước

Nhóm kích thước (L, mm)	Số mẫu (con)	W_{tt} (g)	W_{tm} (g)	Độ béo (%)
37 – 42	420	$7,56 \pm 0,84^a$	$2,22 \pm 0,34^a$	$29,37 \pm 3,12^a$
43 – 48	584	$9,39 \pm 0,97^b$	$3,38 \pm 0,57^b$	$35,87 \pm 3,71^c$
49 – 54	436	$13,38 \pm 1,62^c$	$4,34 \pm 0,79^b$	$32,38 \pm 3,65^b$
Tổng/Trung bình	1.440	$10,11 \pm 4,26$	$3,31 \pm 1,05$	$32,54 \pm 4,38$

Số liệu trình bày: trung bình \pm độ lệch chuẩn. Số liệu có chữ cái khác nhau trong cùng cột thể hiện sự sai khác có ý nghĩa ($p < 0,05$).

Khối lượng của nghêu tăng tỷ lệ thuận với chiều dài vỏ và đạt giá trị lớn nhất ($13,38 \pm 1,62$ g) ở nhóm kích thước 49 – 54 mm, cao hơn có ý nghĩa so với hai nhóm kích thước còn lại ($p < 0,05$). Khối lượng thân mềm của nghêu thấp nhất ($2,22 \pm 0,34$ g) ở nhóm chiều dài 37 – 42 mm và tăng dần theo kích thước chiều dài vỏ, đạt giá trị cao nhất là

4,34 ± 0,79 g ở nhóm kích thước 49 – 54 mm; tuy nhiên không sai khác có ý nghĩa so với khối lượng thân mềm của nhóm 43 – 48 mm, tương ứng là 3,38 ± 0,57 g (p>0,05).

Mặc dù nghêu ở nhóm kích thước 49 – 54 mm có khối lượng toàn thân và khối lượng thân mềm lớn nhất, nhưng độ béo có giá trị lớn nhất (35,87 %) ghi nhận được ở nhóm kích thước 43 – 48 mm (p<0,05). Có thể đây là nhóm kích thước có tỷ lệ cá thể đã thành thực sinh dục nhiều nên độ béo cao hơn so với các nhóm kích thước khác. Ở nhóm kích thước nhỏ (37- 42 mm), nghêu có độ béo thấp 29,37%, có thể đây là nhóm chưa đạt kích thước thành thực sinh dục lần đầu nên có độ béo thấp.

Độ béo trung bình của nghêu trong cả 3 nhóm kích thước là 32,54 ± 4,38 %, tương ứng với độ béo chung của nghêu theo thời gian thu mẫu trong năm. Tuy nhiên, trong từng nhóm kích thước thì độ béo của nghêu có sự sai khác có ý nghĩa giữa các nhóm kích thước. Ở nhóm kích thước 43 – 48 mm, độ béo của nghêu có giá trị cao nhất (35,87 ± 3,71 %), tiếp đến là độ béo của nhóm kích thước 49 – 54 mm (32,38 ± 3,65 %) và thấp nhất là nhóm 37 – 42 mm, với độ béo tương ứng 29,37 ± 3,12 % (p<0,05).

3.1.2 Đặc điểm các giai đoạn phát triển tuyến sinh dục của nghêu lụa

Nghêu lụa là loài phân tính đực cái riêng biệt nhưng không thể phân biệt được giới tính của nghêu dựa vào quan sát hình dạng bên ngoài của cơ quan sinh dục khi chúng chưa thành thực. Vị trí tuyến sinh dục của nghêu nằm ở gờ nội tạng, xung quanh gốc chân về phía đỉnh vỏ. Khi thành thực, tuyến sinh dục của nghêu căng tròn và phồng to bao trùm toàn bộ khối nội tạng. Lúc này có thể phân biệt giới tính của nghêu dựa vào màu sắc của tuyến sinh dục. Ở nghêu đực tuyến sinh dục có màu trắng sữa, ở nghêu cái tuyến sinh dục có màu vàng nhạt.



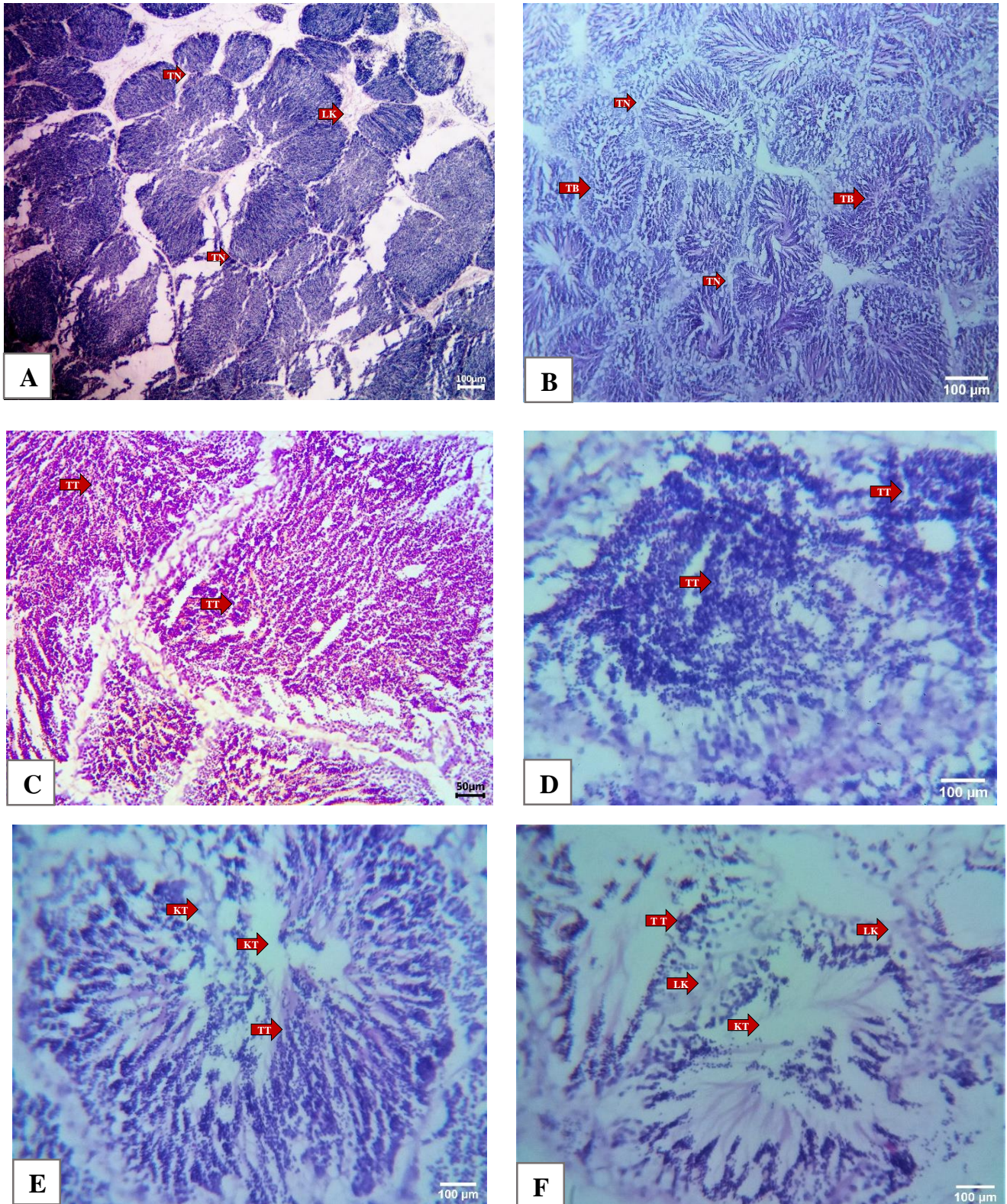
Hình 3. 1: Vị trí cơ quan sinh dục của nghêu lùa khi thành thực

Kết quả nghiên cứu cho thấy, quá trình phát triển tuyến sinh dục của nghêu lùa tại Khánh Hòa chia làm 5 giai đoạn: I: giai đoạn chưa phát triển, II: giai đoạn phát triển, III: giai đoạn thành thực sinh dục, IV: giai đoạn sinh sản, V: giai đoạn tái phát dục. Đặc điểm hình thái các giai đoạn phát triển tuyến sinh dục của nghêu lùa trình bày trong Bảng 3.3.

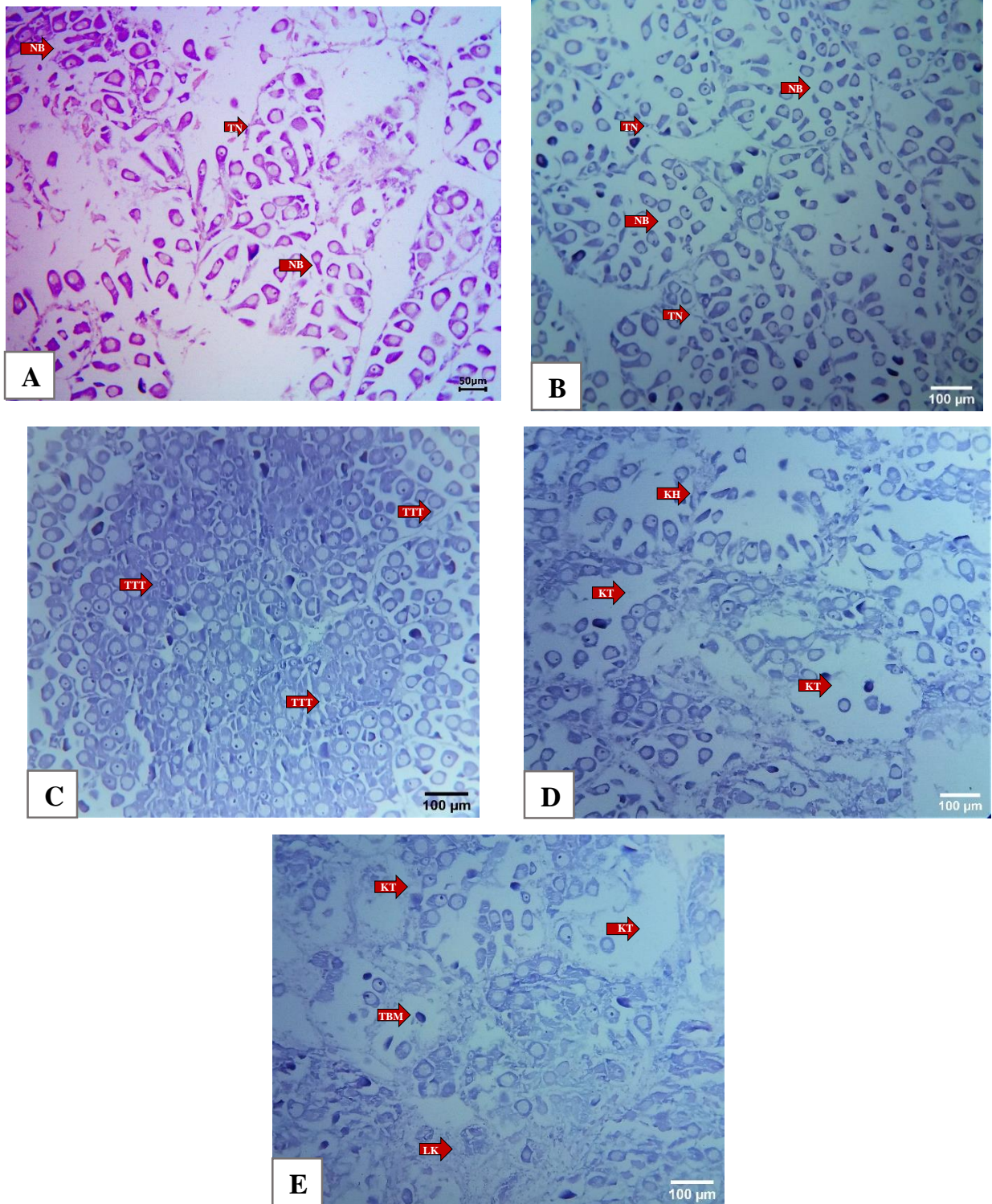
Bảng 3. 3: Đặc điểm các giai đoạn phát triển tuyến sinh dục của nghêu lùa

TT	Giai đoạn	Màu sắc	Đặc điểm
1	I: chưa phát triển	Không màu	Tuyến sinh dục của nghêu đực có túi nang kích thước nhỏ, vách túi dày, các tinh nguyên bào xuất hiện phía ngoại vi của túi nang, tinh bào xuất hiện bên trong túi nang. Trong tuyến sinh dục chưa xuất hiện tinh tử và tinh trùng (Hình 3.2A) Tuyến sinh dục của nghêu cái có các túi nang chứa tế bào mầm kích thước nhỏ, vách túi nang rất dày. Các noãn bào hình đa diện, nằm sát nhau, có cuống dính vào thành túi nang (Hình 3.3A).
2	II: phát triển	Không màu	Tuyến sinh dục đang phát triển. Ở nghêu đực, các ống sinh tinh bắt đầu phát triển, bên trong có các túi chứa tế bào sơ cấp và thứ cấp. Ở

			<p>trung tâm của các túi một vài tế bào tinh trùng bắt đầu tăng sinh (Hình 3.2B).</p> <p>Ở nghêu cái, túi noãn bắt đầu phát triển, các noãn bào bám vào và phát triển đầy nang trứng. Các noãn bào hình đa diện, không đồng đều về kích thước, có cuống gắn vào vách của túi. Mô liên kết chiếm tỷ lệ lớn trong buồng trứng (Hình 3.3B)</p>
3	III: thành thực sinh dục	<p>Nghêu đực màu trắng sữa, nghêu cái màu vàng nhạt</p>	<p>Tuyến sinh dục đã thành thực, kích thước phát triển mạnh, lan rộng ra phần nội tạng.</p> <p>Ở nghêu đực, các ống dẫn tinh phát triển kéo dài dạng hình hoa thị và bên trong chứa đầy cụm tinh tử và tinh trùng (Hình 3.2C & D)</p> <p>Ở nghêu cái màng túi nang mỏng dần, kích thước túi nang tăng dần lên cùng với sự gia tăng kích thước của noãn bào. Trong mỗi túi nang, các noãn bào rời khỏi vách, tập trung vào giữa. Túi nang căng phồng, bên trong chủ yếu là các noãn bào thành thực, hình cầu với nhân và hạt nhân nổi lên rõ rệt (Hình 3.3C)</p>
4	IV: sinh sản	<p>Nghêu đực màu trắng sữa, nghêu cái màu vàng nhạt</p>	<p>Tuyến sinh dục đạt kích thước tối đa, bao trùm toàn bộ nội tạng, nghêu bắt đầu sinh sản.</p> <p>Ở nghêu đực các ống dẫn tinh xuất hiện các dòng tinh trùng hoạt động tự do. Tinh trùng vẫn còn trong các khoang tế bào nhưng xuất hiện nhiều khoảng trống (Hình 3.2E).</p> <p>Ở nghêu cái, màng túi nang mỏng, trên vách nang trứng xuất hiện nhiều khe hở, một số bị vỡ ra. Một số nang trứng trông rỗng, một số nang chứa noãn bào thành thực (Hình 3.3D).</p>
5	V: tái phát dục	Trong mờ	<p>Tuyến sinh dục xẹp đi, co lại, phía trong hình thành các mô liên kết.</p> <p>Nghêu đực: các ống dẫn tinh trống rỗng, còn tinh trùng sót lại (Hình 3.2F).</p> <p>Nghêu cái: túi nang rỗng, còn sót lại trứng thành thực chưa được phóng ra, xuất hiện các noãn bào sơ cấp (Hình 3.3E).</p>



Hình 3. 2: Các giai đoạn phát triển tuyến sinh dục của nghêu đực
A. Giai đoạn I – Chưa phát triển: Các túi nang (TN) kích thước nhỏ, vách dày; **B. Giai đoạn II – Phát triển:** Các túi nang (TN) kích thước lớn, vách mỏng chứa tinh bào sơ cấp và thứ cấp (TB); **C & D. Giai đoạn III - Thành thực:** Các cụm tinh tử và tinh trùng (TT) tự do lấp đầy túi nang; **E. Giai đoạn IV - Sinh sản:** Ống dẫn tinh rỗng, vách ống hở, xuất hiện các khoảng trống - KT); **F. Giai đoạn V - Tái phát dục:** Ống dẫn tinh trống, mô liên kết xuất hiện (LK).



Hình 3. 3: Các giai đoạn phát triển tuyến sinh dục của nhũ cái

A. Giai đoạn I - Chưa phát triển: túi nang có kích thước nhỏ, vách dày, chứa các noãn bào hình đa diện, có cuống **B: Giai đoạn II - Phát triển:** Các noãn bào chưa thành thực (NB), kích thước không đồng đều, một số noãn bào tách khỏi vách túi nang (TN); **C. Giai đoạn III - Thành thực:** Trứng thành thực (TTT), hình cầu, nhân rõ nằm tự do trong túi nang; **D. Giai đoạn IV - Sinh sản:** Màng túi nang vỡ ra, xuất hiện khe hở (KH), túi nang rỗng, có nhiều khoảng trống (KT); **E. Giai đoạn V - Tái phát dục:** Túi nang rỗng, có nhiều khoảng trống, xuất hiện các tế bào mầm (TBM) và mô liên kết (LK).

Kết quả nghiên cứu cho thấy quá trình phát triển tuyến sinh dục của nghêu lùa tại Khánh Hòa trải qua 5 giai đoạn, tương tự như các nghiên cứu đã được thực hiện trên nghêu lùa tại Thái Lan (Jindalikit, 2000), Philippine (Nabuab và ctv., 2010) và Trung Quốc (Zhijiang, 1991). Đối với các loài khác thuộc họ nghêu *Veneridae* thì quá trình phát triển tuyến sinh dục cũng trải qua 5 giai đoạn như nghêu trắng *M. lyrata* và ngao dầu *M. meretrix* (Trương Quốc Phú, 1999; Nguyễn Xuân Thành, 2016). Tuy nhiên, kết quả nghiên cứu tại Philippine lại cho thấy quá trình phát triển tuyến sinh dục của nghêu cái loài *P. undulata* và loài *P. laterisulca* trải qua 6 giai đoạn, gồm có giai đoạn thoái hóa xuất hiện sau giai đoạn sinh sản (Nabuab và ctv., 2010; Nagabhushanam và ctv., 1977). Như vậy, các loài nghêu ở các vùng sinh thái khác nhau thì quá trình phát triển tuyến sinh dục không đồng nhất và phụ thuộc vào điều kiện môi trường (Quayle và Newkirk, 1989). Do đó, việc nghiên cứu đặc điểm sinh học sinh sản của các loài nghêu ở các vùng sinh thái khác nhau là rất cần thiết, cung cấp thông tin khoa học chính xác cho hoạt động sản xuất giống cũng như đề xuất chính sách khai thác bền vững nguồn lợi ngoài tự nhiên.

3.1.3 Tỷ lệ giới tính của nghêu lùa

Tỷ lệ giới tính của nghêu lùa tại Khánh Hòa được trình bày ở Bảng 3.4.

Bảng 3. 4: Tỷ lệ giới tính của nghêu lùa theo thời gian

Thời gian	Tổng số mẫu	Số cá thể đực	Số cá thể cái	Số cá thể chưa xác định	Tỷ lệ đực : cái	Gía trị P kiểm định χ^2
1/2017	120	45	54	21	1,00 : 1,20	0,366
2/2017	120	54	50	16	1,08 : 1,00	0,695
3/2017	120	57	50	13	1,14 : 1,00	0,499
4/2017	120	41	62	17	1,00 : 1,51	0,039
5/2017	120	43	64	13	1,00 : 1,49	0,042
6/2017	120	51	58	11	1,00 : 1,14	0,503
7/2017	120	66	43	11	1,53 : 1,00	0,028
8/2017	120	60	50	10	1,20 : 1,00	0,34
9/2017	120	43	66	11	1,00 : 1,53	0,028
10/2017	120	42	62	16	1,00 : 1,48	0,05
11/2017	120	53	55	12	1,00 : 1,04	0,85
12/2017	120	57	54	9	1,06 : 1,00	0,776
Tổng	1.440	612	668	160	1,00 : 1,09	0,118

Kết quả kiểm định χ^2 cho thấy có sự sai khác về kết quả tỷ lệ đực cái quan sát so với tỷ lệ đực cái lý thuyết chung. Ở tháng 4, tháng 5 và tháng 9, tỷ lệ nghêu cái cao hơn nghêu đực với sự sai khác có ý nghĩa so với tỷ lệ phân phối chung lý thuyết (1:1), lần lượt là 1,51 : 1, 1,49 : 1 và 1 : 1,53 ($p < 0,05$). Ngược lại, ở tháng 7, kết quả quan sát cho tỷ lệ nghêu đực cao hơn nghêu cái so với tỷ lệ lý thuyết chung, tương ứng 1,53 : 1 ($p < 0,05$). Ở các tháng còn lại, tỷ lệ giới tính của nghêu quan sát đều phù hợp với tỷ lệ lý thuyết là 1:1 ($p > 0,05$). Tỷ lệ cá thể nghêu chưa xác định được giới tính có trong tất cả các tháng thu mẫu, dao động từ 8,1 ở tháng 12 tới 21,2% ở tháng 1. Các cá thể chưa xác định được giới tính đều là những cá thể kích thước nhỏ, tuyến sinh dục chưa phát triển nên khó phân biệt giới tính.

Trong toàn bộ mẫu nghiên cứu, tỷ lệ giới tính chung của nghêu tương đối đồng đều, là 1,00 : 1,09 và phù hợp với tỷ lệ lý thuyết ($p > 0,05$). Kết quả này tương ứng với tỷ lệ đực cái của nghêu lựa *P. undulata* tại Philippine là 1,00 : 1,02 (Nabuab và ctv., 2010), nghêu *P. laterisulca* tại Ấn Độ là 1 : 1,14 (Nagabhushanam và ctv., 1977). Như vậy, tỷ lệ giới tính của nghêu lựa tại Khánh Hòa có tỷ lệ cá thể cái chiếm ưu thế trong quần đàn phân thành hai thời điểm rõ rệt: từ tháng 4 tới tháng 5 và tháng 9. Kết quả này phù hợp với đặc điểm sinh sản chung của ĐVTM hai mảnh vỏ cũng như các loài thuộc giống nghêu *Paphia*, vào mùa sinh sản thì tỷ lệ cá thể cái thường chiếm ưu thế so với tỷ lệ cá thể đực (Nagabhushanam và ctv., 1977; Quayle và Newkirk, 1989).

Bảng 3. 5: Tỷ lệ giới tính của nghêu lựa theo nhóm kích thước

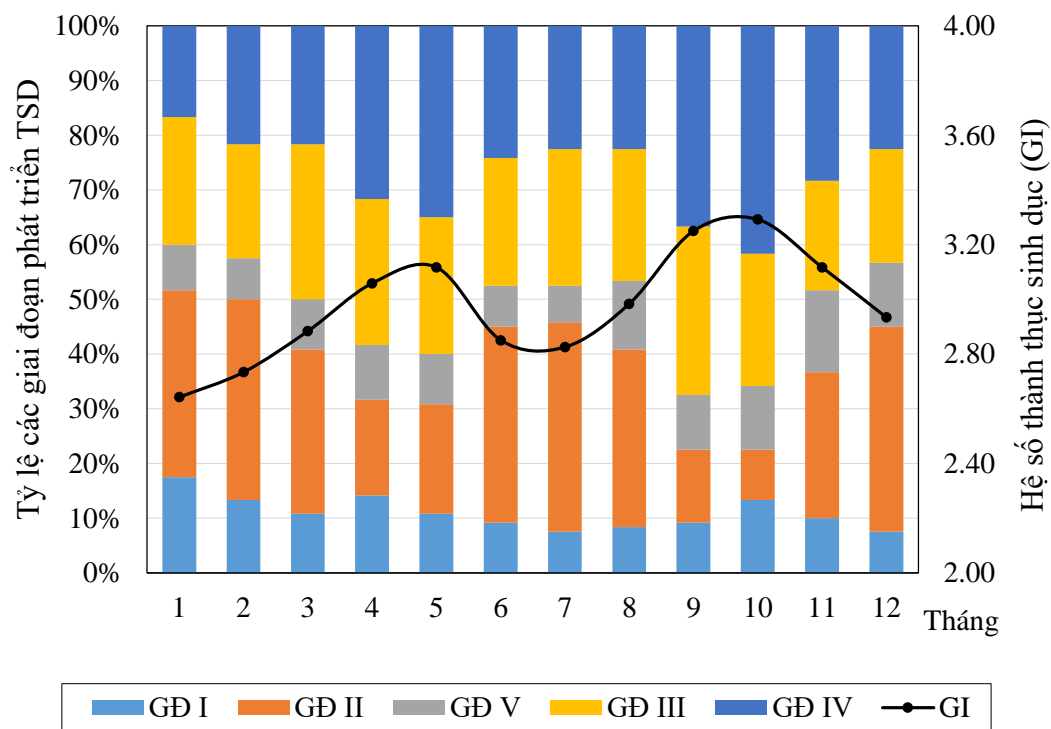
Nhóm kích thước (L, mm)	Số mẫu (con)	Số cá thể đực (con)	Số cá thể cái (con)	Số cá thể chưa xác định (con)	Tỷ lệ đực : cái	Gía trị P kiểm định χ^2
37 – 42	450	154	221	75	1,00 : 1,44	0,01
43 – 48	554	252	257	45	1,00 : 1,02	0,825
49 – 54	436	206	190	40	1,08 : 1,00	0,421
Tổng	1.440	612	668	160	1,00 : 1,09	0,118

Bảng 3.5 cho thấy tỷ lệ giới tính của nghêu có sự thay đổi theo nhóm kích thước. Ở nhóm kích thước nhỏ (37 – 42 mm), kết quả kiểm định χ^2 ghi nhận tỷ lệ nghêu cái chiếm ưu thế so với nghêu đực, tương ứng 1,44 : 1,00 và sai khác có ý nghĩa so với tỷ lệ lý thuyết chung ($p < 0,01$). Ở các nhóm kích thước lớn hơn, tỷ lệ giới tính của nghêu

trong nghiên cứu không có sự sai khác so với tỷ lệ lý thuyết chung ($p > 0,05$). Số cá thể chưa xác định giới tính chiếm tỷ lệ cao ở nhóm kích thước nhỏ (75/160 con, tương ứng 46,9%). Theo Nguyễn Xuân Thành (2016) tại vùng biển Nam Định, cơ cấu giới tính của nghêu trắng *M. lyrata* và ngao dầu *M. meretrix* ở các nhóm kích thước lớn là tương đương 1 : 1. Ở nhóm kích thước < 30 mm, tỷ lệ cá thể nghêu trắng *M. lyrata* chưa xác định giới tính là 41%, còn ở ngao dầu *M. meretrix* thì tỷ lệ cá thể chưa xác định giới tính ở nhóm kích thước < 40 mm tương ứng là 35%.

3.1.4 Mùa vụ sinh sản và hệ số thành thực sinh dục

Kết quả xác định mùa vụ sinh sản của nghêu lựa phân bố tại Khánh Hòa cho thấy, trong tất cả các tháng đều xuất hiện các cá thể nghêu đã thành thực sinh dục và sinh sản (tuyến sinh dục phát triển ở giai đoạn III và IV) mặc dù tỷ lệ có sự khác nhau. Kết quả này là hoàn toàn phù hợp với đặc điểm sinh sản của các loài động vật thân mềm hai mảnh vỏ nói chung và các loài thuộc họ nghêu *Veneridae* nói riêng (Hình 3.4) (Trương Quốc Phú, 1999; Đỗ Chí Sỹ, 2009; Nguyễn Xuân Thành, 2016).

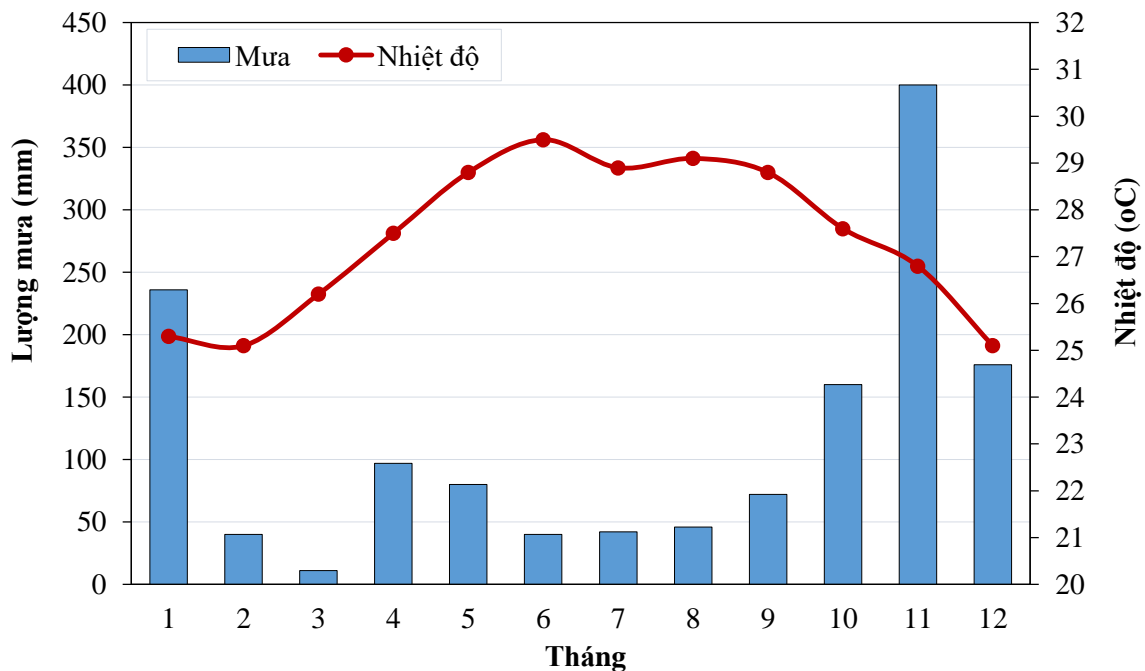


Hình 3. 4: Các giai đoạn phát triển tuyến sinh dục và hệ số thành thực của nghêu lựa tại Khánh Hòa

Kết quả kiểm định χ^2 cho thấy sự sai khác có ý nghĩa về tỷ lệ thành thực sinh dục của mẫu quan sát so với tỷ lệ lý thuyết ($p < 0,05$). Tỷ lệ nghêu thành thực sinh dục và sinh

sản (tuyển sinh dục ở giai đoạn III và IV) tăng dần từ 40% ở tháng 1 tới đỉnh cao thứ nhất tương ứng với tỷ lệ 58,3% - 60% ở tháng 4 và 5. Sau đó tỷ lệ này giảm dần ở các tháng mùa hè trước khi đạt đỉnh cao thứ 2 vào tháng 9 và tháng 10 với tỷ lệ thành thực là 67,5% và 65,8% tương ứng. Tương tự, hệ số thành thực sinh dục của nghêu lựa biến động theo thời gian trong năm và tỷ lệ thuận với tỷ lệ thành thực sinh dục. Hệ số thành thực tăng dần từ tháng 1 (2,64) lên tới 3,12 trong tháng 5 sau đó giảm dần ở các tháng 6 tới tháng 8 trước khi tăng lên ở tháng 9 (3,25) và đạt giá trị lớn nhất ở tháng 10 là 3,29.

Kết quả theo dõi biến động của nhiệt độ và lượng mưa trung bình hàng tháng tại Khánh Hòa có liên quan tới mức độ thành thực sinh dục và sinh sản của nghêu lựa (Hình 3.5). Nhiệt độ thấp ở các tháng đầu năm, sau đó tăng dần và đạt ngưỡng 27,5 – 28,8°C ở tháng 4 và tháng 5; cùng với đó là lượng mưa tăng cao (80 – 97 mm) dẫn tới sự gia tăng của tỷ lệ và hệ số thành thực của nghêu.



Hình 3. 5: Biến động nhiệt độ và lượng mưa của Khánh Hòa trong thời gian nghiên cứu (nguồn: Đài khí tượng thủy văn Nam Trung Bộ, 2017)

Theo Quayle và Newkirt (1989), khi nghêu đã thành thực sinh dục, biến động của các yếu tố môi trường chính là yếu tố kích thích cho nghêu sinh sản đồng loạt tương ứng với đỉnh cao sinh sản lần thứ nhất của nghêu lựa diễn ra vào tháng 5. Tháng 6 nhiệt độ trung bình đạt ngưỡng cao nhất trong năm (29,5 °C), sau đó giảm nhẹ ở các tháng 7, 8 cùng với lượng mưa thấp (40 - 46 mm) tương ứng với giai đoạn giảm tỷ lệ thành thực

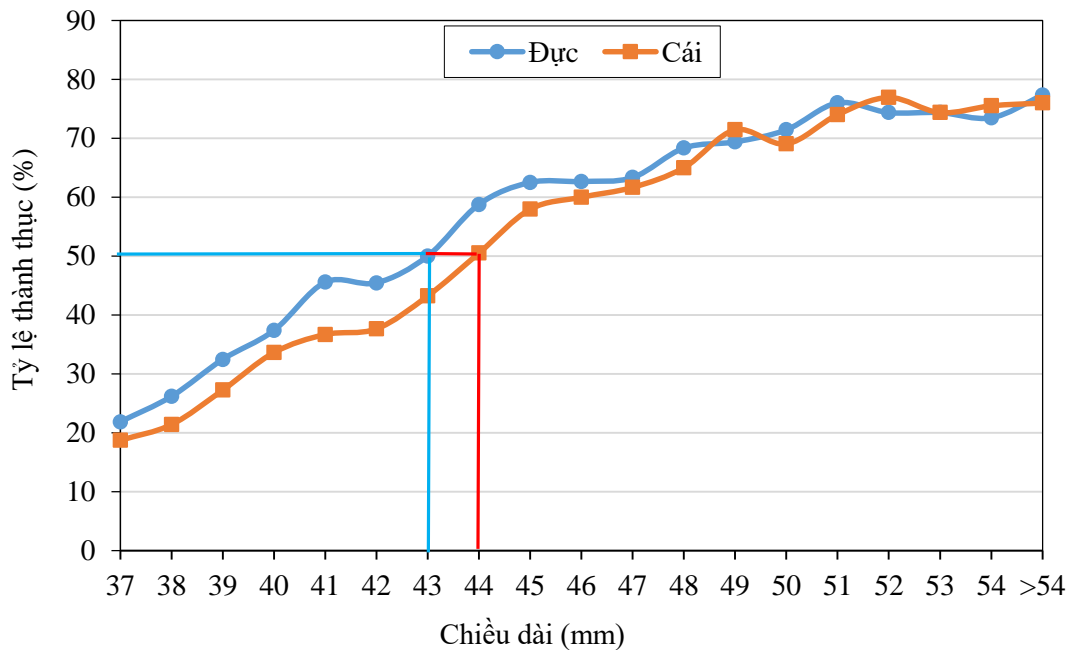
của nghêu, do phần lớn chúng đã sinh sản và đang ở giai đoạn phục hồi. Từ tháng 9 trở đi, ghi nhận sự giảm của nhiệt độ và tăng mạnh của lượng mưa trùng với thời điểm tuyển sinh dục phát triển và thành thực, kết quả tạo ra đỉnh cao sinh sản lần thứ 2 của nghêu trong năm vào tháng 9 và tháng 10. Như vậy, biến động về tỷ lệ thành thực sinh dục và sinh sản của nghêu lựa chia làm hai giai đoạn trong năm tương ứng với 2 mùa vụ sinh sản chính, vụ 1 xuất hiện từ tháng 4 tới tháng 5 tương ứng với sự gia tăng nhiệt độ ở các tháng mùa khô và vụ 2 từ tháng 9 tới tháng 10 tương ứng với sự giảm nhiệt độ ở các tháng mùa mưa. Trong đó, mùa vụ sinh sản chính tập trung vào thời điểm cuối năm với tỷ lệ cao của cá thể thành thực sinh dục trong quần đàn tự nhiên.

Kết quả nghiên cứu trên cho thấy nghêu lựa phân bố tại Khánh Hòa sinh sản rải rác quanh năm nhưng tập trung vào 2 mùa vụ chính là hoàn toàn phù hợp với đặc điểm chung của các loài nghêu như nghêu trắng *M. lyrata* và ngao dầu *M. meretrix* (Trương Quốc Phú, 1999; Nguyễn Xuân Thành, 2016). Nghiên cứu của Tuaycharoen (1984) cũng kết luận nghêu lựa phân bố tại tỉnh Trat (Thái Lan) có 2 mùa vụ sinh sản chính trong năm là tháng 4 tới tháng 5 và tháng 8 tới tháng 11. Trong khi đó, tại Trung Quốc, nghêu lựa có hai đỉnh sinh sản trong năm là tháng 5 và tháng 10 (Zhijiang và ctv., 1991). Tuy nhiên, theo Jindalikit (2000) thì nghêu lựa phân bố ở vịnh Mahachai (Thái Lan) chỉ có một mùa sinh sản chính trong năm là từ tháng 8 tới tháng 10. Ở Philippines, nghêu lựa cũng sinh sản trong một mùa chính từ tháng 8 tới tháng 11 (Nabuab và ctv., 2010). Như vậy, các loài nghêu phân bố ở các vùng sinh thái khác nhau thì có mùa vụ sinh sản không đồng nhất, hoạt động này liên quan tới sự biến động của các yếu tố môi trường trong khu vực chúng phân bố, trong đó nhiệt độ là yếu tố ảnh hưởng trực tiếp tới khả năng thành thực sinh dục và hoạt động sinh sản của chúng (Quayle và Newkirk, 1989).

3.1.5 Kích thước thành thực sinh dục lần đầu của nghêu lựa

Kích thước thành thực sinh dục lần đầu của nghêu lựa được xác định dựa vào tỷ lệ mà tại đó có 50% tổng số cá thể có tuyển sinh dục phát triển ở giai đoạn III (thành thực) và giai đoạn IV (sinh sản) trong mùa sinh sản và được trình bày trong Hình 3.6. Kết quả nghiên cứu cho thấy, kích thước thành thực sinh dục lần đầu theo chiều dài ở nghêu đực là 43 mm và ở nghêu cái là 44 mm. Ở nghêu lựa, bắt gặp những cá thể thành thực ở kích thước nhỏ nhất là 37 mm với tỷ lệ thành thực khoảng 20%. Sau khi đạt kích thước thành thực lần đầu thì tỷ lệ thành thực của nghêu tăng nhanh tới nhóm

kích thước 48 – 49 mm và sau đó, tỷ lệ thành thực sinh dục chậm lại và gần như không thay đổi đối với nhóm kích thước từ 51 mm trở lên.



Hình 3. 6: Kích thước thành thực sinh dục lần đầu của nghêu lụa tại Khánh Hòa

Kích thước thành thực sinh dục lần đầu theo chiều dài của nghêu lụa phân bố tại Khánh Hòa trong nghiên cứu này tương đương với nghêu lụa phân bố ở Philippines là 42,8 mm đối với con đực và 44,8 mm đối với con cái (Nabuab và ctv., 2010). Trong khi đó, tại Thái Lan nghêu lụa có kích thước thành thực lần đầu nhỏ hơn, lần lượt là 40,1 mm đối với con đực và 42,5 mm đối với con cái (Jindalikit, 2000). Đối với nghêu trắng *M. lyrata* và ngao dầu *M. meretrix* phân bố tại Nam Định có kích thước thành thực sinh dục lần đầu lần lượt là 30 mm và 40 mm (Nguyễn Xuân Thành, 2016). Như vậy, đối với các loài trong cùng họ *Veneridae* nói chung và nghêu lụa nói riêng nhưng phân bố ở mỗi vùng sinh thái khác nhau thì có kích thước thành thực sinh dục không đồng đều. Điều này tuân theo quy luật phát triển chung của sinh vật trong tự nhiên, chịu tác động của các yếu tố môi trường như nhiệt độ, độ mặn, thức ăn... (Quayle và Newkirk, 1989). Việc xác định được kích thước thành thực sinh dục lần đầu có ý nghĩa quan trọng trong việc quy định kích thước khai thác nghêu thương phẩm và lựa chọn được đàn nghêu bố mẹ tốt nhất phục vụ cho sinh sản, đối với nghêu lụa không khai thác những cá thể < 43 mm, đàn nghêu sinh sản nhân tạo phải > 44 mm.

3.1.6 Sức sinh sản

Sức sinh sản tuyệt đối và tương đối của nghêu lựa ở các nhóm kích thước chiều dài khác nhau được trình bày trong Bảng 3.6.

Bảng 3. 6: Sức sinh sản tuyệt đối và tương đối của nghêu lựa theo nhóm kích thước

Chỉ tiêu	Nhóm kích thước chiều dài (mm)			Trung bình
	37 – 42	43 – 48	49 - 54	
F_a (trứng/cá thể)	852.400 ± 108.223 ^a	1.178.000 ± 217.848 ^b	1.382.000 ± 184.136 ^c	1.137.467 ± 280.054
F_{rg1} (trứng/g W_{tt})	113.609 ± 16.292 ^b	125.252 ± 17.269 ^c	103.723 ± 10.851 ^a	114.195 ± 17.330
F_{rg2} (trứng/g W_{tm})	391.902 ± 76.569 ^b	349.549 ± 34.652 ^a	322.756 ± 37.201 ^a	354.736 ± 59.766

Số liệu trình bày: trung bình ± độ lệch chuẩn (n=30). Số liệu có chữ cái khác nhau trong cùng hàng thể hiện sự sai khác có ý nghĩa ($p < 0,05$).

Sức sinh sản tuyệt đối của nghêu lựa tỷ lệ thuận với kích thước chiều dài và sai khác có ý nghĩa giữa các nhóm, trung bình là 852.400 ± 108.223 trứng/cá thể ở nhóm kích thước 37 – 42 mm và tăng lên $1.178.000 \pm 217.848$ trứng/cá thể và $1.382.000 \pm 184.136$ trứng/cá thể ở 2 nhóm kích thước lớn hơn ($p < 0,05$) (Bảng 3.6). Sức sinh sản tương đối 1 của nghêu lựa đạt giá trị lớn nhất ở nhóm kích thước 43 – 48 mm (125.252 ± 17.269 trứng/g khối lượng toàn thân) và thấp nhất ở nhóm kích thước 49 – 54 mm (103.723 ± 10.851 trứng/g khối lượng toàn thân). Sức sinh sản tương đối 2 của nghêu ở nhóm kích thước 37 – 42 mm (391.902 ± 76.569 trứng/g khối lượng thân mềm) lớn nhất, cao hơn có ý nghĩa so với hai nhóm kích thước còn lại. Sức sinh sản tuyệt đối của nghêu ở nhóm kích thước 43 – 48 mm (349.549 ± 34.652 trứng/g khối lượng toàn thân) cao hơn so với nhóm kích thước 49 – 54 mm (322.756 ± 37.201 trứng/g khối lượng thân mềm), nhưng không có sự sai khác có ý nghĩa ($p > 0,05$).

Ở nhóm kích thước 37 – 42 mm thì tỷ lệ nghêu thành thực thấp do chưa đạt tới kích thước thành thực lần đầu (44 mm) do đó sức sinh sản tuyệt đối thấp, ở 2 nhóm kích thước còn lại, nghêu đã vượt qua kích thước thành thực sinh dục lần đầu lên tỷ lệ cá thể thành thực cao và đồng đều dẫn tới sức sinh sản tuyệt đối lớn. Ở nhóm kích thước 49 – 54 mm, mặc dù có sức sinh sản tuyệt đối là lớn nhất nhưng do khối lượng toàn thân và khối lượng thân mềm lớn nên sức sinh sản tương đối tính trên g khối lượng toàn thân và khối lượng thân mềm lại thấp nhất.

Sức sinh sản tuyệt đối trung bình của nghêu lưa ở cả 3 nhóm kích thước là $1.137.467 \pm 280.054$ trứng/cá thể, sức sinh sản tương đối lần lượt là 114.195 ± 17.330 trứng/g khối lượng toàn thân và 354.736 ± 59.766 trứng/g khối lượng thân mềm. Mặc dù chưa có bất cứ nghiên cứu nào công bố về sức sinh sản tuyệt đối và tương đối của nghêu lưa, tuy nhiên, khi đối chiếu với sức sinh sản của một số loài khác thuộc họ *Veneridae* thì sức sinh sản của nghêu lưa thấp hơn nhiều. Kết quả nghiên cứu về sức sinh sản tuyệt đối trung bình của nghêu trắng *M. lyrata* đạt $6.453.910$ trứng/cá thể (Nguyễn Đình Hùng và ctv., 2003). Sức sinh sản tuyệt đối phụ thuộc vào khối lượng cơ thể, khối lượng cá thể càng lớn sức sinh sản tuyệt đối càng tăng. Ở nghêu trắng *M. lyrata* phân bố ở vùng biển Nam Định có sức sinh sản tuyệt đối trung bình $2.938.750 \pm 347.236$ trứng/cá thể, sức sinh sản tương đối lần lượt là 118.262 ± 8.936 trứng/g khối lượng toàn thân và 682.013 ± 47.289 trứng/g khối lượng thân mềm. Đối với ngao dầu *M. meretrix* sức sinh sản tuyệt đối và tương đối thấp hơn, lần lượt là $1.181.151 \pm 213.085$ trứng/cá thể, 22.417 ± 2.143 trứng/g khối lượng toàn thân và 112.620 ± 10.708 trứng/g khối lượng thân mềm (Nguyễn Xuân Thành, 2016).

Như vậy, sức sinh sản tuyệt đối của nghêu lưa cũng nằm trong giới hạn chung của các loài thuộc họ nghêu *Veneridae*, cao hơn so với ngao dầu nhưng thấp hơn so với nghêu trắng. Sức sinh sản của các loài động vật thân mềm hai mảnh vỏ không những phụ thuộc vào loài mà còn phụ thuộc vào các điều kiện môi trường tác động lên mức độ thành thực sinh dục của chúng (Gosling, 2003). Nguyễn Xuân Thành (2016) cũng cho rằng đối với nghêu trắng *M. lyrata* khi di nhập và nuôi ở miền Bắc có sức sinh sản thấp hơn so với khi nuôi ở vùng Đồng bằng Sông Cửu Long, nơi phân bố tự nhiên của chúng.

Sức sinh sản thực tế của nghêu lưa được xác định dựa trên số lượng trứng trung bình thu được sau khi nghêu sinh sản. Sức sinh sản thực tế của nghêu lưa không những phụ thuộc vào mức độ thành thực của cá thể mà còn phụ thuộc vào các điều kiện trong quá trình kích thích sinh sản và trình bày trong Bảng 3.7.

Bảng 3. 7: Sức sinh sản thực tế của nghêu lùa theo nhóm kích thước

Nhóm kích thước (L, mm)	W _{tt} (g)	W _{tm} (g)	Độ béo (%)	SSS thực tế (trứng/nghêu cái/lần đẻ)
37 – 42	7,39 ± 0,59 ^a	2,04 ± 0,54 ^a	27,30 ± 5,26 ^a	230.000 ± 90.111 ^a
43 – 48	9,75 ± 1,26 ^b	3,68 ± 0,66 ^b	37,59 ± 2,36 ^b	420.167 ± 153.728 ^b
49 – 54	13,49 ± 1,69 ^c	4,20 ± 0,59 ^b	31,16 ± 2,58 ^a	411.500 ± 182.675 ^b
Trung bình	10,21 ± 2,85	3,31 ± 1,10	32,02 ± 5,59	353.889 ± 165.205

Số liệu trình bày: trung bình ± độ lệch chuẩn (n=6). Số liệu có chữ cái khác nhau trong cùng cột thể hiện sự sai khác có ý nghĩa ($p < 0,05$).

Khối lượng toàn thân và khối lượng thân mềm của nghêu tỷ lệ thuận với nhóm kích thước, cao nhất là $13,49 \pm 1,69$ g và $4,20 \pm 0,59$ g ở nhóm kích thước 49 – 54 mm và thấp nhất là $7,39 \pm 0,59$ g và $2,04 \pm 0,54$ g ở nhóm kích thước 37 – 42 mm ($p < 0,05$). Tuy nhiên, không có sự sai khác có ý nghĩa giữa khối lượng thân mềm của nghêu ở nhóm 43 – 48 mm ($3,68 \pm 0,66$ g) so với nhóm 49 – 54 mm ($4,20 \pm 0,59$ g) ($p > 0,05$).

Độ béo của nghêu ở nhóm kích thước 43 – 48 mm đạt giá trị cao nhất là $37,59 \pm 2,36\%$, cao hơn có ý nghĩa so với hai nhóm kích thước còn lại. Không có khác biệt có ý nghĩa giữa độ béo của nhóm kích thước 49 – 54 mm ($31,16 \pm 2,58\%$) so với nhóm kích thước 37 – 42 mm ($27,30 \pm 5,26\%$) ($p > 0,05$).

Sức sinh sản thực tế của nghêu lùa có sự sai khác có ý nghĩa giữa các nhóm kích thước, với giá trị cao nhất ở nhóm kích thước 43 – 48 mm (420.167 ± 153.728 trứng/lần đẻ) và 49 – 54 mm (411.500 ± 182.675 trứng/lần đẻ) và thấp nhất ở nhóm kích thước 37 – 42 mm (230.000 ± 90.111 trứng/lần đẻ) ($p < 0,05$). Như vậy, sức sinh sản thực tế của nghêu ở nhóm kích thước 37 – 42 mm chỉ bằng khoảng 50% so với nghêu có kích thước từ 43 mm trở lên. Do kích thước thành thực sinh dục lần đầu của nghêu cái là 44 mm nên nghêu ở nhóm 37 – 42 mm có tỷ lệ thành thực sinh dục thấp, dẫn tới sức sinh sản thực tế chỉ bằng một nửa so với nghêu ở trong hai nhóm còn lại. Sức sinh sản thực tế trung bình của nghêu lùa ở cả 3 nhóm kích thước là 353.889 ± 165.205 trứng/lần đẻ, tương ứng khoảng 30% so với sức sinh sản tuyệt đối. Đối với nghêu lùa là loài có chu kỳ sinh sản nhiều lần trong năm, do đó sức sinh sản thực tế phụ thuộc nhiều vào mức độ thành thực sinh dục và mùa vụ sinh sản. Trong mùa vụ sinh sản chỉ những cá thể nghêu có kích thước lớn hơn kích thước thành thực sinh dục lần đầu thì mới có sức sinh sản thực tế đạt từ 400.000 trứng trở lên. So sánh với kết quả nghiên cứu ở

Philippines thì sức sinh sản thực tế của nghêu lụa cao hơn nhiều, đạt tới 1.500.000 trứng trong một lần sinh sản (Shamsuddin và ctv., 1987).

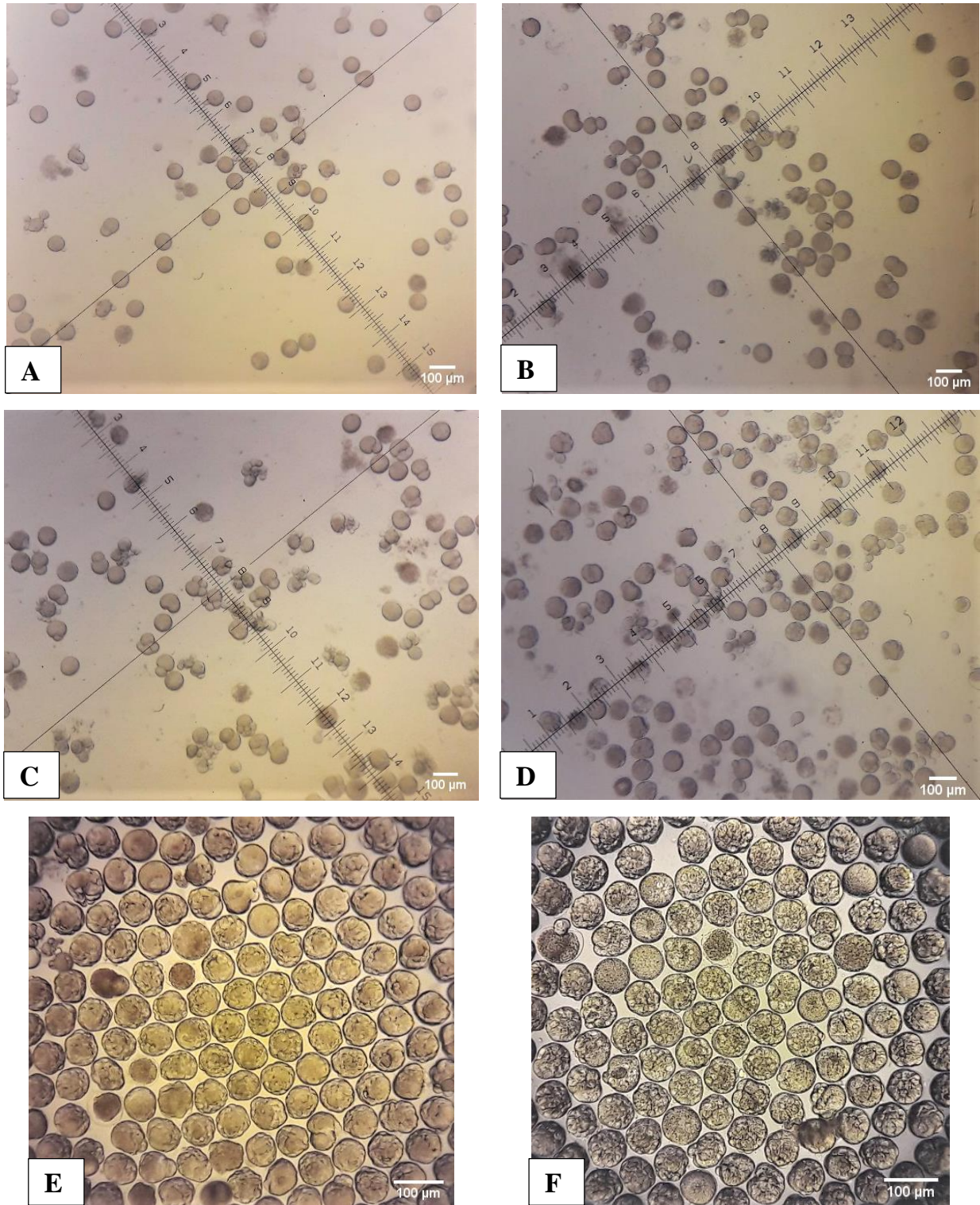
Từ kết quả nghiên cứu trên, trong sản xuất giống để nâng cao hiệu quả, cần chọn nghêu lụa bố mẹ ở nhóm kích thước 43 – 48 mm. Trong khai thác, để bảo vệ nguồn lợi và nâng cao chất lượng nghêu thương phẩm, chỉ khai thác nghêu lụa có kích thước lớn hơn kích thước thành thực lần đầu (43 mm).

3.1.7 Các giai đoạn phát triển phôi và ấu trùng nghêu lụa

3.1.7.1 Hoạt động sinh sản và quá trình phát triển phôi

Kết quả nghiên cứu cho thấy, nghêu lụa là loài sinh sản bằng phương thức sinh trứng (noãn sinh), hoạt động sinh sản của nghêu đực và nghêu cái diễn ra thông qua việc phun sản phẩm sinh dục qua hai ống hút thoát nước. Khi đã thành thực sinh dục và dưới tác dụng của các tác nhân kích thích như sự thay đổi của điều kiện môi trường: nhiệt độ, độ mặn, dòng chảy hoặc hóa chất... nghêu sẽ phản ứng thông qua hoạt động thò hai ống hút thoát nước ra ngoài và phóng tinh trùng và trứng ra ngoài môi trường.

Hoạt động sinh sản của nghêu diễn ra không liên tục và kéo dài trong vòng vài giờ, trong đó nghêu đực phóng tinh dịch trước, sau đó hoạt động sinh sản của nghêu cái sẽ diễn ra. Tinh dịch nghêu có màu trắng sữa và đặc quánh, sau vài phút mới tan trong nước; trứng nghêu màu vàng nhạt và hòa lẫn trong nước sau khi được phóng ra từ nghêu cái. Điều kiện môi trường trong quá trình sinh sản và phát triển phôi của nghêu lụa như sau: độ mặn: 30 – 31 ‰, pH: 7,5 - 8,5, ôxy hòa tan: ≥ 5 mg/L, nhiệt độ: 28 – 29°C. Trứng sau khi thụ tinh có hình cầu và xuất hiện màng thụ tinh xung quanh với đường kính trung bình $61,3 \pm 6,84 \mu\text{m}$ (Hình 3.7 A). Quá trình phân cắt trứng xảy ra ngay sau đó, với sự hình thành rãnh phân cắt ở cực động vật và kéo dài xuống cực thực vật chia trứng thành hai phôi bào (Hình 3.7 B). Tiếp theo là các lần phân cắt trứng tạo thành 4 và 8 phôi bào (Hình 3.7 C). Sau khi trứng phân cắt tới giai đoạn đa bào (Hình 3.7 D), chuyển sang giai đoạn phôi nang (Hình 3.7 E) và phôi vị (Hình 3.7 F).



Hình 3. 7: Các giai đoạn phân cắt trứng và phát triển phôi của nghêu lúa
 A: Trứng thụ tinh; B: Phân cắt 2 tế bào; C: Phân cắt 4 và 8 tế bào; D: Phân cắt đa bào;
 E: Phôi nang; F: Phôi vị

3.1.7.2 Các giai đoạn phát triển ấu trùng và con giống nghêu lúa

Trong điều kiện bể ương: độ mặn: 30 – 32 ‰, pH: 7,5 - 8,5, ôxy hòa tan: ≥ 5 mg/L, nhiệt độ: 28 – 29°C, quá trình phát triển ấu trùng của nghêu lúa trải qua 4 giai đoạn chính:

Ấu trùng bánh xe (Trochophora): Xuất hiện sau 4 – 8h từ khi trứng thụ tinh. Ấu trùng có dạng hình thoi, cấu tạo đơn giản, gồm: miệng nguyên thủy, ruột nguyên thủy và tuyến vỏ được hình thành do ngoại bì đối diện với miệng nguyên thủy lõm vào. Trên đỉnh của ấu trùng có tiêm mao dài ở chính giữa, xung quanh miệng có vành tiêm mao bao phủ giúp ấu trùng vận động. Ấu trùng bánh xe vận động liên tục bằng cách xoay tròn (Hình 3.8 A).

Ấu trùng chữ D: hình thành sau 10 – 12h từ khi trứng thụ tinh. Ấu trùng có dạng hình chữ D điển hình, xuất hiện chân mọc giữa miệng nguyên thủy và chia ra thành hai phần: miệng và hậu môn. Phần giữa của ruột nguyên thủy xuất hiện dạ dày, hai bên là gan tụy. Cuối giai đoạn ấu trùng chữ D tuyến vỏ lộn ra ngoài để chuẩn bị hình thành đỉnh vỏ, cơ khép vỏ và vành tiêm mao xuất hiện. Kích thước trung bình ấu trùng dài × rộng: $105 \times 120 \mu\text{m}$ (Hình 3.8 B).

Ấu trùng đỉnh vỏ (Umbo) hình thành sau 4 – 5 ngày từ khi trứng thụ tinh. Ở giai đoạn này vành tiêm mao ở đỉnh ấu trùng phát triển mạnh, trải rộng như mặt bàn tròn. Giai đoạn ấu trùng đỉnh vỏ chia ra thành 3 giai đoạn phụ:

- Ấu trùng sơ kỳ đỉnh vỏ (tiền Umbo): đỉnh vỏ bắt đầu hình thành và nhô lên. Hai cơ khép vỏ hình thành rõ rệt và vỏ bắt đầu có màu sắc. Kích thước ấu trùng dài × rộng: $180 \times 140 \mu\text{m}$ (Hình 3.8 C).

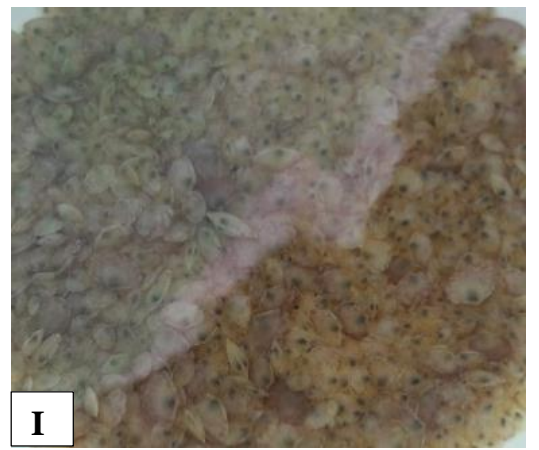
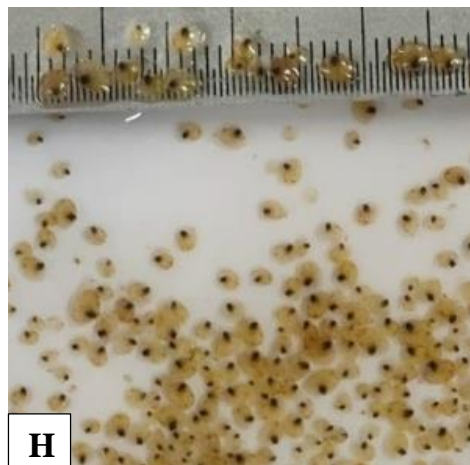
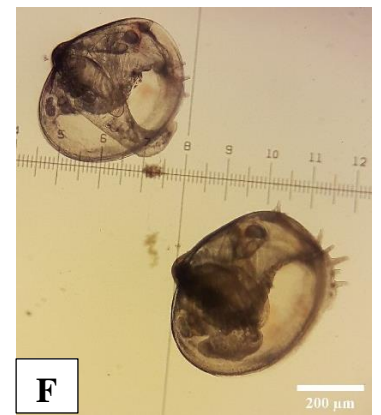
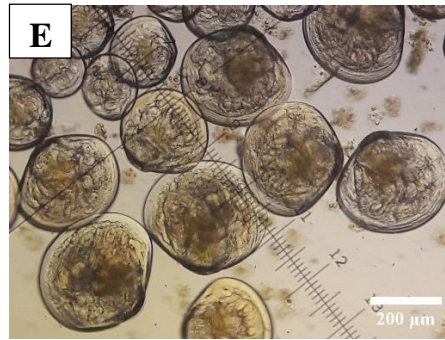
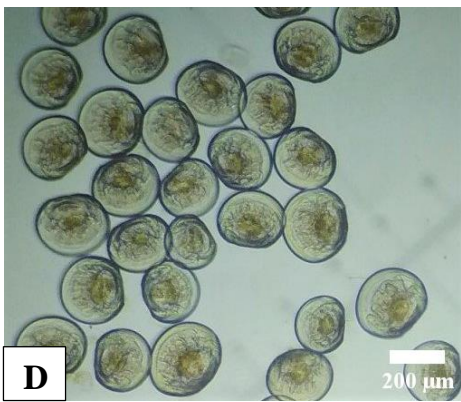
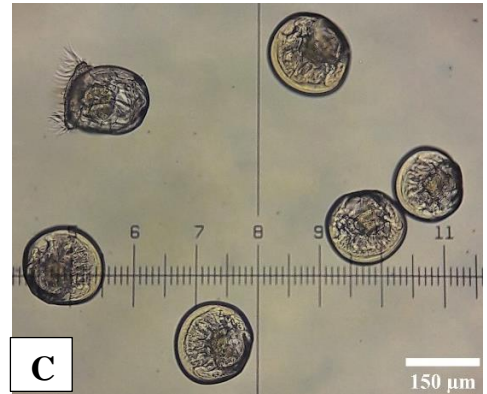
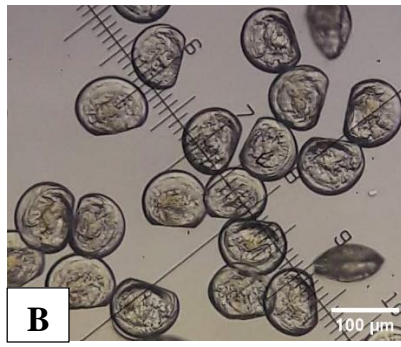
- Ấu trùng trung kỳ đỉnh vỏ (trung Umbo): đỉnh vỏ xuất hiện và nhô cao. Kích thước ấu trùng dài × rộng: $280 \times 120 \mu\text{m}$ (Hình 3.8 D).

- Ấu trùng hậu kỳ đỉnh vỏ (hậu Umbo): ấu trùng phát triển nhanh về kích thước chiều dài, xuất hiện rõ các tấm mang, điểm mắt và mầm chân. Ấu trùng có kích thước dài × rộng: $350 \times 230 \mu\text{m}$ (Hình 3.8 E).

Ấu trùng sống đáy (Spat): xuất hiện ngày thứ 10 – 12 từ khi trứng thụ tinh. Đầu giai đoạn Spat, ấu trùng hình thành chân và kết thúc giai đoạn sống trôi nổi, chuyển sang sống đáy và dùng chân để bò. Đỉnh vỏ phát triển mạnh và nhô cao, hướng về phía chân. Kích thước ấu trùng dài × rộng: $480 \times 350 \mu\text{m}$ (Hình 3.8 F). Cuối giai đoạn ấu trùng Spat, hai ống hút thoát nước phát triển với vành tiêm mao trên đỉnh. Ấu trùng hoàn thành quá trình biến thái, có hình dạng đặc trưng của loài. Kích thước dài × rộng: $650 \times 500 \mu\text{m}$ (Hình 3.8 G).

Giai đoạn nghêu giống (Juvenile): xuất hiện ngày thứ 22 – 25 từ khi trứng thụ tinh, nghêu giống chui rúc trong nền đáy, thò hai ống hút thoát nước lên để hô hấp và

bất mồi. Vỏ nghêu hình thành các vân sinh trưởng giống nghêu trưởng thành nhưng màu nhạt hơn. Kích thước nghêu giống $\geq 1,0$ mm (Hình 3.8 H&I).



Hình 3. 8: Các giai đoạn phát triển ấu trùng và nghêu giống

A: Ấu trùng bánh xe; B: Ấu trùng chữ D; C: Ấu trùng sơ kỳ đỉnh vỏ (tiền Umbo); D: Ấu trùng trung kỳ đỉnh vỏ (trung Umbo); E: Ấu trùng hậu kỳ đỉnh vỏ (cuối Umbo); F: Ấu trùng đầu giai đoạn sống đáy; G: Ấu trùng cuối giai đoạn sống đáy; H&I: Nghêu giống

3.2 Kỹ thuật nuôi vỗ thành thục và kích thích nghêu lụa sinh sản

3.2.1 Ảnh hưởng của thức ăn lên tỷ lệ sống và khả năng thành thục của nghêu lụa (TN1)

3.2.1.1 Biến động các yếu tố môi trường trong thí nghiệm

Các nghiệm thức nuôi vỗ thành thục nghêu lụa được đặt trong nhà có mái che, nguồn nước được kiểm soát trước khi tiến hành thí nghiệm, do đó các yếu tố môi trường ít biến động.

Bảng 3. 8: Diễn biến các yếu tố môi trường của thí nghiệm

Nghiệm thức	Nhiệt độ (°C)	Độ mặn (‰)	pH	DO (mgO ₂ /L)	N-NO ₂ (mg/L)
Vi tảo	28,1 ± 1,10	31,0 ± 0,25	7,5 – 8,2	5,90 ± 0,60	0,24 ± 0,10
Tảo khô	28,5 ± 1,25	30,6 ± 0,50	7,5 – 8,2	5,52 ± 1,15	0,45 ± 0,25
Vi tảo + TATH	28,4 ± 0,60	31,0 ± 0,60	7,5 – 8,2	5,60 ± 1,05	0,38 ± 0,11

Nhiệt độ nước có sự chênh lệch giữa buổi sáng và chiều, trung bình dao động từ 28,1 – 28,5°C giữa các nghiệm thức. Theo Pongthana (1988) nhiệt độ là yếu tố sinh thái quan trọng ảnh hưởng tới sinh trưởng và phát triển của nghêu lụa ngoài tự nhiên, nhiệt độ nước biển thích hợp cho nghêu lụa dao động trong khoảng từ 22,0 – 34,0°C, trong khi đó nhiệt độ thích hợp cho quá trình sản xuất giống nghêu lụa là 28 – 30°C. Độ mặn của các nghiệm thức được duy trì ổn định, dao động 30,6 – 31,0‰ và tương đồng với khoảng độ mặn tại các bãi phân bố của nghêu lụa ngoài tự nhiên (Hứa Thái Tuyền và ctv., 2006; Đỗ Chí Sỹ, 2009). Các giá trị pH (7,5 – 8,2), ôxy hòa tan (5,51 – 5,90 mgO₂/L) và N-NO₂ (0,24 – 0,45 mg/L) có sự biến động khác nhau theo từng nghiệm thức, tuy nhiên biên độ dao động trong ngưỡng phù hợp sinh trưởng của ấu trùng nghêu lụa (Chanrachkij, 2013).

Như vậy các thông số môi trường trong thời gian thí nghiệm đều nằm trong khoảng thích hợp cho nghêu lụa, tương tự như điều kiện môi trường ở các bãi phân bố của chúng ngoài tự nhiên.

3.2.1.2 Kết quả nuôi vỗ thành thục nghêu lụa

Đàn nghêu lụa sử dụng cho thí nghiệm đều đảm bảo đáp ứng các tiêu chí về chiều dài và khối lượng cho sinh sản. Chiều dài và khối lượng trung bình tương ứng 49,07 ± 0,72 mm và 11,63 ± 0,43 g.

Bảng 3. 9: Kết quả nuôi vỗ nghêu lụa sử dụng các loại thức ăn khác nhau

Chỉ tiêu	Ban đầu	Nghiệm thức		
		Vi tảo	Tảo khô	Vi tảo + TATH
Chiều dài (mm)	49,07 ± 0,72 ^a	49,76 ± 0,39 ^a	49,33 ± 0,26 ^a	49,35 ± 0,25 ^a
Khối lượng (g)	11,63 ± 0,43 ^a	12,38 ± 0,32 ^a	11,92 ± 0,20 ^a	11,60 ± 0,19 ^a
Độ béo (%)	31,83 ± 1,03 ^a	35,54 ± 0,58 ^c	34,68 ± 0,50 ^{bc}	33,18 ± 0,50 ^{ab}
CI (mg/g)	42,12 ± 1,36 ^a	58,34 ± 0,97 ^c	41,03 ± 0,58 ^a	49,71 ± 0,92 ^b
Tỷ lệ thành thực (%)	61,67 ± 3,07 ^a	77,20 ± 2,04 ^b	61,60 ± 1,89 ^a	74,00 ± 1,92 ^b
Tỷ lệ sống (%)	100	87,04 ± 0,99 ^c	69,36 ± 1,27 ^a	82,32 ± 0,73 ^b

Số liệu trình bày: trung bình ± sai số chuẩn (n=5). Số liệu có chữ cái khác nhau trong cùng hàng thể hiện sự sai khác có ý nghĩa (p<0,05).

Kết quả từ Bảng 3.9 cho thấy, sau thời gian nuôi 21 ngày không có sự sai khác về chiều dài và khối lượng của nghêu lụa. Tuy nhiên, các chỉ tiêu: độ béo, chỉ số điều kiện (CI), tỷ lệ thành thực và tỷ lệ sống của nghêu ghi nhận sự sai khác có ý nghĩa giữa các nghiệm thức so với đàn nghêu ban đầu. Sau 3 tuần thí nghiệm, độ béo của nghêu tăng lên và đạt giá trị cao nhất khi cho ăn bằng vi tảo (*Chlorella* sp., *I. galbana*) (35,54 ± 0,58%) và thấp nhất ở nghiệm thức cho ăn bằng hỗn hợp vi tảo kết hợp thức ăn tổng hợp (Lansy, Frippak) (33,18 ± 0,50%) (p<0,05). Độ béo của nghêu khi cho ăn bằng tảo khô (*Spirulina*) tương ứng là 34,68 ± 0,50%, cao hơn có ý nghĩa so với độ béo ban đầu nhưng không sai khác có ý nghĩa so với nghiệm thức cho ăn bằng vi tảo và nghiệm thức cho ăn bằng hỗn hợp vi tảo kết hợp thức ăn tổng hợp (p<0,05). Tương tự, chỉ số CI của nghêu khi cho ăn bằng vi tảo cũng có giá trị lớn nhất (58,34 ± 0,97 mg/g), cao hơn có ý nghĩa so với hai nghiệm thức còn lại (p<0,05). Không có sự sai khác có ý nghĩa về chỉ số CI ở nghiệm thức cho ăn bằng tảo khô (41,03 ± 0,58 mg/g) so với đàn nghêu ban đầu (42,12 ± 1,36 mg/g) (p>0,05).

Tỷ lệ thành thực của nghêu khi kết thúc thí nghiệm đạt cao nhất ở nghiệm thức cho ăn bằng vi tảo, tương ứng 77,20 ± 2,04% nhưng không có sự sai khác có ý nghĩa so với nghiệm thức cho ăn bằng hỗn hợp vi tảo kết hợp thức ăn tổng hợp (74,00 ± 1,92%) (0>0,05). Ở nghiệm thức sử dụng thức ăn là tảo khô, tỷ lệ thành thực của nghêu là thấp nhất (61,60 ± 1,89%) (p<0,05), không có sự thay đổi so với đàn nghêu ban đầu (61,67 ± 3,07%). Tỷ lệ sống của nghêu giảm dần trong thời gian thí nghiệm và có sự sai khác giữa các nghiệm thức, với giá trị cao nhất là 87,04 ± 0,99% khi sử dụng vi tảo làm thức ăn và thấp nhất là 69,36 ± 1,27% khi cho ăn bằng tảo khô (p<0,05).

Như vậy, các loại thức ăn khác nhau có ảnh hưởng tới khả năng thành thực sinh dục và tỷ lệ sống của nghêu lùa trong quá trình nuôi vỗ. Vi tảo được xem là thức ăn phù hợp nhất thể hiện thông qua sự gia tăng các chỉ tiêu về chỉ số độ béo, chỉ số CI, tỷ lệ thành thực sinh dục và tỷ lệ sống. Kết quả này hoàn toàn phù hợp với nghiên cứu của Brown và ctv. (1997) khi xác định vi tảo là thức ăn phù hợp cho các giai đoạn phát triển của các loài nghêu. Nguyễn Tác An và Nguyễn Văn Lục (1994) cũng công bố thức ăn chính của nghêu là tảo silic chiếm tỷ lệ 65% và mùn bã hữu cơ với tỷ lệ 35%. Theo Martinez và ctv. (2000), mức độ và tỷ lệ thành thực sinh dục của các loài hai mảnh vỏ phụ thuộc rất lớn vào hàm lượng dinh dưỡng có trong các loại vi tảo làm thức ăn. Mỗi loài vi tảo có kích thước tế bào, giá trị dinh dưỡng khác nhau hoặc thiếu một thành phần dinh dưỡng thiết yếu nào đó. Vì vậy, bên cạnh việc sử dụng vi tảo thì tảo khô và thức ăn tổng hợp như: Lansy, Frippak cũng được sử dụng làm thức ăn cho nghêu để tăng tính chủ động và nâng cao giá trị dinh dưỡng của thức ăn (Brown và ctv., 1997).

Tuy nhiên ngoài vai trò là nguồn thức ăn, thì vi tảo còn có tác dụng ổn định môi trường như cung cấp oxy hòa tan và hấp thụ NH_3 trong các hệ thống nuôi, từ đó nâng cao tỷ lệ sống của động vật thân mềm hai mảnh vỏ (Brown và ctv., 1989). Do đó kết quả của thí nghiệm hoàn toàn phù hợp khi khả năng thành thực sinh dục và tỷ lệ sống của nghêu lùa là thấp nhất ở nghiệm thức cho ăn bằng tảo khô. Ở nghiệm thức cho ăn bằng hỗn hợp vi tảo và thức ăn tổng hợp, tỷ lệ thành thực sinh dục của nghêu lùa không có sự sai khác so với nghiệm thức cho ăn bằng vi tảo, chỉ ghi nhận sự sai khác về tỷ lệ sống của nghêu.

3.2.1.3 Thành phần sinh hóa của nghêu lùa

Kết quả phân tích thành phần sinh hóa của thịt nghêu lùa sau khi nuôi vỗ thành thực bằng các loại thức ăn khác nhau trình bày trong Bảng 3.10.

Bảng 3. 10: Thành phần sinh hóa của nghêu lùa sử dụng các loại thức ăn khác nhau

Chỉ tiêu (% W tươi)	Ban đầu	Nghiệm thức		
		Vi tảo	Tảo khô	Vi tảo + TATH
Lipid	0,61 ± 0,024 ^b	0,75 ± 0,019 ^c	0,34 ± 0,019 ^a	0,55 ± 0,019 ^b
Protein	6,04 ± 0,06 ^a	11,81 ± 0,99 ^c	8,96 ± 0,56 ^b	9,73 ± 0,40 ^{bc}
Tro	1,99 ± 0,08 ^a	2,95 ± 0,18 ^c	2,37 ± 0,22 ^{ab}	2,65 ± 0,09 ^{bc}
Đường bột	4,32 ± 0,35 ^b	2,79 ± 0,26 ^a	3,20 ± 0,34 ^a	2,22 ± 0,35 ^a
Ẩm độ	86,98 ± 0,39 ^b	81,70 ± 1,02 ^a	85,13 ± 0,90 ^b	84,99 ± 0,50 ^b

Số liệu trình bày: trung bình ± sai số chuẩn (n=5). Số liệu có chữ cái khác nhau trong cùng hàng thể hiện sự sai khác có ý nghĩa ($p < 0,05$).

Khi sử dụng các loại thức ăn khác nhau, biến động thành phần sinh hóa của thịt nghêu lùa có sự sai khác có ý nghĩa giữa các nghiệm thức ($p < 0,05$). Hàm lượng lipid ở nghiệm thức tảo khô ($0,34 \pm 0,019\%$) giảm thấp hơn so với nghêu ban đầu ($0,61 \pm 0,024\%$). Hàm lượng lipid tăng lên và đạt giá trị cao nhất ở nghiệm thức cho ăn bằng vi tảo ($0,75 \pm 0,019\%$) ($p < 0,05$). Ở nghiệm thức cho ăn bằng hỗn hợp vi tảo kết hợp thức ăn tổng hợp, mặc dù hàm lượng lipid giảm ($0,55 \pm 0,019\%$) nhưng không ghi nhận sự sai khác có ý nghĩa so với giá trị ban đầu ($p > 0,05$).

Hàm lượng protein trong thịt nghêu lùa tăng lên ở tất cả các nghiệm thức và đạt giá trị cao nhất là $11,81 \pm 0,99\%$ khi sử dụng thức ăn là vi tảo ($p < 0,05$). Không ghi nhận sự sai khác có ý nghĩa của hàm lượng protein ở nghiệm thức vi tảo kết hợp thức ăn tổng hợp so với hai nghiệm thức còn lại, tuy nhiên vẫn cao hơn có ý nghĩa so với đàn nghêu ban đầu ($p < 0,05$). Hàm lượng tro tăng ở tất cả các nghiệm thức so với mẫu ban đầu và đạt giá trị cao nhất ở nghiệm thức vi tảo ($2,95 \pm 0,18\%$), cao hơn có ý nghĩa so với nghiệm thức tảo khô ($2,37 \pm 0,22\%$), nhưng không có sự sai khác so với nghiệm thức hỗn hợp vi tảo kết hợp thức ăn tổng hợp ($2,65 \pm 0,09\%$). Ở nghiệm thức cho ăn bằng hỗn hợp vi tảo kết hợp thức ăn tổng hợp, hàm lượng tro tăng cao hơn có ý nghĩa so với mẫu ban đầu ($1,99 \pm 0,08\%$), nhưng không khác biệt có ý nghĩa so với nghiệm thức tảo khô ($p > 0,05$). Tương tự, không ghi nhận sự khác biệt có ý nghĩa giữa nghiệm thức tảo khô so với mẫu ban đầu ($p > 0,05$).

Hàm lượng chất bột đường của nghêu lùa giảm ở tất cả các nghiệm thức thí nghiệm, dao động từ $2,22 - 3,2\%$ và thấp hơn có ý nghĩa so với mẫu ban đầu ($4,32 \pm 0,35\%$) ($p < 0,05$). Trong khi đó, ẩm độ của mẫu ban đầu là $86,98 \pm 0,39\%$, khi kết thúc thí nghiệm không có sự thay đổi khác biệt có ý nghĩa so với nghiệm thức vi tảo và hỗn hợp vi tảo kết hợp thức ăn tổng hợp ($p > 0,05$). Ở nghiệm thức cho ăn bằng tảo khô, ẩm độ của mẫu nghêu lùa giảm thấp nhất, tương ứng $81,70 \pm 1,02\%$ ($p < 0,05$). Như vậy, kết quả thí nghiệm cho thấy, vi tảo là thức ăn tốt nhất cho nghêu lùa trong quá trình nuôi vỗ, với giá trị cao nhất của các chỉ tiêu độ béo, chỉ số CI, tỷ lệ thành thực, tỷ lệ sống và thành phần sinh hóa (lipid và protein).

Ở các loài động vật thân mềm hai mảnh vỏ, nhiều nghiên cứu đã khẳng định biến động thành phần sinh hóa của phần thân mềm liên quan mật thiết tới mức độ thành thực sinh dục và chu kỳ sinh sản của chúng. Theo Helm và ctv. (1973) lipid và

carbohydrate có vai trò quan trọng trong việc hình thành giao tử ở các loài Bivalvia. Carbohydrate cung cấp nguồn năng lượng chính cho quá trình hình thành giao tử, còn lipid đóng vai trò như chất nền trong quá trình này và được sử dụng trong suốt thời gian diễn ra hoạt động sinh sản của chúng. Ở loài *P. laterisulca*, nghiên cứu của Nagabhushanam và Dhamne (1977) cho thấy thành phần sinh hóa của nghêu biến động theo mùa vụ sinh sản. Hàm lượng nước (86,14%), protein (40,53%), lipid (10,8%) và chất bột đường (7,66%) đều đạt giá trị cao nhất ở thời điểm nghêu thành thực sinh dục và giảm mạnh trong thời gian nghêu sinh sản.

Nghiên cứu của Appukuttan và Aravindan (1995) công bố tất cả các thành phần sinh hóa của nghêu *P. malabarica* đều biến động theo mùa trong năm nhưng chỉ ghi nhận được xu hướng gia tăng của hàm lượng lipid (12,36%), protein (71,92%) và carbohydrate (43,06%) trùng với thời điểm trước mùa sinh sản rõ ở nhóm nghêu kích thước lớn vì khi đó chúng mới thành thực sinh dục. Tương tự, Nagvenkar và Jagtap (2013) kết luận hàm lượng protein (86,78%), lipid (5,21%) và chỉ số CI (62,06 mg/g) ở loài *P. malabarica* đạt giá trị cao nhất khi chúng thành thực sinh dục.

Theo Nagabhushanam (1978), Nguyễn Chính và ctv. (1997) ở các loài vẹm *Mytillus edulis* và *Perna viridis*, biến động hàm lượng protein và lipid tỷ lệ thuận với chu kỳ phát triển tuyến sinh dục và đạt giá trị cao nhất khi chúng thành thực sinh dục và giảm thấp sau khi sinh sản. Jayabal và Kalyani (1986) cũng khẳng định hàm lượng protein, lipid và carbohydrate của ngao dầu *M. meretrix* rất thấp vào mùa đẻ rộ và tăng lên rất cao trong giai đoạn thành thực sinh dục.

Thành phần sinh hóa của nghêu không những biến động phụ thuộc vào mức độ thành thực và chu kỳ sinh sản mà còn thay đổi theo giai đoạn phát triển của cơ thể. Ở nghêu *P. malabarica*, trứng mới thụ tinh có hàm lượng protein chiếm 63,2%, tiếp theo là lipid (25,4%) và carbonhydrat (11,4%). Quá trình phát triển phôi, hàm lượng của 3 thành phần trên đều giảm, trong đó lipid giảm nhiều nhất với 11,8% tương ứng với 75,4% tổng năng lượng tạo ra cho quá trình phát triển phôi của nghêu (Gireesh và ctv., 2009). Theo Trần Vinh Phương và ctv. (2018), hàm lượng carbohydrate của ngao dầu *M. meretrix* không thay đổi giữa các nhóm kích thước chiều dài nhưng hàm lượng protein và lipid tăng lên ở nhóm kích thước lớn hơn.

3.2.2 Ảnh hưởng của cường độ chiếu sáng lên tỷ lệ sống, khả năng thành thực và sinh sản của nghêu lụa (TN2)

3.2.2.1 Biến động điều kiện môi trường thí nghiệm

Các yếu tố môi trường trong quá trình thí nghiệm có sự biến động giữa các nghiệm thức do bố trí các thí nghiệm ở điều kiện chiếu sáng khác nhau, tuy nhiên mức độ biến động ít. Độ mặn ($31,1 \pm 0,5\%$), pH (7,5 – 8,4), ôxy hòa tan dao động 4,8 – 7,2 mgO₂/L và N-NO₂ ($0,52 \pm 0,35$ mg/L) của các nghiệm thức dao động trong ngưỡng phù hợp sinh trưởng của nghêu lụa tương tự như Thí nghiệm 1. Cường độ chiếu sáng khác nhau giữa các nghiệm thức dẫn tới sự biến động của nhiệt độ tương ứng. Nghiệm thức có cường độ chiếu sáng dao động 20 – 300 lux, nhiệt độ trung bình $28,0 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$. Ở nghiệm thức cường độ chiếu sáng dao động 500 – 3.000 lux, nhiệt độ trung bình $28,6 \pm 1,08^{\circ}\text{C}$. Nghiệm thức cường độ chiếu sáng dao động 5.000 – 8.000 lux, nhiệt độ trung bình $28,8 \pm 1,74^{\circ}\text{C}$. Như vậy, ở nghiệm thức có cường độ chiếu sáng cao đồng thời có ngưỡng nhiệt độ cao hơn và biến động rõ rệt giữa ban ngày và ban đêm.

3.2.2.2 Kết quả nuôi vỗ thành thực nghêu lụa bố mẹ

Chiều dài và khối lượng ban đầu của nghêu lụa tương ứng $49,10 \pm 0,83$ mm và $12,09 \pm 0,69$ g, đáp ứng tiêu chí của đàn nghêu bố mẹ. Kết thúc thí nghiệm, không ghi nhận sự gia tăng về chiều dài và khối lượng của nghêu lụa ở các nghiệm thức thí nghiệm ($p > 0,05$).

Bảng 3. 11: Kết quả nuôi vỗ thành thực nghêu lụa ở các cường độ chiếu sáng khác nhau

Chỉ tiêu	Ban đầu	Nghiệm thức		
		20 – 300 lux	500 – 3.000 lux	5.000 – 8.000 lux
Chiều dài (mm)	$49,10 \pm 0,83^a$	$49,13 \pm 0,35^a$	$49,49 \pm 0,26^a$	$49,21 \pm 0,22^a$
Khối lượng (g)	$12,09 \pm 0,69^a$	$12,33 \pm 0,32^a$	$12,07 \pm 0,18^a$	$11,54 \pm 0,17^a$
Độ béo (%)	$31,77 \pm 1,04^a$	$34,04 \pm 0,49^{bc}$	$35,72 \pm 0,44^c$	$32,93 \pm 0,43^{ab}$
Tỷ lệ thành thực (%)	$64,00 \pm 2,45^a$	$76,00 \pm 1,90^b$	$82,67 \pm 1,82^c$	$65,33 \pm 1,92^a$
Tỷ lệ sống (%)	100	$87,00 \pm 1,55^b$	$84,60 \pm 1,86^b$	$67,80 \pm 1,86^a$

Số liệu trình bày: trung bình \pm sai số chuẩn ($n=5$). Số liệu có chữ cái khác nhau trong cùng hàng thể hiện sự sai khác có ý nghĩa ($p < 0,05$).

Kết quả Bảng 3.11 cho thấy, cường độ chiếu sáng có ảnh hưởng tới khả năng thành thực của nghêu lụa sau 21 ngày nuôi vỗ thành thực. Chỉ số độ béo của nghêu lụa tăng lên và ghi nhận sự sai khác có ý nghĩa giữa các nghiệm thức ($p < 0,05$). Độ béo của nghêu lụa tăng nhẹ ở nghiệm thức cường độ chiếu sáng 20 – 300 lux ($32,93 \pm 0,43\%$) nhưng

không có sự khác biệt có ý nghĩa so với đàn nghêu lụa ban đầu ($31,77 \pm 1,04\%$). Độ béo của nghêu lụa tăng dần ($34,04 \pm 0,49\%$) từ nghiệm thức cường độ chiếu sáng 20 – 300 lux và đạt mức tối đa ($35,72 \pm 0,44\%$) ở nghiệm thức cường độ chiếu sáng 500 – 3.000 lux ($p < 0,05$). Tuy nhiên, không ghi nhận sự khác biệt của độ béo giữa nghiệm thức cường độ chiếu sáng 500 – 3.000 lux so với nghiệm thức cường độ chiếu sáng 20 – 300 lux, cũng như giữa nghiệm thức cường độ chiếu sáng 20 – 300 lux so với nghiệm thức cường độ chiếu sáng 5.000 – 8.000 lux ($p > 0,05$). Tương tự, tỷ lệ thành thực của nghêu lụa cũng tăng lên so với giá trị ban đầu và ghi nhận giá trị cao nhất ($82,67 \pm 1,82\%$) ở nghiệm thức cường độ chiếu sáng 500 – 3.000 lux, và giảm ở nghiệm thức cường độ chiếu sáng 20 – 300 lux ($76,00 \pm 1,90\%$), nhưng đều cao hơn so với nghiệm thức cường độ chiếu sáng mạnh ($p < 0,05$). Không có sự khác biệt về tỷ lệ thành thực của nghêu lụa khi nuôi dưới điều kiện cường độ chiếu sáng 5.000 – 8.000 lux ($65,33 \pm 1,92\%$) so với tỷ lệ thành thực ban đầu ($p > 0,05$).

Tỷ lệ sống của nghêu lụa giảm ở cả 3 nghiệm thức với giá trị thấp nhất khi nuôi dưới điều kiện cường độ chiếu sáng 5.000 – 8.000 lux, tương ứng $67,80 \pm 1,86\%$ ($p < 0,05$). Ở nghiệm thức cường độ chiếu sáng 20 – 300 lux và 500 – 3.000 lux, tỷ lệ sống của nghêu khá cao, dao động 84,6 – 87,0% và không sai khác có ý nghĩa ($p > 0,05$). Ảnh hưởng của cường độ chiếu sáng lên sinh trưởng và phát triển của các loài động vật thân mềm hai mảnh vỏ đã được nhiều tác giả nghiên cứu. Ở vẹm *M. edulis*, trong điều kiện đầy đủ thức ăn thì vẹm nuôi trong điều kiện che tối có tốc độ sinh trưởng cao hơn 20% so với nuôi trong điều kiện bình thường do cường độ ánh sáng ảnh hưởng tới khả năng bắt mồi của vẹm (Nielsen và Stromgren, 1985). Tương tự, nghiên cứu của Manalo và Campos (2010) cho thấy, tốc độ lọc thức ăn của nghêu lụa *P. undulata* chịu ảnh hưởng của điều kiện chiếu sáng, với tốc độ lọc cao nhất $0,57 \pm 0,04$ (L/h/cá thể) trong điều kiện không có ánh sáng. Ở tu hài *Lutraria rhynchaena*, khi nuôi trong điều kiện che lưới lan có tỷ lệ sống cao hơn so với khi nuôi trong điều kiện không che lưới (Ngô Thị Thu Thảo và ctv., 2012). Như vậy, cường độ chiếu sáng ảnh hưởng đến quá trình lọc thức ăn của các loài hai mảnh vỏ từ đó ảnh hưởng tới tỷ lệ sống và tỷ lệ thành thực của chúng.

Theo Lưu Thị Dung và Phạm Quốc Hùng (2015), cường độ chiếu sáng thể hiện qua chu kỳ quang ảnh hưởng tới quá trình thành thực của sinh vật. Khi tăng chu kỳ

chiếu sáng trong ngày sẽ đẩy nhanh quá trình thành thực sinh dục của sinh vật. Tuy nhiên, cơ chế này tác động gián tiếp thông qua cơ quan thị giác của sinh vật. Rất ít thông tin về tác động trực tiếp của cường độ chiếu sáng tới quá trình phát triển tuyến sinh dục của các loài Bivalvia. Quayle và Newkirk (1989) cho rằng các loài Bivalvia ở vùng ôn đới thì quá trình phát triển tuyến sinh dục liên quan đến sự gia tăng nhiệt độ vào mùa xuân. Khi nhiệt độ đạt đến ngưỡng sinh sản, tuyến sinh dục phát triển ở giai đoạn thành thực, nên mùa xuân thường là mùa vụ sinh sản chính. Ở vùng nhiệt đới, thì mùa sinh sản của chúng kéo dài và kém tập trung hơn so với vùng ôn đới.

Theo Sastry (1979) quá trình phát triển tuyến sinh dục của loài điệp *Argopecten irradians* tại Massachusetts, Mỹ bắt đầu vào mùa xuân khi thời gian chiếu sáng vào ban ngày tăng và đạt tới giai đoạn thành thực vào giữa mùa hè, trùng với thời điểm thời gian chiếu sáng trong ngày tối đa. Trong khi đó, ở phía Bắc Carolina thì sự phát triển tuyến sinh dục của *A. irradians* muộn hơn, bắt đầu vào giữa mùa hè và thành thực sinh dục rồi sinh sản vào cuối mùa thu trùng với thời điểm thời gian chiếu sáng trong ngày thấp nhất (trích theo Gosling, 2003).

Ở giai đoạn ấu trùng thì cường độ chiếu sáng cũng ảnh hưởng tới sinh trưởng của các loài Bivalvia. Theo Cenni và ctv. (1989), chu kỳ sinh trưởng của nghêu *M. mercenaria* chịu ảnh hưởng của điều kiện chiếu sáng. Ở loài *R. philippinarum*, Yan và ctv. (2006) công bố tốc độ tăng trưởng của ấu trùng thấp hơn rất nhiều khi ương trong điều kiện ánh sáng trực tiếp so với ương trong điều kiện ánh sáng yếu. Theo đó cường độ chiếu sáng phù hợp cho ấu trùng sinh trưởng là < 5.000 lux. Những loài sống chui rúc trong nền đáy thích nghi với điều kiện ánh sáng yếu; do đó cường độ ánh sáng quá mạnh và thời gian chiếu sáng quá dài có thể là yếu tố bất lợi, ảnh hưởng tới khả năng lọc và tiêu hóa thức ăn hay quá trình trao đổi chất của cơ thể... từ đó làm giảm tốc độ sinh trưởng, tỷ lệ sống và khả năng thành thực sinh dục của chúng (Yan và ctv., 2006; Ngô Thị Thu Thảo và ctv., 2012). Nhận định này hoàn toàn phù hợp với kết quả thí nghiệm khi ghi nhận tỷ lệ sống và khả năng thành thực của nghêu luôn đạt giá trị cao nhất ở nghiệm thức nuôi trong điều kiện cường độ chiếu sáng yếu (500 – 3.000 lux) và giảm rõ rệt ở nghiệm thức cường độ chiếu sáng mạnh (5.000 – 8.000 lux).

3.2.2.3 Kết quả kích thích sinh sản

Bảng 3.12 trình bày kết quả kích thích sinh sản ngẫu lưa bằng phương pháp sốc nhiệt sau khi nuôi ở các điều kiện chiếu sáng khác nhau.

Bảng 3. 12: Hiệu quả sinh sản của ngẫu lưa ở các chế độ chiếu sáng khác nhau

Nghiệm thức	Chỉ tiêu				
	Thời gian hiệu ứng (phút)	Tỷ lệ sinh sản (%)	Sức sinh sản thực tế (trứng)	Tỷ lệ thụ tinh (%)	Tỷ lệ nở (%)
20 – 300 lux	123,0 ± 8,31 ^a	74,4 ± 3,59 ^b	442.200 ± 83.239 ^a	68,8 ± 3,68 ^{ab}	74,4 ± 3,14 ^b
500 – 3.000 lux	98,0 ± 7,18 ^a	78,8 ± 2,56 ^b	454.200 ± 64.580 ^a	76,6 ± 2,25 ^b	78,0 ± 2,43 ^b
5.000 – 8.000 lux	168,0 ± 12,41 ^b	62,4 ± 3,64 ^a	314.000 ± 40.570 ^a	60,4 ± 2,04 ^a	62,4 ± 2,50 ^a

Số liệu trình bày: trung bình ± sai số chuẩn (n=5). Số liệu có chữ cái khác nhau trong cùng cột thể hiện sự sai khác có ý nghĩa (p<0,05).

Ngẫu lưa sinh sản nhanh nhất (sau 98 phút) ở nghiệm thức cường độ chiếu sáng 500 – 3.000 lux và không khác biệt có ý nghĩa so với nghiệm thức cường độ chiếu sáng 20 – 300 lux là 123 phút (p>0,05). Ngẫu phản ứng và sinh sản chậm nhất ở nghiệm thức nuôi dưới cường độ chiếu sáng 5.000 – 8.000 lux, sau 168 phút. Tương tự, tỷ lệ ngẫu sinh sản cao và đều ở nghiệm thức cường độ chiếu sáng 20 – 300 lux và 500 – 3.000 lux, lần lượt là 74,4% và 78,8%, cao hơn có ý nghĩa so với điều kiện chiếu sáng 5.000 – 8.000 lux (62,4%) (p<0,05). Sức sinh sản thực tế của ngẫu lưa thấp nhất ở nghiệm thức 5.000 – 8.000 lux (314.000 ± 40.570 trứng) và cao nhất ở nghiệm thức 500 – 3.000 lux (454.200 ± 64.580 trứng), tuy nhiên không ghi nhận sự sai khác có ý nghĩa giữa 3 nghiệm thức (p>0,05). Tỷ lệ thụ tinh và tỷ lệ nở đều ghi nhận giá trị cao nhất ở nghiệm thức cường độ chiếu sáng 500 – 3.000 lux (lần lượt là 76,6 ± 2,25% và 78,0 ± 2,43%) và thấp nhất ở nghiệm thức cường độ chiếu sáng 5.000 – 8.000 lux (tương ứng 60,4 ± 2,04% và 62,4 ± 2,50%) (p<0,05). Tỷ lệ thụ tinh ở nghiệm thức cường độ chiếu sáng 20 – 300 lux (68,8 ± 3,68%) không khác biệt có ý nghĩa so với hai nghiệm thức còn lại (p>0,05).

Phương pháp sốc nhiệt được sử dụng phổ biến để kích thích sinh sản cho các loài ngẫu do đơn giản, dễ thực hiện và mang lại hiệu quả cao (Zhijiang và ctv., 1991; Aguilar và ctv., 2001; Annabelle del Norte-Campos và ctv., 2010; Aji, 2011). Theo Nguyễn Đình Hùng và ctv. (2004), Chu Chí Thiết và Kumar (2008) thì có thể kích thích sinh sản ngẫu trắng *M. lyrata* bằng nhiều phương pháp khác nhau như sốc nhiệt, sốc độ mặn, tạo dòng chảy... Kết quả nghiên cứu của Aguilar và ctv. (2001) cho thấy, ngẫu *P. undulata* khi

đã thành thực sinh dục thì các phương pháp kích thích đều có tác dụng thúc đẩy quá trình sinh sản, tuy nhiên hiệu quả sinh sản lại phụ thuộc và mức độ thành thực của đàn bố mẹ. Trong thí nghiệm này, khi nuôi vỗ trong điều kiện cường độ chiếu sáng 500 – 3.000 lux, nghêu có tỷ lệ thành thực và tỷ lệ sống cao nhất (82,67%, Bảng 3.11), do đó hiệu quả sinh sản mang lại cũng cao hơn so với các nghiệm thức khác.

3.2.3 Ảnh hưởng của phương pháp kích thích lên hiệu quả sinh sản của nghêu lụa (TN3)

3.2.3.1 Biến động điều kiện môi trường thí nghiệm

Nghêu lụa được nuôi vỗ thành thực trong điều kiện tốt nhất từ kết quả Thí nghiệm 1 và Thí nghiệm 2. Biến động các yếu tố môi trường được trình bày trong Bảng 3.13.

Bảng 3. 13: Diễn biến các yếu tố môi trường bể nuôi vỗ thành thực nghêu lụa

Chỉ tiêu	Nhiệt độ (°C)	Độ mặn (‰)	pH	Cường độ ánh sáng (lux)	DO (mgO ₂ /L)	N-NO ₂ (mg/L)
Dao động	27,0 – 30,5	30,0 – 32,0	7,5 – 8,3	500 – 3.000	4,7 – 7,2	0,1 – 0,7
Trung bình	28,5 ± 1,48	31,0 ± 0,87	7,5 – 8,3	1.837 ± 484	6,03 ± 0,96	0,41 ± 0,19

Các yếu tố môi trường được theo dõi và duy trì ổn định. Nhiệt độ nước ít chênh lệch, dao động từ 27,0 – 30,5°C. Độ mặn trong thời gian nuôi cao và ổn định, trung bình 31,0 ± 0,87‰. Các giá trị pH (7,5 – 8,3), cường độ ánh sáng (500 – 3.000 lux), ôxy hòa tan (4,7 – 7,2 mgO₂/L) và N-NO₂ (0,1 – 0,7 mg/L) dao động trong ngưỡng phù hợp sinh trưởng của ấu trùng nghêu lụa. Theo Pongthana (1988), điều kiện môi trường thích hợp cho sản xuất giống nghêu lụa tại Thái Lan tương ứng: nhiệt độ được duy trì trong khoảng 28 – 30°C, độ mặn 32 – 34‰. Tại Trung Quốc, Yi và ctv. (2010) xác định được các yếu tố môi trường thích hợp cho ương ấu trùng và nghêu lụa giống: nhiệt độ 23,0 – 29,6°C, độ mặn 28 – 34 ‰, pH 7,8 – 8,4 và DO 4 – 7 mgO₂/L.

3.2.3.2 Kết quả kích thích sinh sản nghêu lụa

Đàn nghêu lụa được tuyển chọn cho thí nghiệm đảm bảo các chỉ tiêu về chiều dài và khối lượng, tương ứng 50,07 ± 2,79 mm và 12,6 ± 2,16 g.

Bảng 3. 14: Chỉ tiêu ban đầu của nghêu trước khi kích thích sinh sản

Chỉ tiêu	Chiều dài (mm)	Khối lượng (g)	Độ béo (%)	Tỷ lệ thành thực (%)
Dao động	45,0 – 56,0	9,23 – 16,66	28,82 – 45,01	70,0 – 90,0
Trung bình	50,07 ± 2,79	12,62 ± 2,16	36,84 ± 3,70	80,0 ± 7,1

Số liệu trình bày: trung bình ± độ lệch chuẩn (n=30).

Sau thời gian nuôi vỗ thành thực, độ béo và tỷ lệ thành thực của nghêu đạt trung bình $36,84 \pm 3,70\%$ và $80,0 \pm 7,1\%$. So sánh với kết quả nuôi vỗ thành thực nghêu trong Thí nghiệm 1 và Thí nghiệm 2 cho thấy chỉ số độ béo và tỷ lệ thành thực của nghêu lựa là khá cao và đảm bảo yêu cầu về mức độ thành thực trước khi cho sinh sản (Quayle và Newkirt, 1989; Aguilar và ctv., 2001). Kết quả kích thích sinh sản nghêu lựa được trình bày ở Bảng 3.15.

Bảng 3. 15: Hiệu quả sinh sản của nghêu lựa sử dụng các phương pháp kích thích sinh sản khác nhau

Thí nghiệm	Chỉ tiêu				
	Thời gian hiệu ứng (phút)	Tỷ lệ sinh sản (%)	Sức sinh sản thực tế (trứng)	Tỷ lệ thụ tinh (%)	Tỷ lệ nở (%)
Sốc nhiệt	$102,0 \pm 4,64^b$	$71,4 \pm 2,44^a$	490.200 ± 47.239^a	$68,8 \pm 3,68^{ab}$	$74,4 \pm 3,14^b$
Tia cực tím	$141,0 \pm 6,40^c$	$64,4 \pm 3,59^a$	422.000 ± 42.942^a	$76,6 \pm 2,25^b$	$78,0 \pm 2,43^b$
NH₄OH	$79,0 \pm 7,14^a$	$82,0 \pm 2,21^b$	513.000 ± 49.285^a	$60,4 \pm 2,04^a$	$62,4 \pm 2,50^a$

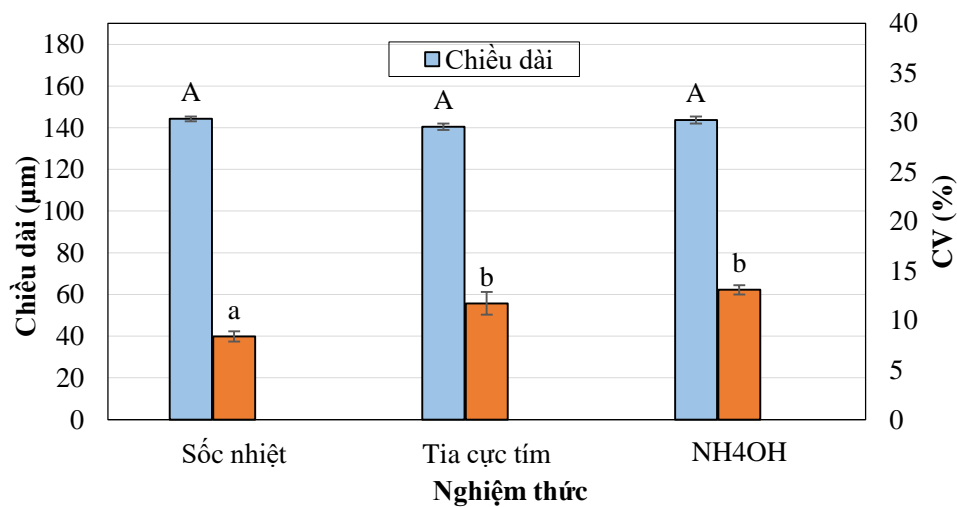
Số liệu trình bày: trung bình \pm sai số chuẩn ($n=5$). Số liệu có chữ cái khác nhau trong cùng cột thể hiện sự sai khác có ý nghĩa ($p<0,05$).

Kết quả kích thích sinh sản cho thấy, cả 3 phương pháp kích thích đều có tác dụng đối với nghêu, tuy nhiên hiệu quả sinh sản khác nhau. Thời gian hiệu ứng nhanh nhất ở nghiệm thức ngâm trong dung dịch NH₄OH ($79,0 \pm 7,14$ phút) và chậm nhất khi kích thích bằng tia cực tím ($141,0 \pm 6,40$ phút) ($p<0,05$). Tỷ lệ nghêu tham gia sinh sản cũng ghi nhận cao nhất ở nghiệm thức NH₄OH, với $82,0 \pm 2,21\%$ cao hơn có ý nghĩa so với hai nghiệm thức còn lại ($p<0,05$). Tuy nhiên, số lượng trứng thu được của các nghiệm thức không có sai khác có ý nghĩa, dao động từ 422.000 – 513.000 trứng ($p>0,05$). Mặc dù thời gian sinh sản nhanh nhất và tỷ lệ nghêu sinh sản cao nhất nhưng tỷ lệ thụ tinh của trứng khi sử dụng NH₄OH chỉ đạt $60,4 \pm 2,04\%$, thấp hơn có ý nghĩa so với nghiệm thức chiếu đèn tia cực tím, tương ứng $76,6 \pm 2,25\%$. Không có sự khác biệt có ý nghĩa về tỷ lệ thụ tinh ở nghiệm thức sốc nhiệt ($68,8 \pm 3,68\%$) so với hai phương pháp còn lại ($p>0,05$). Tỷ lệ nở của ấu trùng dao động từ 74,4 – 78,0% ở nghiệm thức sốc nhiệt và chiếu đèn tia cực tím, cao hơn có ý nghĩa so với nghiệm thức NH₄OH ($62,4\%$) ($p<0,05$).

Theo Aji (2011), có 3 phương pháp kích thích sinh sản được sử dụng chung cho các loài Bivalvia và đều có hiệu quả, gồm: kích thích bằng các tác nhân hóa học, sinh học và vật lý. Tại Malaysia và Philippine, nghêu lựa được kích thích sinh sản bằng

cách ngâm đàn bố mẹ trong dung dịch NH_4OH (Shamsuddin và ctv., 1987; Pongthana, 1988). Tác dụng của NH_4OH làm cho nghêu phản ứng nhanh, thể hiện qua hoạt động mở vỏ và thò ống hút thoát nước ra ngoài ngay sau khi tiếp xúc với hóa chất, cùng đó là hoạt động sinh sản diễn ra. Khi có cá thể sinh sản, hiệu ứng dây chuyền sẽ là tác nhân kích thích sinh sản đồng loạt tương tự như phương pháp kích thích bằng tác nhân sinh học (Heslinga và ctv., 1990). Vì vậy, ở nghiệm thức NH_4OH , nghêu có thời gian sinh sản nhanh nhất và tỷ lệ sinh sản cao nhất. Kết quả này phù hợp với nhận định của Helm và ctv. (2004). Theo đó khi sử dụng tác nhân hóa học, thời gian hiệu ứng sẽ nhanh nhất, tuy nhiên chất lượng của trứng thu được sẽ kém do ảnh hưởng của dư lượng hóa chất tác động trứng, thể hiện thông qua tỷ lệ thụ tinh của trứng và tỷ lệ sống của ấu trùng thấp, cũng như ảnh hưởng tới tỷ lệ sống của đàn bố mẹ sau khi sinh sản.

Aguilar và ctv. (2001) đã sử dụng 3 loại hóa chất H_2O_2 , KCl và NH_4OH để kích thích sinh sản nghêu đực loài *P. textilis*. Kết quả cho mật độ tinh trùng cao nhất khi tiêm KCl nhưng thời gian sinh sản nhanh nhất ở nghiệm thức tiêm H_2O_2 . Nguyễn Quốc Thê và Trần Ngọc Hiếu (2017) đã kích thích sinh sản ngao móng tay chúa *Cultellus maxima* bằng các phương pháp sốc nhiệt, ngâm NH_4OH , sốc nhiệt kết hợp dòng chảy và tiêm serotonin. Kết quả cho tỷ lệ sinh sản (38,33%), tỷ lệ thụ tinh (85,81%) và tỷ lệ nở (81,75%) cao nhất ở phương pháp sốc nhiệt kết hợp dòng chảy. Theo Ngô Thị Thu Thảo và ctv. (2018), có thể sử dụng hóa chất là NH_4OH và H_2O_2 để kích thích sinh sản cho vọp *Geloina* sp. Tuy nhiên, thời gian sinh sản và số trứng thu được thấp hơn so với phương pháp sốc nhiệt.



Hình 3. 9: Chiều dài và hệ số CV của ấu trùng chữ D

Số liệu trình bày: trung bình \pm sai số chuẩn, $n=5$. Số liệu có chữ cái khác nhau trong cùng chỉ tiêu thể hiện sự sai khác có ý nghĩa, $p<0,05$.

Ấu trùng chữ D sau khi nở 3 ngày được xác định kích thước chiều dài giữa 3 nghiệm thức kích thích sinh sản. Kết quả cho thấy, kích thước chiều dài của ấu trùng chữ D dao động từ 140,5 – 144,3 μm và không có khác biệt có ý nghĩa ($p > 0,05$). Tuy nhiên, sự phân đàn của ấu trùng thể hiện qua hệ số CV với sự khác biệt có ý nghĩa. Hệ số CV ở nghiệm thức sốc nhiệt tương ứng là 8,4%, thấp hơn so với nghiệm thức tia cực tím (11,73%) và NH_4OH (13,1%) ($p < 0,05$). Mặc dù có sự sai khác về hệ số CV giữa các nghiệm thức, nhưng nhìn chung giá trị đều nhỏ hơn 15%, chứng tỏ mức độ biến động về chiều dài của ấu trùng chữ D tương đối thấp.

Như vậy, tỷ lệ thụ tinh, tỷ lệ nở và chiều dài của ấu trùng dù không có sự khác biệt giữa phương pháp kích thích sốc nhiệt so với tia cực tím nhưng hệ số CV của ấu trùng ở nghiệm thức sốc nhiệt lại thấp hơn có ý nghĩa, chứng tỏ phương pháp kích thích sốc nhiệt là hiệu quả nhất cho nghêu sinh sản. Hệ số CV có ý nghĩa rất quan trọng trong sản xuất giống, đặc biệt là ở các đối tượng có quá trình phát triển ấu trùng trải qua giai đoạn biến thái, thay đổi phương thức sống từ trôi nổi sang chui rúc trong nền đáy như nghêu lùa. Hệ số CV thấp chứng tỏ mức độ đồng đều về kích cỡ của ấu trùng, dẫn tới thời điểm biến thái chuyển giai đoạn diễn ra nhanh và đồng loạt, làm giảm tỷ lệ hao hụt khi chuyển từ giai đoạn trôi nổi sang giai đoạn sống đáy (Gosling, 2003). Theo Nuanmanee (1988), trong điều kiện nhiệt độ và độ mặn thích hợp là 28 – 30°C và 32 – 34 ‰ thì tỷ lệ sống của ấu trùng nghêu *P. undulata* ở giai đoạn trôi nổi đạt cao nhất là 75,0%. Tỷ lệ sống giảm mạnh khi ấu trùng biến thái chuyển sang giai đoạn sống đáy, tương ứng 28,4 %. Ở loài *P. malabarica*, tỷ lệ sống ở giai đoạn ấu trùng chữ D là 85,6%, kết thúc giai đoạn biến thái chuyển sang ấu trùng sống đáy, tỷ lệ sống của ấu trùng là 32,4% (Gireesh và ctv., 2009).

Kết quả này phù hợp với các nghiên cứu đã công bố trên các loài thuộc giống *Paphia* cũng như các đối tượng Bivalvia khác. Ở các loài nghêu thuộc giống *Paphia*, mặc dù có thể kích thích sinh sản bằng nhiều tác nhân như: hóa học, sinh học và vật lý nhưng phương pháp sốc nhiệt được sử dụng phổ biến hơn cả do hiệu quả cao và thao tác dễ thực hiện (Aguilar và ctv., 2001; Annabelle del Norte-Campos và ctv., 2010; Aji, 2011). Ở các loài hàu, sốc nhiệt được công bố là phương pháp kích thích hiệu quả nhất (Lucas và Southgate, 2003). Sốc nhiệt tăng hoặc giảm kết hợp với dòng chảy cũng được ghi nhận là phương pháp hiệu quả để kích thích sinh sản các loài Bivalvia như: nghêu

trắng *M. lyrata* (Nguyễn Đình Hùng và ctv., 2004; Chu Chí Thiết và Kumar, 2008), vọp *Geloina* sp. (Quách Kha Ly và Ngô Thị Thu Thảo, 2011; Ngô Thị Thu Thảo và ctv., 2018), hào Thái Bình Dương *Crassostrea gigas* (Luong Hữu Toàn và Lê Minh Hoàng, 2014), móng tay chúa *C. maxima* (Nguyễn Quốc Thê và Trần Ngọc Hiếu, 2017).

3.3 Kỹ thuật ương nuôi ấu trùng nghêu lựa giai đoạn sống trôi nổi

3.3.1 Điều kiện môi trường thí nghiệm

Ấu trùng nghêu lựa sử dụng cho thí nghiệm được sản xuất tại trại, các yếu tố môi trường trong quá trình thí nghiệm được duy trì ổn định tương tự như bể kích thích sinh sản và ấp trứng. Các nghiệm thức thí nghiệm được đặt trong nhà có mái che, do đó các yếu tố môi trường ít biến động. Nhiệt độ dao động từ 27,0 – 30,5°C và chênh lệch không đáng kể giữa ngày và đêm. Các yếu tố: pH (7,5 – 8,4), ôxy hòa tan (4,9 – 7,5 mgO₂/L), N-NO₂ (0,2 – 0,8 mg/L) và độ kiềm (71,6 – 107,4 mgCaCO₃/L) của các nghiệm thức dao động trong ngưỡng phù hợp sinh trưởng của ấu trùng nghêu lựa. Độ mặn được điều chỉnh và duy trì ổn định tương đương vốc các nghiệm thức trong Thí nghiệm 4.

Tại Thái Lan, Pongthana (1988) ương ấu trùng nghêu lựa *P. undulata* trong điều kiện tối ưu về nhiệt độ và pH tương ứng là 28 – 30°C và 7,5 – 8,4. Nghiên cứu của Wang và ctv. (2009) cho thấy pH có ảnh hưởng rõ rệt sinh trưởng và phát triển của nghêu, đặc biệt ở giai đoạn ấu trùng, do tác động trực tiếp tới quá trình lọc thức ăn. Tốc độ lọc thức ăn của nghêu tăng trong khoảng pH thích hợp là 7,0 – 8,0 và đạt giá trị cao nhất ở mức pH là 8,0. Theo Yi và ctv. (2010) các yếu tố môi trường thích hợp cho ương ấu trùng nghêu lựa tại Trung Quốc tương ứng: nhiệt độ 23,0-29,6°C, độ mặn 28-34 ‰, pH 7,8 – 8,4 và DO 4 – 7 mg/L. Nhiệt độ là yếu tố sinh thái quan trọng ảnh hưởng tới sinh trưởng và tỷ lệ sống của nghêu lựa (Chalanda, 1978). Nhiệt độ thích hợp cho sinh trưởng và phát triển của nghêu lựa dao động từ 22,0 – 34,0°C (Anake và ctv. , 2007). Zhang và ctv. (2019) công bố ở 10°C và 16°C nghêu sinh trưởng âm, nhưng bắt đầu sinh trưởng ở 18°C và tốt nhất ở 32°C. Như vậy, biến động của các yếu tố môi trường trong các thí nghiệm là phù hợp với sinh trưởng và phát triển của ấu trùng nghêu lựa giai đoạn trôi nổi. Tuy nhiên, hàm lượng N-NO₂ ghi nhận xu hướng đạt cao hơn ở các thí nghiệm thức ăn, đặc biệt là nghiệm thức sử dụng thức ăn là tảo khô và thức ăn tổng hợp.

3.3.2 Ảnh hưởng của độ mặn lên sinh trưởng và tỷ lệ sống của ấu trùng nghêu lựa giai đoạn sống trôi nổi (TN4)

3.3.2.1 Sinh trưởng của ấu trùng nghêu lựa

Kết quả theo dõi sinh trưởng của ấu trùng nghêu lựa giai đoạn trôi nổi ở các độ mặn khác nhau thể hiện trong Bảng 3.16.

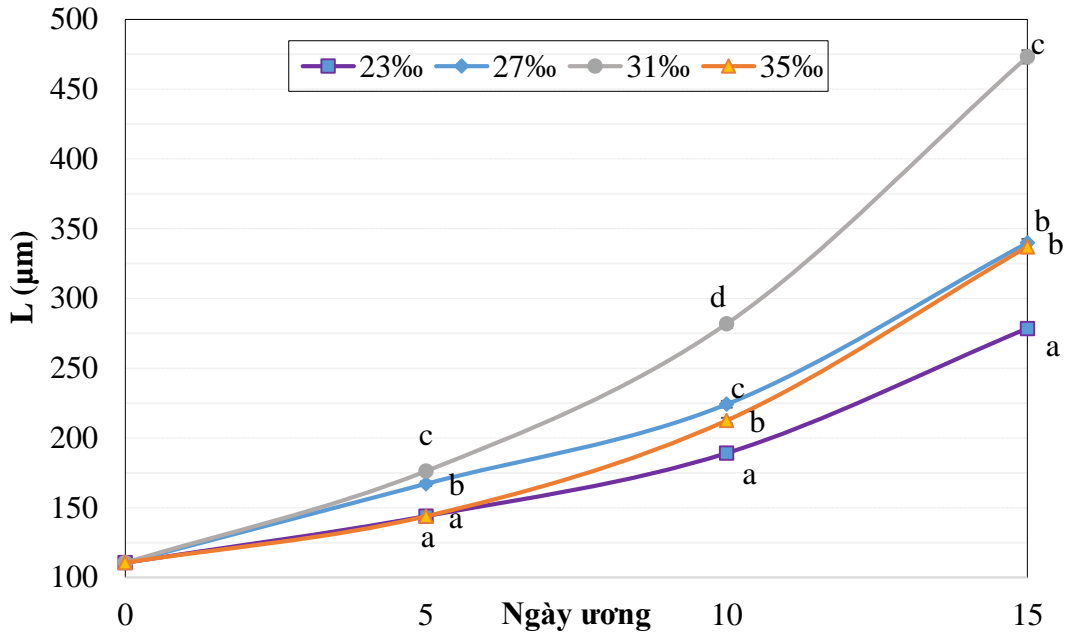
Bảng 3. 16: Sinh trưởng của ấu trùng nghêu lựa ở các độ mặn khác nhau

Độ mặn (%)	L _{đầu} (μm)	Chỉ tiêu		
		L _{cuối} (μm)	ADG (μm/ngày)	SGR (%/ngày)
23	110,63 ± 1,38	278,49 ± 2,81 ^a	11,19 ± 0,20 ^a	6,13 ± 0,09 ^a
27	110,63 ± 1,38	339,90 ± 2,65 ^b	15,28 ± 0,18 ^b	7,47 ± 0,07 ^b
31	110,63 ± 1,38	473,13 ± 4,65 ^c	24,17 ± 0,31 ^c	9,65 ± 0,08 ^c
35	110,63 ± 1,38	336,98 ± 2,18 ^b	15,09 ± 0,15 ^b	7,43 ± 0,06 ^b

Số liệu trình bày: trung bình ± sai số chuẩn (n=4). Số liệu có chữ cái khác nhau trong cùng cột thể hiện sự sai khác có ý nghĩa (p<0,05).

Kết thúc thí nghiệm, chiều dài ấu trùng tăng ở tất cả các nghiệm thức nhưng có sai khác có ý nghĩa thống kê (p<0,05). Ấu trùng có chiều dài lớn nhất ở độ mặn 31‰ (473,13 ± 4,65 μm) và thấp nhất ở độ mặn 23‰ (278,49 ± 2,81 μm). Chiều dài của ấu trùng ở nghiệm thức độ mặn 27‰ và 35‰ là tương đương, dao động từ 336,98 – 339,90 μm và không có khác biệt có ý nghĩa (p>0,05).

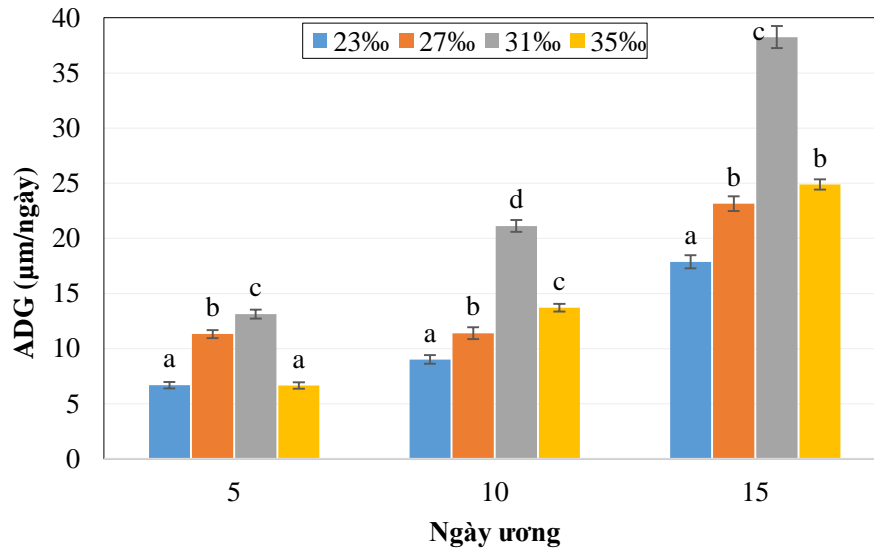
Tương tự, tốc độ tăng trưởng bình quân (ADG) và tăng trưởng đặc trưng (SGR) của ấu trùng có chung xu hướng với giá trị lớn nhất ở độ mặn 31‰ (lần lượt 24,17 ± 0,31 μm/ngày và 9,65 ± 0,08 %/ngày) và cao hơn có ý nghĩa so với các nghiệm thức còn lại. Ở độ mặn 23‰, tốc độ tăng trưởng của ấu trùng là thấp nhất (p<0,05). Không có sự khác biệt có ý nghĩa về tốc độ tăng trưởng của ấu trùng giữa độ mặn 27‰ so với 35‰, mặc dù ở độ mặn 27‰ tốc độ tăng trưởng của ấu trùng (15,28 ± 0,18 μm/ngày và 7,47 ± 0,07 %/ngày) có xu hướng cao hơn so với độ mặn 35‰ (15,09 ± 0,15 μm/ngày và 7,43 ± 0,06 %/ngày) (p>0,05).



Hình 3. 10: Tăng trưởng chiều dài (μm) của ấu trùng nghêu lỵ ở các độ mặn khác nhau

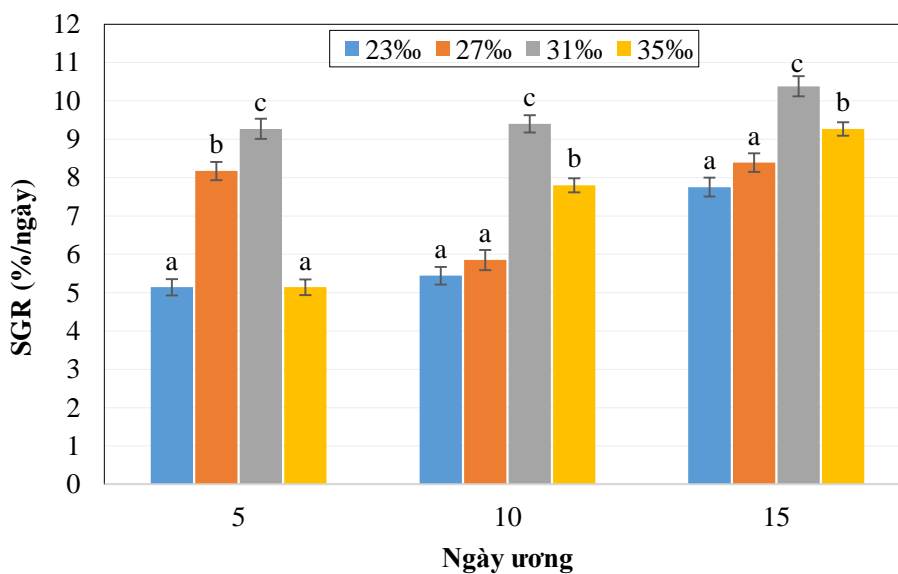
Trong thời gian thí nghiệm, chiều dài của ấu trùng luôn cao nhất ở độ mặn 31‰ và thấp nhất ở độ mặn 23‰. Từ ngày ương thứ 10 tới ngày thứ 15, chiều dài của ấu trùng ở nghiệm thức 31‰ tăng nhanh so với các nghiệm thức còn lại; trong khi đó, chiều dài ấu trùng ở độ mặn 27‰ cao hơn so với độ mặn 35‰ sau 5 và 10 ngày nhưng tới ngày 15 lại khá đều nhau và không có khác biệt có ý nghĩa ($p > 0,05$).

ADG của ấu trùng giữa các nghiệm thức cho thấy sự khác biệt có ý nghĩa và không đồng đều theo thời gian ương (Hình 3.11). Ở độ mặn 31‰, ADG của ấu trùng luôn cao nhất, nhưng mức tăng rất nhanh từ ngày ương thứ 10 (21,12 $\mu\text{m}/\text{ngày}$) tới thứ 15 (38,25 $\mu\text{m}/\text{ngày}$). Sau 5 ngày, ADG của ấu trùng ở độ mặn 27‰ (11,32 $\mu\text{m}/\text{ngày}$) cao hơn so với độ mặn 23‰ (6,69 $\mu\text{m}/\text{ngày}$) và 35‰ (6,65 $\mu\text{m}/\text{ngày}$) ($p < 0,05$). Tuy nhiên, ADG lại có xu hướng ngược lại ở ngày ương thứ 10, với giá trị cao ở độ mặn 35‰ (13,71 $\mu\text{m}/\text{ngày}$) so với độ mặn 27‰ (11,39 $\mu\text{m}/\text{ngày}$) ($p < 0,05$). Kết thúc thí nghiệm, ADG ở độ mặn 35‰ (24,89 $\mu\text{m}/\text{ngày}$) có xu hướng cao hơn so với độ mặn 27‰ (23,14 $\mu\text{m}/\text{ngày}$) nhưng không khác biệt có ý nghĩa ($p > 0,05$), mặc dù cả hai nghiệm thức đều cao hơn so với nghiệm thức độ mặn 23‰ (17,87 $\mu\text{m}/\text{ngày}$) ($p < 0,05$).



Hình 3. 11: Tốc độ tăng trưởng bình quân (ADG) của ấu trùng nghêu lựa ở các độ mặn khác nhau

Sau 5 ngày thí nghiệm, SGR của ấu trùng cao nhất ở nghiệm thức 31‰ (9,27%/ngày), tiếp đến là ở độ mặn 27‰ (8,17%/ngày) và đều cao hơn có ý nghĩa so với hai nghiệm thức còn lại ($p < 0,05$). Ở những ngày tiếp theo, SGR của ấu trùng có xu hướng tương tự, với giá trị cao nhất ở độ mặn 31‰, tiếp theo là độ mặn 35‰ và đều cao hơn có ý nghĩa so với độ mặn 23‰ và 27‰ ($p < 0,05$). SGR của ấu trùng ở độ mặn 27‰ mặc dù có xung hướng cao hơn nhưng lại không có khác biệt có ý nghĩa so với độ mặn 23‰ ($p > 0,05$). Như vậy, độ mặn có ảnh hưởng rõ rệt tới sinh trưởng của ấu trùng nghêu lựa giai đoạn trôi nổi qua cả 3 chỉ tiêu: chiều dài, ADG và SGR, trong đó độ mặn thích hợp nhất là 31‰.



Hình 3. 12: Tốc độ tăng trưởng đặc trưng (SGR) của ấu trùng nghêu lựa ở các độ mặn khác nhau

Ở nghêu lùa, nhiều nghiên cứu ghi nhận độ mặn có ảnh hưởng rõ rệt tới sinh trưởng của chúng. Pongthana (1988) và Yi và ctv. (2010) đã sản xuất giống nghêu lùa thành công và xác định độ mặn thích hợp là 32 – 34‰ (Thái Lan) và 28-34‰ (Trung Quốc). Theo Wang và ctv. (2009) độ mặn có ảnh hưởng tới tốc độ lọc thức ăn của nghêu lùa với giá trị cao nhất ở khoảng độ mặn từ 28 – 32‰. Nghiên cứu của Li và ctv. (2011) cho thấy độ mặn ảnh hưởng tới khả năng tiêu thụ oxy và tỷ lệ bài tiết amoniac của nghêu lùa. Mức oxy tiêu thụ và hàm lượng ammoniac thải ra của nghêu lùa tăng lên trong khoảng độ mặn thích hợp (20 tới 28‰) nhưng lại giảm ở độ mặn cao (28 tới 36‰), từ đó ảnh hưởng tới sinh trưởng của ấu trùng. Ở loài *P. malabarica*, Gireesh (2003) đã công bố độ mặn thích hợp nhất cho ấu trùng sinh trưởng và phát triển là 30 – 33‰. Theo Gireesh và Gopinathan (2004), tăng trưởng chiều dài của ấu trùng nghêu *P. malabarica* không có sự khác biệt có ý nghĩa giữa độ mặn 30 và 33‰, dao động từ 6,8 – 7,0 $\mu\text{m}/\text{ngày}$, nhưng ở độ mặn 20 – 25‰, tốc độ tăng trưởng của ấu trùng giảm rất thấp, còn 3,2 – 3,7 $\mu\text{m}/\text{ngày}$. Tốc độ tăng trưởng của nghêu *P. malabarica* giai đoạn ấu trùng chữ D ghi nhận giá trị cao nhất là 160,3 $\mu\text{m}/\text{ngày}$ khi ương ở độ mặn $30 \pm 1\%$ (Gireesh và ctv, 2009).

3.3.2.2 Tỷ lệ sống của ấu trùng nghêu lùa

Tỷ lệ sống của ấu trùng nghêu lùa giảm dần theo thời gian thí nghiệm và chịu ảnh hưởng của độ mặn (Bảng 3.17). Sau 5 ngày thí nghiệm, tỷ lệ sống của nghêu tương đối đồng đều và không có sự khác biệt giữa độ mặn 27‰ (79,96%) so với 31‰ (80,75%), nhưng cao hơn có ý nghĩa so với tỷ lệ sống ở độ mặn 23‰ (55,83%) và 35‰ (55,83%) ($p < 0,05$). Tỷ lệ sống của ấu trùng không có sự khác biệt có ý nghĩa giữa độ mặn 23‰ so với 35‰ ($p > 0,05$). Ở ngày thứ 10 và 15, tỷ lệ sống của nghêu giảm mạnh so với trước, nhưng vẫn có xu hướng giống nhau với giá trị cao nhất ở ở độ mặn 31‰, lần lượt là 18,66% và 5,09%. Độ mặn 27‰ ấu trùng có tỷ lệ sống tương ứng là 15,67% (ngày 10) và 4,21% (ngày 15), cao hơn có ý nghĩa thống kê so với hai nghiệm thức còn lại. Không có sự khác biệt về tỷ lệ sống của ấu trùng nghêu lùa ở độ mặn 35‰ so với độ mặn 23‰ ở ngày thứ 10 ($p > 0,05$). Tuy nhiên, ở ngày thứ 15, tỷ lệ sống của ấu trùng ở độ mặn 35‰ (2,51%) lại cao hơn có ý nghĩa so với ở độ mặn 23‰ (1,21%) ($p < 0,05$).

Bảng 3. 17: Tỷ lệ sống (%) của ấu trùng nghêu lụa ở các độ mặn khác nhau

Ngày ương	Độ mặn (‰)			
	23	27	31	35
5	55,83 ± 1,64 ^a	80,75 ± 5,33 ^b	79,96 ± 4,56 ^b	65,0 ± 2,55 ^a
10	11,0 ± 1,08 ^a	15,67 ± 0,66 ^b	18,66 ± 1,01 ^c	11,67 ± 0,62 ^a
15	1,21 ± 0,12 ^a	4,21 ± 0,24 ^c	5,09 ± 0,39 ^d	2,51 ± 0,14 ^b

Số liệu trình bày: trung bình ± sai số chuẩn (n=4). Số liệu có chữ cái khác nhau trong cùng hàng thể hiện sự sai khác có ý nghĩa ($p < 0,05$).

Độ mặn là yếu tố sinh thái quan trọng ảnh hưởng tới tỷ lệ sống của các loài Bivalvia nói chung cũng như các loài nghêu, ở cả giai đoạn ấu trùng và giai đoạn con giống. Theo Chalanda (1978) nghêu lụa giống (chiều dài 3,4 – 4,5 cm) nuôi ở độ mặn 30‰ khi chuyển sang độ mặn 20 – 21‰ thì tỷ lệ sống giảm còn 50 % sau 1h30' – 2h30'. Đối với nghêu giống lớn hơn (4,6 cm) thì khả năng chịu đựng được sự biến động của độ mặn tốt hơn, tỷ lệ chết 50% ghi nhận sau 24h ở độ mặn 14,3 ‰ (Yodchai và ctv., 1983). Kripa và ctv. (2006) nghiên cứu khả năng chịu sốc độ mặn của loài *P. malabarica* giai đoạn giống với kích thước chiều dài 6,5 – 10 mm. Kết quả cho thấy, ở các độ mặn 5 và 10 ‰ nghêu chết hoàn toàn sau 8 ngày thí nghiệm. Độ mặn 15 ‰, nghêu chết hoàn toàn sau 10 ngày. Ở mức độ mặn cao hơn, ghi nhận tỷ lệ chết của nghêu giảm mạnh lần lượt là 33% và 16% tương ứng với độ mặn 20‰ và 25‰. Tỷ lệ sống của nghêu đạt 100% sau 30 ngày thí nghiệm ở độ mặn 30 ‰ và 35‰.

Ở giai đoạn ấu trùng chữ D, tỷ lệ sống của nghêu *P. undulata* đạt cao nhất là 75% ở độ mặn 32 – 34‰; tuy nhiên, tỷ lệ sống giảm mạnh khi ấu trùng chuyển sang giai đoạn đỉnh vỏ (28,4%) (Pongthana, 1988). Tương tự, Gireesh và Gopinathan (2004) công bố tỷ lệ sống của ấu trùng nghêu *P. malabarica* giai đoạn trôi nổi đạt cao nhất là 85% ở độ mặn 33‰. Tại Trung Quốc, nghiên cứu của He và ctv. (2018) ghi nhận tỷ lệ sống, tỷ lệ chuyển giai đoạn và tốc độ tăng trưởng đặc trưng của nghêu *P. undulata* đạt giá trị cao nhất ở độ mặn 30‰. Trong quá trình thí nghiệm, tỷ lệ sống của ấu trùng có xu hướng giảm mạnh ở tất cả các nghiệm thức từ ngày ương thứ 10 trở đi khi ấu trùng bắt đầu chuyển sang giai đoạn hậu kỳ đỉnh vỏ, chuẩn bị thay đổi phương thức sống từ trôi nổi sang chui rúc trong nền đáy. Theo Quayle và Newkirt (1989), khi hoàn tất quá trình biến thái, ấu trùng chuyển đổi phương thức sống từ trôi nổi sang chui rúc trong nền đáy thì tỷ lệ sống sẽ giảm mạnh, đặc biệt trong điều kiện môi trường không

phù hợp. Kết quả này giải thích tỷ lệ sống của ấu trùng rất thấp ở độ mặn 23‰ và 35‰ khi kết thúc thí nghiệm và hoàn toàn phù hợp với quy luật phát triển chung của các loài Bivalvia, tương tự như các nghiên cứu đã công bố ở trên.

Như vậy, sinh trưởng và tỷ lệ sống của nghêu lựa giống như các loài Bivalvia khác, phụ thuộc vào vị trí địa lý và điều kiện môi trường vùng phân bố (Quayle và Newkirk, 1989). Từ kết quả trên cho thấy, trong sản xuất giống nhân tạo độ mặn 31‰ là thích hợp nhất cho sinh trưởng và tỷ lệ sống của ấu trùng nghêu lựa giai đoạn trôi nổi, với tốc độ sinh trưởng và tỷ lệ sống của ấu trùng là tốt nhất. Kết quả này hoàn toàn phù hợp, do nghêu bố mẹ sử dụng cho sinh sản khai thác tại vùng biển Khánh Hòa, nơi có độ mặn dao động từ 30 - 32‰.

3.3.3 Ảnh hưởng của thức ăn lên sinh trưởng và tỷ lệ sống của ấu trùng nghêu lựa giai đoạn sống trôi nổi (TN5)

3.3.3.1 Sinh trưởng của ấu trùng nghêu lựa

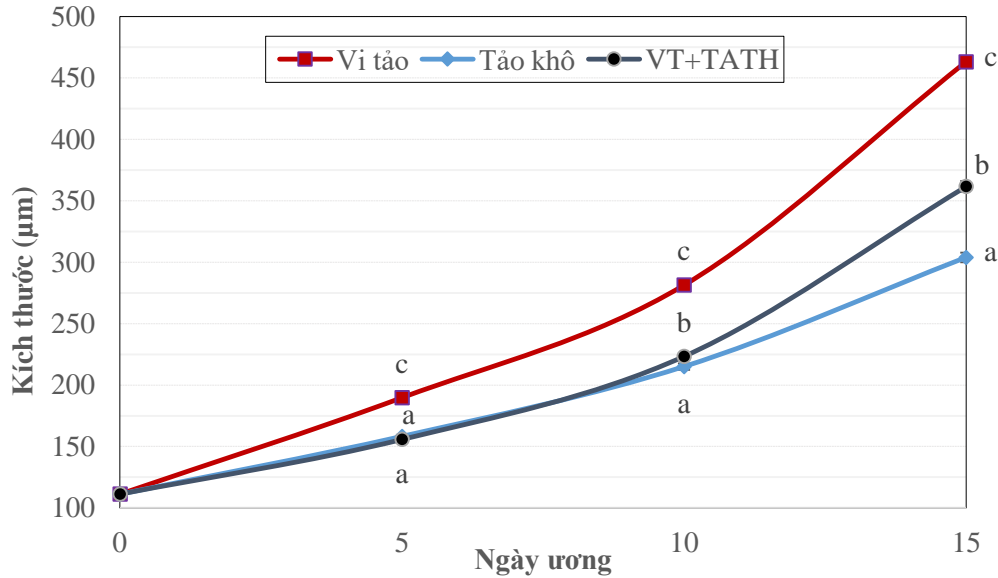
Kết quả nghiên cứu cho thấy các loại thức ăn khác nhau có ảnh hưởng tới sinh trưởng của ấu trùng nghêu lựa và trình bày trong Bảng 3.18.

Bảng 3. 18: Sinh trưởng của ấu trùng nghêu lựa dùng các thức ăn khác nhau

Thức ăn	Lđầu (μm)	Chỉ tiêu		
		Lcuối (μm)	ADG ($\mu\text{m}/\text{ngày}$)	SGR ($\%/ \text{ngày}$)
Vi tảo (VT)	111,3 \pm 1,39	463,1 \pm 4,44 ^c	23,46 \pm 0,30 ^c	9,48 \pm 0,07 ^c
Tảo khô (TK)	111,3 \pm 1,39	304,0 \pm 3,89 ^a	12,85 \pm 0,27 ^a	6,65 \pm 0,10 ^a
VT+TATH	111,3 \pm 1,39	361,7 \pm 4,46 ^b	16,69 \pm 0,31 ^b	7,82 \pm 0,09 ^b

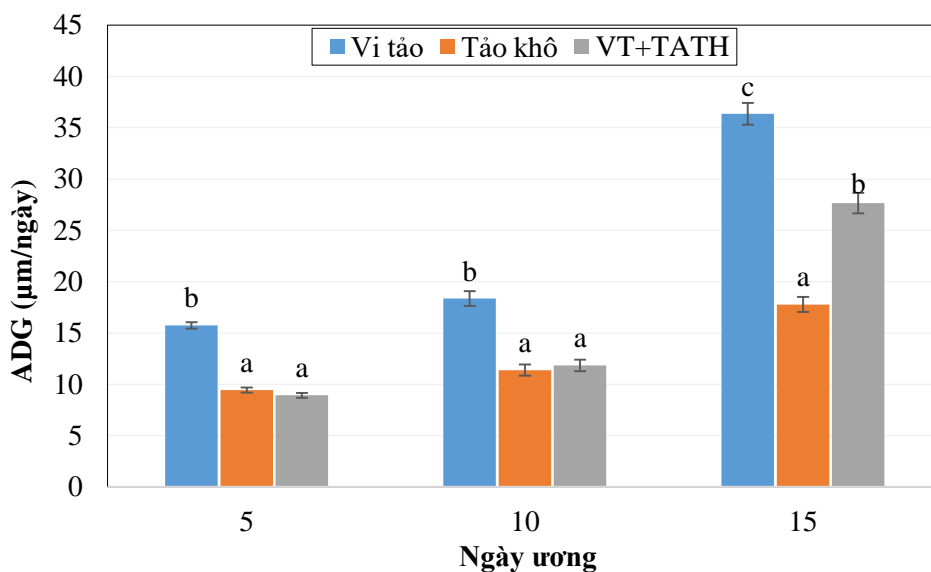
Số liệu trình bày: trung bình \pm sai số chuẩn ($n=4$). Số liệu có chữ cái khác nhau trong cùng cột thể hiện sự sai khác có ý nghĩa ($p<0,05$).

Sự sai khác có ý nghĩa về các chỉ tiêu sinh trưởng của ấu trùng nghêu lựa ghi nhận được giữa các nghiệm thức thức ăn khác nhau trong thời gian thí nghiệm ($p<0,05$). Chiều dài của ấu trùng lớn nhất ở nghiệm thức vi tảo (463,1 \pm 4,44 μm) và thấp nhất ở nghiệm thức tảo khô (304,0 \pm 3,89 μm). Kết thúc thí nghiệm, ADG của ấu trùng ở nghiệm thức cho ăn bằng vi tảo đạt cao nhất (23,46 \pm 0,30 $\mu\text{m}/\text{ngày}$), gấp đôi so với nghiệm thức cho ăn bằng tảo khô (12,85 \pm 0,27 $\mu\text{m}/\text{ngày}$). Tương tự, SGR của ấu trùng cũng có xu hướng tương tự khi ghi nhận giá trị cao nhất ở nghiệm thức cho ăn bằng vi tảo (9,48 \pm 0,07 $\%/ \text{ngày}$), tiếp theo là ở nghiệm thức cho ăn bằng hỗn hợp vi tảo kết hợp thức ăn tổng hợp (7,82 \pm 0,09 $\%/ \text{ngày}$) và thấp nhất ở nghiệm thức tảo khô (6,65 \pm 0,10 $\%/ \text{ngày}$) ($p<0,05$).



Hình 3. 13: Tăng trưởng chiều dài (μm) của ấu trùng nghêu lựa sử dụng các loại thức ăn khác nhau

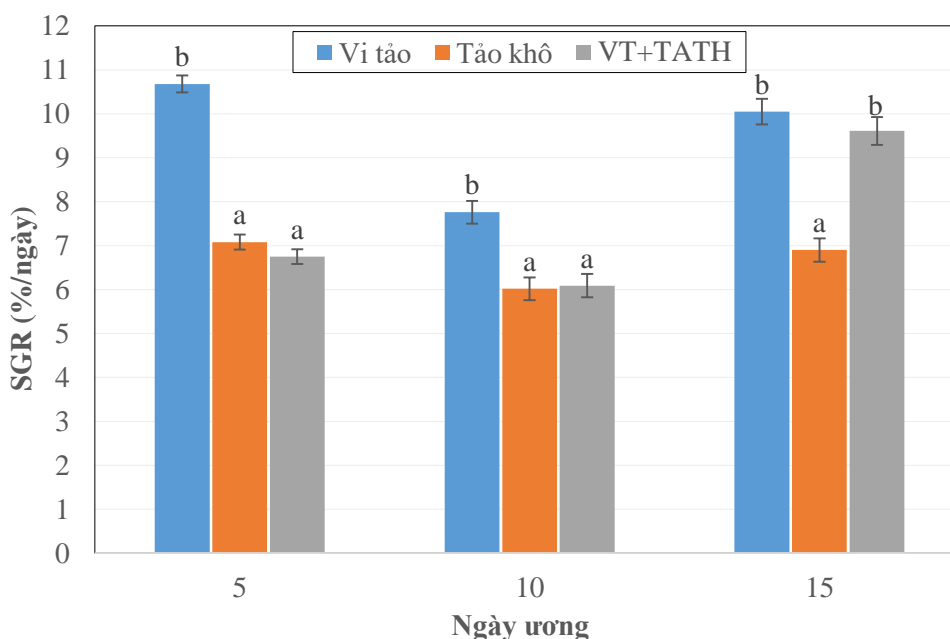
Sau 5 ngày đầu thí nghiệm, chiều dài của ấu trùng cao nhất ở nghiệm thức vi tảo ($189,8 \mu\text{m}$), cao hơn có ý nghĩa so với hai nghiệm thức còn lại ($p < 0,05$). Chiều dài của ấu trùng đều nhau ở nghiệm thức tảo khô và hỗn hợp vi tảo kết hợp thức ăn tổng hợp, dao động từ $155,8 - 158,3 \mu\text{m}$ và không khác biệt có ý nghĩa ($p > 0,05$). Tuy nhiên, từ ngày thứ 10 trở đi, tăng trưởng chiều dài của ấu trùng có xu hướng giống nhau, với giá trị lớn nhất ở nghiệm thức vi tảo, tiếp theo là ở nghiệm thức hỗn hợp vi tảo kết hợp thức ăn tổng hợp và thấp nhất là ở nghiệm thức tảo khô ($p < 0,05$).



Hình 3. 14: Tốc độ tăng trưởng bình quân (ADG) của ấu trùng nghêu lựa sử dụng các loại thức ăn khác nhau

ADG của ấu trùng nhều ở nghiệm thức cho ăn bằng vi tảo luôn cao hơn có ý nghĩa so với hai nghiệm thức còn lại. Đặc biệt, ADG của ấu trùng khi kết thúc thí nghiệm là 36,35 $\mu\text{m}/\text{ngày}$, cao gấp đôi so với giai đoạn trước. Đối với nghiệm thức tảo khô và hỗn hợp vi tảo kết hợp thức ăn tổng hợp, ADG tương đối đồng đều sau 10 ngày thí nghiệm và không khác biệt có ý nghĩa ($p>0,05$). Ở ngày thứ 15, ADG của ấu trùng ở nghiệm thức hỗn hợp vi tảo kết hợp thức ăn tổng hợp tăng mạnh (27,66 $\mu\text{m}/\text{ngày}$) và cao hơn có ý nghĩa so với nghiệm thức tảo khô (17,78 $\mu\text{m}/\text{ngày}$) ($p<0,05$).

Biến động SGR của ấu trùng giữa các nghiệm thức trong thời gian thí nghiệm được trình bày trong Hình 3.15. Kết quả cho thấy, SGR luôn đạt giá trị cao nhất ở nghiệm thức thức ăn là vi tảo và khác biệt có ý nghĩa so với hai nghiệm thức còn lại ở ngày 5 và 10 của thí nghiệm. Ở nghiệm thức tảo khô và nghiệm thức hỗn hợp vi tảo kết hợp thức ăn tổng hợp, SGR của ấu trùng là tương đương nhau và không có khác biệt có ý nghĩa ($p>0,05$). Tuy nhiên, khi kết thúc thí nghiệm, SGR ở nghiệm thức vi tảo (10,05 %/ngày) và hỗn hợp vi tảo kết hợp thức ăn tổng hợp là tương đương, dao động từ 9,61 – 10,05 %/ngày và cao hơn có ý nghĩa so với nghiệm thức tảo khô (6,9 %/ngày) ($p<0,05$).



Hình 3. 15: Tốc độ tăng trưởng đặc trưng (SGR) của ấu trùng nhều lựa sử dụng các loại thức ăn khác nhau

Sinh trưởng chiều dài của ấu trùng nghêu luôn đạt giá trị cao nhất khi sử dụng thức ăn là vi tảo do đây là thức ăn chính của loài. Kết quả này hoàn toàn phù hợp với các nghiên cứu đã công bố khi khẳng định vi tảo là thức ăn tốt nhất cho các loài Bivalvia có hình thức bắt mồi ăn lọc do đáp ứng được cả hai tiêu chí là phù hợp cỡ mồi và giá trị dinh dưỡng (Brown và ctv., 1989; Nguyễn Tác An và Nguyễn Văn Lục, 1994; Brown và ctv., 1997). Ở loài *P. malabarica*, Gireesh (2003) kết luận cho ăn tảo *N. salina* mật độ 5.000 tb/mL mang lại hiệu quả tốt nhất về thời gian chuyển giai đoạn (9 – 11 ngày), tốc độ sinh trưởng (19,8 $\mu\text{m}/\text{ngày}$) của ấu trùng. Manalo và Campos (2010) công bố loài tảo và mật độ tế bào có ảnh hưởng tới tốc độ lọc của nghêu lựa, trong đó tảo *I. galbana* ở mật độ 25×10^4 tb/mL là thích hợp nhất với tỷ lệ lọc tối đa là $0,67 \pm 0,05$ L/h/cá thể. Đối với nghêu trắng *M. lyrata* thức ăn tốt nhất cho ấu trùng cũng là các loài tảo *Chaetoceros* sp., *Chlorella* sp., *N. oculata* và *I. galbana* (Nguyễn Đình Hùng và ctv., 2003; Vũ Trọng Đại và ctv., 2016).

Ở nghiệm thức thức ăn là tảo khô và hỗn hợp vi tảo kết hợp thức ăn tổng hợp thì sinh trưởng của nghêu luôn thấp, mặc dù trong tự nhiên thức ăn của nghêu bao gồm cả mùn bã hữu cơ. Theo Nguyễn Hữu Phụng (1996), thành phần thức ăn của nghêu trắng *M. lyrata* gồm có mùn bã hữu cơ chiếm 75-90%, tảo chiếm 10-25%. Tại vùng biển phía Tây Cà Mau, nguồn thức ăn của nghêu lựa là mùn bã hữu cơ, mảnh vụn hữu cơ lơ lửng trong nước chiếm 70,6 – 69,2% tổng khối lượng thức ăn; tiếp đó là TVPD chiếm khoảng 14,4 – 19,1% và ĐVPD chỉ chiếm 0,8 – 1,1% (Đỗ Chí Sỹ, 2009). Ở loài vẹm *Geloina* sp., thức ăn là vi tảo (*Nannochloropsis* sp. và *Chaetoceros* sp. tỷ lệ 1:1) cho kết quả tốt nhất về tăng trưởng chiều dài của ấu trùng ở giai đoạn trôi nổi. Tuy nhiên, khi sử dụng thức ăn là hỗn hợp vi tảo và tảo khô (*Spirulina*) thì tăng trưởng của ấu trùng khác biệt không có ý nghĩa giữa tỷ lệ phối trộn 3:1 và 1:1 nhưng vẫn cao hơn có ý nghĩa so với ấu trùng ở nghiệm thức chỉ sử dụng thức ăn là tảo khô (Thao và ctv., 2019).

Như vậy, sinh trưởng của nghêu lựa trong thí nghiệm luôn thấp nhất ở nghiệm thức tảo khô là hoàn toàn phù hợp. Mặt khác, quan sát trong thời gian thí nghiệm nhận thấy ở nghiệm thức cho ăn bằng tảo khô và thức ăn tổng hợp thì chúng tan rất nhanh trong nước. Với thành phần protein cao (> 45%) thì tảo khô và thức ăn tổng hợp (Lansy và Frippak) chính là nguyên nhân làm ảnh hưởng xấu tới chất lượng nước của thí nghiệm, từ đó ảnh hưởng tới sinh trưởng của ấu trùng.

3.3.3.2 Tỷ lệ sống của ấu trùng nghêu lùa

Tỷ lệ sống của ấu trùng nghêu lùa giảm dần theo thời gian thí nghiệm và chịu ảnh hưởng của các loại thức ăn khác nhau (Bảng 3.19).

Bảng 3. 19: Tỷ lệ sống (%) của ấu trùng nghêu lùa sử dụng các loại thức ăn khác nhau

Ngày ương	Nghiệm thức thức ăn		
	Vi tảo	Tảo khô	Vi tảo + TATH
5	62,83 ± 7,17 ^b	45,16 ± 4,96 ^a	36,83 ± 2,37 ^a
10	28,17 ± 1,85 ^c	13,51 ± 0,36 ^a	17,58 ± 0,66 ^b
15	5,44 ± 0,78 ^b	1,48 ± 0,08 ^a	4,15 ± 0,32 ^b

Số liệu trình bày: trung bình ± sai số chuẩn (n=4). Số liệu có chữ cái khác nhau trong cùng hàng thể hiện sự sai khác có ý nghĩa ($p < 0,05$).

Sau 5 ngày, tỷ lệ sống cao nhất là 62,83% ghi nhận ở nghiệm thức vi tảo và khác biệt có ý nghĩa so với hai nghiệm thức còn lại ($p < 0,05$). Ở nghiệm thức tảo khô, tỷ lệ sống của ấu trùng (45,16%) cao hơn so với nghiệm thức cho ăn hỗn hợp vi tảo kết hợp thức ăn tổng hợp (36,83%) nhưng không khác biệt có ý nghĩa ($p > 0,05$). Tỷ lệ sống của ấu trùng có sự khác biệt giữa ba loại thức ăn ở ngày ương thứ 10, cao nhất là 28,17% ở nghiệm thức vi tảo, tiếp theo là hỗn hợp vi tảo kết hợp thức ăn tổng hợp (17,58%) và thấp nhất là thức ăn tảo khô (13,51%) ($p > 0,05$). Kết thúc thí nghiệm, tỷ lệ sống của ấu trùng tương đương ở nghiệm thức vi tảo và vi tảo kết hợp thức ăn tổng hợp, dao động 4,15 – 5,44% và đều cao hơn có ý nghĩa so với nghiệm thức tảo khô (1,48%) ($p < 0,05$).

Trong các nghiên cứu sản xuất giống nghêu lùa tại Thái Lan, Malaysia và Trung Quốc, các loài vi tảo như là *I. galbana*, *T. pseudonana* và *Ch. calcitrans* đều được sử dụng làm thức ăn cho ấu trùng với tỷ lệ sống cao nhất ở giai đoạn trôi nổi là 75% (Shamsuddin và ctv., 1987; Pongthana, 1988; Campos và ctv., 2010; Yi và ctv., 2010). Gireesh và ctv. (2009) công bố tỷ lệ sống của nghêu *P. malabarica* giai đoạn ấu trùng dính vỏ cao nhất là 85,6% khi sử dụng thức ăn là tảo *I. galbana*. Tương tự, tỷ lệ sống của vọt *Geloina* sp. đạt cao nhất là 10,5% sau 17 ngày ương khi sử dụng thức ăn là tảo *Nannochloropsis* sp. và *Chaetoceros* sp. tỷ lệ 1:1. Tuy nhiên, khi thay thế một phần vi tảo bằng tảo khô *Spirulina*, tỷ lệ sống của ấu trùng giảm mạnh, dao động từ 4,5 – 5,8% tương ứng với tỷ lệ thay thế là 30% và 50%. Tỷ lệ sống của ấu trùng là thấp nhất (3,9%) khi sử dụng thức ăn hoàn toàn là tảo khô (Thao và ctv., 2019).

Mặc dù tỷ lệ sống của ấu trùng ở nghiệm thức cho ăn bằng hỗn hợp vi tảo kết hợp thức ăn tổng hợp thấp hơn so với nghiệm thức cho ăn bằng vi tảo sau 10 ngày thí nghiệm,

nhưng lại không khác biệt có ý nghĩa ở ngày thứ 15 khi ấu trùng hoàn tất quá trình biến thái, chuyển từ giai đoạn sống trôi nổi sang giai đoạn sống đáy; kết quả này có ý nghĩa rất quan trọng trong thực tiễn sản xuất. Hiện nay, tại trại sản xuất giống động vật thân mềm việc thay thế một phần vi tảo bằng thức ăn tổng hợp để ương nuôi ấu trùng nghêu lưa còn rất hạn chế, mặc dù có thể mang lại nhiều ưu điểm như thao tác cho ăn đơn giản và đặc biệt là giảm sự phụ thuộc vào nguồn vi tảo nuôi sinh khối. Kết quả nghiên cứu về tỷ lệ sống của ấu trùng như trên, có thể được áp dụng trong các trại sản xuất giống để thay thế một phần vi tảo bằng thức ăn tổng hợp nhằm góp phần nâng cao hiệu quả trong sản xuất giống nghêu lưa cũng như các loài động vật thân mềm hai mảnh vỏ do đơn giản hóa được kỹ thuật cho ăn và tăng tính chủ động trong sản xuất.

Tỷ lệ sống của ấu trùng khi cho ăn bằng tảo khô luôn thấp nhất trong quá trình thí nghiệm. Kết quả này là hoàn toàn phù hợp với quy luật phát triển chung của động vật thân mềm. Theo Brown và ctv. (1989), nhiều nghiên cứu đã được thực hiện nhằm đánh giá khả năng thay thế vi tảo trong ương nuôi ấu trùng các loài Bivalvia như sử dụng tảo khô, tảo cô đặc bảo quản lạnh hay bổ sung thức ăn nhân tạo như bột khoai tây. Tuy nhiên, kết quả ương nuôi ấu trùng mang lại chưa được như mong đợi khi so sánh với việc sử dụng thức ăn là vi tảo. Vì vậy, vi tảo vẫn đang được sử dụng phổ biến và là nguồn thức ăn không thể thiếu trong quá trình ương nuôi ấu trùng nghêu lưa nói riêng cũng như các loài động vật thân mềm hai mảnh vỏ nói chung nhờ vào sự phù hợp về cỡ môi và thành phần dinh dưỡng thích hợp khi có hàm lượng cao các bio-enzyme, axit béo không no (DHA, EPA, ARA) giúp ấu trùng dễ dàng tiêu hóa và hấp thụ. Các vitamin có trong vi tảo cũng góp phần xúc tác cho các phản ứng sinh hóa, tổng hợp protein, hình thành cấu trúc tế bào và giúp ấu trùng tăng trưởng tốt hơn (Brown và ctv., 1989; Martinez-Fernandez và ctv., 2006). Bên cạnh vai trò là nguồn dinh dưỡng thiết yếu cho ấu trùng và con giống của các loài động vật thủy sản, thì các loài vi tảo còn có tác dụng ổn định môi trường như cung cấp oxy hòa tan và hấp thụ NH_3 trong các hệ thống ương nuôi ấu trùng; do đó tỷ lệ sống của ấu trùng ở nghiệm thức sử dụng thức ăn là vi tảo và hỗn hợp vi tảo kết hợp thức ăn tổng hợp luôn cao hơn so với nghiệm thức tảo khô (Brown và ctv., 1989).

3.3.4 Ảnh hưởng của mật độ ương lên sinh trưởng và tỷ lệ sống của ấu trùng nghêu lưa (TN6)

3.3.4.1 Sinh trưởng của ấu trùng nghêu lưa

Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của mật độ lên sinh trưởng của ấu trùng nghêu lưa được trình bày trong Bảng 3. 20.

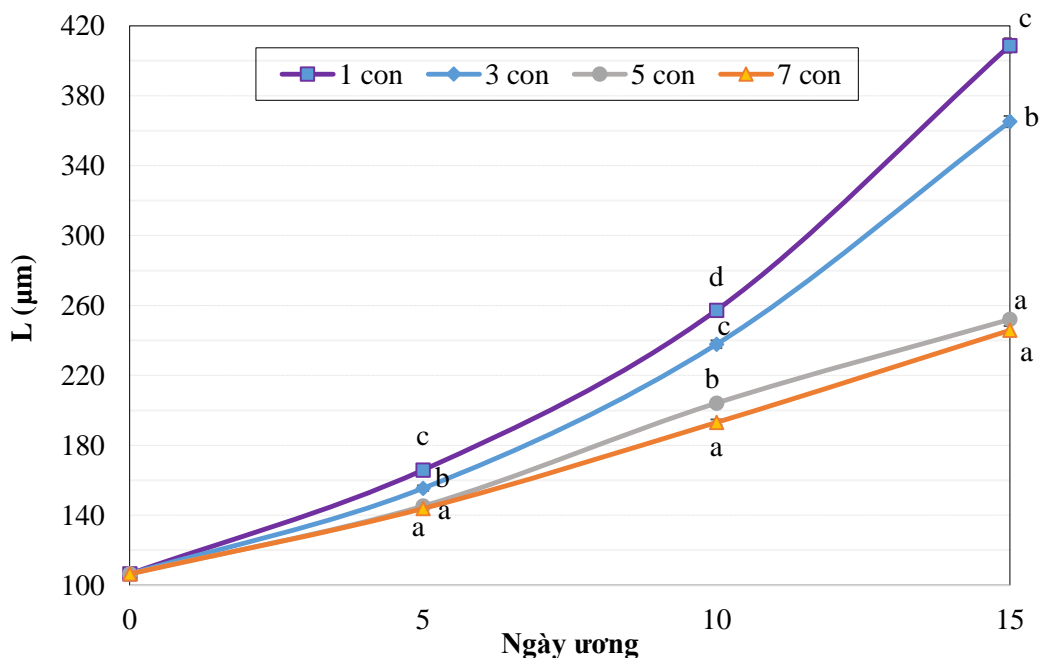
Bảng 3. 20: Sinh trưởng của ấu trùng nghêu lựa ở các mật độ khác nhau

Mật độ (con/mL)	L đầu (μm)	Chỉ tiêu		
		L cuối (μm)	ADG ($\mu\text{m}/\text{ngày}$)	SGR (%/ngày)
1	106,46 \pm 1,60	408,75 \pm 4,09 ^c	20,15 \pm 0,27 ^c	8,94 \pm 0,07 ^c
3	106,46 \pm 1,60	365,21 \pm 3,19 ^b	17,25 \pm 0,21 ^b	8,21 \pm 0,07 ^b
5	106,46 \pm 1,60	252,03 \pm 2,01 ^a	9,70 \pm 0,15 ^a	5,73 \pm 0,08 ^a
7	106,46 \pm 1,60	245,84 \pm 2,38 ^a	9,29 \pm 0,17 ^a	5,56 \pm 0,08 ^a

Số liệu trình bày: trung bình \pm sai số chuẩn (n=4). Số liệu có chữ cái khác nhau trong cùng cột thể hiện sự sai khác có ý nghĩa ($p < 0,05$).

Giá trị chiều dài, ADG và SGR của ấu trùng trong thời gian thí nghiệm có chung xu hướng và tỷ lệ nghịch với sự gia tăng của mật độ ương. Chiều dài (408,75 μm), ADG (20,15 $\mu\text{m}/\text{ngày}$) và SGR (8,94 %/ngày) của ấu trùng ở mật độ 1 con/mL luôn cao nhất và khác biệt có ý nghĩa so với các mật độ ương khác ($p < 0,05$). Tương tự, mật độ 3 con/mL cũng có các chỉ tiêu sinh trưởng cao hơn có ý nghĩa so với mật độ 5 và 7 con/mL. Các chỉ tiêu sinh trưởng của ấu trùng ở mật độ 5 và 7 con/mL rất thấp và không ghi nhận sự sai khác có ý nghĩa ($p > 0,05$).

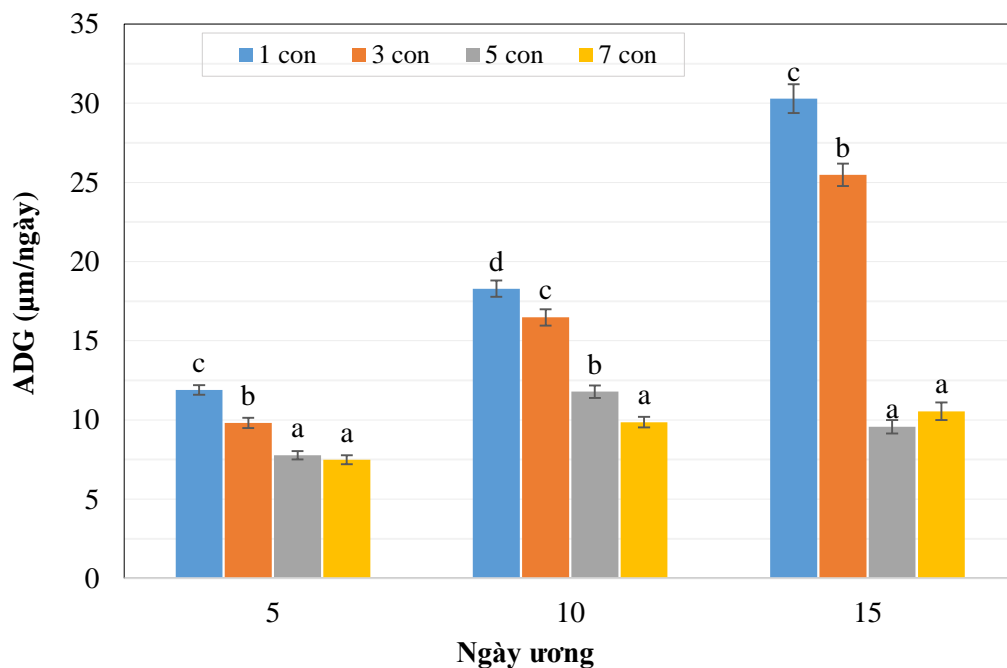
Tăng trưởng chiều dài của ấu trùng trong thời gian thí nghiệm trình bày trong Hình 3.16

**Hình 3. 16: Tăng trưởng chiều dài (μm) của ấu trùng nghêu lựa ở các mật độ khác nhau**

Sau 5 ngày thí nghiệm, chiều dài của ấu trùng tăng không đáng kể so với chiều dài ban đầu, với giá trị lớn nhất ở nghiệm thức 1 con/mL (165,89 μm), tiếp đến là 3

con/mL (155,48 μm) và đều cao hơn có ý nghĩa so với mật độ 5 và 7 con/mL ($p < 0,05$). Đến ngày thứ 10, tăng trưởng chiều dài của ấu trùng có sự khác biệt rõ rệt giữa các nghiệm thức với giá trị lớn nhất ở mật độ 1 con/mL và thấp nhất ở mật độ 7 con/mL. Kết thúc thí nghiệm, chiều dài của ấu trùng ở nghiệm thức 1 con/mL tăng rất nhanh và đạt giá trị cao nhất là 408,75 μm , tiếp đến là ở nghiệm thức 3 con/mL (365,21 μm) cao hơn có ý nghĩa so với chiều dài ấu trùng ở nghiệm thức 5 và 7 con/mL ($p < 0,05$).

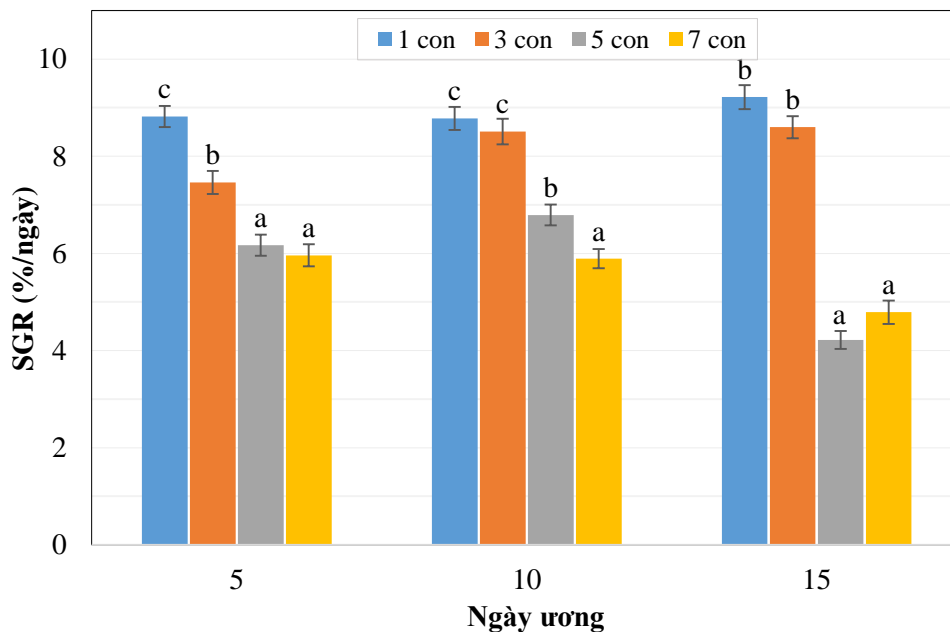
Tương tự chiều dài, giá trị ADG của ấu trùng cũng có chung xu hướng với giá trị lớn nhất ở mật độ thấp và giảm dần ở những mật độ cao hơn. Ở nghiệm thức mật độ cao, chỉ ghi nhận được ADG khác biệt có ý nghĩa ở ngày thứ 10, lần lượt là 11,79 $\mu\text{m}/\text{ngày}$ ở mật độ 5 con/mL cao hơn so với 9,86 $\mu\text{m}/\text{ngày}$ ở mật độ 7 con/mL ($p < 0,05$). Nhìn chung, ADG của ấu trùng ở mật độ 1 và 3 con/mL tăng lên rõ rệt theo thời gian thí nghiệm, từ 11,90 $\mu\text{m}/\text{ngày}$ và 9,82 $\mu\text{m}/\text{ngày}$ ở ngày thứ 5 lên gần gấp 3 lần khi kết thúc thí nghiệm (tương ứng 30,29 $\mu\text{m}/\text{ngày}$ và 25,47 $\mu\text{m}/\text{ngày}$). Trong khi đó, ADG ở hai nghiệm thức mật độ cao là 5 và 7 con/mL tương đối ổn định trong thời gian thí nghiệm (Hình 3.17).



Hình 3. 17: Tốc độ tăng trưởng bình quân (ADG) của ấu trùng ghêu lưa ở các mật độ ương khác nhau

SGR của ấu trùng ghêu lưa cũng ảnh hưởng bởi mật độ ương và cho thấy sự khác biệt có ý nghĩa, tuy nhiên xu hướng trái ngược trong thời gian thí nghiệm. Sau 5 ngày, SGR cao nhất (8,82 %/ngày) ở mật độ 1 con/mL tiếp đến là ở mật độ 3 con/mL

(7,46 %/ngày), đều cao hơn có ý nghĩa so với hai mật độ còn lại ($p < 0,05$). Đến ngày 10, SGR ở mật độ ương 1 và 3 con/mL tương đương, dao động 8,51 – 8,78 %/ngày và cao hơn có ý nghĩa so với mật độ 5 và 7 con/mL. SGR của ấu trùng ở mật độ 5 con/mL tăng lên so với trước (6,79 %/ngày) và cao hơn có ý nghĩa so với mật độ 7 con/mL (5,89 %/ngày). Kết thúc thí nghiệm, SGR ở mật độ ương 1 và 3 con/mL hầu như không thay đổi và cao hơn có ý nghĩa so với mật độ 5 và 7 con/mL. Như vậy, trong thời gian thí nghiệm SGR của ấu trùng ở mật độ thấp (1 và 3 con/mL) tương đối ổn định, trong khi ở mật độ ương cao (5 và 7 con/mL) thì SGR giảm so với ban đầu.



Hình 3. 18: Tốc độ tăng trưởng đặc trưng (SGR) của ấu trùng nghêu lụa ở các mật độ ương khác nhau

Sự sinh trưởng của nghêu lụa cũng như các loài động vật thân mềm hai mảnh vỏ là khác nhau tùy theo loài nhưng phụ thuộc rất lớn vào điều kiện môi trường và mật độ ương. Trong điều kiện môi trường không thuận lợi, nghêu hầu như không sinh trưởng hoặc tốc độ sinh trưởng âm (Quayle và Newkirk, 1989). Kết quả thí nghiệm đều ghi nhận tốc độ sinh trưởng của nghêu luôn đạt giá trị cao nhất ở mật độ ương thấp và giảm dần cùng với sự gia tăng của mật độ ương, đặc biệt sự sai khác có ý nghĩa giữa các mật độ ương ghi nhận rõ từ ngày ương thứ 10 đến khi kết thúc thí nghiệm.

Ở loài *P. malabarica*, Sivalingam và ctv. (2000), nghiên cứu ảnh hưởng của mật độ ương tới sinh trưởng của ấu trùng và công bố mật độ ương 1 con/3 mL là thích

hợp nhất cho ấu trùng nghêu *P. malabarica*. Theo Yan và ctv. (2006) tốc độ tăng trưởng của nghêu *M. mercenaria* chịu ảnh hưởng rõ rệt bởi mật độ ương. Chiều dài của ấu trùng giảm tỷ lệ nghịch với sự gia tăng của mật độ ương. Bên cạnh đó, thời gian biến thái của ấu trùng cũng kéo dài hơn khi mật độ ương cao hơn 15 ấu trùng/mL. Ở mật độ ương 5 – 10 ấu trùng/mL, tốc độ tăng trưởng của ấu trùng là tốt nhất. Cùng với sự gia tăng của mật độ ương, lượng chất thải từ ấu trùng tăng theo, chính là yếu tố bất lợi cho sinh trưởng của chúng. Ở mật độ ương cao, sự cạnh tranh về không gian sống và lượng thức ăn cũng là nguyên nhân làm cho tốc độ tăng trưởng của ấu trùng giảm so với ở mật độ ương thấp (Yan và ctv., 2006).

Theo Liu và ctv. (2006), mật độ 5 con/mL là tối ưu cho ương ấu trùng ngao đầu *M. meretrix* giai đoạn trôi nổi. Sau 7 ngày ương, chiều dài của ấu trùng luôn cao nhất (184,8 μm) ở mật độ 5 con/mL và khác biệt có ý nghĩa so với các mật độ ương cao (từ 10 – 60 con/mL). Tốc độ tăng trưởng đặc trưng của ấu trùng ghi nhận giá trị cao nhất là 8 %/ngày sau 3 ngày thí nghiệm ở mật độ 5 con/mL và giảm dần ở các mật độ cao. Tuy nhiên, từ ngày 3 tới khi kết thúc thí nghiệm, tốc độ tăng trưởng đặc trưng của ấu trùng rất thấp và không chịu ảnh hưởng của mật độ ương như giai đoạn đầu. Bên cạnh đó, thời gian chuyển giai đoạn sống đáy của ấu trùng xuất hiện nhanh nhất là sau 4 ngày ương ở mật độ 5 và 10 con/mL so với 5 đến 6 ngày ở các mật độ ương cao hơn.

Tại Khánh Hòa, Vũ Trọng Đại và ctv. (2016) kết luận mật độ ương nghêu trắng *M. lyrata* ở giai đoạn ấu trùng trôi nổi đảm bảo hiệu quả kinh tế là 10 con/mL với tốc độ tăng trưởng và tỷ lệ sống tương ứng là $33,6 \pm 2,5 \mu\text{m}/\text{ngày}$ và $51,3 \pm 6,8\%$ và $38,5 \pm 5,1 \mu\text{m}/\text{ngày}$ và $8,3 \pm 0,9\%$ ở giai đoạn ấu trùng sống đáy. Theo Thao và ctv. (2019), không ghi nhận sự khác biệt có ý nghĩa về tăng trưởng chiều dài của vọp *Geloina* sp. sau 9 ngày ương giữa các mật độ 2, 4 và 8 con/mL. Tuy nhiên, từ ngày ương thứ 12 tới 17, chiều dài của ấu trùng ở nghiệm thức mật độ thấp (2 con/mL) cao hơn có ý nghĩa so với mật độ ương cao (4 và 8 con/mL).

Tóm lại ở các mật độ ương cao, tốc độ tăng trưởng của ấu trùng rất thấp. Nguyên nhân là do sự gia tăng các hoạt động cạnh tranh về thức ăn và không gian sống giữa ấu trùng. Theo Loosanoff và Davis (1963), các loài bivalvia ở giai đoạn ấu trùng trôi nổi bơi lội và lọc thức ăn dựa vào hoạt động của các tiêm mao trên đĩa bơi. Sự gia tăng mật độ ương sẽ tạo ra xung đột giữa các ấu trùng dẫn tới hiện tượng co rút đột

ngọt của các đĩa bơi và kết quả là ức chế hoạt động lọc thức ăn của chúng (Cragg, 1980; Liu và ctv., 2006).

3.3.4.2 Tỷ lệ sống của ấu trùng nghêu lụa

Tỷ lệ sống của ấu trùng ở các nghiệm thức mật độ ương trình bày trong Bảng 3. 21.

Bảng 3. 21: Tỷ lệ sống (%) của ấu trùng nghêu lụa ở các mật độ khác nhau

Ngày ương	Mật độ (con/mL)			
	1	3	5	7
5	82,33 ± 3,66 ^c	69,22 ± 7,17 ^{bc}	66,13 ± 3,199 ^b	40,39 ± 3,21 ^a
10	18,67 ± 0,62 ^d	14,95 ± 1,19 ^c	9,53 ± 1,10 ^b	6,04 ± 0,65 ^a
15	6,43 ± 1,08 ^b	6,19 ± 0,83 ^b	3,12 ± 0,58 ^a	1,31 ± 0,18 ^a

Số liệu trình bày: trung bình ± sai số chuẩn (n=4). Số liệu có ký tự chữ cái khác nhau trong cùng hàng thể hiện sự sai khác có ý nghĩa (p<0,05).

Kết quả nghiên cứu cho thấy, tỷ lệ sống của ấu trùng giảm dần theo thời gian và tỷ lệ nghịch với mật độ ương. Sau 5 ngày thí nghiệm, tỷ lệ sống của ấu trùng đạt cao nhất ở mật độ 1 con/mL (82,33%) cao hơn có ý nghĩa so với mật độ 5 (66,13%) và 7 con/mL (40,39%) (p<0,05). Tỷ lệ sống của ấu trùng ở mật độ 3 con/mL là 69,22%, không có sự khác biệt so với mật độ 1 và 5 con/mL, nhưng vẫn cao hơn có ý nghĩa so với mật độ 7 con/mL (p<0,05). Tỷ lệ sống của ấu trùng cho thấy sự sai khác rõ rệt giữa các nghiệm thức ở ngày thứ 10, với giá trị lớn nhất ở mật độ 1 con/mL (18,67%), tiếp theo là mật độ 3 con (14,95%) và thấp nhất là ở mật độ 7 con/mL (6,04%) (p<0,05). Kết thúc thí nghiệm, tỷ lệ sống của ấu trùng ở nghiệm thức 1 và 3 con/mL là tương đương, dao động từ 6,19 – 6,43% và cao hơn có ý nghĩa so với hai mật độ còn lại (p<0,05). Ở nghiệm thức 5 con/mL, tỷ lệ sống của ấu trùng là 3,12% cao hơn so với mật độ 7 con/mL (1,31%) nhưng không khác biệt có ý nghĩa (p>0,05).

Nhiều nghiên cứu công bố tỷ lệ sống của các loài *Bivalvia* chịu ảnh hưởng của mật độ ương, đặc biệt trong giai đoạn ấu trùng sống trôi nổi. Theo Orensanz và ctv. (1991), ở mật độ ương cao, sự cạnh tranh về thức ăn, ôxy hòa tan và hiện tượng stress gây ra bởi sự biến động các yếu tố môi trường là nguyên nhân chính làm giảm tỷ lệ sống của ấu trùng. Gireesh và ctv. (2009) công bố tỷ lệ sống của nghêu *P. malabarica* đạt cao nhất là 32,4% khi ương ở mật độ thấp từ 3 – 5 con/mL. Tương tự, kết quả nghiên cứu của Annabelle và Nabuab (2010) cũng ghi nhận tỷ lệ sống của nghêu *P.*

undulata dao động từ 1,7 – 2,8% sau 13 ngày ương ở mật độ 5 con/mL và giảm mạnh ở mật độ ương cao hơn. Ở loài vọp *Geloina* sp. tỷ lệ sống của ấu trùng sau 17 ngày ương luôn đạt giá trị cao nhất ở mật độ 2.000 con/L, tương ứng 10,3% và giảm mạnh ở mật độ ương 4.000 và 8.000 con/L (lần lượt 6,6% và 6,4%) (Thao và ctv., 2019). Tuy nhiên, nghiên cứu của Liu và ctv. (2006) và Yan và ctv. (2006) lại không ghi nhận mối tương quan giữa tỷ lệ sống và mật độ ương của ấu trùng ở hai loài ngao đầu *M. meretrix* và nghêu *Ruditapes philippinarum*. Tỷ lệ sống của ngao đầu *M. meretrix* đạt cao nhất ở mật độ 10 con/mL nhưng không khác biệt có ý nghĩa so với mật độ 5, 40 và 60 con/mL (Liu và ctv., 2006). Tương tự, nghêu Manila *R. philippinarum* có tỷ lệ sống cao nhất ở mật độ 10 con/mL (72,83%) nhưng không có sự khác biệt so với các mật độ ương khác (Yan và ctv., 2006).

Hiện nay, tại các trại sản xuất giống động vật thân mềm hai mảnh vỏ, tỷ lệ sống của ấu trùng chịu ảnh hưởng của nhiều yếu tố, trong đó nguyên nhân chính làm giảm tỷ lệ sống của ấu trùng liên quan mật thiết với việc suy giảm chất lượng nước của bể ương. Duy trì điều kiện môi trường bể ương thích hợp cho ấu trùng ở điều kiện mật độ ương cao khó hơn nhiều so với ở mật độ ương thấp. Trong thời gian thí nghiệm, mặc dù những biến động của điều kiện môi trường ở các nghiệm thức mật độ cao là nhỏ và trong ngưỡng chịu đựng của ấu trùng nhưng sự biến động thường xuyên chính là nguyên nhân gây ra stress dẫn tới hiện tượng lắng đáy đột ngột của ấu trùng, từ đó làm tăng tỷ lệ chết của ấu trùng ở mật độ ương cao (Liu *et al.*, 2006). Trong các thí nghiệm mật độ ương, ấu trùng nghêu lựa được cho ăn bằng vi tảo nên không những cung cấp nguồn dinh dưỡng thiết yếu, mà còn góp phần ổn định môi trường và hấp thụ khí NH₃ (Brown và ctv., 1989); do đó tỷ lệ sống của ấu trùng cao hơn so với các nghiệm thức về độ mặn và thức ăn ở trên.

3.4 Kỹ thuật ương nuôi ấu trùng nghêu lựa giai đoạn sống đáy và nghêu giống

3.4.1 Ảnh hưởng kết hợp của thức ăn và độ mặn lên sinh trưởng và tỷ lệ sống của ấu trùng sống đáy và nghêu giống (TN7)

3.4.1.1 Điều kiện môi trường thí nghiệm

Bảng 3.22 cho thấy các chỉ tiêu môi trường giữa các nghiệm thức trong thời gian thí nghiệm ít biến động.

Bảng 3. 22: Diễn biến các yếu tố môi trường thí nghiệm

Nghiệm thức	Nhiệt độ (°C)	Độ mặn (‰)	pH	DO (mgO ₂ /L)	N-NO ₂ (mg/L)	Độ kiềm (mgCaCO ₃ /L)
VT-23‰	27,8 ± 0,60	23,4 ± 0,20	7,4 – 8,3	6,4 ± 0,38	0,28 ± 0,05	98,5 ± 7,66
TK-23‰	28,0 ± 0,58	23,6 ± 0,20	7,5 – 8,3	6,0 ± 0,37	0,42 ± 0,05	101,4 ± 7,55
VT+TATH-23‰	27,8 ± 0,48	23,4 ± 0,20	7,5 – 8,2	6,5 ± 0,30	0,47 ± 0,07	95,5 ± 8,85
VT-27‰	27,8 ± 0,60	27,5 ± 0,22	7,4 – 8,3	6,5 ± 0,34	0,28 ± 0,05	98,5 ± 7,66
TK-27‰	27,7 ± 0,67	27,3 ± 0,21	7,5 – 8,3	6,0 ± 0,37	0,41 ± 0,04	101,4 ± 7,54
VT+TATH-27‰	27,5 ± 0,43	27,4 ± 0,20	7,5 – 8,2	6,3 ± 0,21	0,48 ± 0,06	95,5 ± 7,55
VT-31‰	27,8 ± 0,60	31,5 ± 0,22	7,4 – 8,3	6,5 ± 0,34	0,27 ± 0,04	98,5 ± 7,66
TK-31‰	27,7 ± 0,66	31,7 ± 0,21	7,5 – 8,3	6,5 ± 0,30	0,42 ± 0,04	104,4 ± 5,50
VT+TATH-31‰	28,0 ± 0,58	31,8 ± 0,25	7,6 – 8,2	6,3 ± 0,21	0,38 ± 0,05	101,4 ± 7,55
VT-35‰	27,8 ± 0,60	35,5 ± 0,22	7,4 – 8,3	6,8 ± 0,18	0,28 ± 0,04	104,4 ± 5,50
TK-35‰	28,2 ± 0,60	35,2 ± 0,17	7,5 – 8,3	6,5 ± 0,44	0,40 ± 0,05	101,4 ± 7,54
VT+TATH-35‰	28,0 ± 0,52	35,4 ± 0,20	7,4 – 8,3	6,5 ± 0,30	0,43 ± 0,07	104,4 ± 7,18

VT: vi tảo (*N. oculata*, *Chlorella* sp., *I. galbana*), TK: tảo khô (*Spirulina*), VT+TATH: vi tảo và thức ăn tổng hợp (Lansy, Frippak)

Thí nghiệm được thực hiện trong thời gian mùa hè nên nhiệt độ nước khá cao, dao động từ 27,5 - 28,2°C và ít chênh lệch giữa các nghiệm thức. Độ mặn được theo dõi hàng ngày và điều chỉnh ổn định theo độ mặn của các nghiệm thức. Giá trị pH ít biến động, dao động từ 7,4 – 8,3 trong suốt thời gian thí nghiệm. Tương tự, hàm lượng DO luôn được duy trì trong ngưỡng cao thích hợp cho ấu trùng nghêu lựa, trung bình dao động từ 6,0 – 6,8 (mgO₂/L). Tuy nhiên, hàm lượng DO có xu hướng cao hơn ở các nghiệm thức sử dụng thức ăn là vi tảo so với nghiệm thức chỉ sử dụng tảo khô. Theo Pongthana (1988), Yi và ctv. (2010), các yếu tố môi trường thích hợp trong sản xuất giống nghêu lựa như sau: nhiệt độ 23,0 – 29,6°C, độ mặn 28 – 34 ‰, pH 7,8 – 8,4 và DO 4 – 7 mgO₂/L.

Hàm lượng N-NO₂ trung bình của các nghiệm thức dao động từ 0,28 – 0,48 mg/L và thích hợp cho sinh trưởng và phát triển của nghêu. Trong thời gian thí nghiệm, ghi nhận giá trị N-NO₂ luôn có xu hướng cao hơn ở các nghiệm thức sử dụng thức ăn là tảo khô và thức ăn tổng hợp so với nghiệm thức chỉ sử dụng vi tảo. Tuy nhiên, các thí nghiệm được thay nước định kỳ, do đó hàm lượng N-NO₂ không ảnh hưởng tới ấu trùng sống đáy và nghêu giống. Độ kiềm của các thí nghiệm cao và ổn định, dao động

95,5 – 104,4 mgCaCO₃/L và nằm trong ngưỡng thích hợp cho các loài động vật thân mềm cũng như nghêu lùa (Chanrachkij, 2013). Ở các nghiệm thức độ mặn cao, độ kiềm luôn cao hơn so với các nghiệm thức độ mặn thấp.

3.4.1.2 Sinh trưởng của ấu trùng và nghêu lùa giống

Kết quả tăng trưởng chiều dài của nghêu lùa ở các nghiệm thức kết hợp thức ăn và độ mặn trình bày ở Bảng 3.23.

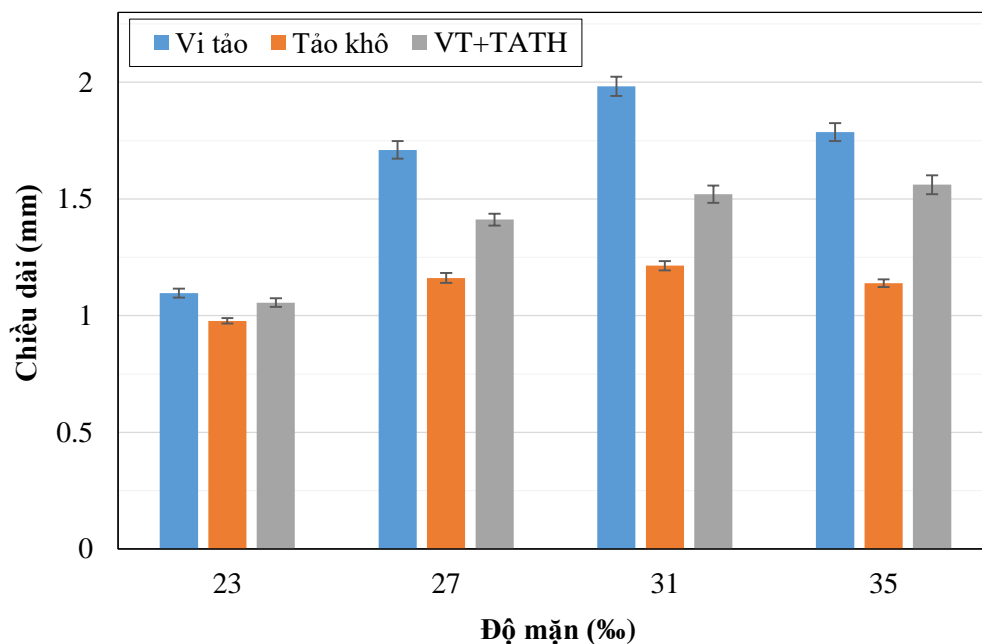
Bảng 3. 23: Tăng trưởng chiều dài (mm) của ấu trùng sống đáy và nghêu lùa giống ở các nghiệm thức thức ăn và độ mặn khác nhau

Chỉ tiêu	Nghiệm thức	Ngày thí nghiệm				
		5	10	15	20	25
Thức ăn - độ mặn (‰)	VT-23	0,34±0,008	0,57±0,010	0,89±0,015	1,08±0,018	1,31±0,022
	VT-27	0,40±0,011	0,71±0,010	1,20±0,019	1,61±0,032	1,92±0,041
	VT-31	0,41±0,009	0,69±0,009	1,21±0,023	1,78±0,040	2,20±0,045
	VT-35	0,38±0,008	0,55±0,006	1,06±0,018	1,57±0,038	2,00±0,042
	TK-23	0,33±0,006	0,53±0,011	0,85±0,017	1,01±0,012	1,19±0,014
	TK-27	0,36±0,005	0,52±0,008	0,89±0,021	1,09±0,018	1,38±0,025
	TK-31	0,37±0,006	0,56±0,008	0,93±0,019	1,17±0,021	1,43±0,023
	TK-35	0,36±0,006	0,57±0,007	0,91±0,020	1,14±0,021	1,35±0,019
	VT+TATH-23	0,34±0,006	0,56±0,012	0,90±0,018	1,04±0,016	1,27±0,021
	VT+TATH-27	0,36±0,005	0,57±0,013	0,92±0,013	1,26±0,024	1,63±0,029
	VT+TATH-31	0,36±0,006	0,58±0,010	0,96±0,014	1,34±0,034	1,74±0,040
	VT+TATH-35	0,34±0,005	0,58±0,006	0,98±0,019	1,41±0,031	1,78±0,044
Độ mặn (‰)	23	0,34±0,004 ^a	0,55±0,006 ^a	0,88±0,009 ^a	1,04±0,009 ^a	1,26±0,012 ^a
	27	0,37±0,005 ^{bc}	0,60±0,007 ^b	1,01±0,013 ^{bc}	1,32±0,019 ^b	1,64±0,022 ^b
	31	0,38±0,004 ^c	0,61±0,006 ^b	1,03±0,013 ^c	1,43±0,023 ^d	1,79±0,027 ^d
	35	0,36±0,003 ^b	0,56±0,004 ^a	0,98±0,012 ^b	1,37±0,020 ^c	1,71±0,025 ^c
Thức ăn	VT	0,38±0,004 ^Y	0,63±0,005 ^Z	1,09±0,011 ^Z	1,51±0,020 ^Z	1,86±0,024 ^Z
	TK	0,36±0,003 ^X	0,54±0,004 ^X	0,89±0,009 ^X	1,10±0,010 ^X	1,34±0,011 ^X
	VT+TATH	0,35±0,003 ^X	0,57±0,005 ^Y	0,94±0,008 ^Y	1,26±0,015 ^Y	1,60±0,020 ^Y
P độ mặn		<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
P thức ăn		<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
P độ mặn * thức ăn		0,131	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001

Số liệu trình bày: trung bình ± sai số chuẩn (n=4). Số liệu có chữ cái in thường khác nhau trong cùng cột thể hiện sự sai khác có ý nghĩa giữa các độ mặn; chữ cái in hoa khác nhau trong cùng cột thể hiện sự sai khác có ý nghĩa giữa các loại thức ăn (p<0,05). VT: vi tảo (*N. oculata*, *Chlorella* sp., *I. galbana*), TK: tảo khô (*Spirulina*), VT+TATH: vi tảo và thức ăn tổng hợp (Lansy, Frippak)

Bảng 3.23 cho thấy, thức ăn và độ mặn ảnh hưởng tới tăng trưởng chiều dài của ấu trùng sống đáy và nghêu giống trong thời gian thí nghiệm. Chiều dài của nghêu lựa ở nhóm nghiệm thức độ mặn 31‰ luôn có giá trị cao nhất và thấp nhất ở nghiệm thức độ mặn 23‰ ($p < 0,05$). Sau 15 ngày thí nghiệm, chiều dài của nghêu lựa không có sự khác biệt giữa nghiệm thức độ mặn 31‰ so với độ mặn 27‰ ($p > 0,05$). Độ mặn 23‰, chiều dài của nghêu lựa luôn có giá trị thấp nhất trong suốt thời gian thí nghiệm. Ở nghiệm thức độ mặn 35‰, chiều dài của nghêu lựa cao hơn có ý nghĩa so với nghiệm thức 27‰ ở ngày thí nghiệm thứ 20 và 25 ($p < 0,05$). Tương tự, ở các nghiệm thức sử dụng thức ăn là vi tảo, chiều dài của ấu trùng và nghêu giống luôn đạt giá trị cao nhất và thấp nhất là ở các nghiệm thức thức ăn là tảo khô ($p < 0,05$).

Kết quả nghiên cứu cũng cho thấy có ảnh hưởng kết hợp của yếu tố mật độ và thức ăn lên sinh trưởng chiều dài của ấu trùng sống đáy và nghêu giống từ ngày thí nghiệm thứ 5 trở đi, trong đó, chiều dài của nghêu luôn đạt cao nhất ở nghiệm thức độ mặn 31‰ kết hợp với thức ăn là vi tảo, tương ứng là $2,20 \pm 0,045$ mm ($p < 0,05$).



Hình 3. 19: Chiều dài (mm) của ấu trùng sống đáy và nghêu lựa giống ở các nghiệm thức thức ăn và độ mặn khác nhau sau 25 ngày thí nghiệm

Tốc độ tăng trưởng bình quân của nghêu lựa trong thời gian thí nghiệm được trình bày trong Bảng 3.24.

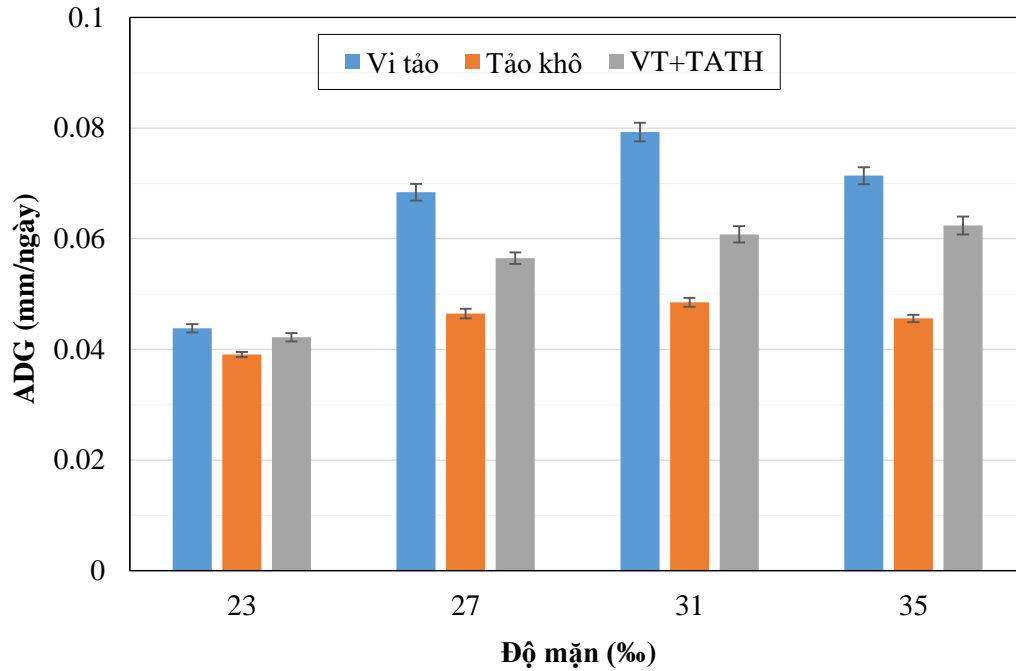
Bảng 3. 24: Tốc độ tăng trưởng bình quân (ADG, mm/ngày) của ấu trùng sống đáy và nghêu lựa giống ở các nghiệm thức thức ăn và độ mặn khác nhau

Chỉ tiêu	Nghiệm thức	Ngày thí nghiệm				
		5	10	15	20	25
Thức ăn - Độ mặn (%)	VT-23	0,025±0,0014	0,046±0,0018	0,063±0,0017	0,038±0,0015	0,046±0,0020
	VT-27	0,036±0,0018	0,064±0,002	0,098±0,0025	0,082±0,0036	0,063±0,0028
	VT-31	0,038±0,0013	0,058±0,0014	0,103±0,0034	0,113±0,005	0,084±0,0041
	VT-35	0,033±0,0014	0,035±0,0014	0,102±0,0026	0,101±0,0052	0,087±0,0047
	TK-23	0,024±0,0008	0,039±0,0016	0,064±0,0015	0,032±0,0015	0,037±0,0017
	TK-27	0,029±0,0007	0,032±0,001	0,073±0,0029	0,040±0,0016	0,058±0,0023
	TK-31	0,033±0,0012	0,038±0,0014	0,073±0,0027	0,049±0,002	0,052±0,0024
	TK-35	0,029±0,0011	0,041±0,0014	0,069±0,0031	0,046±0,002	0,043±0,0015
	VT+TATH-23	0,024±0,0010	0,045±0,0022	0,068±0,0017	0,029±0,001	0,046±0,0023
	VT+TATH-27	0,029±0,0009	0,041±0,0023	0,072±0,0017	0,068±0,003	0,073±0,0025
	VT+TATH-31	0,029±0,0011	0,043±0,0019	0,077±0,0015	0,075±0,0047	0,079±0,0037
	VT+TATH-35	0,026±0,0010	0,046±0,0013	0,081±0,0029	0,086±0,003	0,074±0,0034
Độ mặn (%)	23	0,024±0,0006 ^a	0,043±0,0011 ^b	0,065±0,0009 ^a	0,033±0,0008 ^a	0,043±0,0012 ^a
	27	0,032±0,0007 ^c	0,045±0,0013 ^{bc}	0,081±0,0015 ^b	0,063±0,0019 ^b	0,064±0,0015 ^b
	31	0,034±0,0007 ^d	0,046±0,001 ^c	0,085±0,0017 ^b	0,079±0,0028 ^c	0,072±0,0021 ^c
	35	0,029±0,0007 ^b	0,040±0,0008 ^a	0,084±0,0018 ^b	0,078±0,0024 ^c	0,068±0,0022 ^{bc}
Thức ăn	VT	0,033±0,0008 ^Z	0,051±0,0010 ^Z	0,092±0,015 ^Z	0,083±0,0024 ^Z	0,070±0,0019 ^Y
	TK	0,029±0,0005 ^Y	0,037±0,0007 ^X	0,070±0,0013 ^X	0,042±0,0009 ^X	0,047±0,0011 ^X
	VT+TATH	0,027±0,0005 ^X	0,044±0,0010 ^Y	0,074±0,001 ^Y	0,064±0,0019 ^Y	0,068±0,0016 ^Y
P độ mặn	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	
P thức ăn	0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	
P độ mặn * thức ăn	0,018	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	

Số liệu trình bày: trung bình ± sai số chuẩn (n=4). Số liệu có chữ cái in thường khác nhau trong cùng cột thể hiện sự sai khác có ý nghĩa giữa các độ mặn; chữ cái in hoa khác nhau trong cùng cột thể hiện sự sai khác có ý nghĩa giữa các loại thức ăn (p<0,05). VT: vi tảo (*N. oculata*, *Chlorella* sp., *I. galbana*), TK: tảo khô (*Spirulina*), VT+TATH: vi tảo và thức ăn tổng hợp (Lansy, Frippak)

Tốc độ tăng trưởng bình quân (ADG) của ấu trùng sống đáy và nghêu giống chịu ảnh hưởng của yếu tố độ mặn, với giá trị cao nhất ở độ mặn 31‰ và thấp nhất ở độ mặn 23‰ (p<0,05). Ở ngày thí nghiệm thứ 10 và 15, giá trị ADG của nghêu lựa không có sự sai khác có ý nghĩa giữa độ mặn 27‰ so với độ mặn 31‰ (p>0,05). Tương tự, sau 20

và 25 ngày thí nghiệm, ADG của nghêu lựa cũng không có sự khác biệt giữa độ mặn 31‰ so với độ mặn 35‰ ($p > 0,05$). Ở các nghiệm thức thức ăn, ADG ghi nhận giá trị cao nhất khi sử dụng thức ăn là vi tảo, tiếp đến là nghiệm thức kết hợp VT+TATH, và thấp nhất là nghiệm thức tảo khô ($p < 0,05$). Ở ngày thí nghiệm thứ 25, ADG của nghêu lựa ở nghiệm thức vi tảo không sai khác có ý nghĩa so với nghiệm thức VT+TATH, lần lượt là $0,070 \pm 0,0019$ (mm/ngày) và $0,068 \pm 0,0016$ (mm/ngày) ($p > 0,05$).



Hình 3. 20: Tốc độ tăng trưởng bình quân (mm/ngày) của ấu trùng sống đáy và nghêu lựa giống ở các nghiệm thức thức ăn và độ mặn khác nhau sau 25 ngày thí nghiệm

Sau 25 ngày thí nghiệm, ADG của ấu trùng sống đáy và nghêu giống luôn đạt giá trị cao nhất ở các nghiệm thức thức ăn là vi tảo và thấp nhất là thức ăn tảo khô ($p < 0,05$). Trong khi đó, ở độ mặn 31‰, ADG của nghêu lựa đạt cao nhất và thấp nhất là ở độ mặn 23‰ ($p < 0,05$). ADG của nghêu lựa cũng chịu ảnh hưởng kết hợp của thức ăn và độ mặn với giá trị cao nhất ở nghiệm thức thức ăn là vi tảo kết hợp độ mặn 31‰ ($0,079 \pm 0,0017$ mm/ngày) ($p < 0,05$).

Tốc độ tăng trưởng đặc trưng (SGR) của nghêu lựa trong thời gian thí nghiệm được trình bày trong Bảng 3.25.

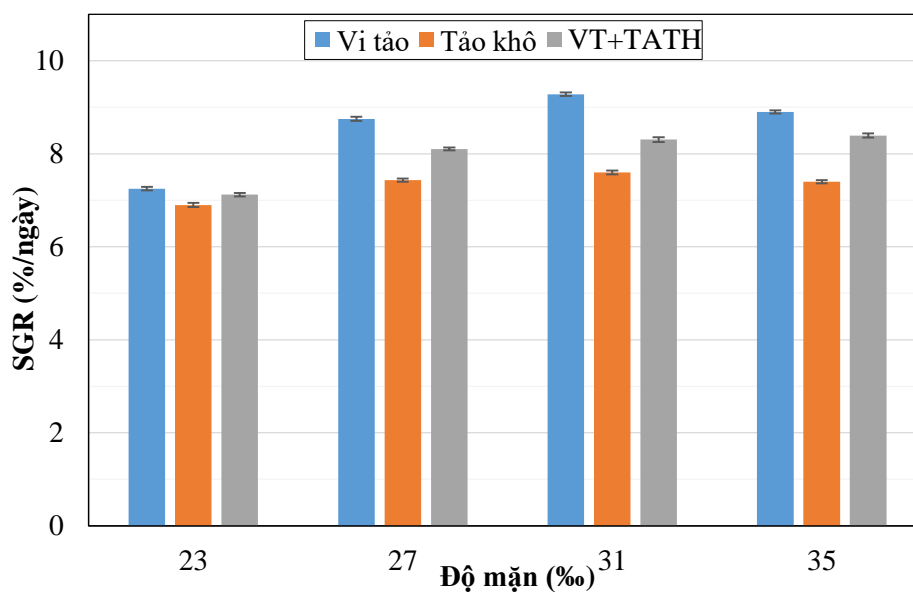
Bảng 3. 25: Tốc độ tăng trưởng đặc trưng (SGR, %/ngày) của ấu trùng sống đáy và nghêu lựa giống ở các nghiệm thức thức ăn và độ mặn khác nhau

Chỉ tiêu	Nghiệm thức	Ngày thí nghiệm				
		5	10	15	20	25
Thức ăn - Độ mặn (%)	VT-23	9,15±0,427	10,52±0,428	8,83±0,197	3,85±0,147	4,10±0,155
	VT-27	11,77±0,422	12,44±0,447	10,35±0,177	5,68±0,185	3,52±0,137
	VT-31	12,54±0,366	11,10±0,340	10,90±0,252	7,49±0,263	4,37±0,193
	VT-35	11,29±0,443	7,84±0,375	12,94±0,214	7,45±0,285	4,97±0,241
	TK-23	8,79±0,294	9,07±0,329	9,59±0,178	3,72±0,195	3,33±0,142
	TK-27	10,48±0,247	7,35±0,203	10,25±0,265	4,48±0,229	4,59±0,139
	TK-31	11,04±0,383	8,33±0,316	9,76±0,252	4,81±0,183	4,05±0,195
	TK-35	10,52±0,382	9,05±0,335	9,10±0,283	4,73±0,221	3,60±0,142
	VT+TATH-23	8,96±0,383	9,92±0,431	9,62±0,187	3,22±0,153	4,31±0,211
	VT+TATH-27	10,59±0,358	8,60±0,383	10,13±0,277	6,08±0,188	5,11±0,148
	VT+TATH-31	10,54±0,389	9,30±0,397	10,35±0,191	6,16±0,283	5,18±0,222
	VT+TATH-35	9,58±0,397	10,38±0,304	10,29±0,239	7,17±0,188	4,55±0,134
Độ mặn (%)	23	8,97±0,215 ^a	9,84±0,232 ^{ab}	9,34±0,110 ^a	3,60±0,097 ^a	3,91±0,102 ^a
	27	10,94±0,204 ^{bc}	9,46±0,236 ^{ab}	10,24±0,140 ^b	5,42±0,121 ^b	4,41±0,089 ^b
	31	11,37±0,223 ^c	9,58±0,212 ^{ab}	10,34±0,137 ^b	6,16±0,153 ^c	4,53±0,120 ^b
	35	10,46±0,238 ^b	9,09±0,203 ^a	10,78±0,166 ^c	6,45±0,150 ^c	4,37±0,107 ^b
Thức ăn	VT	11,18±0,215 ^Y	10,48±0,214 ^Z	10,76±0,125 ^Z	6,12±0,132 ^Z	4,24±0,096 ^Z
	TK	10,21±0,170 ^X	8,45±0,153 ^X	9,67±0,0,124 ^X	4,44±0,105 ^X	3,89±0,081 ^X
	VT+TATH	9,92±0,193 ^X	9,55±0,193 ^Y	10,10±0,114 ^Y	5,66±0,124 ^Y	4,79±0,093 ^Z
Giá trị P độ mặn		<0,001	0,087	<0,001	<0,001	<0,001
Giá trị P thức ăn		<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
Giá trị P độ mặn * thức ăn		0,221	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001

Số liệu trình bày: trung bình ± sai số chuẩn (n=4). Số liệu có chữ cái in thường khác nhau trong cùng cột thể hiện sự sai khác có ý nghĩa giữa các độ mặn; chữ cái in hoa khác nhau trong cùng cột thể hiện sự sai khác có ý nghĩa giữa các loại thức ăn (p<0,05). VT: vi tảo (*N. oculata*, *Chlorella* sp., *I. galbana*), TK: tảo khô (*Spirulina*), VT+TATH: vi tảo và thức ăn tổng hợp (Lansy, Frippak)

SGR của nghêu lựa chịu ảnh hưởng của các loại thức ăn và độ mặn khác nhau. Sau 5 ngày thí nghiệm, SGR của nghêu đạt cao nhất (11,37 ± 0,223 %/ngày) ở độ mặn 31‰ (p<0,05). Trong khi đó, ở ngày thứ 15, SGR của nghêu đạt cao nhất ở độ mặn 35‰ (10,78 ± 0,166 %/ngày). Ở ngày thứ 20, SGR ở độ mặn 31‰ và 35‰ là tương đương nhau, dao động 6,16 – 6,45 (%/ngày) và cao hơn có ý nghĩa so với hai nghiệm thức độ mặn còn lại (p<0,05). Ở ngày thứ 25, SGR của nghêu lựa ở nghiệm thức độ mặn 27 tới 35 ‰ là tương đương nhau và cao hơn có ý nghĩa so với độ mặn 23‰

($p < 0,05$). Ở các nghiệm thức thức ăn, SGR luôn ghi nhận giá trị cao nhất và khác biệt có ý nghĩa so với các nghiệm thức còn lại trong thời gian thí nghiệm ($p < 0,05$). Ở ngày thứ 25, SGR của nghêu lùa đạt cao nhất ở nghiệm thức vi tảo kết hợp thức ăn tổng hợp (4,79 %/ngày) cao hơn có ý nghĩa so với nghiệm thức thức ăn tảo khô (3,89 %/ngày) nhưng không có sự khác biệt so với nghiệm thức thức ăn tảo (4,24 %/ngày) ($p > 0,05$). Trong thời gian thí nghiệm, có ảnh hưởng kết hợp của hai yếu tố thức ăn và độ mặn lên sinh trưởng của nghêu lùa, ngoại trừ 5 ngày đầu thí nghiệm (Bảng 3.25), trong đó, các nghiệm thức thức ăn là vi tảo và độ mặn 31‰ cho kết quả SGR cao nhất ($p < 0,05$).



Hình 3. 21: Tốc độ tăng trưởng đặc trưng (%/ngày) của ấu trùng sống đáy và nghêu lùa giống ở các nghiệm thức thức ăn và độ mặn khác nhau sau 25 ngày thí nghiệm

Sau 25 ngày thí nghiệm, SGR của nghêu lùa luôn đạt giá trị cao nhất ở các nghiệm thức thức ăn là vi tảo và thấp nhất là thức ăn tảo khô ($p < 0,05$). Tương tự, SGR của nghêu lùa đạt cao nhất ở độ mặn 31‰ và thấp nhất là ở độ mặn 23‰ ($p < 0,05$). SGR của nghêu lùa cũng chịu ảnh hưởng kết hợp của thức ăn và độ mặn với giá trị cao nhất ở nghiệm thức thức ăn là vi tảo kết hợp độ mặn 31‰ ($9,28 \pm 0,04$ %/ngày) ($p < 0,05$).

Như vậy, thức ăn là vi tảo và độ mặn 31‰ là thích hợp nhất cho sinh trưởng và phát triển của nghêu lùa. Kết quả này hoàn toàn phù hợp trong quá trình thí nghiệm vì nguồn nghêu bố mẹ sử dụng cho sinh sản khai thác tại địa phương, nơi có độ mặn dao động từ 30 - 32‰ và quá trình ương nuôi ấu trùng trôi nổi sử dụng thức ăn là vi tảo và duy trì độ mặn trong khoảng thích hợp là 31‰. Các nghiên cứu đã xác định vi

tảo là thức ăn tốt nhất cho các loài động vật thân mềm hai mảnh vỏ (Brown và ctv., 1989; Nguyễn Tác An và Nguyễn Văn Lục, 1994; Brown và ctv., 1997). Khi ương nuôi ở các ngưỡng độ mặn không phù hợp, khả năng bắt mồi, điều hoà áp suất thẩm thấu, tiêu thụ oxy hòa tan và bài tiết ammoniac của ấu trùng nghêu lựa sẽ thay đổi theo hướng bất lợi, từ đó ảnh hưởng tới sinh trưởng của chúng (Wang và ctv., 2009; Li và ctv., 2011). Nghiên cứu Gireesh và ctv. (2009) khi ương nghêu *P. malabarica* giai đoạn ấu trùng đỉnh vỏ ở độ mặn $30 \pm 1\text{‰}$ thì tốc độ tăng trưởng cao nhất là $159,6 \mu\text{m/ngày}$. Loài *P. textzle* có thể sinh trưởng và phát triển trong khoảng độ mặn 22,3 – 35,9‰ nhưng khoảng độ mặn tối ưu là 26,0 – 27,3‰, tương ứng với tốc độ tăng trưởng tốt nhất về chiều dài là $143 \mu\text{m/ngày}$ (Zhi-min và ctv., 2011). Trong khi đó, độ mặn phù hợp nhất cho sinh trưởng của nghêu *P. amabilis* là 30‰ (Wang và ctv., 2013). Ở nghêu trắng *M. lyrata* tốc độ lọc thức ăn chịu ảnh hưởng đồng thời của độ mặn, nhiệt độ với thời gian phơi bãi. Ở nghiệm thức độ mặn 30‰ kết hợp thời gian phơi bãi 6 giờ thì tốc độ lọc của nghêu tăng theo thời gian và đạt giá trị lớn nhất ($2,88 \times 10^4 \text{tb/g/ngày}$). Trong khi đó, nghiệm thức độ mặn và nhiệt độ cao, lần lượt là 30‰ và 34°C cũng cho tốc độ lọc của nghêu cao nhất ($1,69 \times 10^4 \text{tb/g/ngày}$) (Ngô Thị Thu Thảo và Lâm Thị Quang Mẫn, 2012a&b).

3.4.1.3 Tỷ lệ sống của ấu trùng sống đáy và nghêu giống trong thời gian thí nghiệm được trình bày trong Bảng 3.26.

Bảng 3. 26: Tỷ lệ sống (%) của ấu trùng sống đáy và nghêu lựa giống ở các nghiệm thức thức ăn và độ mặn khác nhau

Chỉ tiêu	Nghiệm thức	Ngày thí nghiệm				
		5	10	15	20	25
Thức ăn	VT-23	80,33±0,599	76,16±1,197	67,65±0,685	57,54±0,588	48,85±1,332
	VT-27	87,69±0,590	78,69±0,919	73,73±1,184	66,56±1,197	61,83±1,580
	VT-31	93,45±0,942	85,98±0,918	82,67±0,743	79,37±1,197	76,56±2,018
	VT-35	84,65±1,596	80,01±1,131	74,56±2,668	70,08±3,208	65,18±4,388
Độ mặn (‰)	TK-23	78,73±0,784	65,60±0,902	58,18±0,407	44,87±1,809	34,63±1,584
	TK-27	83,21±0,599	71,84±1,963	64,64±1,810	54,69±2,650	48,36±3,022
	TK-31	86,62±1,178	81,93±0,905	77,87±0,754	72,32±1,358	65,70±2,292
	TK-35	79,05±0,986	70,56±0,518	66,08±1,334	62,72±1,778	54,35±2,910

	VT+TATH-23	81,03±0,826	73,48±2,607	60,80±0,453	50,63±1,619	41,02±1,267
	VT+TATH-27	85,06±0,378	74,50±0,848	69,57±0,980	64,77±0,980	59,94±1,365
	VT+TATH-31	92,91±1,322	86,09±0,471	82,78±0,302	76,59±0,151	72,41±1,219
	VT+TATH-35	85,13±0,599	78,25±1,604	72,32±2,159	67,68±3,208	61,79±3,622
Độ mặn (%)	23	80,03±0,485 ^a	71,75±1,627 ^a	62,21±1,235 ^a	51,01±1,734 ^a	41,50±1,900 ^a
	27	85,32±0,621 ^c	75,01±1,102 ^b	69,32±1,329 ^b	62,01±1,827 ^b	56,71±2,110 ^b
	31	90,99±1,113 ^d	84,66±0,0716 ^c	81,11±0,766 ^c	76,09±1,031 ^d	71,56±1,675 ^c
	35	82,94±1,022 ^b	76,27±1,379 ^b	70,99±1,550 ^b	66,83±1,736 ^c	60,44±2,361 ^b
Thức ăn	VT	86,53±1,314 ^Y	80,21±1,042 ^Z	74,66±1,543 ^Z	68,39±2,179 ^Z	63,11±2,808 ^Z
	TK	81,90±0,933 ^X	72,48±1,622 ^X	66,69±1,912 ^X	58,65±2,754 ^X	50,76±3,103 ^X
	VT+TATH	86,03±1,176 ^Y	78,08±1,467 ^Y	71,37±2,096 ^Y	64,92±2,549 ^Y	58,79±3,071 ^Z
Giá trị P độ mặn		<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
Giá trị P thức ăn		<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
Giá trị P độ mặn * thức ăn		0,041	0,127	0,218	0,141	0,855

Số liệu trình bày: trung bình ± sai số chuẩn (n=4). Số liệu có chữ cái in thường khác nhau trong cùng cột thể hiện sự sai khác có ý nghĩa giữa các độ mặn; chữ cái in hoa khác nhau trong cùng cột thể hiện sự sai khác có ý nghĩa giữa các loại thức ăn (p<0,05). VT: vi tảo (*N. oculata*, *Chlorella* sp., *I. galbana*), TK: tảo khô (*Spirulina*), VT+TATH: vi tảo và thức ăn tổng hợp (Lansy, Frippak)

Ở các nghiệm thức độ mặn khác nhau, tỷ lệ sống của nghêu lựa trong thời gian thí nghiệm luôn đạt tỷ lệ sống cao nhất ở độ mặn 31‰ và thấp nhất ở độ mặn 23‰ (p<0,05). Ở độ mặn 27‰ và 35‰, tỷ lệ sống của nghêu lựa tương đối đồng đều và không có sự khác biệt ở các ngày thí nghiệm 10, 15 và 25 (p>0,05).

Tỷ lệ sống của nghêu lựa ở các nghiệm thức thức ăn luôn đạt giá trị cao nhất khi sử dụng vi tảo, tiếp theo là hỗn hợp vi tảo kết hợp thức ăn tổng hợp và thấp nhất ở nghiệm thức tảo khô (p<0,05). Ở các thời điểm đầu (sau 5 ngày) và cuối thí nghiệm (sau 25 ngày), tỷ lệ sống của nghêu lựa không có sự khác biệt giữa nghiệm thức vi tảo so với nghiệm thức hỗn hợp vi tảo kết hợp thức ăn tổng hợp (p>0,05). Trong thời gian thí nghiệm ảnh hưởng kết hợp giữa độ mặn và thức ăn lên tỷ lệ sống của ấu trùng và nghêu giống chỉ ghi nhận được sau 5 ngày (p<0,05). Từ ngày thứ 10 trở đi, kết quả nghiên cứu cho thấy không có ảnh hưởng kết hợp giữa thức ăn và độ mặn lên tỷ lệ sống của ấu trùng và nghêu giống (p>0,05).

Các nghiên cứu về ảnh hưởng của thức ăn lên tỷ lệ sống của nghêu lựa từ giai đoạn sống đầy tới nghêu giống ghi nhận giá trị cao nhất tới 28,4% khi sử dụng thức ăn là các loài vi tảo (*I. galbana*, *T. pseudonana* và *Ch. calcitrans*) (Shamsuddin và ctv., 1987; Pongthana, 1988; Campos và ctv., 2010; Yi và ctv., 2010). Theo Gireesh và ctv. (2009),

tỷ lệ sống của nghêu *P. malabarica* giai đoạn sống đáy cao nhất tương ứng là 85,6% và 32,4% khi sử dụng thức ăn là tảo *I. galbana*, mật độ 10.000 – 28.000 tb/mL.

Các nghiên cứu cho thấy tỷ lệ sống của nghêu trắng *M. lyrata* chịu ảnh hưởng đồng thời của độ mặn và thời gian phơi bãi. Độ mặn 10‰ kết hợp với thời gian phơi bãi 2 giờ, tỷ lệ sống của nghêu (chiều dài $19,2 \pm 0,05$ mm) là 87,78%. Ở nghêu giống lớn hơn ($23,2 \pm 0,11$ mm) thì tỷ lệ sống cao nhất ở nghiệm thức 10‰ và thời gian phơi bãi 4 giờ (97,8%). Độ mặn cao (30‰) kết hợp với thời gian phơi bãi lâu hơn (6 giờ) làm giảm mạnh tỷ lệ sống của nghêu ở cả hai kích cỡ thí nghiệm, lần lượt là 11,1 và 12,2% (Ngô Thị Thu Thảo và Lâm Thị Quang Mẫn, 2012a). Nhiệt độ và độ mặn cũng ảnh hưởng đồng thời lên tỷ lệ sống của nghêu trắng *M. lyrata* với nhiệt độ 28°C và độ mặn 10‰ cho tỷ lệ sống của nghêu tốt nhất. Khi ương nghêu ở độ mặn 30‰ và nhiệt độ 34°C thì tỷ lệ chết của nghêu tăng lên tỷ lệ thuận với chiều dài cơ thể, tương ứng 40%, 62,2% và 100% với nghêu cỡ nhỏ, cỡ trung và cỡ lớn (Ngô Thị Thu Thảo và Lâm Thị Quang Mẫn, 2012b).

Như vậy kết quả nghiên cứu cho thấy độ mặn 31‰ và thức ăn vi tảo là thích hợp nhất cho sinh trưởng của ấu trùng và nghêu giống thể hiện thông qua các chỉ tiêu tăng trưởng (chiều dài, ADG, SGR) và tỷ lệ sống cao nhất trong thời gian thí nghiệm.

3.4.2 Ảnh hưởng kết hợp của chất đáy và mật độ lên sinh trưởng và tỷ lệ sống của ấu trùng sống đáy và nghêu lựa giống (TN8)

3.4.2.1 Điều kiện môi trường thí nghiệm

Biến động các yếu tố môi trường của các nghiệm thức thí nghiệm được trình bày trong Bảng 3.27:

Bảng 3. 27: Diễn biến các yếu tố môi trường thí nghiệm

Nghiệm thức	Nhiệt độ (°C)	Độ mặn (‰)	pH	DO (mgO ₂ /L)	N-NO ₂ (mg/L)	Độ kiềm (mgCaCO ₃ /L)
Cát-2 con/cm ²	27,9 ± 0,44	31,0 ± 0,27	7,4 – 8,5	6,2 ± 0,30	0,28 ± 0,04	100,7 ± 5,80
Cát-4 con/cm ²	28,1 ± 0,44	31,5 ± 0,26	7,5 – 8,4	6,1 ± 0,29	0,31 ± 0,03	102,9 ± 6,55
Cát-6 con/cm ²	28,0 ± 0,42	31,6 ± 0,18	7,5 – 8,4	6,1 ± 0,22	0,39 ± 0,22	96,2 ± 8,24
Cát-8 con/cm ²	28,0 ± 0,46	31,2 ± 0,37	7,4 – 8,3	6,3 ± 0,28	0,28 ± 0,04	98,5 ± 5,86
Cát bùn-2 con/cm ²	27,9 ± 0,44	31,4 ± 0,32	7,3 – 8,5	5,9 ± 0,27	0,30 ± 0,03	105,2 ± 6,27
Cát bùn-4 con/cm ²	28,0 ± 0,42	31,5 ± 0,33	7,5 – 8,5	6,1 ± 0,18	0,38 ± 0,04	100,7 ± 6,71
Cát bùn-6 con/cm ²	27,9 ± 0,45	31,4 ± 0,18	7,4 – 8,5	6,5 ± 0,27	0,25 ± 0,04	100,7 ± 6,71

Cát bùn-8 con/cm ²	28,1 ± 0,44	31,5 ± 0,27	7,5 – 8,5	6,2 ± 0,25	0,31 ± 0,03	105,2 ± 4,06
Không chất đáy-2 con/cm ²	28,3 ± 0,41	31,3 ± 0,34	7,5 – 8,5	6,2 ± 0,16	0,31 ± 0,04	102,9 ± 5,61
Không chất đáy-4 con/cm ²	27,6 ± 0,50	31,5 ± 0,33	7,4 – 8,5	6,6 ± 0,26	0,28 ± 0,03	105,2 ± 5,28
Không chất đáy-6 con/cm ²	27,9 ± 0,39	31,0 ± 0,27	7,5 – 8,4	5,7 ± 0,33	0,28 ± 0,04	102,9 ± 5,61
Không chất đáy-8 con/cm ²	27,5 ± 0,42	31,3 ± 0,37	7,4 – 8,3	6,2 ± 0,25	0,35 ± 0,06	98,5 ± 6,77

Các yếu tố nhiệt độ, độ mặn và pH giữa các nghiệm thức thí nghiệm ít biến động và thích hợp cho sinh trưởng của nghêu lưa. Độ mặn của các nghiệm thức được bố trí trong khoảng thích hợp nhất cho ấu trùng, dao động từ 31,0 – 31,6‰. Giá trị DO luôn được duy trì trong ngưỡng cao, thích hợp cho ấu trùng nghêu lưa, trung bình dao động từ 5,9 – 6,6 (mgO₂/L). Hàm lượng N-NO₂ được duy trì ổn định và thấp (0,28 – 0,39 mg/L) do các nghiệm thức đều sử dụng thức ăn là vi tảo và mật độ tế bào tảo cho ăn được điều chỉnh phù hợp với khả năng ăn lọc của nghêu. Độ kiềm của các nghiệm thức cao và ổn định, dao động từ 96,2 – 102,9 (mgCaCO₃/L).

3.4.2.2 Sinh trưởng của ấu trùng sống đáy và nghêu lưa giống

Sinh trưởng của ấu trùng và nghêu giống trong thời gian thí nghiệm trình bày trong Bảng 3.28.

Bảng 3. 28: Tăng trưởng chiều dài (mm) của ấu trùng sống đáy và nghêu lưa giống ở các nghiệm thức chất đáy và mật độ khác nhau

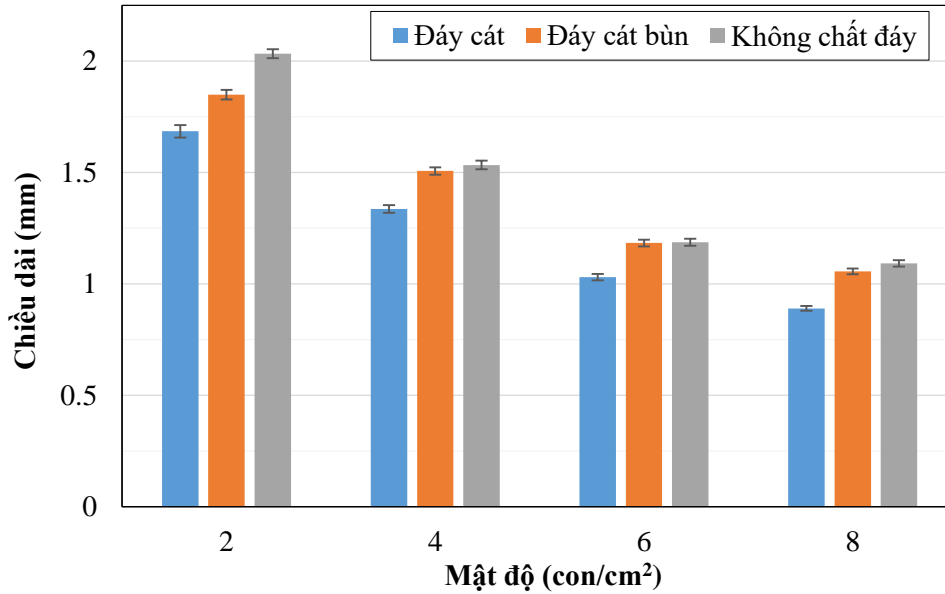
Chỉ tiêu	Nghiệm thức	Ngày thí nghiệm				
		5	10	15	20	25
Chất đáy – mật độ (con/cm ²)	Cát – 2	0,50±0,005	0,75±0,010	1,03±0,011	1,39±0,011	1,92±0,028
	Cát – 4	0,49±0,004	0,70±0,008	1,00±0,011	1,26±0,001	1,57±0,017
	Cát – 6	0,42±0,005	0,61±0,006	0,82±0,008	1,03±0,009	1,27±0,014
	Cát – 8	0,40±0,005	0,56±0,006	0,74±0,006	0,92±0,008	1,13±0,010
	Cát bùn – 2	0,50±0,006	0,81±0,012	1,13±0,010	1,49±0,015	2,09±0,022
	Cát bùn – 4	0,48±0,006	0,75±0,008	1,04±0,009	1,30±0,010	1,74±0,016
	Cát bùn – 6	0,44±0,006	0,65±0,007	0,86±0,008	1,10±0,009	1,42±0,015
	Cát bùn – 8	0,43±0,005	0,65±0,007	0,81±0,007	1,04±0,010	1,29±0,013
	Không chất đáy-2	0,50±0,008	0,85±0,012	1,19±0,013	1,55±0,014	2,27±0,020
	Không chất đáy-4	0,48±0,007	0,75±0,010	1,04±0,012	1,31±0,012	1,77±0,019

	Không chất đáy-6	0,44±0,006	0,67±0,011	0,90±0,008	1,13±0,008	1,42±0,015
	Không chất đáy-8	0,44±0,006	0,62±0,006	0,81±0,008	1,06±0,009	1,33±0,014
Mật độ (con/cm ²)	2	0,50±0,004 ^d	0,80±0,007 ^d	1,12±0,007 ^d	1,48±0,008 ^d	2,09±0,015 ^d
	4	0,48±0,003 ^c	0,73±0,005 ^c	1,03±0,006 ^c	1,29±0,007 ^c	1,70±0,011 ^c
	6	0,44±0,003 ^b	0,64±0,005 ^b	0,86±0,005 ^b	1,09±0,006 ^b	1,37±0,009 ^b
	8	0,42±0,003 ^a	0,61±0,004 ^a	0,78±0,004 ^a	1,01±0,006 ^a	1,25±0,008 ^a
Chất đáy	Cát	0,45±0,003 ^X	0,66±0,005 ^X	0,90±0,007 ^X	1,15±0,010 ^X	1,47±0,017 ^X
	Cát bùn	0,46±0,003 ^Y	0,72±0,005 ^Y	0,96±0,007 ^Y	1,23±0,009 ^Y	1,64±0,016 ^Y
	Không chất đáy	0,46±0,004 ^Y	0,72±0,006 ^Y	0,98±0,008 ^Z	1,26±0,010 ^Z	1,70±0,019 ^Z
P mật độ		<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
P chất đáy		0,007	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
P mật độ * chất đáy		0,002	0,003	<0,001	<0,001	<0,001

Số liệu trình bày: trung bình ± sai số chuẩn (n=4). Số liệu có chữ cái in thường khác nhau trong cùng cột thể hiện sự sai khác có ý nghĩa giữa các mật độ; chữ cái in hoa khác nhau trong cùng cột thể hiện sự sai khác có ý nghĩa giữa các loại chất đáy (p<0,05).

Tăng trưởng chiều dài của ấu trùng sống đáy và nghêu giống chịu ảnh hưởng của cả hai yếu tố mật độ và chất đáy. Chiều dài của nghêu lựa ở nhóm nghiệm thức mật độ ương thấp nhất là 2 con/cm² luôn có giá trị cao nhất và khác biệt có ý nghĩa so với các mật độ còn lại (p<0,05). Ở các nghiệm thức mật độ cao hơn, tăng trưởng chiều dài của nghêu lựa giảm tỷ lệ nghịch và thấp nhất ở mật độ ương 8 con/cm². Tương tự, trong thời gian thí nghiệm, chiều dài của nghêu lựa ở nghiệm thức đáy cát luôn thấp nhất và khác biệt có ý nghĩa so với các nghiệm thức chất đáy còn lại (p<0,05). Chiều dài của nghêu lựa giữa nhóm chất đáy là cát bùn và không chất đáy không có sự khác biệt có ý nghĩa sau 5 và 10 ngày ương (p>0,05). Từ ngày ương thứ 15 trở đi, chiều dài của nghêu lựa ở nghiệm thức không chất đáy luôn cao nhất và khác biệt có ý nghĩa so với các nghiệm thức còn lại (p<0,05).

Kết quả nghiên cứu cũng cho thấy có ảnh hưởng kết hợp của yếu tố mật độ và chất đáy lên sinh trưởng chiều dài của ấu trùng sống đáy và nghêu lựa giống, trong đó, chiều dài của nghêu lựa luôn đạt cao nhất ở nghiệm thức mật độ ương 2 con/cm² kết hợp không chất đáy (p<0,05).



Hình 3. 22: Tăng trưởng chiều dài (mm) của ấu trùng sống đáy và nghêu lùa giống ở các nghiệm thức mật độ và chất đáy khác nhau sau 25 ngày thí nghiệm

Hình 3.22 cho thấy chiều dài tăng lên của nghêu lùa đạt giá trị cao nhất ($2,03 \pm 0,02$ mm) ở nghiệm thức mật độ 2 con/cm² và không chất đáy và thấp nhất ở nghiệm thức 8 con/cm² kết hợp đáy cát ($0,89 \pm 0,01$ mm) ($p < 0,05$). Chiều dài của nghêu lùa ở nghiệm thức đáy cát bùn và không chất đáy là tương đương nhau và đều giảm dần theo sự tăng lên của mật độ ương. Kết quả phân tích thống kê ghi nhận ảnh hưởng kết hợp của mật độ và chất đáy lên tăng trưởng chiều dài của nghêu lùa, với giá trị cao nhất ở mật độ ương 2 con/cm² và không chất đáy ($p < 0,05$).

Tốc độ tăng trưởng bình quân của ấu trùng sống đáy và nghêu lùa giống trong thời gian thí nghiệm được trình bày trong Bảng 3.29.

Bảng 3. 29: Tốc độ tăng trưởng bình quân (ADG, mm/ngày) của ấu trùng sống đáy và nghêu lùa giống ở các nghiệm thức chất đáy và mật độ khác nhau

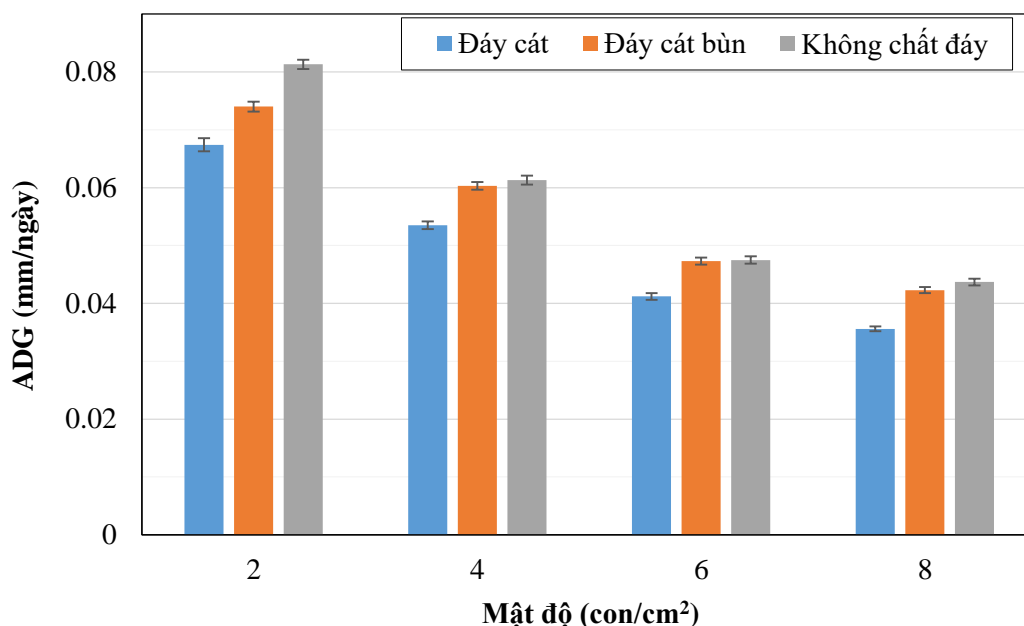
Chỉ tiêu	Nghiệm thức	Ngày thí nghiệm				
		5	10	15	20	25
Chất đáy – mật độ (con/cm ²)	Cát - 2	0,052±0,0011	0,052±0,0021	0,056±0,0027	0,072±0,0019	0,105±0,0059
	Cát - 4	0,050±0,0008	0,043±0,0018	0,061±0,0029	0,052±0,0023	0,062±0,0033
	Cát - 6	0,037±0,0011	0,038±0,0015	0,042±0,0015	0,042±0,0017	0,047±0,0028
	Cát - 8	0,033±0,001	0,032±0,0016	0,035±0,0015	0,036±0,0018	0,041±0,0022
	Cát bùn - 2	0,053±0,0014	0,062±0,0029	0,063±0,0029	0,073±0,0032	0,119±0,0052

	Cát bùn - 4	0,048±0,0013	0,055±0,0021	0,059±0,0022	0,051±0,0023	0,090±0,0036
	Cát bùn - 6	0,042±0,0012	0,042±0,0019	0,041±0,0020	0,048±0,0021	0,065±0,0032
	Cát bùn - 8	0,038±0,0010	0,045±0,0014	0,032±0,0017	0,046±0,0020	0,051±0,0026
	Không chất đáy-2	0,052±0,0016	0,069±0,0028	0,068±0,0032	0,073±0,0031	0,143±0,0050
	Không chất đáy-4	0,048±0,0015	0,054±0,0025	0,060±0,0025	0,053±0,0026	0,093±0,0041
	Không chất đáy-6	0,041±0,0012	0,046±0,0024	0,046±0,0022	0,047±0,0018	0,058±0,0033
	Không chất đáy-8	0,041±0,0012	0,035±0,0017	0,038±0,0018	0,051±0,0019	0,054±0,0029
Mật độ (con/cm ²)	2	0,053±0,0008 ^d	0,061±0,0016 ^d	0,062±0,0017 ^c	0,073±0,0016 ^c	0,123±0,0032 ^d
	4	0,048±0,0007 ^c	0,051±0,0013 ^c	0,060±0,0015 ^c	0,052±0,0014 ^b	0,082±0,0022 ^c
	6	0,040±0,0007 ^b	0,042±0,0011 ^b	0,043±0,0011 ^b	0,046±0,0011 ^a	0,057±0,00018 ^b
	8	0,037±0,0006 ^a	0,037±0,0009 ^a	0,035±0,0010 ^a	0,044±0,0011 ^a	0,049±0,00015 ^a
Chất đáy	Cát	0,043±0,0006 ^x	0,041±0,0009 ^x	0,049±0,0012 ^x	0,051±0,0011 ^x	0,064±0,0022 ^x
	Cát bùn	0,045±0,0007 ^y	0,051±0,0011 ^y	0,049±0,0013 ^x	0,054±0,0013 ^y	0,081±0,0022 ^y
	Không chất đáy	0,045±0,0007 ^y	0,051±0,0013 ^y	0,053±0,0014 ^y	0,056±0,0013 ^y	0,087±0,0025 ^z
P mật độ	0,012	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
P chất đáy	<0,001	<0,001	0,011	0,003	<0,001	<0,001
P mật độ * chất đáy	0,004	0,003	0,088	0,038	<0,001	<0,001

Số liệu trình bày: trung bình ± sai số chuẩn (n=4). Số liệu có chữ cái in thường khác nhau trong cùng cột thể hiện sự sai khác có ý nghĩa giữa các mật độ ương; chữ cái in hoa khác nhau trong cùng cột thể hiện sự sai khác có ý nghĩa giữa các loại chất đáy (p<0,05).

Trong thời gian thí nghiệm, ADG của ấu trùng sống đáy và nghêu lựa giống tỷ lệ nghịch với mật độ ương với giá trị cao nhất ở mật độ ương thấp (2 con/cm²) và giảm dần ở các mật độ ương cao hơn (p<0,05). Tương tự, ADG của nghêu ở nghiệm thức đáy cát luôn thấp nhất và khác biệt có ý nghĩa so với lại nghiệm thức chất đáy còn lại (p<0,05). ADG của nghêu lựa giữa nhóm chất đáy cát bùn và không chất đáy không sai khác ở ngày ương thứ 5, 10 và 20 (p>0,05). Ở ngày ương thứ 15 và 25, ADG của nghêu lựa ở nghiệm thức không đáy luôn cao nhất và khác biệt có ý nghĩa so với các nghiệm thức còn lại (p<0,05).

Kết quả nghiên cứu cũng cho thấy có ảnh hưởng kết hợp của yếu tố mật độ và chất đáy lên ADG của ấu trùng sống đáy và nghêu giống, với giá trị cao nhất ở nghiệm thức mật độ ương 2 con/cm² kết hợp không chất đáy, ngoại trừ ở ngày ương thứ 15 của quá trình thí nghiệm.



Hình 3. 23: Tốc độ tăng trưởng bình quân (ADG, mm/ngày) của ấu trùng sống đáy và nghêu lựa giống ở các nghiệm thức mật độ và chất đáy khác nhau sau 25 ngày thí nghiệm

Sau 25 ngày thí nghiệm, ADG của ấu trùng sống đáy và nghêu giống đạt giá trị lớn nhất ở mật độ 2 con/cm² (0,074 mm/ngày) và giảm dần ở các mật độ ương cao hơn, thấp nhất là 0,041 mm/ngày ở mật độ 8 con/cm² ($p < 0,05$). Nghiệm thức không chất đáy luôn cho kết quả tốt nhất về giá trị ADG và thấp nhất ở nghiệm thức đáy cát, lần lượt là 0,059 mm/ngày và 0,049 mm/ngày ($p < 0,05$). Có tác động đồng thời của cả hai yếu tố mật độ và chất đáy lên ADG của ấu trùng sống đáy và nghêu giống, với giá trị lớn nhất (0,081 mm/ngày) ở mật độ 2 con/cm² kết hợp với không chất đáy ($p < 0,05$).

Tốc độ tăng trưởng đặc trưng của ấu trùng sống đáy và nghêu giống được trình bày trong Bảng 3.30.

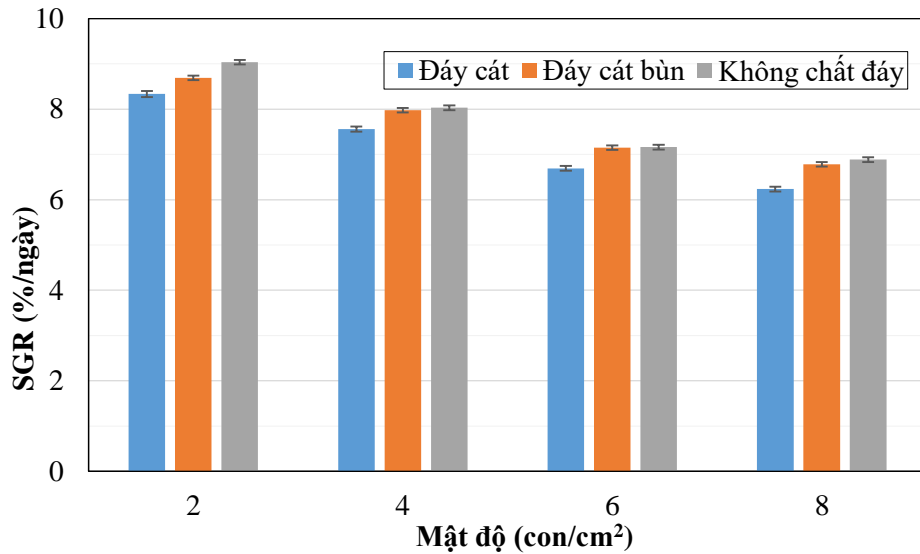
Bảng 3. 30: Tốc độ tăng trưởng đặc trưng (SGR, %/ngày) của ấu trùng sống đáy và nghêu lựa giống ở các nghiệm thức chất đáy và mật độ khác nhau

Chỉ tiêu	Nghiệm thức	Ngày thí nghiệm				
		5	10	15	20	25
Chất đáy – mật độ (con/cm ²)	Cát – 2	14,71±0,279	8,30±0,308	6,42±0,315	6,02±0,161	6,22±0,323
	Cát – 4	14,34±0,221	7,22±0,280	7,24±0,350	4,64±0,210	4,37±0,218
	Cát – 6	11,53±0,304	7,40±0,311	5,95±0,211	4,57±0,178	4,01±0,224
	Cát – 8	10,49±0,299	6,81±0,337	5,48±0,242	4,37±0,199	4,03±0,208

	Cát bùn - 2	14,94±0,341	9,50±0,436	6,70±0,321	5,56±0,238	6,74±0,281
	Cát bùn - 4	13,76±0,329	9,17±0,373	6,72±0,258	4,35±0,193	5,90±0,225
	Cát bùn - 6	12,46±0,318	7,73±0,345	5,51±0,265	4,95±0,217	5,12±0,232
	Cát bùn - 8	11,69±0,269	8,41±0,262	4,40±0,241	5,00±0,202	4,40±0,212
	Không chất đáy - 2	14,63±0,353	10,65±0,435	6,88±0,335	5,44±0,233	7,59±0,258
	Không chất đáy - 4	13,68±0,370	9,08±0,426	6,78±0,286	4,56±0,230	6,06±0,260
	Không chất đáy - 6	12,25±0,321	8,31±0,411	6,11±0,324	4,62±0,181	4,51±0,238
	Không chất đáy - 8	12,31±0,329	6,79±0,340	5,39±0,249	5,49±0,202	4,45±0,227
Mật độ (con/cm ²)	2	14,76±0,188 ^d	9,48±0,234 ^c	6,67±0,187 ^c	5,67±0,124 ^c	6,85±0,169 ^c
	4	13,92±0,181 ^c	8,49±0,215 ^b	6,91±0,173 ^c	4,52±0,122 ^a	5,44±0,141 ^b
	6	12,08±0,182 ^b	7,81±0,207 ^a	5,86±0,157 ^b	4,71±0,111 ^{ab}	4,55±0,135 ^a
	8	11,50±0,177 ^a	7,34±0,186 ^a	5,09±0,143 ^a	4,96±0,118 ^b	4,29±0,125 ^a
Chất đáy	Cát	12,77±0,161 ^X	7,43±0,156 ^X	6,27±0,145 ^Y	4,90±0,098 ^X	4,66±0,130 ^X
	Cát bùn	13,21±0,167 ^X	8,70±0,182 ^Y	5,83±0,143 ^X	4,97±0,108 ^X	5,54±0,125 ^Y
	Không chất đáy	13,22±0,177 ^X	8,71±0,211 ^Y	6,29±0,152 ^Y	5,03±0,108 ^X	5,65±0,136 ^Y
P mật độ		0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
P chất đáy		0,065	0,000	0,037	0,687	0,000
P mật độ * chất đáy		0,003	0,001	0,253	0,001	0,008

Số liệu trình bày: trung bình ± sai số chuẩn (n=4). Số liệu có chữ cái in thường khác nhau trong cùng cột thể hiện sự sai khác có ý nghĩa giữa các mật độ ương; chữ cái in hoa khác nhau trong cùng cột thể hiện sự sai khác có ý nghĩa giữa các loại chất đáy (p<0,05).

Tốc độ tăng trưởng đặc trưng của ấu trùng sống đáy và nghêu giống có giá trị lớn nhất sau 5 ngày thí nghiệm ở cả nghiệm thức mật độ và chất đáy khác nhau, sau đó giảm dần theo thời gian thí nghiệm. Ở các nghiệm thức mật độ ương, SGR của ấu trùng và nghêu giống có sự khác biệt có ý nghĩa với giá trị lớn nhất ở mật độ 2 con/cm² và thấp nhất ở mật độ 8 con/cm² (p<0,05). Trong khi đó, ở các nghiệm thức chất đáy, sự khác biệt có ý nghĩa ghi nhận được ở ngày thứ 10, 15 và 25 với giá trị lớn nhất ở nghiệm thức không chất đáy và thấp nhất ở nghiệm thức đáy cát (p<0,05). Ảnh hưởng kết hợp của yếu tố mật độ ương và chất đáy lên SGR của ấu trùng sống đáy và nghêu giống ghi nhận trong thời gian thí nghiệm, ngoại trừ ngày thứ 15; trong đó, SGR có giá trị cao nhất ở nghiệm thức mật độ ương 2 con/cm² kết hợp không chất đáy (p<0,05).



Hình 3. 24: Tốc độ tăng trưởng đặc trung (SGR, %/ngày) của ấu trùng sống đáy và nghêu lùa giống ở các nghiệm thức mật độ và chất đáy sau 25 ngày thí nghiệm

Sau 25 ngày thí nghiệm, SGR có giá trị cao nhất (8,69 %/ngày) ở mật độ 2 con/cm² và giảm dần tới 6,63 %/ngày ở mật độ 8 con/cm² ($p < 0,05$). Tương tự, nghiệm thức không chất đáy luôn có giá trị SGR cao nhất (7,78 %/ngày) và thấp nhất (7,21 %/ngày) ở nghiệm thức đáy cát ($p < 0,05$). Có ảnh hưởng đồng thời của hai yếu tố mật độ và chất đáy lên SGR của nghêu lùa, với giá trị lớn nhất (9,04 %/ngày) ở mật độ 2 con/cm² kết hợp với không chất đáy ($p < 0,05$). Ở các nghiệm thức mật độ cao hơn, SGR của nghêu lùa giữa hai nghiệm thức đáy cát bùn và không đáy là tương đương và đều cao hơn có ý nghĩa so với nghiệm thức đáy cát ($p < 0,05$).

Các nghiên cứu ảnh hưởng kết hợp của mật độ và chất đáy lên sinh trưởng và tỷ lệ sống của các loài nghêu ít được công bố. Theo Quayle và Newkirk (1989) sinh trưởng các loài Bivalvia là khác nhau tùy theo loài nhưng chịu ảnh hưởng rõ rệt của mật độ nuôi. Các kết quả nghiên cứu đều ghi nhận các chỉ tiêu sinh trưởng của nghêu luôn cao nhất ở mật độ ương thấp nhất (2 con/cm²) và tỷ lệ nghịch với sự gia tăng của mật độ ương. Nghiên cứu của Jeng và Tyan (1982) kết luận mật độ nuôi nghêu *M. lusoria* trên bãi triều thích hợp nhất là 244 con/m² và mật độ ảnh hưởng tới sinh trưởng khối lượng hơn là sinh trưởng chiều dài. Kết quả nghiên cứu cũng cho thấy sinh trưởng của nghêu chịu ảnh hưởng của sinh khối, khi sinh khối nuôi thấp hơn 1.103 g/m² thì sinh trưởng của nghêu không chịu tác động của mật độ. Sivalingam và ctv. (2000) công bố mật độ ương thích hợp cho nghêu *P. malabarica* giai đoạn sống đáy là 1 con/3 mL

với tốc độ sinh trưởng tối đa tương ứng 2,73 mm/ngày. Nghêu trắng *M. lyrata* nuôi thương phẩm trên bãi triều tại Thanh Hóa cho tốc độ sinh trưởng và tỷ lệ sống cao ở các mật độ nuôi thấp, mật độ nuôi phù hợp nhất được khuyến cáo là 240 con/m² với cỡ giống 0,78 g/con (Nguyễn Thị Kim Anh và Chu Chí Thiết, 2012). Trong khi đó, nghêu nuôi trong ao đất tại Thái Bình, tốc độ tăng trưởng khối lượng trung bình cao nhất ở mật độ 90 con/m² (0,6 %/ngày) và thấp nhất ở mật độ 210 con/m² (0,48 %/ngày).

Ngô Thị Thu Thảo và ctv. (2018) nghiên cứu ảnh hưởng của kiểu sục khí và nền đáy lên tăng trưởng và tỷ lệ sống của sò huyết cho thấy, nền đáy bùn kết hợp sục khí thường là điều kiện thích hợp nhất cho sinh trưởng của sò huyết với tốc độ tăng trưởng khối lượng cao nhất là 1,51 %/ngày sau 60 ngày ương. Trong khi đó, tăng trưởng chiều dài của sò huyết lại ghi nhận giá trị tốt nhất (0,45 %/ngày) ở nghiệm thức đáy bùn kết hợp sục khí nước trời. Như vậy, sinh trưởng của nghêu lựa trong nghiên cứu này cũng như các loài ĐVTM hai mảnh vỏ khác đều chịu ảnh hưởng rõ rệt của yếu tố mật độ ương và loại chất đáy.

3.4.2.3 Tỷ lệ sống của ấu trùng sống đáy và nghêu lựa giống

Tỷ lệ sống của ấu trùng và nghêu lựa giống trong thời gian thí nghiệm ảnh hưởng của chất đáy và mật độ khác nhau được trình bày trong Bảng 3.31.

Bảng 3. 31: Tỷ lệ sống (%) của ấu trùng sống đáy và nghêu lựa giống ở các nghiệm thức chất đáy và mật độ ương khác nhau

Chỉ tiêu	Nghiệm thức	Ngày thí nghiệm				
		5	10	15	20	25
Chất đáy – mật độ (con/cm ²)	Cát – 2	95,33±0,499	88,66±0,164	85,11±0,327	81,37±0,711	78,64±1,332
	Cát – 4	95,57±0,439	87,70±0,317	85,93±0,499	84,10±0,477	82,71±1,580
	Cát – 6	95,96±0,121	90,05±0,995	87,56±1,072	85,73±0,758	83,90±2,018
	Cát – 8	92,48±0,844	81,49±1,115	76,42±1,576	66,89±0,501	61,83±4,388
	Cát bùn – 2	92,93±0,788	90,49±0,820	89,07±1,001	87,77±0,983	86,63±1,584
	Cát bùn – 4	94,57±0,573	87,37±0,960	85,40±1,187	80,77±1,418	77,59±3,022
	Cát bùn – 6	83,29±0,830	72,48±0,756	69,76±1,109	65,76±1,089	63,21±2,292
	Cát bùn – 8	85,77±1,455	81,61±0,960	83,04±1,310	81,37±1,623	74,62±2,910
	Không đáy – 2	89,29±0,915	85,45±0,847	83,05±1,310	81,45±1,634	80,08±1,267
	Không đáy – 4	79,69±0,808	71,40±1,349	63,60±1,393	59,40±1,245	55,29±1,365
	Không đáy – 6	78,13±0,987	69,48±0,0454	66,60±0,600	64,92±0,927	61,58±1,219

	Không đáy – 8	84,79±1,208	78,37±1,458	74,16±2,060	71,76±2,604	70,12±3,622
Mật độ (con/cm ²)	2	95,62±0,218 ^d	88,81±0,432 ^d	86,20±0,481 ^d	83,73±0,644 ^d	81,75±1,900 ^d
	4	93,33±0,473 ^c	86,45±1,234 ^c	83,63±1,735 ^c	78,48±2,672 ^c	75,35±2,110 ^c
	6	86,11±0,939 ^b	79,85±1,699 ^b	78,62±1,997 ^b	76,19±2,352 ^b	72,64±1,675 ^b
	8	80,93±1,029 ^a	73,08±1,304 ^a	68,12±1,546 ^a	65,36±1,777 ^a	62,33±2,361 ^a
Chất đáy	Cát	87,70±1,692 ^X	78,51±1,869 ^X	73,72±2,130 ^X	68,36±2,116 ^X	64,74±2,808 ^X
	Cát bùn	88,10±1,807 ^X	82,32±2,108 ^Y	81,16±2,276 ^Y	79,54±2,308 ^Y	76,38±3,103 ^Y
	Không chất đáy	91,19±1,186 ^Y	85,31±1,220 ^Z	82,54±1,468 ^Y	79,93±1,525 ^Y	77,92±3,071 ^Y
P mật độ		< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001
P chất đáy		< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001
P mật độ * chất đáy		0,004	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001

Số liệu trình bày: trung bình ± sai số chuẩn (n=4). Số liệu có chữ cái in thường khác nhau trong cùng cột thể hiện sự sai khác có ý nghĩa giữa các mật độ; chữ cái in hoa khác nhau trong cùng cột thể hiện sự sai khác có ý nghĩa giữa các loại chất đáy (p<0,05).

Ở các nghiệm thức mật độ khác nhau, tỷ lệ sống của nghêu lựa luôn đạt tỷ lệ sống cao nhất ở mật độ 2 con/cm², tiếp đến là mật độ 4 con/cm² và thấp nhất ở mật độ 8 con/cm² (p<0,05). Tỷ lệ sống của nghêu lựa đạt giá trị cao nhất ở nghiệm thức không chất đáy sau 10 ngày thí nghiệm (p<0,05). Sau đó, tỷ lệ sống của nghêu không có sự khác biệt giữa nghiệm thức đáy cát bùn so với không chất đáy, nhưng vẫn cao hơn có ý nghĩa so với nghiệm thức đáy cát (p<0,05). Trong thời gian thí nghiệm có sự ảnh hưởng kết hợp giữa mật độ và chất đáy lên tỷ lệ sống của nghêu lựa (p <0,05), với giá trị cao nhất ở các nghiệm thức không chất đáy kết hợp mật độ 2 con/m².

Kết quả nghiên cứu cho thấy nghêu lựa khi ương ở mật độ thấp (2 con/cm²) và trong điều kiện không có chất đáy sẽ cho kết quả tốt nhất thông qua các chỉ tiêu về sinh trưởng và tỷ lệ sống của ấu trùng và nghêu giống. Ở loài *P. malabarica*, Sivalingam và ctv. (2000), nghiên cứu ảnh hưởng của mật độ ương tới sinh trưởng và tỷ lệ sống của ấu trùng giai đoạn sống đáy. Kết quả cho thấy ở mật độ ương 1 con/3 mL cho sinh trưởng của ấu trùng tốt nhất, tương ứng chiều dài 2,73 mm/ngày. Tỷ lệ sống của ấu trùng đạt cao nhất là 82,8% ở mật độ ương 1 con/5 mL. Như vậy mật độ ương 1 con/3 – 5 mL là thích hợp nhất cho ấu trùng nghêu *P. malabarica* giai đoạn sống đáy. Như Văn Cẩn và Chu Chí Thiết (2009) kết luận tốc độ sinh trưởng và tỷ lệ sống của nghêu trắng *M. lyrata* tương quan nghịch với mật độ nuôi. Mật độ ương càng cao thì tốc độ sinh trưởng càng chậm và tỷ lệ sống càng giảm. Nghêu có chiều dài 1,0 cm, mật độ nuôi 0,2 kg/m² cho hiệu quả cao nhất. Cỡ nghêu 1,7 cm, mật độ nuôi cho hiệu quả kinh tế nhất 0,34 kg/m². Trong cùng mật độ nuôi (0,3 kg/m²), nghêu cỡ 1,0 cm có tốc độ

sinh trưởng nhanh hơn so với ngẫu cỡ 1,7 cm. Theo Ngô Thị Thu Thảo và ctv. (2018), tỷ lệ sống của sò huyết sau 60 ngày ương chịu ảnh hưởng của hệ thống ương. Trong hệ thống ương đáy bùn kết hợp sục khí nước trời cho tỷ lệ sống của sò là cao nhất (82,9%) và thấp nhất là 67,0% ở nghiệm thức đáy không bùn và sục khí bình thường.

3.4.3 Ảnh hưởng kết hợp của mật độ và thời gian vận chuyển lên tỷ lệ sống và tiêu hao oxy hòa tan (ppm/g/phút) của nghêu lựa giống (TN9)

3.4.3.1 Ảnh hưởng lên tỷ lệ sống của nghêu giống

Ảnh hưởng kết hợp của mật độ và thời gian vận chuyển lên tỷ lệ sống của nghêu lựa giai đoạn con giống được trình bày trong Bảng 3.32.

Bảng 3. 32: Tỷ lệ sống (%) của nghêu lựa giai đoạn giống ở các nghiệm thức mật độ và thời gian vận chuyển khác nhau

Nghiệm thức	Thời gian (giờ)	Mật độ (con/túi)	Nghêu giống cỡ nhỏ	Nghêu giống cỡ lớn
Thời gian – mật độ	6	10.000	99,35 ± 0,030	98,68 ± 0,257
		15.000	98,40 ± 0,061	97,97 ± 0,443
		20.000	98,43 ± 0,067	96,61 ± 0,683
	12	10.000	98,33 ± 0,036	98,66 ± 0,420
		15.000	97,90 ± 0,165	97,07 ± 0,658
		20.000	97,54 ± 0,221	98,64 ± 0,296
	18	10.000	98,74 ± 0,339	96,77 ± 0,478
		15.000	98,15 ± 0,303	97,32 ± 0,356
		20.000	97,77 ± 0,149	95,94 ± 0,369
Thời gian (giờ)	6		98,73 ± 0,111 ^b	97,75 ± 0,339 ^b
	12		97,92 ± 0,117 ^a	98,12 ± 0,318 ^b
	18		98,22 ± 0,179 ^a	96,68 ± 0,263 ^a
Mật độ (con/túi)	10.000		98,81 ± 0,148 ^Y	98,04 ± 0,305 ^Y
	15.000		98,15 ± 0,121 ^X	97,45 ± 0,287 ^{XY}
	20.000		97,91 ± 0,126 ^X	97,06 ± 0,384 ^X
P thời gian			< 0,001	0,001
P mật độ			< 0,001	0,044
P thời gian * mật độ			0,642	0,008

Số liệu trình bày: trung bình ± sai số chuẩn (n=6). Số liệu có chữ cái in thường khác nhau trong cùng cột thể hiện sự sai khác có ý nghĩa giữa thời gian vận chuyển; chữ cái in hoa khác nhau trong cùng cột thể hiện sự sai khác có ý nghĩa giữa các mật độ (p<0,05).

Kết quả nghiên cứu cho thấy, ở nghiệm thức thời gian vận chuyển tỷ lệ sống của nghêu giống cỡ nhỏ đạt cao nhất là 98,73% sau 6 giờ, cao hơn có ý nghĩa so với hai nghiệm thức còn lại ($p < 0,05$). Ở các nghiệm thức mật độ, tỷ lệ sống của nghêu đạt giá trị cao nhất (98,81%) ở mật độ 10.000 con/túi, sau đó tỷ lệ sống giảm dần ở các mật độ cao hơn ($p < 0,05$). Mặc dù có sự khác biệt có ý nghĩa giữa các nghiệm thức thí nghiệm, tuy nhiên tỷ lệ sống của nghêu giống đều rất cao ($> 97%$) trong quá trình thí nghiệm. Tương tự, đối với nghêu giống cỡ lớn, tỷ lệ sống ở các nghiệm thức đều cao nhưng vẫn ghi nhận sự khác biệt có ý nghĩa. Tỷ lệ sống của nghêu giống ở nghiệm thức vận chuyển 6 giờ và 12 giờ tương đương nhau, dao động từ 97,75% tới 98,12% và cao hơn có ý nghĩa so với nghiệm thức vận chuyển 18 giờ (96,68%) ($p < 0,05$). Ở mật độ vận chuyển 10.000 con/túi, tỷ lệ sống của nghêu đạt 98,04%, cao hơn có ý nghĩa so với mật độ 20.000 con/túi (97,06%) ($p < 0,05$). Ở nghiệm thức vận chuyển 15.000 con/túi, tỷ lệ sống của nghêu (97,45%) không có sự khác biệt so với hai nghiệm thức còn lại ($p > 0,05$).

Kết quả phân tích thống kê cho thấy, không có tác động kết hợp của hai yếu tố thời gian vận chuyển và mật độ lên tỷ lệ sống của nghêu giống cỡ nhỏ ($p = 0,642$); trong khi đó, tỷ lệ sống của nghêu cỡ lớn chịu tác động đồng thời của yếu tố thời gian và mật độ vận chuyển ($p = 0,008$), với tỷ lệ sống cao nhất ở các nghiệm thức thời gian và mật độ vận chuyển thấp (6 giờ và 10.000 con/túi).

Nhìn chung, tỷ lệ sống của nghêu lựa giống cỡ nhỏ và cỡ lớn đều cao trong quá trình thí nghiệm và thể hiện mật độ vận chuyển 10.000 con/túi và thời gian vận chuyển 6 giờ (nghêu cỡ nhỏ) và 12 giờ (nghêu cỡ lớn) là tốt nhất. Hiện nay các nghiên cứu về ảnh hưởng của các yếu tố trong quá trình vận chuyển lên tỷ lệ sống của nghêu lựa còn hạn chế. Mặc dù, trong thực tế nghêu lựa giống đang được vận chuyển chủ yếu bằng phương pháp vận chuyển kín với mật độ 10.000 – 15.000 con/túi, thời gian vận chuyển từ 6 – 12 giờ. Theo Ngô Thị Thu Thảo và Lê Thị Thu Anh (2015), sò huyết giống cỡ nhỏ ($9,73 \pm 0,95$ mm) khi được bảo quản bằng phương pháp phun nước biển và bổ sung glucose nồng độ 100 mg/L cho tỷ lệ sống là 91,6% cao hơn so với sò giống cỡ lớn ($15,85 \pm 1,04$ mm), tương ứng là 36,1%. Ở loài vẹm *M. edulis*, tỷ lệ sống tỷ lệ nghịch với thời gian bảo quản khô, thể hiện thông qua khả năng lọc nước giảm tới 70% sau 2 ngày bảo quản (Vũ Trọng Đại, 2015). Khả năng sống của vẹm là tốt nhất ở ngày đầu tiên sau khi

thu hoạch với khả năng lọc nước là 2.000 mL h⁻¹/cá thể, nhưng thời gian bảo quản khô càng kéo dài thì tỷ lệ sống của vẹm càng giảm, đặc biệt đối với những cá thể chịu ảnh hưởng stress trong quá trình vận chuyển (Pascoe và ctv., 2009; Vu Trong Dai, 2014).

3.4.3.2 Ảnh hưởng lên khả năng tiêu hao ôxy của nghêu lựa giai đoạn giống

Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của mật độ và thời gian vận chuyển lên khả năng tiêu hao ôxy của nghêu lựa giống trình bày trong Bảng 3.33.

Bảng 3. 33: Tiêu hao ôxy (ppm/g/phút) của nghêu lựa giai đoạn giống ở các nghiệm thức mật độ và thời gian vận chuyển khác nhau

Nghiệm thức	Thời gian (giờ)	Mật độ (con/túi)	Nghêu cỡ nhỏ	Nghêu cỡ lớn
Thời gian (giờ) – mật độ (con/túi)	6	10.000	1,42 ± 0,093	1,96 ± 0,312
		15.000	2,80 ± 0,325	3,80 ± 0,699
		20.000	4,51 ± 0,662	4,33 ± 0,747
	12	10.000	4,17 ± 0,999	3,93 ± 0,557
		15.000	4,46 ± 0,608	5,97 ± 0,899
		20.000	7,33 ± 0,659	6,70 ± 1,136
	18	10.000	3,49 ± 0,627	6,02 ± 0,786
		15.000	8,26 ± 1,637	8,63 ± 0,563
		20.000	11,76 ± 1,488	11,07 ± 1,150
Thời gian (giờ)	6		2,91 ± 0,385 ^a	3,37 ± 0,416 ^a
	12		5,32 ± 0,545 ^b	5,54 ± 0,563 ^b
	18		7,84 ± 1,092 ^c	8,57 ± 0,687 ^c
Mật độ (con/túi)	10.000		3,03 ± 0,467 ^X	3,97 ± 0,511 ^X
	15.000		5,17 ± 0,785 ^Y	6,13 ± 0,622 ^Y
	20.000		7,87 ± 0,909 ^Z	7,37 ± 0,877 ^Y
Nghiệm thức đối chứng			1,37 ± 0,052	2,12 ± 0,022
P thời gian			< 0,001	< 0,001
P mật độ			< 0,001	< 0,001
P thời gian * mật độ			0,029	0,490

Số liệu trình bày: trung bình ± sai số chuẩn (n=6). Số liệu có chữ cái in thường khác nhau trong cùng cột thể hiện sự sai khác có ý nghĩa giữa thời gian vận chuyển; chữ cái in hoa khác nhau trong cùng cột thể hiện sự sai khác có ý nghĩa giữa các mật độ (p<0,05).

Kết quả Bảng 3.33 cho thấy, mức tiêu hao ôxy của nghêu lựa giống tăng dần và tỷ lệ thuận với thời gian vận chuyển cũng như mật độ đóng giống. Ở các nghiệm thức thời gian vận chuyển và mật độ thấp nhất (6 giờ và 10.000 con/túi) thì mức độ tiêu hao

ôxy của nghêu lựa giống ở cả cỡ nhỏ và cỡ lớn đều có giá trị tương đương với nghiệm thức đối chứng (dao động từ 2,91 – 3,97 ppm/g/phút). Tuy nhiên, ở nghiệm thức thời gian vận chuyển 18 giờ thì mức tiêu hao ôxy của nghêu lựa giống cỡ nhỏ và cỡ lớn đều tăng và đạt giá trị cao nhất (lần lượt là 7,84 và 8,57 ppm/g/phút), khác biệt có ý nghĩa so với nghiệm thức thời gian vận chuyển 12 giờ và 6 giờ ($p < 0,05$). Ở các nghiệm thức mật độ, mức tiêu hao ôxy của nghêu lựa giống cấp 1 tăng cao nhất (7,87 ppm/g/phút) ở mật độ 20.000 con/túi, tiếp đến là nghiệm thức 15.000 con/túi (5,17 ppm/g/phút) và thấp nhất là ở mật độ 10.000 con/túi (3,03 ppm/g/phút) ($p < 0,05$). Đối với nghêu lựa giống cấp 2, mức tiêu hao ôxy thấp nhất (3,97 ppm/g/phút) ở mật độ 10.000 con/túi so với hai nghiệm thức còn lại ($p < 0,05$). Mức tiêu hao ôxy của nghêu giống ở mật độ 20.000 con/túi là cao nhất (7,37 ppm/g/phút) nhưng không khác biệt có ý nghĩa so với nghiệm thức mật độ 15.000 con/túi ($p > 0,05$).

Kết quả phân tích thống kê ghi nhận tác động đồng thời của hai yếu tố thời gian và mật độ lên mức độ tiêu hao ôxy của nghêu giống cấp 1 ($p = 0,029$) với mức tiêu hao ôxy thấp nhất ở mật độ 10.000 con/túi kết hợp thời gian 6 giờ ($1,42 \pm 0,093$ ppm/g/phút). Trong khi đó, mức độ tiêu thụ ôxy của nghêu giống cấp 2 không chịu tác động đồng thời của thời gian vận chuyển và mật độ đóng giống ($p = 0,490$). Đối với các đối tượng động vật thân mềm nói chung và nghêu lựa nói riêng, các nghiên cứu về mức độ tiêu hao ôxy trong quá trình bảo quản và vận chuyển còn hạn chế. Sandra (1983) công bố mức độ tiêu thụ ôxy của nghêu *Mulinia lateralis* chịu ảnh hưởng của kích thước cơ thể trong thời gian lưu giữ theo hàm số mũ $O_2 = aW^b$ với giá trị b dao động từ 0,333 – 0,882. Theo Ngô Thị Thu Thảo và Lâm Thị Quang Mẫn (2012a) tốc độ lọc thức ăn của nghêu trắng *M. lyrata* chịu ảnh hưởng của độ mặn và thời gian phơi bãi. Ở các nghiệm thức độ mặn thì tốc độ lọc thức ăn của nghêu đều tăng lên theo thời gian phơi bãi và đạt cao nhất ở độ mặn 30‰ kết hợp với thời gian phơi bãi 6 giờ ($2,88 \times 10^4$ tb/g/ngày). Tương tự, khi nghiên cứu trên vẹm *M. edulis*, Vũ Trọng Đại (2015) kết luận sau 2 ngày bảo quản khô, vẹm bị ảnh hưởng của quá trình vận chuyển có khả năng lọc thức ăn cao hơn vẹm đối chứng, tương ứng với mức giảm 73% lượng tế bào tảo trong nước so với mức giảm của vẹm đối chứng là 64%.

Kết quả nghiên cứu cho thấy khi tăng thời gian vận chuyển và mật độ đóng giống, thì mức tiêu hao ôxy của nghêu lựa giống đều tăng lên. Khả năng lọc thức ăn và hô hấp

(thể hiện qua mức tiêu hao ôxy) là chức năng sinh học chủ yếu để đánh giá sức khỏe của các loài động vật hai mảnh vỏ, khi ở trong điều kiện bất lợi hay nhịn đói lâu trong quá trình phơi bãi hay vận chuyển thì các loài động vật thân mềm hai mảnh vỏ sẽ tăng tốc độ lọc thức ăn và cường độ hô hấp so với trong điều kiện thông thường. Trong nghiên cứu này, thời gian vận chuyển 6 giờ và mật độ đóng giống 10.000 con/túi cho kết quả mức tiêu hao ôxy của nghêu lựa giống thấp nhất, tương tự với mức tiêu hao ôxy của nghêu lựa giống trong điều kiện bình thường (nghiệm thức đối chứng); Như vậy, thời gian vận chuyển 6 giờ và mật độ đóng giống 10.000 con/túi là điều kiện thích hợp nhất khi vận chuyển nghêu lựa giống theo phương pháp vận chuyển kín.

3.5 Thực nghiệm sản xuất giống và xây dựng quy trình kỹ thuật sản xuất giống nghêu lựa tại Khánh Hòa

3.5.1 Thực nghiệm sản xuất giống nghêu lựa

3.5.1.1 Tuyển chọn và nuôi vỗ thành thực nghêu lựa bố mẹ

Việc tuyển chọn nghêu lựa bố mẹ có ý nghĩa hết sức quan trọng và mang tính quyết định đến thành công của quá trình nuôi thành thực và kích thích sinh sản sau này. Mục đích của việc tuyển chọn là tìm được nguồn nghêu lựa bố mẹ đảm bảo các tiêu chí về kích thước, khối lượng và đã thành thực sinh dục để đảm bảo thành công cho việc kích thích sinh sản.

Bảng 3. 34: Kết quả tuyển chọn nghêu lựa bố mẹ

Đợt sản xuất	Số lượng (con)	Chiều dài (mm)	Khối lượng (g)	Độ béo (%)	Tỷ lệ thành thực (%)
1	1.550	51,4 ± 1,82	13,4 ± 2,15	30,4 ± 1,35	70,2 ± 2,85
2	2.800	46,8 ± 3,53	10,8 ± 1,49	30,5 ± 4,41	67,5 ± 1,20
3	2.230	49,5 ± 6,45	13,5 ± 2,15	28,5 ± 5,50	70,6 ± 2,38
Tổng/TB	6.580	50,7 ± 4,52	12,3 ± 1,56	32,7 ± 3,48	69,4 ± 2,25

Nghêu lựa được tuyển chọn có kích thước chiều dài vỏ trung bình 50,7 ± 4,52 mm, khối lượng 12,3 ± 1,56 g. Một số chỉ tiêu hình thái ngoài của nghêu lựa cũng được xem xét khi tuyển chọn: Nghêu có màu sắc tự nhiên, kích cỡ đồng đều, không dị hình, vỏ sạch, nguyên vẹn, không có vật bám. Nghêu lựa được đánh giá cảm quan về “độ tươi” thông qua phản xạ mở miệng vỏ, thò chân ra ngoài và khi có tác động thì đồng loạt thụt chân vào, khép vỏ vào tạo thành từng tiếng “lách tách”. Kết quả kiểm tra độ

béo và tỷ lệ thành thực của nghêu bố mẹ cho thấy độ béo trung bình $32,7 \pm 3,48\%$, tỷ lệ thành thực $69,4 \pm 2,25\%$. Để đạt được hiệu quả cao khi sinh sản, tiến hành nuôi vỗ thành thực đàn nghêu. Nuôi thành thực nghêu lựa bố mẹ là một công đoạn cần thiết trong quy trình sản xuất giống nhân tạo. Nghêu lựa trong tự nhiên có mức độ phát triển cơ quan sinh dục không đồng đều, nếu đưa vào cho sinh sản ngay thì tỷ lệ nghêu tham gia sinh sản thấp từ đó lượng trứng thu được rất ít và số lượng ấu trùng không đảm bảo cho yêu cầu sản xuất giống (Pongthana, 1998; Gosling, 2003). Mặt khác, kết quả nghiên cứu cho thấy nghêu lựa sinh sản rải rác quanh năm nhưng tập trung vào hai thời điểm chính là từ tháng 4 tới tháng 5 và từ tháng 9 tới tháng 10; Vì vậy, việc nuôi thành thực có thể giúp cho nghêu lựa bố mẹ nhanh chóng đạt mức độ thành thực đồng đều nhất để nâng cao hiệu quả của việc kích thích sinh sản. Việc nuôi thành thực nghêu lựa giúp kéo dài và chủ động mùa vụ sản xuất thông qua việc chủ động về thời gian cho sinh sản. Thời gian nuôi vỗ nghêu bố mẹ thích hợp nhất là 15 – 20 ngày, nếu thời gian nuôi vỗ kéo dài sẽ tốn kém chi phí và có thể làm cho nghêu “xuống trứng” do những cá thể có tuyến sinh dục đã thành thực có thể sinh sản ngay khi thay nước hoặc cho ăn. Kết quả nuôi vỗ thành thực nghêu lựa trong Bảng 3.35.

Bảng 3. 35: Kết quả nuôi vỗ thành thực nghêu lựa bố mẹ

Đợt sản xuất	Thời gian	Tỷ lệ sống (%)	Độ béo (%)	Tỷ lệ thành thực (%)
1	05/4/2019 - 30/5/2019	$92,7 \pm 2,75$	$31,5 \pm 2,30$	$76,4 \pm 1,15$
2	07/5/2019 - 27/6/2019	$94,2 \pm 1,15$	$32,1 \pm 5,21$	$74,1 \pm 1,24$
3	10/9/2019 - 28/10/2019	$95,4 \pm 1,25$	$34,7 \pm 4,08$	$80,6 \pm 2,38$
TB		$94,2 \pm 1,57$	$33,7 \pm 1,78$	$77,3 \pm 3,32$

Kết quả nuôi vỗ thành thực cho thấy tỷ lệ sống của nghêu lựa rất cao, trung bình $94,2 \pm 1,57\%$ và chỉ ghi nhận hiện tượng nghêu chết trong thời gian đầu của quá trình nuôi vỗ. Trong cả 3 đợt sản xuất, nghêu 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 $33,7 \pm 1,78\%$ và $77,3 \pm 3,32\%$. Ở đợt nuôi vỗ thứ 3 chỉ số độ béo và tỷ lệ thành thực của nghêu là lớn nhất, tương ứng $34,7\%$ và $80,6\%$. Như vậy, kết quả của 3 đợt nuôi vỗ đều cho kết quả tỷ lệ thành thực của nghêu lựa đều đạt yêu cầu cho sinh sản, dao động từ $74,1 - 80,6\%$.

3.5.1.2 Kích thích sinh sản

Sử dụng phương pháp sốc nhiệt để kích thích nghêu sinh sản. Nghêu thường sinh sản vào lúc chiều tối, nghêu đực sẽ phản ứng với sự thay đổi của nhiệt độ và phóng tinh ra ngoài môi trường trước. Sau đó, tinh trùng đóng vai trò như là chất kích thích, hấp dẫn nghêu cái phóng trứng. Thời gian hiệu ứng của nghêu lựa kéo dài do chúng là loài sinh sản ngắt quãng, không liên tục. Thời gian hiệu ứng dao động từ 90,2 tới 102 giờ. Sau khi nghêu sinh sản, vớt nghêu bố mẹ ra khỏi bể đẻ và sử dụng bể đẻ làm bể ấp trứng để tránh làm ảnh hưởng tới quá trình phát triển phôi. Kết quả kích thích sinh sản nghêu được thể hiện ở Bảng 3.36.

Bảng 3. 36: Kết quả kích thích sinh sản nghêu lựa

Đợt	Thời gian	Số lượng (con)	Thời gian hiệu ứng (giờ)	Tỷ lệ sinh sản (%)	Tỷ lệ thụ tinh (%)	Tỷ lệ nở (%)
1	05/4/2019 - 30/5/2019	1.100	102,0 ± 6,52	65,0 ± 1,1	73,2 ± 1,5	70,0 ± 1,0
2	07/5/2019 - 27/6/2019	1.950	95,4 ± 4,28	62,2 ± 2,6	72,4 ± 1,1	71,5 ± 2,4
3	10/9/2019 - 28/10/2019	1.700	90,2 ± 10,73	76,5 ± 2,3	77,2 ± 2,4	72,2 ± 1,5
Tổng/TB		4.750	94,7 ± 5,32	68,6 ± 1,6	73,2 ± 3,6	71,2 ± 1,2

Kết quả kích thích nghêu sinh sản cho thấy tỷ lệ đẻ của nghêu là khá cao và đều nhau giữa các đợt, trung bình $68,6 \pm 1,6\%$. Tỷ lệ thụ tinh của nghêu giữa các đợt là khá đều nhau, dao động từ 72,4% tới 77,2% (trung bình là $73,2 \pm 3,6\%$). Tương tự, tỷ lệ nở của trứng cũng cao và tương đương giữa các đợt, trung bình là $71,2 \pm 1,2\%$. Do đàn nghêu khai thác tại địa phương và được nuôi vỗ thành thực tốt nên việc sử dụng chung một phương pháp kích thích là sốc nhiệt cho kết quả về tỷ lệ thụ tinh và tỷ lệ nở của ấu trùng tương đối đều giữa các đợt. Tỷ lệ thụ tinh và tỷ lệ nở có giá trị cao nhất ở đợt sinh sản thứ 3, do kết quả nuôi vỗ đàn nghêu trong đợt này có chỉ số độ béo và tỷ lệ thành thực tốt hơn so với hai đợt trước.

3.5.1.3 Ương nuôi ấu trùng và nghêu giống

Khi xuất hiện ấu trùng bánh xe, tiến hành thu toàn bộ ấu trùng trong bể đẻ chuyển sang bể ương ấu trùng giai đoạn trôi nổi. Bể sử dụng là bể xi măng hình chữ nhật, thể tích dài × rộng × cao: 2,5, × 2,0m × 1,6m. Các yếu tố môi trường trong quá trình ương

nuôi ấu trùng và nghêu giống được điều chỉnh trong khoảng thích hợp cho sinh trưởng và phát triển của nghêu dựa vào các kết quả thí nghiệm đã thực hiện. Các yếu tố môi trường được duy trì như sau: độ mặn: $31,1 \pm 1,12$ ‰, pH: 7,4 – 8,5, ôxy hòa tan: 5,5 – 7,1 mgO₂/L, N-NO₂: $0,32 \pm 0,15$ mg/L, cường độ ánh sáng: 500 – 3.000 lux, nhiệt độ trung bình $28,3 \pm 1,24$ °C.

Kết quả nghiên cứu tốt nhất của các thí nghiệm được ứng dụng trong quá trình thực nghiệm sản xuất giống nghêu lụa, được tóm tắt trong Bảng 3.37.

Bảng 3. 37: Điều kiện ương nuôi trong thực nghiệm sản xuất giống nghêu lụa

Điều kiện	Mật độ ương	Thức ăn, số lần/ngày	Loại chất đáy	Sục khí	Thay nước
Ấu trùng giai đoạn trôi nổi	1 – 3 con/mL	Vi tảo, 2 lần	Không	Nhẹ	Không
Ấu trùng giai đoạn sống đáy	2 - 4 con/cm ²	Vi tảo, 2 lần	Không	Mạnh	30%, 5 ngày/lần
Nghêu giống	2 con/cm ²	Vi tảo và TATH, 2 lần	Không	Mạnh	30%, 2 ngày/lần

Ở giai đoạn ấu trùng trôi nổi, mật độ ương được duy trì trong khoảng 1 – 3 con/mL để nâng cao được công suất của bể ương. Tới giai đoạn hậu kỳ đỉnh vỏ, ấu trùng xuất hiện điểm mắt và chân bò, tiến hành thu toàn bộ ấu trùng để chuyển sang bể ương giai đoạn sống đáy với mật độ ương 2 – 4 con/cm² và không sử dụng chất đáy để dễ quản lý chăm sóc ấu trùng. Bể ương ấu trùng từ giai đoạn sống đáy tới nghêu giống là bể xi măng hình chữ nhật, thể tích dài × rộng × cao: 4,5, × 2,0m × 0,6m. Trong suốt giai đoạn ương ấu trùng giai đoạn trôi nổi và giai đoạn sống đáy, sử dụng thức ăn là các loại vi tảo (*N. oculata*, *Chlorella* sp. và *I. galbana*, tỷ lệ phối trộn 1:1:1), cho ăn 2 lần/ngày, mật độ tế bào dao động $15 - 50.10^3$ tb/mL. Ở giai đoạn nghêu giống, sử dụng thức ăn là hỗn hợp vi tảo và TATH (Lansy, Frippak, tỷ lệ 1:1, liều lượng cho ăn 2g/100.000 ấu trùng/ngày), thời gian cho ăn 2 lần/ngày vào 7h00 và 17h00. Quan sát bể ương thấy ấu trùng đạt kích thước > 1mm sẽ bám lên thành bể và tập trung nhiều hơn ở khu vực đáy bể xung quanh các vòi sục khí.

Kết quả thử nghiệm sản xuất giống nghêu lụa trình bày trong Bảng 3.38.

Bảng 3. 38: Kết quả thực nghiệm sản xuất giống nghêu lựa

Đợt	Thời gian	Ấu trùng giai đoạn trôi nổi (con)	Ấu trùng giai đoạn sống đáy (con)	Nghêu giống (con)	Tỷ lệ sống (%)
1	05/4/2019 - 30/5/2019	91.500.000	4.710.000	3.750.000	4,10
2	07/5/2019 - 27/6/2019	126.000.000	7.800.000	6.300.000	5,00
3	10/9/2019 - 28/10/2019	136.200.000	8.850.000	7.320.000	5,37
Tổng/TB		353.700.000	21.360.000	17.370.000	4,6 ± 0,74

Cả 3 đợt sản xuất đều thành công và cho tỷ lệ sống của ấu trùng khá cao và ổn định, dao động từ 4,1 – 5,37 % (trung bình $4,6 \pm 0,74\%$). Kết quả sau 3 đợt sản xuất thu được tổng số lượng nghêu giống (kích thước 3 – 5 mm) là 17,37 triệu con giống, tương ứng với năng suất 190.000 con/m².

Hiện nay, các đối tượng động vật thân mềm hai mảnh vỏ được sản xuất giống ở quy mô đại trà ở nước ta như nghêu trắng, điệp quạt, sò huyết, tu hài... có tỷ lệ sống tới giai đoạn con giống còn thấp do trong vòng đời chúng trải qua giai đoạn biến thái từ ấu trùng trôi nổi sang giai đoạn ấu trùng sống đáy làm tỷ lệ hao hụt cao. Theo Nguyễn Thị Xuân Thu (1999) tỷ lệ sống của điệp quạt từ giai đoạn ấu trùng chữ D tới con giống kích thước 1 – 2 mm cao nhất là 9,5%. Nghiên cứu sản xuất giống nghêu trắng *M. lyrata* tới giai đoạn con giống lớn (kích thước 4 mm) có tỷ lệ sống trung bình lần lượt là 1% (Nguyễn Đình Hùng và ctv., 2003) và 7,6 – 8,5% (Chu Chí Thiết và Kumar, 2008). Ở sò huyết, tỷ lệ sống trung bình tới giai đoạn sò giống (kích thước 4 – 5 mm) dao động từ 1,02 % – 1,88% (La Xuân Thảo và ctv., 2003; Hoàng Thị Bích Đào, 2005). Nghiên cứu trên đối tượng tu hài, Trần Thế Mưu và Vũ Văn Sáng (2013) công bố tỷ lệ sống của ấu trùng tu hài sau 21 ngày tuổi đạt cao nhất là 21,6%. Kết quả thực nghiệm sản xuất giống nghêu lựa trong nghiên cứu này cho thấy tính ổn định với tỷ lệ sống trung bình tới giai đoạn nghêu giống cỡ 3 – 5 mm là 4,6%.

3.5.2 Quy trình kỹ thuật sản xuất giống nhân tạo nghêu lựa

3.5.2.1 Chỉ tiêu kỹ thuật và qui mô sản xuất

Quy trình kỹ thuật sản xuất giống nhân tạo nghêu lựa tại Khánh Hòa có các chỉ tiêu kỹ thuật đạt ổn định như sau: Tỷ lệ sống trong quá trình nuôi vỗ thành thực: 92,7 –

95,4%; tỷ lệ thành thực sinh dục: 74,1 – 80,6%. Tỷ lệ nghêu lựa sinh sản: 62,2 – 76,5%; Tỷ lệ thụ tinh: 72,4 – 77,2%; Tỷ lệ nở: 70,0 – 72,2%. Tỷ lệ sống từ giai đoạn ấu trùng trôi nổi tới giai đoạn ấu trùng sống đáy: 5,2 – 6,5 %. Tỷ lệ sống từ giai đoạn ấu trùng sống đáy tới nghêu giống (cỡ 3 – 5mm): 79,6 – 82,7%. Năng suất 190.000 con/m².

Quy mô sản xuất: Quy trình áp dụng đối với các trại sản xuất có quy mô từ 5 đến 10 triệu con giống trở lên/đợt sản xuất, tương đương tổng thể tích bể từ 200 – 250 m³.

Mùa vụ sản xuất: từ tháng 3 tới tháng 11 hàng năm.

3.5.2.2 Cơ sở hạ tầng và trang thiết bị

- **Cơ sở hạ tầng trại sản xuất giống**

Cơ sở hạ tầng trại sản xuất nghêu giống có diện tích từ 2.000m² trở lên, gồm các hạng mục chính: khu trại sản xuất trong nhà và khu sản xuất ngoài trời.

Khu trại sản xuất trong nhà có tường bao, mái che kín, tạo sự an toàn sinh học cho đối tượng sản xuất, tránh mưa gió, bụi bẩn, duy trì nhiệt độ trong trại sản xuất từ 26 – 32°C. Trại phải được che kín với cường độ ánh sáng phù hợp nhưng đảm bảo không khí được lưu thông, thoáng mát. Khu trại sản xuất có các loại bể phục vụ cho nhu cầu sản xuất giống nhân tạo nghêu

Hệ thống nước cấp, cống thoát nước, hố ga phù hợp với công suất bể và có khả năng dễ dàng lọc thu ấu trùng, thoát nước nhanh chóng.

Hệ thống bể sản xuất: bể lọc thô: thể tích từ 30 – 50 m³, và các vật liệu lọc như: cát mịn, sỏi, than hoạt tính. Bể chứa nước mặn: thể tích từ 50-100 m³. Bể nuôi vỡ thành thực: thể tích từ 6 – 10 m³. Bể ấp trứng: bể hình vuông hoặc hình chữ nhật, thể tích 4 – 12m³ là bể xi măng hoặc composite. Bể ương ấu trùng: thể tích từ 4 – 12m³ (ương ấu trùng giai đoạn trôi nổi) và 4 – 12m² (ương ấu trùng giai đoạn sống đáy và nghêu giống).

Hệ thống bể lọc nước công suất 7 – 10 m³/giờ, gồm lớp sỏi cỡ 70 – 100 mm (dày 35 – 40 cm), lớp đá sỏi nhỏ, cỡ 30 – 50 mm (dày 30 – 35 cm), lớp cát thô, cỡ 0,08 – 0,2 mm (dày 20 – 25 cm) và lớp cát mịn, cỡ 0,05 – 0,07 mm (dày 20 – 25 cm), dùng để lọc nước cấp trực tiếp vào hệ thống bể sản xuất.

Hệ thống nuôi tạo sinh khối: Nuôi tạo bằng bình nhựa, túi nilon, thùng nhựa (thể tích 250 – 450 lít), bể nhựa/composite (thể tích 0,5 – 2m³), bể xi măng (bạt) (thể tích 5 – 10 m³).

Tuỳ theo công suất trại mà có số lượng bể phù hợp. Thử tích các loại bể dùng trong trại giống nên đảm bảo tỷ lệ thích hợp là: bể chứa nước lọc thô/lọc tinh: Bể ương nuôi ấu trùng: Bể nuôi tảo tương ứng 1: 6: 2.

Hệ thống cấp khí: Hệ thống cấp khí gồm các thiết bị như: máy nén khí; đá bọt, van khí... đảm bảo cung cấp đầy đủ khí cho các hệ thống ương nuôi. Vòi khí được bố trí gọn gàng dễ tháo lắp, ngâm rửa, khử trùng.

Hệ thống cấp nước biển: Nước biển phải được để lắng, lọc qua cát (lọc thô), lọc tinh (lõi lọc 5 μ m). Nước trong sạch, không chứa các chất độc hại, đảm bảo các tiêu chí về chất lượng đầu vào phù hợp với đối tượng sản xuất. Dụng cụ thiết bị cấp nước gồm máy bơm nước các loại; hệ thống dẫn nước (van, ống dẫn cứng, mềm); bể lắng; bể chứa; bể chứa nước phải có cao trình đảm bảo cho nước tự chảy đến hệ thống bể ương nuôi.

Hệ thống chiếu sáng: Sử dụng ánh sáng tự nhiên hoặc ánh sáng nhân tạo. Khu vực nuôi tảo cần có cường độ ánh sáng vừa (3.000 – 8.000 lux). Khu vực nuôi nghêu bố mẹ có ánh sáng nhẹ (500 – 3.000 lux) và khu vực ương nuôi ấu trùng có ánh sáng yếu (20 – 300 lux).

Một số thiết bị khác: máy bơm nước, máy nén khí, bể lọc nước, thiết bị lọc nước, túi lọc nước, máy phát điện và vợt lọc ấu trùng các loại.

3.5.2.3 Nội dung quy trình

- Kỹ thuật tuyển chọn nghêu lựa cho sinh sản

Đàn nghêu lựa cho sinh sản đáp ứng các tiêu chí sau: kích thước chiều dài trung bình $\geq 50,7$ mm, khối lượng $\geq 12,3$ g. Nghêu lựa có màu sắc tự nhiên, kích cỡ đồng đều, không dị hình, nguyên vẹn, vỏ sạch, không có vật bám.

Kiểm tra mức độ thành thực sinh dục của nghêu: giải phẫu, tách lấy tuyến sinh dục soi trên kính hiển vi độ phóng đại 100 lần để xác định giai đoạn phát triển tuyến sinh dục. Lựa chọn đàn nghêu lựa có tuyến sinh dục phát triển ở giai đoạn giai đoạn III chiếm đa số để nuôi vỗ.

- Kỹ thuật nuôi vỗ thành thực nghêu lựa
 - Bước 1: Chuẩn bị bể nuôi vỗ thành thực

Nghêu bố mẹ nuôi trong bể xi măng thể tích 10m³, bể được vệ sinh sạch, phơi khô trước khi sử dụng. Cấp nước biển lọc sạch, đảm bảo các yếu tố môi trường ổn định

và phù hợp như sau: độ mặn 30,0 – 31,0‰, pH 7,4 – 8,5, ôxy hòa tan $\geq 5,0$ mgO₂/L, N-NO₂ $\leq 0,2$ mg/L, nhiệt độ trung bình 28,0 – 29,0°C.

- Bước 2: Chăm sóc và quản lý

Mật độ nuôi: 20 kg/bể. Nghêu được đựng trong các khay nhựa hình chữ nhật và treo trong bể. Thức ăn cho nghêu lựa là các loài vi tảo *Chlorella* sp., *I. galbana* với mật độ cho ăn 80.000 – 100.000 tb/mL. Nghêu được cho ăn 2 lần/ngày, vào lúc 7h00 và 17h00. Định kỳ 2 ngày/lần, si phông kết hợp thay 50% lượng nước trong bể nuôi.

Quá trình thay nước đảm bảo các yếu tố môi trường của nguồn nước cấp tương đồng với điều kiện môi trường của bể nuôi, đặc biệt là yếu tố nhiệt độ. Thời gian nuôi vỗ: 10 – 20 ngày.

- Bước 3: Kiểm tra mức độ thành thực của nghêu

Giải phẫu, kiểm tra, quan sát tuyến sinh dục thấy phát triển căng phồng, màu trắng sữa hoặc vàng nhạt. Nếu cắt màng bao tuyến sinh dục thấy có dịch sệt sệt màu trắng sữa hoặc vàng nhạt chảy ra thì nghêu đã thành thực. Chuyển nghêu bố mẹ thành thực sang bể kích thích sinh sản.

- Kỹ thuật kích thích sinh sản và thu ấu trùng

- Bước 1: Chuẩn bị bể kích thích sinh sản

Bể kích thích sinh sản có thể tích 10m³. Cấp nước biển đã lọc sạch vào bể để. Điều kiện môi trường của nguồn nước tương tự như nguồn nước khi nuôi vỗ thành thực. Chế độ sục khí nhẹ, đều, liên tục 24/24 giờ.

- Bước 2: Thu nghêu bố mẹ từ bể nuôi vỗ, rửa sạch bằng nước mặn chuẩn bị kích thích sinh sản.

- Bước 3: Kích thích nghêu bố mẹ sinh sản:

Nghêu được xếp vào rổ nhựa hình chữ nhật (kích thước dài × rộng × cao: 40 × 20 × 5 cm), phía trên phủ miếng bông thấm nước biển rồi phơi trong bóng mát trong 30 phút dưới trời nắng (nhiệt độ 32 – 34°C). Chuyển rổ nghêu vào treo trong bể để có nhiệt độ nước 28 - 29°C, độ mặn 31‰, mở sục khí mạnh hướng trực tiếp vào rổ nghêu để kích thích sinh sản.

Thời gian kích thích sinh sản từ 3 – 5 giờ, nếu nghêu không sinh sản, chuyển lại bể nuôi vỗ thành thực tiếp tục theo dõi, chăm sóc cho đợt kích thích sinh sản sau.

- Bước 4: Thu và ấp trứng thụ tinh

Sau khi nghêu sinh sản, thu và chuyển nghêu bố mẹ về bể nuôi vỗ thành thực. Trứng thụ tinh được ương trực tiếp trong bể sinh sản bằng cách duy trì sục khí nhẹ, liên tục. Sử dụng vợt có mắt lưới cỡ 120 μm thu váng và tạp chất nổi trên bề mặt bể sau mỗi 1 – 2 giờ.

Sau 10 – 12 giờ ở điều kiện nhiệt độ 28 – 29⁰C từ khi nghêu sinh sản, xuất hiện ấu trùng bánh xe, tiến hành thu ấu trùng bằng vợt có mắt lưới 45 μm chuyển qua bể ương ấu trùng giai đoạn trôi nổi.

- Kỹ thuật ương ấu trùng từ giai đoạn trôi nổi tới giai đoạn sống đáy

Yêu cầu: nước biển đã lọc sạch có các yếu tố môi trường tương tự như nguồn nước khi kích thích sinh sản. Chế độ sục khí nhẹ, đều, liên tục 24/24 giờ. Thức ăn là các loài vi tảo được nuôi sinh khối: *N. oculata*, *I. galbana*, *Chlorella* sp.

Các dụng cụ: vợt lọc ấu trùng, túi thay nước các loại (kích cỡ mắt lưới 35 μm , 60 μm , 80 μm), xô, chậu, ca nhựa... Các dụng cụ được vệ sinh sạch trước khi sử dụng.

Trình tự thực hiện:

- Bước 1: Chuẩn bị bể và ao ương

Bể sử dụng là bể xi măng hình chữ nhật, thể tích dài \times rộng \times cao: 2,5, \times 2,0m \times 1,6m. Bể ương được vệ sinh sạch, phơi khô trong vòng 3 – 5 ngày trước khi cấp nước sử dụng. Đá bọt được bố trí đều trong bể, khoảng cách đá bọt: 0,6 – 1,0 m²/viên.

- Bước 2: Nguồn nước

Cấp nước biển đã lọc sạch có các yếu tố môi trường tương tự như nguồn nước khi kích thích sinh sản.

- Bước 3: Chuyển ấu trùng vào ương

Thu và chuyển ấu trùng bánh xe từ bể kích thích sinh sản sang bể ương bằng vợt với mắt lưới 45 μm . Mật độ ương ấu trùng: 1 – 3 con/mL.

- Bước 4: Chăm sóc và quản lý

Thức ăn cho ấu trùng là các loài vi tảo (*N. oculata*, *Chlorella* sp. và *I. galbana*, tỷ lệ phối trộn 1:1:1), mật độ tế bào dao động 15 \times 10³ – 30 \times 10³ tb/mL, cho ăn 2 lần/ngày vào 7h00 và 17h00. Tăng mật độ tảo cho ăn lên 50 \times 10³ – 80 \times 10³ tb/mL ở giai đoạn ấu trùng đỉnh vỏ. Duy trì mực nước trong bể trong suốt quá trình ương. Kiểm tra khả năng bắt mồi của ấu trùng bằng kính hiển vi quang học hàng ngày vào lúc 20h0 để điều chỉnh lượng thức ăn phù hợp ở những ngày tiếp theo.

Khi xuất hiện ấu trùng giai đoạn hậu kỳ đỉnh vỏ, có điểm mắt, mầm chân và ống si phông, tiến hành thu ấu trùng chuyển sang bể ương giai đoạn ấu trùng sống đáy và nghêu giống.

- Kỹ thuật ương ấu trùng từ giai đoạn sống đáy tới nghêu giống

Yêu cầu: nước biển đã lọc sạch có các yếu tố môi trường tương tự như nguồn nước khi ương ấu trùng giai đoạn trôi nổi. Chế độ sục khí mạnh, đều, liên tục 24/24 giờ. Thức ăn là các loài vi tảo được nuôi sinh khối: *N. oculata*, *I. galbana*, *Chlorella* sp. và thức ăn tổng hợp (Lansy, Frippak).

Các dụng cụ: vợt lọc ấu trùng, túi thay nước các loại (kích cỡ mắt lưới 100 μ m, 150 μ m, 250 μ m), xô, chậu, ca nhựa... Các dụng cụ được vệ sinh sạch trước khi sử dụng.

Trình tự thực hiện:

- Bước 1: Chuẩn bị bể ương

Bể ương ấu trùng là bể xi măng hình chữ nhật, thể tích dài \times rộng \times cao: 4,5, \times 2,0m \times 0,6m. Bể ương được vệ sinh sạch, phơi khô trong vòng 3 – 5 ngày trước khi cấp nước vào. Đá bọt được bố trí đều trong bể, khoảng cách mỗi đá bọt: 0,6 – 1,0 m²/viên.

- Bước 2: Nguồn nước

Cấp nước biển đã lọc sạch có các yếu tố môi trường tương tự như nguồn nước ương ấu trùng giai đoạn trôi nổi.

- Bước 3: Chuyển ấu trùng vào ương

Thu và chuyển ấu trùng giai đoạn hậu kỳ đỉnh vỏ từ bể ương bằng vợt với kích thước mắt lưới 85 μ m. Mật độ ương ấu trùng: 2 – 4 con/cm².

- Bước 4: Chăm sóc và quản lý

Thức ăn là các loại vi tảo (*N. oculata*, *Chlorella* sp. và *I. galbana*, tỉ lệ 1:1:1, mật độ cho ăn $15 \times 10^3 - 50 \times 10^3$ tb/mL) và TATH (Lansy, Frippak, tỷ lệ 1:1, liều lượng cho ăn 2g/100.000 ấu trùng/ngày). Thời gian cho ăn 2 lần/ngày vào 6h00 và 17h00.

Định kỳ thay nước (2 đến 5 ngày/lần), lượng nước thay 30%.

Kiểm tra khả năng bắt mồi của ấu trùng để điều chỉnh lượng thức ăn tương tự như giai đoạn ấu trùng trôi nổi.

- Kỹ thuật thu và vận chuyển nghêu giống

Khi nghêu giống đạt kích thước ≥ 3 mm, tiến hành thu giống. Trước khi thu giống, không cho nghêu ăn trước một ngày.

Thời điểm thu giống: vào chiều tối hoặc sáng sớm, khi thời tiết mát mẻ.

- Bước 1: Tháo cạn nước. Nước trong bể ương được làm cạn bằng cách xả tràn nước qua ống xả (ống lù) một cách từ từ cho đến khi cạn.

- Bước 2: Dùng vòi nước bơm nhẹ dồn nghêu giống trên đáy bể về phía ống lù.

- Bước 3: Thu toàn bộ nghêu ở đáy bể cho vào vợt lọc giống để loại bỏ cặn vẩn, vỏ nghêu chết.

- Bước 4: Chuẩn bị nước đóng nghêu giống. Nước biển được lọc sạch, có độ mặn tương tự bể ương giống và được hạ nhiệt độ xuống còn 25 – 26°C.

- Bước 5: Cho nước vào túi nylon chiếm 1/6 thể tích túi (túi đóng tôm post), chuyển nghêu giống vào túi với mật độ 10.000 con/túi.

- Bước 6: Đóng túi nghêu giống vào thùng xốp cùng với đá lạnh được bọc trong túi nylon để duy trì được nhiệt độ trong thùng khoảng 25 – 26°C.

- Bước 7: Vận chuyển nghêu giống.

Vận chuyển thùng nghêu giống trong điều kiện bình thường, nếu thời gian vận chuyển ≤ 6 giờ. Nếu thời gian vận chuyển kéo dài ≥ 6 giờ, sử dụng xe lạnh và điều chỉnh nhiệt độ 25 – 26°C trong quá trình vận chuyển.

CHƯƠNG 4: KẾT LUẬN VÀ ĐỀ XUẤT

4.1 KẾT LUẬN

- **Đặc điểm sinh học sinh sản của nghêu lụa tại Khánh Hòa:**

Quá trình phát triển tuyến sinh dục của nghêu lụa chia làm 5 giai đoạn: I: giai đoạn chưa phát triển, II: giai đoạn phát triển, III: giai đoạn thành thục sinh dục, IV: giai đoạn sinh sản, V: giai đoạn tái phát dục. Tỷ lệ giới tính đực : cái của nghêu lụa là: 1,00 : 1,08. Nghêu lụa có khả năng sinh sản quanh năm nhưng tập trung vào 2 mùa vụ chính, vụ 1 từ tháng 4 tới tháng 5, vụ 2 từ tháng 9 tới tháng 10. Kích thước thành thục sinh dục lần đầu của nghêu lụa là 43 mm đối với nghêu đực và 44 mm đối với nghêu cái.

Sức sinh sản tuyệt đối trung bình của nghêu lụa là $1.137.467 \pm 280.054$ trứng/cá thể, sức sinh sản tương đối lần lượt: 114.195 ± 17.330 trứng/g khối lượng toàn thân và 354.736 ± 59.766 trứng/g khối lượng thân mềm. Sức sinh sản thực tế của nghêu trung bình: 353.889 ± 165.205 trứng/lần đẻ/cá thể.

Điều kiện môi trường: độ mặn: 30 – 31 ‰, pH: 7,5 - 8,5, ôxy hòa tan: ≥ 5 mg/L, nhiệt độ: 28 – 29°C, quá trình phát triển ấu trùng của nghêu lụa trải qua 4 giai: ấu trùng bánh xe, ấu trùng chữ D, ấu trùng đỉnh vỏ, ấu trùng sống đáy trong khoảng 25 ngày.

- **Kỹ thuật sản xuất giống nhân tạo nghêu lụa tại Khánh Hòa:**

Kỹ thuật nuôi vỗ thành thục nghêu lụa, vi tảo (*Chlorella* sp. và *I. galbana*) là thức ăn phù hợp nhất cho nuôi vỗ thành thục nghêu lụa, với giá trị tốt nhất của các chỉ tiêu: chỉ số độ béo, chỉ số CI, tỷ lệ thành thục, tỷ lệ sống và thành phần sinh hóa của nghêu lụa. Điều kiện chiếu sáng 500 – 3.000 lux cho tỷ lệ sống, khả năng thành thục của nghêu lụa bố mẹ và tỷ lệ thụ tinh, tỷ lệ nở của trứng cao nhất.

Kích thích nghêu lụa sinh sản sử dụng 3 phương pháp là sốc nhiệt, chiếu đèn tia cực tím và ngâm trong dung dịch NH₄OH đều có hiệu quả; tuy nhiên, phương pháp sốc nhiệt cho hiệu quả sinh sản của nghêu lụa tốt nhất.

Kỹ thuật ương ấu trùng nghêu lụa giai đoạn trôi nổi: điều kiện độ mặn 31‰, mật độ ương 1- 3 con/mL, thức ăn là các loại vi tảo (*N. oculata*, *Chlorella* sp. và *I. galbana*) là thích hợp nhất cho sinh trưởng và tỷ lệ sống của ấu trùng nghêu lụa.

Kỹ thuật ương ấu trùng nghêu lụa giai đoạn sống đáy và nghêu giống: độ mặn 31‰ kết hợp thức ăn là vi tảo (*N. oculata*, *Chlorella* sp. và *I. galbana*) hoặc hỗn hợp

vi tảo và thức ăn tổng hợp (Lansy và Frippak); mật độ ương 2 con/cm² kết hợp điều kiện bề ương không chất đáy là thích hợp nhất cho sinh trưởng và tỷ lệ sống của nghêu lựa giai đoạn ấu trùng sống đáy và nghêu giống.

Đối với nghêu giống, phương pháp vận chuyển kín ở nhiệt độ 25°C - 26°C, mật độ 10.000 con/túi, thời gian vận chuyển 6 giờ là thích hợp nhất với tỷ lệ sống cao nhất và mức tiêu thụ ôxy của nghêu thấp nhất.

- **Thực nghiệm sản xuất giống và xây dựng quy trình kỹ thuật sản xuất giống nghêu lựa tại Khánh Hòa**

Xây dựng được quy trình kỹ thuật sản xuất giống nhân tạo nghêu lựa tại Khánh Hòa và thực nghiệm sản xuất được 17,37 triệu con giống (cỡ 3 – 5 mm), tỷ lệ sống trung bình 4,6%, năng suất 190.000 con/m².

4.2 ĐỀ XUẤT

Xây dựng qui định về kích cỡ nghêu khai thác ngoài tự nhiên để bảo vệ nguồn lợi nghêu lựa bền vững. Kích cỡ khai thác nghêu lựa lớn hơn 45 mm.

Nghiên cứu sử dụng thức ăn là tảo cô đặc trong nuôi vỗ và ương nuôi ấu trùng nghêu lựa để chủ động và nâng cao hiệu quả sản xuất.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Tiếng Việt

- Nguyễn Tác An, Nguyễn Văn Lục, 1994. Nghiên cứu nguồn lợi hải đặc sản và các điều kiện tự nhiên phục vụ qui hoạch, sử dụng hợp lý các thủy vực ven bờ tỉnh Trà Vinh. Báo cáo tổng kết Đề tài nghiên cứu khoa học, Sở KH-CN-MT và Sở Thủy sản Trà Vinh.
- Nguyễn Thị Kim Anh, Chu Chí Thiết, 2012. Ảnh hưởng của mật độ thả nuôi đến tăng trưởng, tỷ lệ sống và hiệu quả sản xuất của ngao (*Meretrix lyrata*) nuôi ở vùng bãi triều Thanh Hóa. Tạp chí Nông nghiệp và phát triển nông thôn, tr. 17-21.
- Bộ Công thương, 2019. Mở cửa thị trường thêm cho 03 loài thủy sản của Việt Nam. Báo cáo tổng kết năm 2019, Bộ Công thương.
- Như Văn Cẩn, Chu Chí Thiết và Martin S. Kumar, 2009. Ảnh hưởng của mật độ nuôi thả đến sinh trưởng, tỷ lệ sống và năng suất của 2 cỡ nghêu giống (*Meretrix lyrata*) nuôi ở các vùng bãi triều và các lưu ý trong việc sản xuất giống nghêu Spat. Hội thảo “Better Aquaculture Practices”, Nha Trang, 7/2009.
- Nguyễn Chính, 1996. Một số loài động vật thân mềm có giá trị kinh tế tại Việt Nam. NXB Nông Nghiệp tp Hồ Chí Minh, 1996. tr 26-29.
- Nguyễn Chính, Nguyễn Thị Nga và Nguyễn Thị Phúc, 1997. Một số kết quả nghiên cứu về hàm lượng chất dinh dưỡng của vẹm vỏ xanh (*Perna viridis*) ở đầm Nha Phu (Khánh Hòa). Tuyển tập báo cáo Khoa học Hội nghị sinh học Biển toàn quốc lần thứ I.
- Lưu Thị Dung và Phạm Quốc Hùng, 2015. Giáo trình Mô phôi học thủy sản. Nhà xuất bản Nông nghiệp, 2015: 142 tr.
- Vũ Trọng Đại, 2015. Ảnh hưởng của stress mô phỏng quá trình vận chuyển lên chất lượng của vẹm tím (*Mytilus edulis* Linnaeus, 1758) trong quá trình bảo quản khô. Tạp chí khoa học và công nghệ thủy sản. Số 3, 2015: 9-13.
- Hoàng Thị Bích Đào, 2005. Đặc điểm sinh học sinh sản và thử nghiệm sản xuất giống nhân tạo sò huyết *Anadara granosa* Linnaeus, 1758. Luận án tiến sỹ Nông nghiệp. Trường Đại học Nha Trang.
- Nguyễn Đình Hùng, Huỳnh Thị Hồng Châu, Nguyễn Văn Hào, Trình Trung Phi, 2003.

Nghiên cứu sản xuất giống nghêu (*Meretrix lyrata* Sowerby, 1851). Tuyển tập báo cáo khoa học hội thảo động vật thân mềm toàn quốc lần thứ III. Nhà xuất bản Nông nghiệp.

- Lê Văn Khôi, Lê Thanh Ghi, 2015. Ảnh hưởng của mật độ đến sinh trưởng, tỷ lệ sống, năng suất và hiệu quả kinh tế của nghêu (*Meretrix lyrata*) nuôi thương phẩm trong ao đất. Tạp chí khoa học và Phát triển, 2015, tập 13, số 2: 192-199.
- Quách Kha Ly và Ngô Thị Thu Thảo, 2011. Thử nghiệm nuôi vỗ thành thực và kích thích sinh sản vọp (*Geloina coaxans*). Tạp chí khoa học Trường Đại học Cần Thơ, số 17b, 2011: 251-261.
- Trần Thế Mưu, Vũ Văn Sáng, 2013. Ảnh hưởng của thức ăn đến tỷ lệ thành thực của tu hài mẹ và tỷ lệ sống của ấu trùng (*Lutraria philippinarum*). Tạp chí Khoa học và Phát triển, 2013, tập 11, số 1: 24-29.
- Trương Quốc Phú, 1999. Nghiên cứu một số đặc điểm sinh học, sinh hóa và kỹ thuật nuôi nghêu *Meretrix lyrata* (Sowerby) đạt năng suất cao. Luận án tiến sĩ Khoa học Nông nghiệp. Trường Đại học Nha Trang.
- Trần Vĩnh Phương, Phạm Thị Hải Yến, Võ Điều, 2018. Một số đặc điểm sinh trưởng, dinh dưỡng và thành phần sinh hóa của ngao dầu *Meretrix meretrix* (Linnaeus, 1758) phân bố ở vùng đầm phá Tam Giang – Cầu Hai tỉnh Thừa Thiên Huế. Tạp chí khoa học Đại học Huế: Nông nghiệp và Phát triển nông thôn. Tập 127, Số 3A, 2018, Tr. 185-197.
- Đỗ Chí Sỹ, 2009. Nguồn lợi nghêu lựa ven biển Tây Cà Mau: Hiện trạng và giải pháp bảo vệ hợp lý. Tạp chí khoa học – Công nghệ thủy sản, số 1/2009.
- Trần Trung Thành, Hoàn thiện quy trình công nghệ sản xuất giống nhân tạo và nuôi thương phẩm tu hài tại Khánh Hòa. Báo cáo tổng kết đề tài Khoa học và Công nghệ cấp Tỉnh. Viện Nghiên cứu nuôi trồng thủy sản III.
- Nguyễn Xuân Thành, 2013. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến sinh trưởng và tỷ lệ sống của ngao dầu *Meretrix meretrix* giai đoạn giống trong điều kiện thí nghiệm. Tạp chí khoa học và Công nghệ Biển. Tập 13, số 2, 2013: 161-167.
- Nguyễn Xuân Thành, Đỗ Công Thung, 2014. Đặc điểm sinh học sinh sản của Ngao Bến Tre (*Meretrix lyrata*) tại vùng triều ven biển tỉnh Nam Định. Tạp chí khoa học và Công nghệ Biển. Tập 14, số 2, 2014: 163-169.

- Nguyễn Xuân Thành, 2016. Nghiên cứu cơ sở khoa học phục vụ nuôi, bảo tồn và phát triển nguồn lợi hai loài ngao (*Meretrix meretrix* Linnaeus, 1785 và *Meretrix lyrata* Sowerby, 1851) tại vùng ven biển tỉnh Nam Định. Luận án tiến sĩ, Viện Nghiên cứu Hải sản.
- La Xuân Thảo, Nguyễn Thị Xuân Thu, Mai Duy Minh, Phan Đăng Hùng, Hứa Ngọc Phúc, Lê Trung Kỳ, Nguyễn Văn Nhâm, 2003. Nghiên cứu hoàn thiện công nghệ sản xuất giống sò huyết *Anadara granosa* Linnaeus, 1758. Báo cáo khoa học tổng kết dự án SUMA, Bộ Thủy sản.
- Ngô Thị Thu Thảo và Lâm Thị Quang Mẫn, 2012a. Ảnh hưởng của độ mặn và thời gian phơi bãi đến sinh trưởng và tỷ lệ sống của nghêu (*Meretrix lyrata*). Tạp chí khoa học Trường Đại học Cần Thơ, số 22a: 123-130.
- Ngô Thị Thu Thảo và Lâm Thị Quang Mẫn, 2012b. Ảnh hưởng của nhiệt độ và độ mặn đến tốc độ lột vỏ, chỉ số độ béo và tỷ lệ sống của nghêu (*Meretrix lyrata*). Tạp chí khoa học Trường Đại học Cần Thơ, số 23b: 265-271.
- Ngô Thị Thu Thảo, Đào Thị Mỹ Dũng và Võ Minh Thế, 2012. Ảnh hưởng của việc bổ sung chế phẩm sinh học đến sinh trưởng và tỷ lệ sống của nghêu (*Meretrix lyrata*) giai đoạn giống. Tạp chí khoa học Trường Đại học Cần Thơ, số 21b: 144-152.
- Ngô Thị Thu Thảo, Đào Phước Đại và Trần An Xuyên, 2012. Ảnh hưởng của dòng chảy và cường độ chiếu sáng đến tăng trưởng và tỷ lệ sống của tu hài (*Lutraria rhynchaena*). Tạp chí khoa học Trường Đại học Cần Thơ, số 24a: 144-152.
- Ngô Thị Thu Thảo và Lê Thị Thu Anh, 2015. Ảnh hưởng của glucose trong quá trình bảo quản sò huyết (*Anadara granosa*) giống. Tạp chí khoa học Trường Đại học Cần Thơ, phần B: Nông nghiệp, Thủy sản và Công nghệ sinh học: số 36: 251-261.
- Ngô Thị Thu Thảo, Bùi Nhật Thành và Lê Văn Bình, 2018. Kiểu sục khí và nền đáy tác động đến tăng trưởng và tỷ lệ sống của sò huyết (*Anadara granosa*) giai đoạn giống. Tạp chí khoa học Trường Đại học Cần Thơ, tập 54, số 9b: 117-123.
- Ngô Thị Thu Thảo, Danh Nhiệt, Trần Ngọc Hải, Nguyễn Xuân Niệm, 2018. Ảnh hưởng của hóa chất và các phương pháp tác động đến hiệu quả sinh sản của vọp *Geloina* sp. Có nguồn gốc từ U Minh Thượng, Kiên Giang. Tạp chí khoa học Nông nghiệp Việt Nam, số 16(3): 250-256.
- Nguyễn Quốc Thế, Trần Ngọc Hiếu, 2017. Kỹ thuật kích thích sinh sản ngao móng tay chúa

- (*Cultellus maximus* Gmelin, 1791). Tạp chí Nghề cá sông Cửu Long. Số 10, 2017.
- Chu Chí Thiết và Martin S. Kumar, 2008. Tài liệu về kỹ thuật sản xuất giống ngao Bến Tre *Meretrix lyrata* (Sowerby, 1851). Phân viện nghiên cứu nuôi trồng thủy sản Bắc Trung Bộ (ARSINC): 36 tr.
- Tổng cục thủy sản, 2020. Báo cáo Kết quả sản xuất ngành thủy sản năm 2019.
- Lương Hữu Toàn, Lê Minh Hoàng, 2014. Ảnh hưởng của các biện pháp kích thích sinh sản lên các chỉ tiêu sinh sản của hàu Thái Bình Dương (*Crassostrea gigas* Thunberg, 1793). Tạp chí Khoa học – Công nghệ Thủy sản, số 2/2014.
- 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 sỹ Nông nghiệp. Trường Đại học Nha Trang.
- Ngô Anh Tuấn, 2012. Kỹ thuật nuôi Động vật thân mềm. NXB Nông nghiệp TP. Hồ Chí Minh, 2012, 238tr.
- Hứa Thái Tuyên, Võ Sỹ Tuấn và Nguyễn Thị Kim Bích, 2006. Đặc điểm sinh trưởng của nghêu lụa *Paphia undulata* (Born, 1780) ở vùng biển Bình Thuận. Tuyển tập nghiên cứu biển, XV, pp. 194 – 200.

Tiếng Anh

- Abbott R. T. and Dance S. P. 1986. Compendium of Seashells. Odyssey Pub, 411pp.
- Agasen E., Delmundo C. and Matias G., 1998. Assessment of *Paphia undulata* in Negros Occidental/Guimaras Strait waters. Journal of Shellfish Research, 17(5), pp. 1613–1617.
- Aguilar C., Amolo R., Sembrano M., Teng A., 2001. Induced spawning of *Paphia* sp. using four chemicals. Philippine Scientist, 35.
- Aji L. P., 2011. Review: Spawning Induction in Bivalve. Journal Penelitian Sains, Vol. 14(2), pp. 33–36.
- Annabelle G.C. del Norte-Campos, Fenelyn M. Nabuab, Rocille Q. Palla & Michael Ray Burlas, 2010. The Early Development of the Short-Necked Clam, *Paphia undulata* (Born, 1778) (Mollusca, Pelecypoda : Veneridae) in the Laboratory. Science Diliman, 22(2), pp. 13–20.
- Annabelle G.C. del Norte-Campos and Villarta, K. A., 2010. Use of population parameters in examining changes in the status of the short-necked clam *Paphia*

undulata (Mollusca, Pelecypoda: Veneridae) in coastal waters of Southern Negros Occidental. *Science Diliman: a journal of pure and applied sciences*, 22(1), pp. 53–60.

Appukuttan K.K. and Aravindan C.M., 1995. Studies on the biochemical composition of the short neck clam *Paphia malabarica* from Ashtamudi estuary, Southwest coast of India. *Seafood Export Journal*, Vol. 26(5):17-21.

Argente F. A. T. and Estacion J. S., 2014. Effect of different harvesting practices on the dynamics of *Paphia textile* (Gmelin, 1792) (Bivalvia : Veneridae) populations at two sites in Zamboanga del Norte, Southern Philippines. *Environmental and Experimental Biology*, 12, pp. 113–120.

Belda C. A. and del Norte, A. G. C., 1988. Notes on the induced spawning and larval rearing of the Asian moon scallop, *Amusium pleuronectes* (Linné), in the laboratory. *Aquaculture*, 72, pp. 173–179.

Breese W. P. and Robinson A., 1981. Razor clams, *Silisiliqua patula* (dixon): gonadal development, induced spawning and larval rearing. *Aquaculture*, 22, pp. 27–33.

Brown M.R., Jeffrey S.W., Volkman J.K. and Dunstan G.A., 1997. Nutritional properties of microalgae for mariculture. In *Aquaculture*, Vol. 151.

Chalanda T., 1978. Salinity tolerant of Undulated surf clam. Research Paper No. 10/2522. Marine Fisheries Division, Department of Fisheries, Bangkok, Thailand, 10/2522.

Chanrachkij I., 2013. Monitoring the Undulated Surf Clam Resources of Thailand for Sustainable Fisheries Management. *Fish for the People*, 11(3).

Chen Jian, Ke Ai-ying, Fan Jing-shui, 2007. A preliminary observation on biological and ecological characteristics of *Paphia undulata*. *Journal of Zhejiang Ocean University*, 2007, Vol. 3.

Chen Jian, Ke Ai-ying, Fan Jing-shui, 2007. A preliminary observation on biological and ecological characteristics of *Paphia undulata*. *Journal of Zhejiang Ocean University*, 2007, Vol. 3.

Chen Z., Gao R., Hu Q., Li P., Lai S., 2013. The effect of temperature, salinity and density on growth of *Paphia undulata* youth analyzed by response surface methodology. *Marine Sciences (Beijing)* 37, 55–60.

- Cenni, S., Cerrato, R.M., Siddall, S.E., 1989. Periodicity of growth lines in larval and postlarval shells of *Mercenaria mercenaria*. *Journal Shellfish Research*, Vol. 8: 444 – 445.
- Coutteau P. and Sorgeloos P., 1992. The use of algal substitutes and the requirement for live algae in the hatchery and nursery rearing of bivalve molluscs: an international survey. *Journal of Shellfish Research*, 11(2), pp. 118–128.
- Cragg S.M., 1980. Swimming behavior of the larvae of *Pecten maximus* (L) (Bivalvia). *Journal of the Marine Biological Association U.K.*, 60: 551-564.
- Gosling E., 2003. *Bivalvia molluscs: Biology, Ecology and Culture*. Fishing News Books, 425p.
- Fang Zhen-rong, 2011. *Paphia undulata* artificially seedling techniques. *Journal of Fujian Fisheries*, 01.
- Gibbons M.C. and Castagna M., 1985. Responses of the hard clam *Mercenaria mercenaria* (Linne) to induction of spawning by serotonin. *Journal of Shellfish Research*, Vol. 5, No. 2, 65-67.
- Gireesh R., 2003. Algal nutritional requirements of larvae of *Paphia malabarica*. Central Marine Fisheries Research Institute.
- Gireesh R. and Gopinathan C. P., 2004. Effect of salinity and pH on the larval development and spat production of *Paphia malabarica*. *Journal of the Marine Biological Association of India*, 46(2), pp. 146–153.
- Gireesh R. and Gopinathan C. P., 2008. Effects of microalgal diets on larval growth and survival of *Paphia malabarica* Chemnitz. *Aquaculture Research*, 39(5), pp. 552–556.
- Gireesh R., Biju A. and Muthiah P., 2009. Biochemical changes during larval development in the short neck clam, *Paphia malabarica* Chemnitz. *Aquaculture Research*, 40.
- Guo Xiaoyu, Xu Xiaowei, Zhang Pengfei, Huang Miaoqin, Luo Xuan, You Weiwei, Ke Caihuan, 2016. Early development of undulated surf clam, *Paphia undulata* under elevated pCO₂. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 484, pp. 23–30.
- Habe Tadashi and Sadao Kosuge, 1966. *Shell of the World in colour*. Osaka, Japan.

- The Tropical Pacific, Vol. 2: 2-147.
- He S., Zhimin S., Xianming T., Guofu W., 2018. Effect of temperature and salinity on development of embryo, larvae and juveniles of clam *Paphia undulata*. Fisheries Science, Vol. 37(2): 255-258.
- Helm M.M., Holland D.L. and Stephenson R.R., 1973. The effect of supplementary algal feeding of a hatchery breeding stock of *Ostrea edulis* on larval vigour. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom, 53(3), pp. 673 - 684.
- Helm M., Bourne N. and Lovatelli A., 2004. Hatchery culture of bivalves. A practical manual. FAO Fisheries Technical Paper 471 (p. 177). Rome: FAO.
- Heslinga G., Watson T. and Isamu T., 1990. Giant clam farming, Pacific fisheries development foundation (NMFS/NOAA).
- Hong Yi- chuan, Lu Xia-mei, Zhang Yue- ping, Fang Shao-hua, Chen Xu, Guo Bing-jian, T. J.- cheng, 2010. Primary study on artificial larval breeding of *Paphia undulata*. Journal of Fujian Fisheries, 2010–03, pp. 8–10.
- Jayabal R. and Kalyani M., 1986. Reproductive cycles of some bivalves from Vellar estuary, east coast of India. Indian Journal of Marine Sciences, 15(1).
- Jeng S. S. and Y. M. Tyan, 1982. Growth of the hard clam *Meretrix lusoria* in Taiwan. Aquaculture, 27(1): 19-28.
- Jian C., Ai-ying K. and Ing-shui F., 2007. A Preliminary Observation on Biological and Ecological Characteristics of *Paphia undulata* (Born). Natural Science, 03.
- Jindalikit Jintana, 2000. Reproductive biology of shortnecked clam *Paphia undulata* (Born, 1778). Fisheries Research Paper, 16.
- Li Jun-hui, Liu Hong-li, Du Xiao-dong, Wang Qing-heng, 2011. Effects of salinity and the body size on the oxygen consumption and ammonia excretion rates of *Paphia undulata*. Journal of Marine Sciences, 04.
- Liu B., Dong B., Tang B., Zhang T., Xiang J., 2006. Effect of stocking density on growth, settlement and survival of clam larvae, *Meretrix meretrix*. Aquaculture, 258(2006): 344-349.
- Loosanoff V.L. and Davis H.C., 1963. Rearing of bivalvia molluscs. In: Russell, F.S.(Ed.), Advances in Marine Biology, Vol. 1. Academic Press, London, pp. 1 – 136.

- Manalo Morillo L. and Norte-campos A. del, 2010. Filtration and respiration rates of the short-necked clam *Paphia undulata* (Mollusca, Pelecypoda : Veneridae) under laboratory conditions. *Science Diliman*, 22(2), pp. 21–29.
- Martinez G., Aguilera C. and Mettifogo L., 2000. Interactive effects of diet and temperature on the scope for growth of the scallop *Argopecten purpuratus* during reproductive conditioning. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 247(1), pp. 67-83.
- Mohite S. A. and Mohite A. S., 2009. Gonadal development in the shortneck clam *Paphia malabarica* in relation to hydrographic paraeters. *Journal of the Marine Biological Association of India* (2009), 51(2), pp. 164–172.
- Mohite S. A., Mohite A. S. and Singh H., 2009. On condition index and percentage edibiliy of the shortneck clam *Paphia malabarica* (Chemintz) from estuarine regions of Ratnagiri, West coast of India. *Aquaculture Research*, 40(1), pp. 69–73.
- Muller-Feuga A., Robert R., Cahu C., Robin J., Divanach P., 2003. Uses of Microalgae in Aquaculture. In McEvoy, A. (ed.) *Live feeds in marine aquaculture*. Blackwell Publishing, Oxford, pp. 253–299.
- Nabuab F. M., Ledesma-fernandez L. and Norte-campos A., 2010. Reproductive Biology of the Short-Necked Clam, *Paphia undulata* (Born, 1778) from Southern Negros Occidental , Central Philippines. *Science Diliman*, 22(2), pp. 31–40.
- Nagabhushanam R. and Dhamne K. P., 1977. Seasonal gonadal changes in the clam, *Paphia laterisulca*. *Aquaculture*, 10(2), pp. 141–152.
- Nagabhushanam R. and Mane U.H., 1978. Seasonal variation in the biochemical composition of *Mytilus viridis* at Ratnagiri on the West Coast of India. *Hydrobiologia*, 57(1).
- Nagvenkar S.S. and Jagtap T.G., 2013. Spatio-temporal variations in biochemical composition, condition index and percentage edibility of the clam, *Paphia malabarica* (Chmnitz) from estuarine regions of Goa. *Indian Journal of Goe Marine Sciences*, 42(6).
- Nell J. A. and Paterson K. J., 1997. Salinity studies on the clams *Katelysia rhytiphora* (Lamy) and *Tapes dorsatus* (Lamarck). *Aquaculture Research*, Vol. 28: 115-119.
- Nielsen M.V. and Stromgren T., 1985. The effect of light on the shell length growth

- and defecation of *Mytilus edulis* (L.). *Aquaculture* 47: 205-211.
- Orensanz J.M., Parma A.M., Iribarne O.O., 1991. Population dynamics and management of natural stocks. In: Shumway S.E. (Ed.), *Scallops: Biology, Ecology and Aquaculture*. Elsevier, New York, pp. 625 – 713.
- Pongthana N., 1987. Experiment on breeding and rearing of short-necked clam (*Paphia undulata*). Thai National AGRIS Centre.
- Purchon R. D, 1977. *The Biology of Mollusca*. Second Edition, PERGAMO Press, Vol. 57: 560pp.
- Przeslawski R., Perino L. and Padilla D.K, 2012. Effects of larval density and food rations on the development of an ecologically important bivalve (*Mercenaria mercenaria*). *Molluscan Research*, Vol. 32(1): 27-35.
- Qing-heng L. J., Hui L. H. D. X., Dong W., 2011. Effects of salinity and the body size on the oxygen consumption and ammonia excretion rates of *Paphia undulata*. *Journal of Marine Sciences*, 04.
- Quayle D. B. and Newkirk G. F., 1989. *Farming Bivalvia Molluscs Method Study and Development*. The World. *Advances in World Aquaculture*, Volume 1.
- Raghavan, G. and Gopinathan, C. P., 2008. Effects of diet, stocking density and environmental factors on growth, survival and metamorphosis of clam, *Paphia malabarica* (Chemnitz) larvae. *Aquaculture Research*, 39(9), pp. 928–933.
- Rajesh K. V., Mohamed K. S. and Kripa V., 2001. Influence of algal cell concentration, salinity and body size on the Filtration and Ingestion Rates of cultivable Indian bivalves. *Indian Journal of Marine Sciences*, 30(2), pp. 87–92.
- Rao G. S., 1988. *Biology of Meretrix casta* (Chemnitz) and *Paphia malabarica* (Chemnitz) from mulky estuary, Dakshina Kannada. National seminar on shellfish resources and farming. Central Marine Fisheries Research Institute.
- Ritnim N., Meksumpun C., 2010. Fertility and temporal variations of surf clam (*Paphia undulata*) resource in the Tha Chin estuary. *Proceedings of the 48th Kasetsart University Annual Conference, 2010*. Subject: Fisheries.
- Shamsuddin S., Wong T. M. and Lim T. G., 1987. Laboratory seed production of *P. undulata*. Penang, Malaysia.
- Sandra E. Shumway, 1983. Factors affecting oxygen consumption in the coot clam

- Mulinia lateralis* (Say), *Ophelia*, 22:2, 143-171.
- Sivalingam D., Vinod M., Gayathri K.S., Jeyaram U., Narassimham K.A., 2000. Effect of density on the growth of the spat of the clam, *Paphia malabarica* in the hatchery. Palani Paramount Publications, India.
- Sotto F. B., Juario J. V. Ilano A. S., 2007. Sexual maturity and reproductive cycle of *Paphia textilis* (Gmelin, 1791) (Bivalvia: Veneroidea) off Sillon waters, Bantayan Island, Cebu, Philippines. *Journal Aquatic Science*, 4, pp. 89–103.
- Swapnaja A. Mohite, Ashish S. Mohite, H. S. D., 2010. Gonadal developments in relation to the ecology in the shortneck clam *Paphia malabarica* in estuarine environment of Ratnagiri, west coast of India. *World Review of Science, Technology and Sustainable Development*, 7(4), pp. 341–351.
- Taware S. S. and Muley D. V., 2014. Salinity Induced Respiratory Alterations in Estuarine Clam *Paphia Laterisulca* At Bhatye Estuary, Ratnagiri Coast, India. *The Bioscan An International Quarterly Journal of Life Science*, 9(4), pp. 1361–1366.
- Thao N.T.T, Nhiet D., An C.M. and Hai T.N., 2019. Growth and survival rate of mud clam larvae (*Geloina* sp.) in relation to rearing densities and diets. *Can Tho University Journal of Science*, Vol. 11(2): 89-96.
- Thomas S. and Nasser M., 2009. Growth and population dynamics of short-neck clam *Paphia malabarica* from Dharmadom estuary, North Kerala, southwest coast of India. *Marine Biology Association India*, 51(1), pp. 87–92.
- Tuaycharoen S., 1984. Technical Paper No. 35. Brackishwater Fisheries Division Department of Fisheries, Bangkok, p. 31.
- Villarta K. A. and Norte-campos A. G. C., 2010. Fishery of the short-necked clam *Paphia undulata* in Southern Negros Occidental, Central Philippines. *Science Diliman*, 22(1), pp. 43–51.
- Vu Trong Dai, 2014. Blue mussel during dry storage: Filtering capacity, Water release, Ammonia excretion. LAP LAMBERT Academic Publishing, 2014, 72p.
- Wang Dongmei, Li chunggiang, Peng Minh, Liu Zhixin, Zhou Jian, Hu Chaosong, 2009. Influence of Salinity and pH on the Filtration Rate of *Paphia undulata*, *Marine Science Bulletin*, 02.

- Wang Y., Huang X. Z., Wu X. X., Li Q. Z., Luo B., Zhu J. T., 2013. *Paphia amabilis* (Philippi, 1847): A promising bright red clam in Aquaculture. International Journal of Aquaculture, Vol.3, No.1: 1-3p.
- Willer D. and Aldridge D. C., 2017. Microencapsulated diets to improve bivalve shellfish aquaculture. Royal Society Open Science, 4(11).
- Willer D. F. and Aldridge D. C., 2019. Microencapsulated diets to improve bivalve shellfish aquaculture for global food security. Global Food Security. Elsevier B.V., pp. 64–73.
- Wu Hong-liu, 2002. Histological changes in the gonad during *Paphia (paratapes) undulata* sex reversal. Marine Science, 2002-01.
- Yan X., Zhang G., Yang F., 2006. Effects of diet, stocking density, and environmental factors on growth, survival, and metamorphosis of Manila clam *Ruditapes philippinarum* larvae. Aquaculture, 253(2006): 350-358.
- Yin Wang, Liu Shuji, Su Yongchang, Huang Yu, Wu Chengye, 2011. Morphological analysis and nutrition evaluation of *Paphia undulata*. South China Fisheries Science, 2011-06.
- Yue-ping, Zhang, Lü Xiao-mei, Hong Yi-chuan, Fang Shao-hua, Guo Bin-jian, Tu Jin-cheng, 2011. Morphological development and growth characters of embryo and pelagic larvae of *Paphia undulata*. Journal of Oceanography in Tawan Strait, 04.
- Zhang Yue-ping, Lü Xiao-mei, Hong Yi-chuan, Fang Shao-hua, Guo Bin-jian, Tu Jin-cheng, 2011. Morphological development and growth characters of embryo and pelagic larvae of *Paphia undulata*. Journal of Oceanography in Tawan Strait, 04.
- Zhi-min Li, Zhi-gang Liu, Wei-xian Han, 2011. Salinity adaptability of *Paphia textzle* spats at different salinity levels, Marine Science, 10.
- Zhijiang Z., Fuxue L. and Caihuan K., 1991. On the sex gonad development and reproductive cycle of clam *Paphia undulata*. Journal of Fisheries of China, 1991-01.

PHỤ LỤC MỘT SỐ HÌNH ẢNH THỰC HIỆN LUẬN ÁN



Hình: Nghêu lựa bố mẹ



Hình: Phơi nắng kích thích sinh sản nghêu lựa



Hình: Tảo nuôi sinh khối làm thức ăn cho nghêu lựa



Hình: Nuôi vỗ thành thực nghêu lựa bố mẹ



Hình: Bể ương nghêu lựa giai đoạn ấu trùng sống đáy và nghêu giống



Hình: Bể ương nghêu lựa giai đoạn ấu trùng trôi nổi



Hình: Nghêu lựa giống



Hình: Thu giống và cân mẫu nghêu lựa



Hình: Đóng giống nghêu lựa



Hình: Đo khả năng tiêu hao ôxy của nghêu lùa



Hình: Xác định tỷ lệ sống sau vận chuyển

PHỤ LỤC KẾT QUẢ XỬ LÝ SỐ LIỆU

Phụ lục số liệu mẫu ngẫu nhiên hàng tháng

ANOVA

DOBE0

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	20324.113	11	1847.647	41.882	.000
Within Groups	62996.456	1428	44.115		
Total	83320.569	1439			

DOBE0

Duncan^a

THANG	N	Subset for alpha = 0.05							
		1	2	3	4	5	6	7	8
Thang 5	120	26.5358							
Thang 6	120		30.1338						
Thang 10	120		30.6472	30.6472					
Thang 11	120		31.1112	31.1112	31.1112				
Thang 7	120			32.1367	32.1367	32.1367			
Thang 1	120				32.6233	32.6233	32.6233		
Thang 12	120					32.9522	32.9522		
Thang 2	120						33.9993		
Thang 9	120							36.0359	
Thang 4	120							36.2674	
Thang 8	120								39.2033
Thang 3	120								40.2749
Sig.		1.000	.286	.101	.096	.374	.130	.787	.212

Sức sinh sản

ANOVA

ssstuyetdoi

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	4281075200000.00	2	2140537600000.000	68.993	.000
Within Groups	2699211200000.00	87	31025416091.954		
Total	6980286400000.00	89			

ssstuyetdoiDuncan^a

nhomkichthuo c	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
37-42	30	852400.0000		
43-48	30		1178000.000 0	
49-54	30			1382000.000 0
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 30.000.

Sức sinh sản tương đối**ANOVA**

ssstuongdoi1

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	6967874889.35 6	2	3483937444.6 78	15.339	.000
Within Groups	19760173473.1 33	87	227128430.72 6		
Total	26728048362.4 89	89			

ssstuongdoi1Duncan^a

nhomkichthuo c	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
49-54	30	103723.0000		
37-42	30		113609.1667	
43-48	30			125251.966 7
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 30.000.

ANOVA

ssstuongdoi2

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	72929328189.62 2	2	36464664094.81 1	12.950	.000
Within Groups	244979408560.8 67	87	2815855270.815		
Total	317908736750.4 89	89			

ssstuongdoi2Duncan^a

nhomkichthuo c	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
49-54	30	322755.7000	
43-48	30	349548.6000	
37-42	30		391902.233
Sig.		.054	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 30.000.

Sức sinh sản thực tế**ANOVA**

sssthucte

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	138361444444.4 44	2	69180722222.22 2	3.187	.070
Within Groups	325612333333.3 33	15	21707488888.88 9		
Total	463973777777.7 78	17			

sssthucteDuncan^a

nhomkichthuo c	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
37-42	6	230000.0000	
49-54	6		411500.000 0
43-48	6		420166.666 7
Sig.		1.000	.920

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 6.000.

Thí nghiệm nuôi vồ (TN1)**ANOVA**

chieudai

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	22.705	3	7.568	.522	.667
Within Groups	6898.193	476	14.492		
Total	6920.898	479			

chieudaiDuncan^{a,b}

nghiemthuc	N	Subset for alpha = 0.05
		1
bandau	30	49.0667
taokho	150	49.3267
tt+th	150	49.3467
taotuai	150	49.7600
Sig.		.316

ANOVA

khoiluong

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	48.798	3	16.266	1.859	.136
Within Groups	4164.463	476	8.749		
Total	4213.260	479			

khoiluongDuncan^{a,b}

nghiemthuc	N	Subset for alpha = 0.05
		1
tt+th	150	11.6017
bandau	30	11.6337
taokho	150	11.9183
taotuai	150	12.3778
Sig.		.145

ANOVA

dobeo

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	624.129	3	208.043	5.044	.002
Within Groups	19634.508	476	41.249		
Total	20258.638	479			

dobeoDuncan^{a,b}

nghiemthuc	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
bandau	30	31.8310		
tt+th	150	33.1831	33.1831	
taokho	150		34.6819	34.6819
taotuai	150			35.5443
Sig.		.198	.154	.411

ANOVA

CI

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	24082.864	3	8027.621	78.136	.000
Within Groups	48903.636	476	102.739		
Total	72986.500	479			

CI

Duncan^{a,b}

nghiemthuc	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
taokho	150	41.0294		
bandau	30	42.1171		
tt+th	150		49.7089	
taotuai	150			58.3379
Sig.		.511	1.000	1.000

ANOVA

tylethanhtuc

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.387	3	.129	13.951	.000
Within Groups	.712	77	.009		
Total	1.100	80			

tylethanhtuc

Duncan^{a,b}

nghiemthuc	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
taokho	25	.6160	
bandau	6	.6167	
tt+th	25		.7400
taotuai	25		.7720
Sig.		.985	.382

ANOVA

tylesong

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2402.720	3	800.907	204.665	.000
Within Groups	62.612	16	3.913		
Total	2465.332	19			

tylesong

Duncan^a

nghiemthuc	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
taokho	5	69.3600			
tt+th	5		82.3200		
taotuai	5			87.0400	
bandau	5				100.0000
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

Phụ lục: Thành phần sinh hóa**ANOVA**

beo

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.428	3	.143	77.537	.000
Within Groups	.026	14	.002		
Total	.453	17			

beoDuncan^{a,b}

nghiemthuc	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
taokho	5	.3388		
tt+th	5		.5465	
bandau	3		.6057	
taotuai	5			.7478
Sig.		1.000	.063	1.000

ANOVA

dam

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	64.389	3	21.463	10.243	.001
Within Groups	29.336	14	2.095		
Total	93.725	17			

damDuncan^{a,b}

nghiemthuc	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
bandau	3	6.0350		
taokho	5		8.9578	
tt+th	5		9.7258	9.7258
taotuai	5			11.8089
Sig.		1.000	.450	.054

ANOVA

tro

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1.956	3	.652	5.103	.014
Within Groups	1.789	14	.128		
Total	3.745	17			

troDuncan^{a,b}

nghiemthuc	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
bandau	3	1.9862		
taokho	5	2.3746	2.3746	
tt+th	5		2.6542	2.6542
taotuai	5			2.9487
Sig.		.134	.271	.248

ANOVA

amdo

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	60.697	3	20.232	6.633	.005
Within Groups	42.706	14	3.050		
Total	103.402	17			

amdoDuncan^{a,b}

nghiemthuc	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
taotuai	5	81.7043	
tt+th	5		84.9959
taokho	5		85.1285
bandau	3		86.9805
Sig.		1.000	.136

ANOVA

duongbot

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	8.648	3	2.883	5.788	.009
Within Groups	6.973	14	.498		
Total	15.621	17			

duongbotDuncan^{a,b}

nghiemthuc	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2

tt+th	5	2.2212	
taotuo	5	2.7903	
taokho	5	3.2003	
bandau	3		4.3159
Sig.		.073	1.000

Phụ lục số liệu chế độ chiếu sáng

ANOVA

dotheo

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	758.802	3	252.934	8.184	.000
Within Groups	14710.601	476	30.905		
Total	15469.403	479			

dotheo

Duncan^{a,b}

chieusang	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
bandau	30	31.7700		
maiton	150	32.9348	32.9348	
traigiong	150		34.0391	34.0391
luoilan	150			35.7165
Sig.		.200	.224	.065

ANOVA

tylethanhtuc

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.281	3	.094	18.330	.000
Within Groups	.235	46	.005		
Total	.515	49			

tylethanhtuc

Duncan^{a,b}

chieusang	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
bandau	5	.6400		
maiton	15	.6533		
traigiong	15		.7600	
luoilan	15			.8267
Sig.		.678	1.000	1.000

ANOVA

tylesong

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.109	2	.055	39.557	.000

Within Groups	.017	12	.001	
Total	.126	14		

tylesongDuncan^a

chieusang	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
maiton	5	.6780	
luoilan	5		.8460
traigiong	5		.8700
Sig.		1.000	.328

Phụ lục số liệu sinh sản (TN2)**ANOVA**

thoigianss

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	12583.333	2	6291.667	13.752	.001
Within Groups	5490.000	12	457.500		
Total	18073.333	14			

thoigianssDuncan^a

chieusang	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
luoilan	5	98.0000	
traigiong	5	123.0000	
maiton	5		168.0000
Sig.		.089	1.000

ANOVA

tylesinhsan

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.072	2	.036	6.618	.012
Within Groups	.065	12	.005		
Total	.137	14			

tylesinhsanDuncan^a

chieusang	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
maiton	5	.6240	
traigiong	5		.7440
luoilan	5		.7880

Sig.		1.000	.364
------	--	-------	------

ANOVA

tylethutinh

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.066	2	.033	8.652	.005
Within Groups	.046	12	.004		
Total	.111	14			

tylethutinh

Duncan^a

chieusang	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
maiton	5	.6040	
traigiong	5	.6880	.6880
luoilan	5		.7660
Sig.		.052	.068

ANOVA

tyleno

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.067	2	.033	9.090	.004
Within Groups	.044	12	.004		
Total	.111	14			

tyleno

Duncan^a

chieusang	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
maiton	5	.6240	
traigiong	5		.7440
luoilan	5		.7800
Sig.		1.000	.366

Phụ lục số liệu kích thích sinh sản (TN3)

ANOVA

thoigianss

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	9823.333	2	4911.667	25.965	.000
Within Groups	2270.000	12	189.167		

Total	12093.333	14		
-------	-----------	----	--	--

thoigianssDuncan^a

nghiemthuc	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
amoniac	5	79.0000		
sochiet	5		102.0000	
tiacuctim	5			141.0000
Sig.		1.000	1.000	1.000

ANOVA

tyless

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.079	2	.039	9.931	.003
Within Groups	.047	12	.004		
Total	.126	14			

tylessDuncan^a

nghiemthuc	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
tiacuctim	5	.6440	
sochiet	5	.7140	
amoniac	5		.8200
Sig.		.104	1.000

ANOVA

cv

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	58.331	2	29.166	9.593	.003
Within Groups	36.482	12	3.040		
Total	94.813	14			

cvDuncan^a

thinghiem	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
sochiet	5	8.4001	
tiacuctim	5		11.7298
ammonia	5		13.0954
Sig.		1.000	.239

Phụ lục số liệu thí nghiệm độ mặn giai đoạn trôi nổi (TN4)

ANOVA

sau15ngayL

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2441059.438	3	813686.479	657.936	.000
Within Groups	588681.099	476	1236.725		
Total	3029740.537	479			

sau15ngayL

Duncan^a

doman	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
23ppt	120	278.4900		
35ppt	120		336.9792	
27ppt	120		339.8958	
31ppt	120			473.1250
Sig.		1.000	.521	1.000

ANOVA

ADGcuoi

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	10850.053	3	3616.684	616.009	.000
Within Groups	2794.670	476	5.871		
Total	13644.723	479			

ADGcuoi

Duncan^a

doman	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
23ppt	120	11.1904		
35ppt	120		15.0897	
27ppt	120		15.2848	
31ppt	120			24.1667
Sig.		1.000	.533	1.000

ANOVA

SGRcuoi

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.077	3	.026	391.515	.000
Within Groups	.031	476	.000		
Total	.108	479			

SGRcuoi

Duncan^a

doman	N	Subset for alpha = 0.05
-------	---	-------------------------

		1	2	3
23ppt	120	.0613		
35ppt	120		.0743	
27ppt	120		.0747	
31ppt	120			.0965
Sig.		1.000	.661	1.000

ANOVA

TLS5ngay

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1759.325	3	586.442	10.039	.001
Within Groups	700.990	12	58.416		
Total	2460.314	15			

TLS5ngayDuncan^a

doman	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
23ppt	4	55.8333	
35ppt	4	65.0000	
31ppt	4		79.9583
27ppt	4		80.7500
Sig.		.116	.886

ANOVA

TLS10ngay

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	155.000	3	51.667	17.222	.000
Within Groups	36.000	12	3.000		
Total	191.000	15			

TLS10ngayDuncan^a

doman	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
23ppt	4	11.0000		
35ppt	4	11.6667		
27ppt	4		15.6667	
31ppt	4			18.6667
Sig.		.596	1.000	1.000

ANOVA

TLS15ngay

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
--	----------------	----	-------------	---	------

Between Groups	36.056	3	12.019	48.365	.000
Within Groups	2.982	12	.248		
Total	39.037	15			

TLS15ngayDuncan^a

doman	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
23ppt	4	1.2052			
35ppt	4		2.5125		
27ppt	4			4.2052	
31ppt	4				5.0875
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

Phụ lục số liệu thí nghiệm thức ăn giai đoạn trôi nổi (TN5)
ANOVA

Lcuoi

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1558322.917	2	779161.458	355.680	.000
Within Groups	782052.083	357	2190.622		
Total	2340375.000	359			

sau15ngayLDuncan^a

thucan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
taokho	120	303.9583		
tt+tath	120		361.6667	
taotuai	120			463.1250
Sig.		1.000	1.000	1.000

ANOVA

ADGcuoi

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	6925.815	2	3462.908	342.053	.000
Within Groups	3614.231	357	10.124		
Total	10540.046	359			

ADGcuoi

Duncan^a

thucan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
taokho	120	12.8472		
tt+tath	120		16.6946	
taotuai	120			23.4583
Sig.		1.000	1.000	1.000

ANOVA

SGRcuoi

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.049	2	.024	258.286	.000

Within Groups	.034	357	.000	
Total	.082	359		

SGRcuoiDuncan^a

thucan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
taokho	120	.0665		
tt+tath	120		.0782	
taotuoi	120			.0948
Sig.		1.000	1.000	1.000

ANOVA

TLS5ngay

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1410.100	2	705.050	6.487	.018
Within Groups	978.186	9	108.687		
Total	2388.286	11			

TLS5ngayDuncan^a

thucan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
tt+tath	4	36.8333	
taokho	4	45.1617	
taotuoi	4		62.8325
Sig.		.288	1.000

ANOVA

TLS10ngay

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	457.862	2	228.931	42.881	.000
Within Groups	48.049	9	5.339		
Total	505.911	11			

TLS10ngayDuncan^a

thucan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
taokho	4	13.5117		
tt+tath	4		17.5833	
taotuoi	4			28.1675
Sig.		1.000	1.000	1.000

ANOVA

TLS15ngay

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	32.604	2	16.302	16.694	.001
Within Groups	8.789	9	.977		
Total	41.393	11			

TLS15ngayDuncan^a

thucan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
taokho	4	1.4800	

tt+tath	4		4.1500
taotuai	4		5.4380
Sig.		1.000	.098

Phụ lục số liệu thí nghiệm mật độ giai đoạn trôi nổi (TN6)
ANOVA

ADGcuoi

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	10679.969	3	3559.990	710.199	.000
Within Groups	2386.027	476	5.013		
Total	13065.996	479			

ADGcuoi

Duncan^a

matdo	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
7con	120	9.2918		
5con	120	9.7046		
3con	120		17.2499	
1con	120			20.1530
Sig.		.154	1.000	1.000

ANOVA

SGRcuoi

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.107	3	.036	521.494	.000
Within Groups	.032	476	.000		
Total	.139	479			

SGRcuoi

Duncan^a

matdo	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
7con	120	.0556		
5con	120	.0573		
3con	120		.0821	
1con	120			.0894
Sig.		.110	1.000	1.000

ANOVA

TLS5

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	3697.739	3	1232.580	14.466	.000
Within Groups	1022.435	12	85.203		
Total	4720.174	15			

TLS5

Duncan^a

matdo	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
7con	4	40.3869		
5con	4		66.1333	
3con	4		69.2222	69.2222
1con	4			82.3333

Sig.	1.000	.645	.068
------	-------	------	------

ANOVA

TLS10

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	377.542	3	125.847	36.574	.000
Within Groups	41.291	12	3.441		
Total	418.833	15			

TLS10

Duncan^a

matdo	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
7con	4	6.0417			
5con	4		9.5333		
3con	4			14.9514	
1con	4				18.6667
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

ANOVA

TLS15

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	73.819	3	24.606	11.109	.001
Within Groups	26.580	12	2.215		
Total	100.399	15			

Phụ lục số liệu thí nghiệm thức ăn và độ mặn giai đoạn sống đáy và nhều giống (TN7)

Tests of Between-Subjects Effects							
Dependent Variable: Lcuoi							
Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Partial Eta Squared	
Corrected Model	140.534 ^a	11	12.776	124.828	0	0.49	
Intercept	2761.131	1	2761.131	26977.992	0	0.95	
thucan	65.077	2	32.539	317.922	0	0.308	
doman	59.75	3	19.917	194.598	0	0.29	
thucan * doman	15.707	6	2.618	25.577	0	0.097	
Error	146.152	1428	0.102				
Total	3047.817	1440					
Corrected Total	286.686	1439					
Lcuoi							
	thucan	N	Subset				
			1	2	3		
Duncan ^{a,b}	taokho	480	1.1231				
	taotuoitath	480		1.3873			
	taotuoioi	480			1.6438		
	Sig.		1	1	1		

Lcuoi						
	doman	N	Subset			
			1	2	3	4
Duncan ^{a,b}	23ppt	360	1.0432			
	27ppt	360		1.4279		
	35ppt	360			1.4954	
	31ppt	360				1.5724
	Sig.		1	1	1	1

Tests of Between-Subjects Effects						
Dependent Variable: ADGcuoi						
Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Partial Eta Squared
Corrected Model	.225 ^a	11	0.02	124.854	0	0.49
Intercept	4.417	1	4.417	26975.858	0	0.95
thucan	0.104	2	0.052	317.997	0	0.308
doman	0.096	3	0.032	194.637	0	0.29
thucan * doman	0.025	6	0.004	25.581	0	0.097
Error	0.234	1428	0			
Total	4.875	1440				
Corrected Total	0.459	1439				
ADGcuoi						
	thucan	N	Subset			
			1	2	3	
Duncan ^{a,b}	taokho	480	0.0449			
	taotuoitath	480		0.0555		
	taotuo	480			0.0657	
	Sig.		1	1	1	
ADGcuoi						
	doman	N	Subset			
			1	2	3	4
Duncan ^{a,b}	23ppt	360	0.0417			
	27ppt	360		0.0571		
	35ppt	360			0.0598	
	31ppt	360				0.0629
	Sig.		1	1	1	1

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: SGRcuoi							
Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Partial Eta Squared	
Corrected Model	796.550 ^a	11	72.414	375.887	0	0.743	
Intercept	91064.78	1	91064.78	472702.35	0	0.997	
thucan	353.49	2	176.745	917.455	0	0.562	
doman	373.547	3	124.516	646.34	0	0.576	
thucan * doman	69.513	6	11.585	60.138	0	0.202	
Error	275.1	1428	0.193				
Total	92136.43	1440					
Corrected Total	1071.65	1439					
SGRcuoi							
	thucan	N	Subset				
			1	2	3		
Duncan ^{a,b}	taokho	480	7.332				
	taotuoitath	480		7.9803			
	taotuo	480			8.5447		
	Sig.		1	1	1		
SGRcuoi							
	doman	N	Subset				
			1	2	3	4	
Duncan ^{a,b}	23ppt	360	7.0896				
	27ppt	360		8.0948			
	35ppt	360			8.2299		
	31ppt	360				8.395	
	Sig.			1	1	1	1

Tests of Between-Subjects Effects						
Dependent Variable: t1s5						
Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Partial Eta Squared
Corrected Model	1036.830 ^a	11	94.257	27.147	0	0.892
Intercept	345322.67	1	345322.67	99457.293	0	1
thucan	206.607	2	103.304	29.753	0	0.623
doman	778.376	3	259.459	74.727	0	0.862
thucan * doman	51.846	6	8.641	2.489	0.041	0.293
Error	124.995	36	3.472			

Total	346484.5	48				
Corrected Total	1161.824	47				
tls5						
	thucan	N	Subset			
			1	2		
Duncan ^{a,b}	taokho	16	81.8986			
	tath	16		86.0322		
	taotuai	16		86.5255		
	Sig.		1	0.459		
tls5						
	doman	N	Subset			
			1	2	3	4
Duncan ^{a,b}	23ppt	12	80.0265			
	35ppt	12		82.9386		
	27ppt	12			85.3175	
	31ppt	12				90.9925
	Sig.		1	1	1	1

Tests of Between-Subjects Effects						
Dependent Variable: tls10						
Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Partial Eta Squared
Corrected Model	1672.068 ^a	11	152.006	22.279	0	0.872
Intercept	284030.74	1	284030.74	41630.112	0	0.999
thucan	509.411	2	254.706	37.332	0	0.675
doman	1089.101	3	363.034	53.209	0	0.816
thucan * doman	73.557	6	12.259	1.797	0.127	0.23
Error	245.618	36	6.823			
Total	285948.42	48				
Corrected Total	1917.686	47				
tls10						
	thucan	N	Subset			
			1	2	3	
Duncan ^{a,b}	taokho	16	72.4846			
	tath	16		78.077		
	taotuai	16			80.2105	
	Sig.		1	1	1	

tls10						
	doman	N	Subset			
			1	2	3	
Duncan ^{a,b}	23ppt	12	71.7486			
	27ppt	12		75.0128		
	35ppt	12		76.2715		
	31ppt	12			84.6632	
	Sig.		1	0.246	1	

Tests of Between-Subjects Effects						
Dependent Variable: tls15						
Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Partial Eta Squared
Corrected Model	2760.571 ^a	11	250.961	35.434	0	0.915
Intercept	241332.9	1	241332.9	34074.572	0	0.999
thucan	512.106	2	256.053	36.153	0	0.668
doman	2186.265	3	728.755	102.895	0	0.896
thucan * doman	62.2	6	10.367	1.464	0.218	0.196
Error	254.97	36	7.082			
Total	244348.44	48				
Corrected Total	3015.541	47				
tls15						
	thucan	N	Subset			
			1	2	3	
Duncan ^{a,b}	taokho	16	66.6949			
	tath	16		71.3699		
	taotuo	16			74.6554	
	Sig.		1	1	1	
tls15						
	doman	N	Subset			
			1	2	3	
Duncan ^{a,b}	23ppt	12	62.212			
	27ppt	12		69.3164		
	35ppt	12		70.9912		
	31ppt	12			81.1074	
	Sig.		1	0.132	1	

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: tls20						
Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Partial Eta Squared
Corrected Model	4786.467 ^a	11	435.133	30.572	0	0.903
Intercept	196523.94	1	196523.94	13807.521	0	0.997
thucan	779.284	2	389.642	27.376	0	0.603
doman	3923.311	3	1307.77	91.882	0	0.884
thucan * doman	83.871	6	13.979	0.982	0.452	0.141
Error	512.392	36	14.233			
Total	201822.8	48				
Corrected Total	5298.859	47				
tls20						
	thucan	N	Subset			
			1	2	3	
Duncan ^{a,b}	taokho	16	58.6518			
	tath	16		64.9188		
	taotuoi	16			68.3884	
	Sig.		1	1	1	
tls20						
	doman	N	Subset			
			1	2	3	4
Duncan ^{a,b}	23ppt	12	51.0113			
	27ppt	12		62.0093		
	35ppt	12			66.8309	
	31ppt	12				76.0938
	Sig.		1	1	1	1

Tests of Between-Subjects Effects						
Dependent Variable: tls25						
Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Partial Eta Squared
Corrected Model	6870.424 ^a	11	624.584	26.378	0	0.89
Intercept	158991.62	1	158991.62	6714.676	0	0.995
thucan	1256.669	2	628.334	26.536	0	0.596
doman	5552.786	3	1850.929	78.17	0	0.867
thucan * doman	60.97	6	10.162	0.429	0.855	0.067
Error	852.416	36	23.678			

Total	166714.46	48				
Corrected Total	7722.841	47				
tls25						
	thucan	N	Subset			
			1	2	3	
Duncan ^{a,b}	taokho	16	50.7594			
	tath	16		58.7912		
	taotuai	16			63.1078	
	Sig.		1	1	1	
tls25						
	doman	N	Subset			
			1	2	3	
Duncan ^{a,b}	23ppt	12	41.5035			
	27ppt	12		56.7122		
	35ppt	12		60.4387		
	31ppt	12			71.5569	
	Sig.		1	0.069	1	

Phụ lục số liệu thí nghiệm mật độ và chất đày giai đoạn sống đày và nghêu giống (TN8)

Tests of Between-Subjects Effects						
Dependent Variable: Lcuoi						
Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Partial Eta Squared
Corrected Model	168.507 ^a	11	15.319	409.467	0	0.759
Intercept	2684.174	1	2684.174	71747.267	0	0.98
chatday	13.08	2	6.54	174.814	0	0.197
matdo	153.769	3	51.256	1370.07	0	0.742
chatday * matdo	1.657	6	0.276	7.383	0	0.03
Error	53.424	1428	0.037			
Total	2906.105	1440				
Corrected Total	221.93	1439				
Lcuoi						
	chatday	N	Subset			
			1	2	3	
Duncan ^{a,b}	day cat	480	1.2354			
	day cat bun	480		1.3991		
	khong chat day	480			1.4614	

	Sig.		1	1	1	
Lcuoi						
	matdo	N	Subset			
			1	2	3	4
Duncan ^{a,b}	8 con	360	1.0129			
	6 con	360		1.1335		
	4 con	360			1.4591	
	2 con	360				1.8556
	Sig.		1	1	1	1

Tests of Between-Subjects Effects						
Dependent Variable: ADGcuoi						
Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Partial Eta Squared
Corrected Model	.270 ^a	11	0.025	409.486	0	0.759
Intercept	4.294	1	4.294	71734.878	0	0.98
chatday	0.021	2	0.01	174.824	0	0.197
matdo	0.246	3	0.082	1370.135	0	0.742
chatday * matdo	0.003	6	0	7.383	0	0.03
Error	0.085	1428	5.99E-05			
Total	4.649	1440				
Corrected Total	0.355	1439				
ADGcuoi						
	chatday	N	Subset			
			1	2	3	
Duncan ^{a,b}	day cat	480	0.0494			
	day cat bun	480		0.056		
	khong chat day	480			0.0584	
	Sig.		1	1	1	
ADGcuoi						
	matdo	N	Subset			
			1	2	3	4
Duncan ^{a,b}	8 con	360	0.0405			
	6 con	360		0.0453		
	4 con	360			0.0584	
	2 con	360				0.0742
	Sig.		1	1	1	1

Tests of Between-Subjects Effects							
Dependent Variable: SGRcuoi							
Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Partial Eta Squared	
Corrected Model	1001.233 ^a	11	91.021	261.451	0	0.668	
Intercept	81979.511	1	81979.511	235479.09	0	0.994	
chatday	86.625	2	43.312	124.411	0	0.148	
matdo	909.41	3	303.137	870.734	0	0.647	
chatday * matdo	5.199	6	0.866	2.489	0.021	0.01	
Error	497.143	1428	0.348				
Total	83477.887	1440					
Corrected Total	1498.376	1439					
SGRcuoi							
	chatday	N	Subset				
			1	2	3		
Duncan ^{a,b}	day cat	480	7.2063				
	day cat bun	480		7.6505			
	khong chat day	480			7.7788		
	Sig.		1	1	1		
SGRcuoi							
	matdo	N	Subset				
			1	2	3	4	
Duncan ^{a,b}	8 con	360	6.6345				
	6 con	360		7.0018			
	4 con	360			7.8573		
	2 con	360				8.6872	
	Sig.		1	1	1	1	

Tests of Between-Subjects Effects						
Dependent Variable: TLS5day						
Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Partial Eta Squared
Corrected Model	1819.284 ^a	11	165.389	56.087	0	0.945
Intercept	380176.74	1	380176.74	128926.1	0	1
matdo	1633.308	3	544.436	184.63	0	0.939
chatday	117.201	2	58.601	19.873	0	0.525

matdo * chatday	68.775	6	11.463	3.887	0.004	0.393
Error	106.157	36	2.949			
Total	382102.18	48				
Corrected Total	1925.441	47				
TLS5day						
Duncan ^{a,b}	matdo	N	Subset			
			1	2	3	4
	8 con	12	80.9252			
	6 con	12		86.1121		
	4 con	12			93.326	
	2 con	12				95.6221
	Sig.		1	1	1	1
TLS5day						
Duncan ^{a,b}	chatday	N	Subset			
			1	2		
	cat	16	87.6956			
	catbun	16	88.0996			
	khongday	16		91.1938		
	Sig.		0.51	1		

Tests of Between-Subjects Effects						
Dependent Variable: TLS10day						
Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Partial Eta Squared
Corrected Model	2509.890 ^a	11	228.172	66.349	0	0.953
Intercept	323108.29	1	323108.29	93954.58	0	1
matdo	1802.382	3	600.794	174.701	0	0.936
chatday	371.552	2	185.776	54.021	0	0.75
matdo * chatday	335.957	6	55.993	16.282	0	0.731
Error	123.803	36	3.439			
Total	325741.98	48				
Corrected Total	2633.694	47				
TLS10day						
Duncan ^{a,b}	matdo	N	Subset			
			1	2	3	4
	8 con	12	73.0847			
	6 con	12		79.8451		

	4 con	12			86.4455	
	2 con	12				88.8057
	Sig.		1	1	1	1
TLS10day						
	chatday	N	Subset			
			1	2	3	
Duncan ^{a,b}	cat	16	78.509			
	catbun	16		82.3193		
	khongday	16			85.3075	
	Sig.		1	1	1	

Tests of Between-Subjects Effects						
Dependent Variable: TLS15day						
Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Partial Eta Squared
Corrected Model	3357.393 ^a	11	305.218	52.02	0	0.941
Intercept	300648.92	1	300648.92	51241.534	0	0.999
matdo	2298.951	3	766.317	130.608	0	0.916
chatday	719.667	2	359.834	61.329	0	0.773
matdo * chatday	338.775	6	56.462	9.623	0	0.616
Error	211.222	36	5.867			
Total	304217.54	48				
Corrected Total	3568.615	47				
TLS15day						
	matdo	N	Subset			
			1	2	3	4
Duncan ^{a,b}	8 con	12	68.1244			
	6 con	12		78.6184		
	4 con	12			83.6294	
	2 con	12				86.1975
	Sig.		1	1	1	1
TLS15day						
	chatday	N	Subset			
			1	2		
Duncan ^{a,b}	cat	16	73.7247			
	catbun	16		81.1612		
	khongday	16		82.5413		
	Sig.		1	0.116		

Tests of Between-Subjects Effects						
Dependent Variable: TLS20day						
Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Partial Eta Squared
Corrected Model	4050.588 ^a	11	368.235	54.643	0	0.943
Intercept	276821.55	1	276821.55	41078.042	0	0.999
matdo	2149.009	3	716.336	106.298	0	0.899
chatday	1382.021	2	691.01	102.54	0	0.851
matdo * chatday	519.558	6	86.593	12.85	0	0.682
Error	242.601	36	6.739			
Total	281114.73	48				
Corrected Total	4293.189	47				
TLS20day						
	matdo	N	Subset			
			1	2	3	4
Duncan ^{a,b}	8 con	12	65.3642			
	6 con	12		76.1915		
	4 con	12			78.477	
	2 con	12				83.7334
	Sig.		1	1	1	1
TLS20day						
	chatday	N	Subset			
			1	2		
Duncan ^{a,b}	cat	16	68.3564			
	catbun	16		79.5411		
	khongday	16		79.9271		
	Sig.		1	0.677		

Tests of Between-Subjects Effects						
Dependent Variable: TLS25day						
Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Partial Eta Squared
Corrected Model	4709.987 ^a	11	428.181	60.731	0	0.949
Intercept	255900.05	1	255900.05	36295.291	0	0.999
matdo	2353.283	3	784.428	111.258	0	0.903
chatday	1661.437	2	830.719	117.824	0	0.867
matdo * chatday	695.267	6	115.878	16.435	0	0.733

Error	253.818	36	7.051			
Total	260863.86	48				
Corrected Total	4963.806	47				
TLS25day						
	matdo	N	Subset			
			1	2	3	4
Duncan ^{a,b}	8 con	12	62.3267			
	6 con	12		72.6367		
	4 con	12			75.35	
	2 con	12				81.7483
	Sig.		1	1	1	1
TLS25day						
	chatday	N	Subset			
			1	2		
Duncan ^{a,b}	cat	16	64.7425			
	catbun	16		76.3844		
	khongday	16		77.9194		
	Sig.		1	0.111		