

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)

TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ NUÔI TRỒNG THỦY SẢN

Khánh Hòa – 2022

Công trình được hoàn thành tại: Trường Đại học Nha Trang

Người hướng dẫn khoa học:

Hướng dẫn 1: TS. Ngô Anh Tuấn

Hướng dẫn 2: PGS. TS. Ngô Thị Thu Thảo

- Phản biện 1: PGS. TS. Nguyễn Phú Hòa
- Phản biện 2: PGS. TS. Nguyễn Duy Quỳnh Trâm
- Phản biện 3: GS. TS. Trương Quốc Phú

Luận án được bảo vệ tại Hội đồng đánh giá luận án Tiến sĩ cấp trường
tại Trường Đại học Nha Trang

vào lúc giờ ngày thángnăm

Có thể tìm hiểu Luận án tại:

Thư viện Quốc gia

Thư viện Trường ĐH Nha Trang

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. Trong cơ thịt tươi của nghêu lụa có hàm lượng protein 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% khối lượng khô). Trên thế giới, nghêu lụa là đối tượng khai thác chính ở các nước: Malaysia, Trung Quốc, Ấn Độ, Thái Lan, Philippines....

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. Hiện nay nghêu lụa đang được khai thác ở các tỉnh ven biển miền Trung và các tỉnh khu vực Tây Nam Bộ (Kiên Giang và Cà Mau), 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.

Ở nước ta các nghiên cứu về nghêu lụa ở mới thực hiện về đặc điểm phân bố, sinh trưởng, hiện trạng khai thác và thông tin ban đầu về mùa vụ sinh sản; 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 nhân tạo đối tượng 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.

Đề 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 sản xuất giống, chủ động được nguồn giống nhân tạo 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.

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 lụa 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 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 dực : 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 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. 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 lụa 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 lụa: 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 lụa. Phương pháp sốc nhiệt là tốt nhất để kích thích nghêu lụa sinh sản.

Kỹ thuật ương nuôi ấu trùng và nghêu lụa 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 sống đáy 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 lụa 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 lụa tại Khánh Hòa và ứng dụng vào sản xuất được 17,37 triệu con giống (cỡ 3 – 5 mm) sau 03 đợt, tỷ lệ sống trung bình 4,6%, năng suất 190.000 con/m².

Chương 1: Tổng quan nghiên cứu

1.1 Tình hình nghiên cứu về nghêu lùa trên thế giới

Trên thế giới, nghêu lùa cũng như các đối tượng thuộc giống nghêu *Paphia* đã được nghiên cứu tương đối đầy đủ về đặc điểm sinh học sinh sản, đặc điểm sinh thái, đặc điểm phân bố và nguồn lợi và thử nghiệm sản xuất giống. Tuy nhiên, các nghiên cứu chuyên sâu về các biện pháp kỹ thuật trong sản xuất giống nhân tạo còn khá hạn chế.

1.2 Tình hình nghiên cứu về nghêu lùa tại Việt Nam

Ở nước ta, hai loài nghêu *Meretrix meretrix* và *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; do đó, các nghiên cứu về sản xuất giống các loài thuộc họ nghêu *Veneridae* chủ yếu được thực hiện trên hai đối tượng này, những công bố trên các đối tượng khác còn hạn chế. Cho đến nay, các nghiên cứu về nghêu lùa ở trong nước mới chỉ là các nghiên cứu về đặc điểm phân bố, đặc điểm sinh trưởng và thông tin cơ bản về mùa vụ sinh sản phục vụ cho khai thác tại Bình Thuận và Cà Mau. Chưa có các nghiên cứu mang tính hệ thống và đầy đủ về đặc điểm sinh học sinh sản và đặc biệt, các nghiên cứu về kỹ thuật sản xuất giống đối tượng này chưa được triển khai thực hiện. Vì vậy, để đưa nghêu lùa 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 các đặc điểm sinh học sinh sản và các biện pháp kỹ thuật thích hợp cho các giai đoạn phát triển của ấu trùng và nghêu giống là rất cần thiết nhằm xây dựng quy trình 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, nhằm tạo việc làm, nâng cao thu nhập. Đồng thời, 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 lùa ngoài tự nhiên cũng như góp phần phát triển nghề nuôi thương phẩm, từ đó bổ sung nguồn giống trong tự nhiên nhằm phục hồi nguồn lợi tự nhiên.

Chương 2: Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1 Đối tượng, thời gian và địa điểm nghiên cứu

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

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

Thời gian nghiên cứu: nghiên cứu đặc điểm sinh học sinh sản của nghêu lẹ từ tháng 01 năm 2017 đến tháng 12 năm 2017. Nghiên cứu sản xuất giống nhân tạo nghêu lẹ từ tháng 01 năm 2018 tới tháng 12 năm 2019.

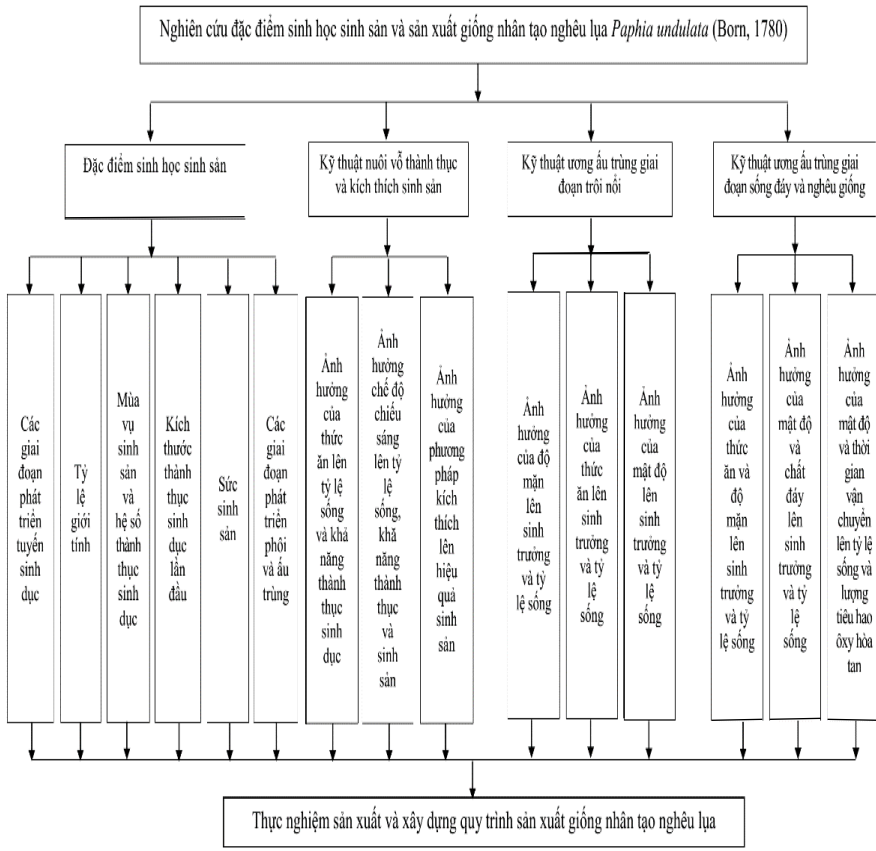
Địa điểm nghiên cứu: Mẫu nghêu lẹ nghiên cứu đặc điểm sinh học sinh sản được thu từ các địa phương huyện Vạn Ninh, Thị xã Ninh Hòa và thành phố Cam Ranh, tỉnh Khánh Hòa. Phân tích đặc điểm sinh học sinh sản của nghêu lẹ tại Phòng thí nghiệm Trung tâm Thí nghiệm thực hành, Trường Đại học Nha Trang. Các thí nghiệm nghiên cứu kỹ thuật ương nuôi ấu trùng nghêu lẹ 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

Nghiên cứu đặc điểm sinh học sinh sản của nghêu lẹ.

Nghiên cứu kỹ thuật sản xuất giống nghêu lẹ

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



Hình 2.1: Sơ đồ khối nội dung nghiên cứu

2.3 Phương pháp nghiên cứu

2.3.1 Phương pháp thu mẫu

Nghêu lưa được khai thác trong tỉnh Khánh Hòa được thu trực tiếp từ người dân khai thác, được vận chuyển bằng phương pháp khô ẩm về phòng thí nghiệm của Trường Đại học Nha Trang để phân tích. 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 khác nhau, dao động từ 37 tới 54 mm tương ứng với kích cỡ nghêu hiện đang được khai thác để phân tích các đặc điểm sinh học sinh sản, số lượng mẫu thu: 120 con/tháng. Thu mẫu liên tục trong 12 tháng.

2.3.2 Các giai đoạn phát triển tuyến sinh dục

Giới tính của nghêu lụ 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). 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). Xác định các giai đoạn phát triển tuyến sinh dục của nghêu lụ theo thang 5 bậc của Quayle và Newkirt (1989) và Nabuab và ctv. (2010).

2.3.3 Tỷ lệ giới tính

Tỷ lệ giới tính của nghêu lụ 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.

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

Mùa vụ sinh sản của nghêu lụ 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 lụ 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 triển.

2.3.5 Kích thước thành thực sinh dục lần đầu

Kích thước thành thực sinh dục lần đầu của nghêu lụ được tính toán riêng cho nghêu đực và nghêu cái. 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 được xác định là kích thước thành thực sinh dục lần đầu (L_{50}).

2.3.6 Sức sinh sản

Sức sinh sản tuyệt đối và tương đối của nghêu lụ 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. 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.

2.3.7 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.

2.3.8 Nghiên cứu kỹ thuật sản xuất giống nghêu lựa

Nghiên cứu ảnh hưởng của thức ăn lên tỷ lệ sống và khả năng thành thực sinh dục: 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). Các nghiệm thức được lặp lại 5 lần, thời gian thực hiện 21 ngày. Kết thúc thí nghiệm, xác định tỷ lệ sống, độ béo, chỉ số điều kiện, tỷ lệ thành thực sinh dục và thành phần sinh hóa của thịt nghêu.

Nghiên cứu ảnh hưởng của chế độ chiếu sáng lên tỷ lệ sống, khả năng thành thực và sinh sản: đánh giá ảnh hưởng của ba chế độ chiếu sáng khác nhau: NT1: cường độ ánh sáng dao động 20 – 300 lux (trong trại giống), NT2: cường độ ánh sáng dao động 500 – 3.000 lux (dưới mái che bằng tôn nhựa màu trắng che lưới lan màu đen) và NT3: cường độ ánh sáng dao động 5.000 – 8.000 lux (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.

Nghiên cứu ảnh hưởng của phương pháp kích thích lên hiệu quả sinh sản: 3 phương pháp kích thích sinh sản: NT1: phương pháp sốc nhiệt, NT2:

phương pháp chiếu đèn tia cực tím và NT3: phương pháp ngâm trong dung dịch NH₄OH. Mỗi nghiệm thức được lặp lại 5 lần, các chỉ tiêu đánh giá: thời gian sinh sản, 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.

Nghiên cứu ảnh hưởng của độ mặn lên sinh trưởng và tỷ lệ sống của ấu trùng nghêu lụa: 4 thang độ mặn, NT1 độ mặn 23‰, NT2 độ mặn 27‰, NT3 độ mặn 31‰ và NT4 độ mặn 35‰.

Nghiên cứu ảnh hưởng của thức ăn lên sinh trưởng và tỷ lệ sống của ấu trùng nghêu lụa: 3 loại thức ăn 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).

Nghiên cứu ảnh hưởng của mật độ lên sinh trưởng và tỷ lệ sống của ấu trùng nghêu lụa: 4 mật độ ương khác nhau, NT1: 1 con/mL, NT2: 3 con/mL, NT3: 5 con/mL, NT4: 7 con/mL.

Nghiên cứu ảnh hưởng kết hợp của thức ăn và độ mặn lên sinh trưởng và tỷ lệ sống của ấu trùng và nghêu giống: đánh giá tác động đồng thời của 3 loại thức ăn là: vi tảo (*N. oculata*, *Chlorella* sp., *I. galbana*), 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‰.

Nghiên cứu ảnh hưởng kết hợp của mật độ và chất đáy lên sinh trưởng và tỷ lệ sống của ấu trùng và nghêu giống: đánh giá tác động đồng thời của 4 mức mật độ ương là 2, 4, 6 và 8 con/cm² kết hợp 3 loại chất đáy khác nhau là cát, cát bùn và không chất đáy (đáy trơn).

Các nghiệm thức thí nghiệm giai đoạn ấu trùng trôi nổi, ấu trùng sống đáy và nghêu giống được lặp lại 4 lần. Thời gian thí nghiệm giai đoạn ấu trùng trôi nổi là 15 ngày, giai đoạn ấu trùng sống đáy và nghêu giống là 25 ngày. Các chỉ tiêu xác định: 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.

Nghiên cứu ảnh hưởng của mật độ và thời gian vận chuyển lên tỷ lệ sống và tiêu hao ôxy của nghêu lụa giai đoạn giống: đánh giá tác động đồng thời của 3 mức mật độ đóng nghêu giống là 10.000, 15.000 và 20.000 con/túi ở 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 nhỏ và nghêu lớn. Các chỉ tiêu xác định: tỷ lệ sống (%) và lượng tiêu hao ôxy hòa tan (ppm/g/phút) của nghêu.

2.3.9 Thực nghiệm sản xuất giống nhân tạo

Ứng dụng các kết quả tốt nhất của các thí nghiệm trên, tiến hành thực nghiệm sản xuất giống nhân tạo (3 đợt) và xây dựng quy trình kỹ thuật sản xuất giống nghêu lựa tại Khánh Hòa.

2.3.10 Phương pháp phân tích thành phần sinh hóa

Lấy ngẫu nhiên cá thể nghêu lựa bố mẹ, xác định kích thước 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 nhiệt 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.

2.11. 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 nghiên cứu và thảo luận

3.1 Đặc điểm sinh học sinh sản của nghêu lụ

3.1.1 Đặc điểm các giai đoạn phát triển tuyến sinh dục của nghêu lụ

Nghêu lụ 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 chưa thành thực. Vị trí tuyến sinh dục của nghêu lụ 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.

Quá trình phát triển tuyến sinh dục của nghêu lụ 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.

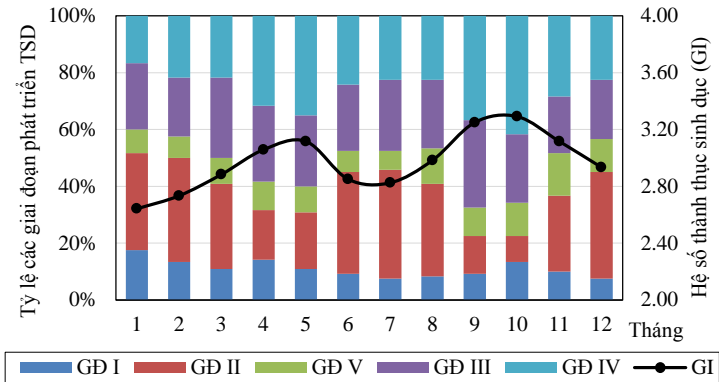
3.1.2 Tỷ lệ giới tính của nghêu lụ

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 lý thuyết, lần lượt là 1,51 : 1; 1,49 : 1 và 1,53 : 1. 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. Ở các tháng còn lại, tỷ lệ giới tính của nghêu quan sát đều phù hợp với tỷ lệ lý thuyết là 1:1. Trong toàn bộ mẫu nghiên cứu, tỷ lệ giới tính chung của nghêu tương đối đồng đều, là 1,00 : 1,08.

Ở nhóm kích thước nhỏ (37 – 42 mm), 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. Ở các nhóm kích thước lớn hơn, tỷ lệ giới tính của nghêu quan sát không có sự sai khác so với tỷ lệ lý thuyết chung.

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

Trong tất cả các tháng đều xuất hiện 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 khác nhau.

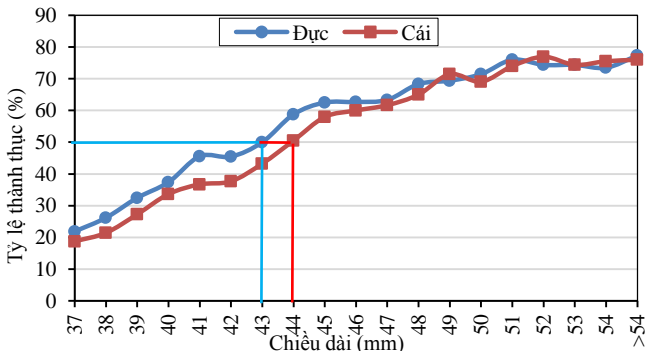


Hình 3.1: Các giai đoạn phát triển tuyến sinh dục và hệ số thành thực của nghêu lụa tại Khánh Hòa

Tỷ lệ nghêu thành thực sinh dục và sinh sản tăng dần ở tháng 1 và đạt đỉnh cao thứ nhất vào tháng 5, sau đó giảm dần ở các tháng mùa hè trước khi đạt đỉnh cao thứ 2 vào tháng 9. Hệ số thành thực tăng dần từ tháng 1 tới tháng 5 sau đó giảm dần ở các tháng 6 tới tháng 8 trước khi tăng lên ở tháng 9 và đạt giá trị lớn nhất ở tháng 10. Biến động về tỷ lệ thành thực sinh dục và sinh sản của nghêu lụa 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 và vụ 2 từ tháng 9 tới tháng 10.

3.1.4 Kích thước thành thực sinh dục lần đầu

Kích thước thành thực sinh dục lần đầu của nghêu đực là 43 mm và đối với nghêu cái là 44 mm.



Hình 3.2: Kích thước thành thực sinh dục lần đầu của nghêu lụa tại Khánh Hòa

3.1.5 Sức sinh sản

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 trung bình của nghêu lụa là 353.889 ± 165.205 trứng/nghêu cái/lần đẻ.

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

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 phóng sản phẩm sinh dục qua hai ống hút thoát nước.

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.

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

3.2.1 Ảnh hưởng của thức ăn lên tỷ lệ sống và khả năng thành thực

Độ béo và chỉ số CI của nghêu tăng lên và đạt giá trị cao nhất khi cho ăn bằng vi tảo, lần lượt là $35,54 \pm 0,58\%$ và $58,34 \pm 0,97\%$.

Tỷ lệ thành thực của nghêu khi kết thúc thí nghiệm đạt cao nhất ở nghiệm thức cho ăn bằng vi tảo, tương ứng $77,20 \pm 2,04\%$ 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 ($74,00 \pm 1,92\%$).

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 $87,04 \pm 0,99\%$ khi sử dụng vi tảo và thấp nhất là $69,36 \pm 1,27\%$ khi cho ăn bằng tảo khô.

3.2.2 Thành phần sinh hóa của nghêu lụa

Khi sử dụng các loại thức ăn khác nhau, biến động thành phần sinh hóa của nghêu có sự sai khác có ý nghĩa giữa các nghiệm thức. Thành phần sinh hóa của nghêu (lipid, protein, tro) tăng lên và đạt giá trị cao nhất khi sử dụng thức ăn là vi tảo.

3.2.3 Ảnh hưởng của chế độ chiếu sáng lên tỷ lệ sống, khả năng thành thực và sinh sản của nghêu

Độ béo và tỷ lệ thành thực của nghêu tăng lên và đạt giá trị cao nhất, lần lượt là $35,72 \pm 0,44\%$ và $82,67 \pm 1,82\%$ ở nghiệm thức cường độ ánh sáng 500 – 3.000 lux. Tỷ lệ sống của nghêu giảm ở cả 3 nghiệm thức với giá trị thấp nhất là $67,80 \pm 1,86\%$ khi nuôi dưới điều kiện cường độ ánh sáng 5.000 – 8.000 lux. Ở nghiệm thức điều kiện chiếu sáng với cường độ 20 – 300 lux và 500 – 3.000 lux, tỷ lệ sống của nghêu khá cao, dao động 84,6 – 87,0%.

Bảng 3. 1: Kết quả nuôi vỗ thành thực nghêu lựa 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	$87,00 \pm 1,55^b$	$84,60 \pm 1,86^b$	$67,80 \pm 1,86^a$

Kết quả kích thích sinh sản nghêu lựa cho thời gian hiệu ứng nhanh nhất ở nghiệm thức cường độ ánh sáng 500 – 3.000 lux, sau 98 phút (Bảng 3.2). Tỷ lệ nghêu sinh sản cao và đều ở nghiệm thức cường độ ánh sáng thấp 20 – 300 lux và 500 – 3.000 lux, lần lượt là 74,4% và 78,8%. Sức sinh sản thực tế của nghêu thấp nhất ở điều kiện cường độ chiếu sáng 5.000 – 8.000 lux (314.000 ± 40.570 trứng) và cao nhất ở nghiệm thức cường độ chiếu sáng 500 – 3.000 lux (454.200 ± 64.580 trứng).

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 $76,6 \pm 2,25\%$ và $78,0 \pm 2,43\%$) và thấp nhất ở nghiệm thức cường độ chiếu sáng 5.000 – 8.000 lux (tương ứng $60,4 \pm 2,04\%$ và $62,4 \pm 2,50\%$).

Bảng 3.2: Hiệu quả sinh sản của nghêu lựa 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	$123,0 \pm 8,31^a$	$74,4 \pm 3,59^b$	442.200 ± 83.239^a	$68,8 \pm 3,68^{ab}$	$74,4 \pm 3,14^b$
500 – 3.000 lux	$98,0 \pm 7,18^a$	$78,8 \pm 2,56^b$	454.200 ± 64.580^a	$76,6 \pm 2,25^b$	$78,0 \pm 2,43^b$
5.000 – 8.000 lux	$168,0 \pm 12,41^b$	$62,4 \pm 3,64^a$	314.000 ± 40.570^a	$60,4 \pm 2,04^a$	$62,4 \pm 2,50^a$

3.2.4 Ảnh hưởng của phương pháp kích thích lên hiệu quả sinh sản

Kết quả kích thích sinh sản cho cả 3 phương pháp kích thích đều có tác dụng, tuy nhiên hiệu quả sinh sản khác nhau. Thời gian hiệu ứng của ngẫu nhiên nhanh nhất ở nghiệm thức ngâm trong dung dịch NH₄OH (79,0 ± 7,14 phút) và chậm nhất khi kích thích bằng tia cực tím (141,0 ± 6,40 phút) (p<0,05). Tỷ lệ ngẫu nhiên tham gia sinh sản cũng ghi nhận cao nhất ở nghiệm thức NH₄OH, với 82,0 ± 2,21%. Tỷ lệ thụ tinh của trứng khi sử dụng NH₄OH chỉ đạt 60,4 ± 2,04%, thấp hơn có ý nghĩa so với nghiệm thức chiếu đèn tia cực tím, tương ứng 76,6 ± 2,25%.

Bảng 3.3: Hiệu quả sinh sản của ngẫu lựa ở các phương pháp kích thích 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 (%)
Sốc nhiệt	102,0 ± 4,64 ^b	71,4 ± 2,44 ^a	490.200 ± 47.239 ^a	68,8 ± 3,68 ^{ab}	74,4 ± 3,14 ^b
Tia cực tím	141,0 ± 6,40 ^c	64,4 ± 3,59 ^a	422.000 ± 42.942 ^a	76,6 ± 2,25 ^b	78,0 ± 2,43 ^b
NH₄OH	79,0 ± 7,14 ^a	82,0 ± 2,21 ^b	513.000 ± 49.285 ^a	60,4 ± 2,04 ^a	62,4 ± 2,50 ^a

Kích thước chiều dài của ấu trùng chữ D từ 3 nghiệm thức kích thích sinh sản dao động từ 140,5 – 144,3 μm và không sai khác có ý nghĩa. Tuy nhiên, sự phân đàn của ấu trùng thể hiện qua hệ số CV với giá trị thấp nhất (8,4%) ở nghiệm thức sốc nhiệt, thấp hơn so với nghiệm thức tia cực tím (11,73%) và NH₄OH (13,1%) (p<0,05).

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

3.3.1 Ảnh hưởng của độ mặn lên sinh trưởng và tỷ lệ sống

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).

Bảng 3.4: Sinh trưởng của ấu trùng ngẫu 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

Giá trị ADG và SGR của ấu trùng có chung xu hướng với giá trị lớn nhất ở độ mặn 31‰ (lần lượt $24,17 \pm 0,31 \mu\text{m}/\text{ngày}$ và $9,65 \pm 0,08 \%/ \text{ngày}$) và cao hơn có ý nghĩa so với các nghiệm thức còn lại.

Tỷ lệ sống của ấu trùng ngẫu lựa giảm dần theo thời gian và chịu ảnh hưởng của độ mặn ($p < 0,05$). Sau 15 ngày thí nghiệm, tỷ lệ sống đạt cao nhất ở độ mặn 31‰, là $5,09 \pm 0,39\%$.

3.3.2 Ảnh hưởng của thức ăn lên sinh trưởng và tỷ lệ sống

Chiều dài của ấu trùng lớn nhất ở nghiệm thức thức ăn là vi tảo ($463,1 \pm 4,44 \mu\text{m}$) và thấp nhất ở nghiệm thức tảo khô ($304,0 \pm 3,89 \mu\text{m}$). Kết thúc thí nghiệm, ADG của ấu trùng cho ăn bằng vi tảo đạt cao nhất là $23,46 \pm 0,30 \mu\text{m}/\text{ngày}$, gấp đôi so với nghiệm thức cho ăn bằng tảo khô ($12,85 \pm 0,27 \mu\text{m}/\text{ngày}$). 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 ($6,65 \pm 0,10 \%/ \text{ngày}$) ($p < 0,05$).

Bảng 3.5: Sinh trưởng của ấu trùng ngẫu lựa sử dụng các loại thức ăn khác nhau

Thức ăn	L đầu (μm)	Chỉ tiêu		
		L cuối (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	$111,3 \pm 1,39$	$361,7 \pm 4,46^b$	$16,69 \pm 0,31^b$	$7,82 \pm 0,09^b$

Tỷ lệ sống của ấu trùng tương đương ở nghiệm thức vi tảo và hỗn hợp 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%).

3.3.3 Ảnh hưởng của mật độ ương lên sinh trưởng và tỷ lệ sống

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 ($408,75 \mu\text{m}$), ADG ($20,15 \mu\text{m}/\text{ngày}$) và SGR ($8,94 \%/ \text{ngày}$) 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. 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.

Bảng 3.6: Sinh trưởng của ấu trùng nghêu lùa ở các mật độ ương khác nhau

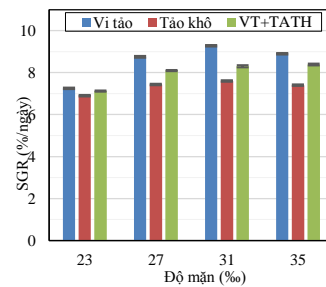
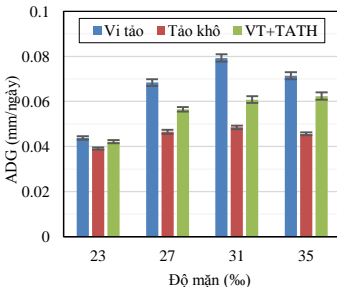
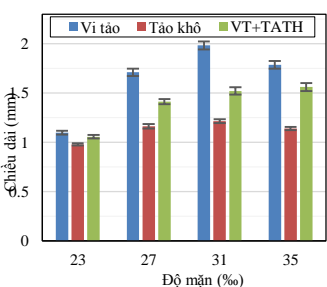
Mật độ (con/mL)	L đầu (μm)	Chỉ tiêu		
		L cuối (μm)	ADG (μm/ngày)	SGR (%/ngày)
1	106,46 ± 1,60	408,75 ± 4,09 ^c	20,15 ± 0,27 ^c	8,94 ± 0,07 ^c
3	106,46 ± 1,60	365,21 ± 3,19 ^b	17,25 ± 0,21 ^b	8,21 ± 0,07 ^b
5	106,46 ± 1,60	252,03 ± 2,01 ^a	9,70 ± 0,15 ^a	5,73 ± 0,08 ^a
7	106,46 ± 1,60	245,84 ± 2,38 ^a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

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.

3.4 Kỹ thuật ương nuôi ấu trùng nghêu lùa 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

Thức ăn và độ mặn ảnh hưởng tới tăng trưởng chiều dài của ấu trùng và nghêu giống trong thời gian thí nghiệm. Chiều dài của nghêu lùa ở nhóm nghiệm thức độ mặn 31‰ luôn có giá trị cao nhất và thấp nhất là ở độ mặn 23‰. Tương tự, chiều dài 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. 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 nghêu lùa 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 ± 0,045 mm.



Hình 3.3: Chiều dài 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

Hình 3.4: Tốc độ tăng trưởng bình quân 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

Hình 3.5: Tốc độ tăng trưởng đặc trưng 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

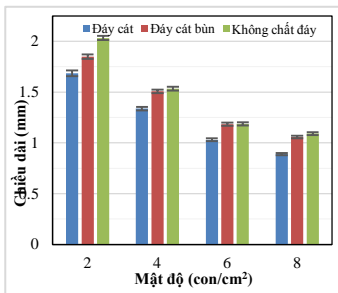
Tốc độ sinh trưởng (ADG và SGR) của nghêu lựa chịu ảnh hưởng của yếu tố độ mặn và thức ăn với giá trị cao nhất ở độ mặn 31‰ và thức ăn là vi tảo và thấp nhất ở độ mặn 23‰ và thức ăn là tảo khô. Có ảnh hưởng kết hợp của yếu tố mật độ và thức ăn lên ADG và SGR của nghêu lựa với giá trị cao nhất ở nghiệm thức độ mặn 31‰ kết hợp với thức ăn là vi tảo.

Tỷ lệ sống của nghêu lựa luôn đạt giá trị cao nhất khi sử dụng thức ăn vi tảo kết hợp độ mặn 31‰ và thấp nhất ở nghiệm thức tảo khô kết hợp độ mặn 23‰. 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. Từ ngày thứ 10 trở đi, kết quả cho thấy không có ảnh hưởng kết hợp giữa thức ăn và độ mặn lên tỷ lệ sống của ấu trùng và nghêu giống.

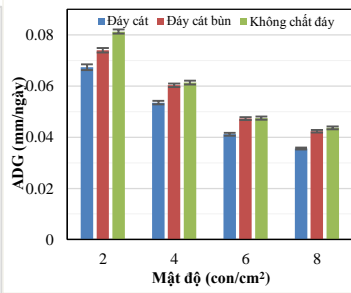
3.4.2 Ảnh hưởng kết hợp của chất đáy và mật độ lên sinh trưởng và tỷ lệ sống

Tăng trưởng chiều dài của ấu trùng 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. Ở các nghiệm thức mật độ cao hơn, tăng trưởng chiều dài của nghêu giảm tỷ lệ nghịch và thấp nhất ở mật độ ương 8 con/cm². 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 và nghêu giống, trong đó, chiều dài của nghêu luôn đạt cao nhất ở nghiệm thức mật độ ương 2 con/cm² kết hợp không chất đáy.

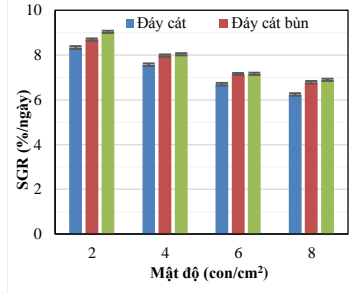
ADG của ấu trùng và nghêu giống tỷ lệ nghịch với mật độ ương với giá trị cao nhất ở mật độ ương thấp (2 con/cm²) và giảm dần ở các mật độ ương cao hơn. Có ảnh hưởng kết hợp của yếu tố mật độ và chất đáy lên ADG của ấu trùng và nghêu giống, với giá trị cao nhất ở nghiệm thức mật độ ương 2 con/cm² kết hợp không chất đáy, ngoại trừ ở ngày ương thứ 15 của quá trình thí nghiệm.



Hình 3.6: Chiều dài 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



Hình 3.7: Tốc độ tăng trưởng bình quân 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



Hình 3.8: Tốc độ tăng trưởng đặc trưng 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

SGR 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. SGR của nghêu lựa khác biệt có ý nghĩa ở các nghiệm thức mật độ trong thời gian thí nghiệm, với giá trị lớn nhất ở mật độ 2 con/cm² và thấp nhất ở mật độ 8 con/cm². Ảnh hưởng kết hợp của yếu tố mật độ và chất đáy lên SGR của ấu trùng 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.

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/m², tiếp đến là mật độ 4 con/m² và thấp nhất ở mật độ 8 con/m². Kết quả nghiên cứu cho thấy nghêu lựa khi ương ở mật độ thấp (2 con/m²) 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.

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

Nghêu giống cỡ nhỏ có tỷ lệ sống đạt cao nhất (98,73%) ở nghiệm thức thời gian vận chuyển 6h, cao hơn có ý nghĩa so với hai nghiệm thức còn lại. Ở các nghiệm thức mật độ, tỷ lệ sống của nghêu đạt giá trị cao nhất

ở mật độ thấp là 10.000 con/túi, sau đó tỷ lệ sống giảm dần ở các mật độ cao hơn.

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 tương đương ở nghiệm thức vận chuyển 6h và 12h, dao động từ 97,75% tới 98,12% và cao hơn có ý nghĩa so với nghiệm thức vận chuyển 18h với tỷ lệ sống là 96,68%. 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%).

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 nghêu giống 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 giống trong quá trình vận chuyển ($p=0,008$) với tỷ lệ sống cao nhất ở các nghiệm thức thời gian và mật độ thấp (6h và 10.000 con/túi).

Mức tiêu hao oxy hòa tan của cả hai cỡ nghêu giống ở tất cả các nghiệm thức thí nghiệm về thời gian và mật độ đều cao hơn so với nghiệm thức đối chứng. Ở các nghiệm thức thời gian 18h, mức tiêu hao oxy của nghêu giống ở cả cỡ nhỏ và cỡ lớn là cao nhất (lần lượt là 7,84 và 8,57 ppm/g/phút) và thấp nhất là sau 6h vận chuyển (lần lượt là 2,91 và 3,37 ppm/g/phút). Ở các nghiệm thức mật độ, mức tiêu hao oxy của nghêu giống cỡ nhỏ tăng tỷ lệ thuận với sự tăng của mật độ giống. Mức tiêu hao oxy ở mật độ 20.000 con/túi là cao nhất (7,87 ppm/g/phút), 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).

Đối với nghêu giống cỡ lớn, mức tiêu hao oxy thấp nhất (3,97 ppm/g/phút) ở mật độ 10.000 con/túi so với hai nghiệm thức còn lại. Mức tiêu hao oxy 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 (6,13 ppm/g/phút).

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 oxy của nghêu giống cỡ nhỏ ($p=0,029$) với mức tiêu hao oxy thấp nhất ở mật độ 10.000 con/túi kết hợp

thời gian 6h. Trong khi đó, mức độ tiêu thụ ôxy của nghêu giống cỡ lớn không chịu tác động đồng thời của cả hai yếu tố thời gian và mật độ đóng giống ($p=0,490$). Như vậy, thời gian vận chuyển 6h và mật độ đóng giống 10.000 con/túi là thích hợp nhất cho nghêu giống thể hiện thông qua mức tiêu thụ ôxy thấp nhất.

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

Nghêu lựa được tuyển chọn có kích thước chiều dài vỏ trung bình $50,7 \pm 4,52$ mm, khối lượng $12,3 \pm 1,56$ g. Chỉ số độ béo và tỷ lệ thành thực của nghêu bố mẹ tương ứng $32,7 \pm 3,48\%$ và $69,4 \pm 2,25\%$. Kết quả nuôi vỗ thành thực cho thấy 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 $77,3 \pm 3,32\%$. Trong đó, 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 $80,6\%$. Cả 3 đợt nuôi vỗ thì tỷ lệ thành thực của nghêu lựa đều đạt yêu cầu cho sinh sản, dao động từ $74,1 - 80,6\%$.

Sử dụng phương pháp sốc nhiệt để kích thích nghêu sinh sản. Nghêu thường sinh sản vào lúc chiều tối, nghêu được 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 kéo dài, từ 90,2 tới 102 giờ do chúng là loài sinh sản ngắt quãng, không liên tục. 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 cao và ổn định giữa các đợt, trung bình là $71,2 \pm 1,2\%$.

Ở giai đoạn ấu trùng trôi nổi, mật độ ương hiệu quả là $1 - 3$ con/mL. Tới giai đoạn hậu kỳ đỉnh vỏ, ấu trùng xuất hiện điểm mắt và chân bò, tiến hành thu toàn bộ bể ương để chuyển sang bể ương giai đoạn ấu trùng sống đáy với mật độ ương $2 - 4$ con/cm². Trong suốt giai đoạn ương ấu trùng, 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 thức ăn tổng hợp (Lansy, Frippak, tỷ lệ 1:1, liều lượng cho ăn 2g/100.000 ấu trùng/ngày), thời gian cho ăn 4 lần/ngày.

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.

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

Chỉ tiêu kỹ thuật của quy trình: Quy trình kỹ thuật sản xuất giống nhân tạo nghêu lùa 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 lùa 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.

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

Nội dung quy trình:

- Bước 1: Kỹ thuật tuyển chọn nghêu lùa cho sinh sản.
- Bước 2: Kỹ thuật nuôi vỗ thành thực nghêu lùa.
- Bước 3: Kỹ thuật kích thích sinh sản và thu ấu trùng nghêu lùa.
- Bước 4: Kỹ thuật ương ấu trùng nghêu lùa từ giai đoạn trôi nổi tới giai đoạn sống đáy.
- Bước 5: Kỹ thuật ương ấu trùng nghêu lùa từ giai đoạn sống đáy tới nghêu giống.
- Bước 6: Kỹ thuật thu và vận chuyển nghêu lùa giống.

Chương 4: Kết luận và đề xuất

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 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 mùa vụ 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 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 thực nghêu lụa, vi tảo (*Chlorella* sp. và *I. galbana*) là thức ăn phù hợp nhất cho nuôi vỗ thành thực nghêu lụa, với giá trị tốt nhất của các chỉ tiêu: chỉ số 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; 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, Frippak); 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 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.

Đề xuất

Xây dựng qui định về kích cỡ khai thác nghêu lựa 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.

DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH KHOA HỌC CỦA NCS LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN

1. Vũ Trọng Đại, Ngô Thị Thu Thảo, Ngô Anh Tuấn, 2019. Ảnh hưởng của độ mặn và thức ăn lên sinh trưởng và tỷ lệ sống của ấu trùng nghêu lụa (*Paphia undulata*) giai đoạn trôi nổi tại Khánh Hòa. Tạp chí Khoa học và công nghệ thủy sản, Trường Đại học Nha Trang, số 4/2019.
2. Vu Trong Dai, Ngo Thi Thu Thao, Ngo Anh Tuan, 2019. Reproductive biological characteristics of short necked clam *Paphia undulata* (Born, 1778) in Khanh Hoa province, Vietnam. Book of abstract. The 9th International Fisheries Symposium, Kuala Lumpur, Malaysia.
3. Vũ Trọng Đại, Ngô Thị Thu Thảo, Ngô Anh Tuấn, 2019. Ảnh hưởng của thức ăn và mật độ lên sinh trưởng và tỷ lệ sống của ấu trùng nghêu lụa (*Paphia undulata*) giai đoạn trôi nổi tại Khánh Hòa. Báo cáo tóm tắt Hội nghị khoa học trẻ toàn quốc ngành thủy sản lần thứ 10, Trường Đại học Nha Trang, 2019.
4. Lisa Chen and Vu Trong Dai, 2020. Hatchery techniques for the seed production of the short-necked clam (*Paphia undulata*) in Nha Trang, Vietnam. Aquaculture Asia Magazine, Volume 24, No. 3, July-September, 2020.
5. Vũ Trọng Đại, Ngô Thị Thu Thảo, Ngô Anh Tuấn, 2021. Ảnh hưởng kết hợp giữa mật độ với chất đáy lên sinh trưởng và tỷ lệ sống của ấu trùng nghêu lụa (*Paphia undulata*) giai đoạn sống đáy tại Khánh Hòa. Tạp chí Khoa học và công nghệ thủy sản, Trường Đại học Nha Trang, số 2/2021.
6. Vũ Trọng Đại, Ngô Thị Thu Thảo, Ngô Anh Tuấn, 2021. Chu kỳ sinh sản của nghêu lụa (*Paphia undulata*) tại Khánh Hòa. Tạp chí Khoa học và công nghệ thủy sản, Trường Đại học Nha Trang, số 3/2021.
7. Vũ Trọng Đại, Ngô Thị Thu Thảo, Ngô Anh Tuấn, 2021. Ảnh hưởng của thức ăn lên tỷ lệ sống, khả năng thành thực sinh dục và thành phần sinh hóa của nghêu lụa (*Paphia undulata*). Tạp chí Khoa học và công nghệ thủy sản, Trường Đại học Nha Trang, số 4/2021: 17-24.