ISSN 1859-4581

Tạp chí

NÔNG NGHIỆP & PHÁT TRIỂN NÔNG THÔN

Science and Technology Journal of Agriculture & Rural Development

MINISTRY OF AGRICULTURE AND RURAL DEVELOPMENT, VIETNAM

KHOA HỌC, CÔNG NGHỆ VÀ ĐỔI MỚI SÁNG TẠO LĨNH VỰC THUỶ SẢN

BỘ NÔNG NGHIỆP VÀ PHÁT TRIỂN NÔNG THÔN

Tháng 10

2023

HỘI ĐỒNG BIÊN TẬP

Editorial Committee

1. CHỦ TỊCH HỘI ĐỒNG:

PHÙNG ĐỨC TIẾN

Bộ Nông nghiệp và PTNT

2. PHÓ CHỦ TỊCH KIÊM TỔNG THƯ KÝ HỘI ĐỒNG:

NGUYỄN THỊ THANH THỦY

Vụ Khoa học, Công nghệ và Môi trường - Tạp chí Nông nghiệp và PTNT

3. CÁC ỦY VIÊN:

NGUYỄN HỮU NINH
Vụ Khoa học, Công nghệ và Môi trường

TRẦN ĐÌNH LUÂN
Cục Thủy sản

VÕ ĐẠI HẢI
Viện Khoa học Lâm nghiệp Việt Nam

TRẦN ĐÌNH HÒA
Viện Khoa học Thủy lợi Việt Nam

PHẠM VĂN TOẢN
Viện Khoa học Nông nghiệp Việt Nam

PHẠM ANH TUẤN
Viện Cơ điện nông nghiệp và Công nghệ sau thu hoạch

TRẦN CÔNG THẮNG
Viện Chính sách và Chiến lược phát triển nông nghiệp nông thôn

PHẠM DOÃN LÂN
Viện Chăn nuôi

TRỊNH MINH THỤ
Trường Đại học Thủy lợi

PHẠM VĂN ĐIỂN
Trường Đại học Lâm nghiệp

PHẠM VĂN CƯỜNG
Học viện Nông nghiệp Việt Nam

LÊ ANH TUẤN
Đại học Bách Khoa Hà Nội

TRẦN ĐĂNG HÒA
Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Huế

NGUYỄN THANH PHƯƠNG
Trường Đại học Cần Thơ

BÙI HUY HIỀN
Hội Khoa học Đất Việt Nam

NGÔ XUÂN BÌNH
Ban Chủ nhiệm Chương trình công nghệ sinh học, Bộ Khoa học và Công nghệ

LÊ MẠNH HÙNG
Hội Khoa học và Kỹ thuật Thủy lợi thành phố Hồ Chí Minh

NGUYỄN VĂN CẢM
Hội Thú y Việt Nam

BÙI CHÍ BỬU
Viện Khoa học Kỹ thuật Nông nghiệp miền Nam, Viện Khoa học Nông nghiệp Việt Nam

TRẦN VĂN CHỨ
Trường Đại học Lâm nghiệp

PHẠM QUANG THU
Trung tâm Nghiên cứu Bảo vệ rừng, Viện Khoa học Lâm nghiệp Việt Nam

NGUYỄN DUY HOAN
Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Thái Nguyên

NGUYỄN VĂN THANH
Học viện Nông nghiệp Việt Nam

LÊ ĐỨC NGOAN
Hiệp hội thức ăn chăn nuôi Việt Nam

ĐỖ KIM CHUNG
Học viện Nông nghiệp Việt Nam

TẠP CHÍ

NÔNG NGHIỆP & PHÁT TRIỂN NÔNG THÔN

ISSN 1859 - 4581

NĂM THỨ HAI MƯƠI BA

SỐ ĐẶC BIỆT
KHOA HỌC, CÔNG NGHỆ VÀ ĐỔI MỚI SÁNG TẠO LĨNH VỰC THUỶ SẢN
Tháng 10/2023

TỔNG BIÊN TẬP
TS. NGUYỄN THỊ THANH THỦY
ĐT: 024.37711070

PHÓ TỔNG BIÊN TẬP
TS. DƯƠNG THANH HẢI
ĐT: 024.38345457

TOÀ SOẠN - TRỊ SỰ
Số 10 Nguyễn Công Hoan
Quận Ba Đình - Hà Nội
ĐT: 024.37711072
Fax: 024.37711073
E-mail: tapchinongnghiep@mard.gov.vn
Website:www.tapchinongnghiep.vn

Giấy phép số:
114/GP - BTTTT
Bộ Thông tin và Truyền thông
cấp ngày 6 tháng 4 năm 2023

Chế bản tại Tạp chí Nông nghiệp và PTNT. In tại Công ty CP Khoa học và Công nghệ Hoàng Quốc Việt

Phát hành qua mạng lưới Bưu điện Việt Nam; mã ấn phẩm C138; Hotline 1800.585855

MỤC LỤC

- TRẦN THỊ HUYỀN TRANG, KIM THỊ PHƯƠNG OANH. Phát triển chỉ thị phân tử liên quan đến tính trạng sinh trưởng dựa trên tổ hợp SNP từ các gen thuộc hệ thống Insulin-like Growth Factor (IGF) của cá tra nuôi (*Pangasianodon hypophthalmus*) — 5-15
- NGUYỄN HOÀNG THỤY VY, TRẦN HẠNH TRIẾT, TRẦN THỊ BÌNH YÊN, BÙI NGUYỄN CHÍ HIẾU, LÊ THỊ THU THẢO, VŨ THỊ THANH HƯƠNG, TRẦN THỊ THANH HƯƠNG, NGÔ HUỲNH PHƯƠNG THẢO. Chọn lọc Single-nucleotide polymorphism (SNP) tiềm năng liên quan đến tính kháng Tilapia lake virus (TiLV) ở cá rô phi đỏ (*Oreochromis* spp.) — 16-25
- KIM THỊ THOA, TRẦN THỊ MAI HƯƠNG, PHẠM HỒNG NHẬT, LÊ VĂN KHÔI, HOÀNG NHẬT SƠN. Nghiên cứu bảo quản tinh cá song vua (*Epinephelus lanceolatus* Bloch, 1790) — 26-32
- ĐẶNG THỊ LỤA, CAO VĂN HẠNH, ĐỖ XUÂN HẢI. Nghiên cứu xác định vị trí, kích cỡ cá chim vây vàng (*Trachinotus falcatus*) thích hợp cho bắn dấu PIT Tags — 33-41
- LÊ VĂN TRÚC, ĐINH KIM DIỆU, VÕ BÍCH XOÀN, NGÔ MINH LÝ, NGUYỄN MINH ĐƯƠNG. Ương ấu trùng tôm càng xanh toàn đực (*Macrobrachium rosenbergii*) bằng quy trình nước trong cải tiến — 42-51
- TRƯƠNG QUỐC THÁI, NGUYỄN VĂN MẠNH, NGUYỄN KHẮC ĐẠT. Nghiên cứu thiết kế hệ thống nuôi và xác định mật độ thích hợp trong nuôi thương phẩm tôm mũ ni trắng (*Thenus orientalis* Lund, 1793). — 52-61
- PHẠM ĐỨC PHƯƠNG, PHẠM QUỐC HÙNG. Ảnh hưởng của mật độ và số lần cho ăn lên hiệu quả nuôi cá chim vây vàng (*Trachinotus falcatus* Linnaeus, 1758) giai đoạn giống và thương phẩm — 62-71
- LÊ ĐỨC THUẦN, PHAN THỊ VÂN, CHU CHÍ THIẾT. Ảnh hưởng của mật độ, nền đáy đến sinh trưởng và tỷ lệ sống của ngao dầu (*Meretrix meretrix* Linnaeus, 1758) ương từ giai đoạn giống cấp 1 lên cấp 2 — 72-80
- MAI THÁI NGỌC, NGUYỄN ĐÌNH QUANG DUY, TẠ THỊ QUYÊN. Nghiên cứu mức độ che sáng và liều lượng bón phân thích hợp trồng rong nho (*Caulerpa lentillifera)* — 81-89
- VÕ VĂN NHA, VÕ THỊ NGỌC TRÂM, NGUYỄN THỊ CHI, HÀ THỊ THANH HUYỀN, NGUYỄN THỊ TÚ ANH. Ảnh hưởng của các yếu tố môi trường nước đến sự xuất hiện của tác nhân gây bệnh hoại tử gan tuỵ cấp ở tôm nuôi nước lợ — 90-96
- NGUYỄN THỊ HẠNH, ĐẶNG THỊ LỤA, NGUYỄN HỮU NGHĨA, PHẠM THỊ YẾN, TRƯƠNG THỊ MỸ HẠNH. Nghiên cứu hiệu quả diệt khuẩn *Aeromonas hydrophila* gây bệnh ở cá rô phi (*Oreochromis* sp.) của dịch tỏi lên men — 97-104
- KIM VĂN VẠN, KIM MINH ANH, VŨ ĐỨC MẠNH, ĐẶNG THỊ HÓA, TRẦN THỊ TRINH, ĐOÀN THỊ NHINH, TRƯƠNG ĐÌNH HOÀI. Vi khuẩn bội nhiễm trong bệnh đốm trắng nội tạng cá Nheo mỹ (*Ictalurus punctatus*) và thử nghiệm điều trị — 105-112
- VÕ THỊ NGỌC TRÂM, VÕ VĂN NHA, NGUYỄN THỊ CHI, HÀ THỊ THANH HUYỀN, NGUYỄN THỊ TÚ ANH. Xác định ngưỡng gây bệnh sữa tôm hùm xanh (*Panulirus homarus*) nuôi lồng ở các tỉnh Nam Trung bộ và đề xuất giải pháp phòng ngừa — 113-123

VIETNAM JOURNAL OF AGRICULTURE AND RURAL DEVELOPMENT
ISSN 1859 - 4581

THE TWENTY THIRD YEAR

Editor-in-Chief
Dr. NGUYEN THI THANH THUY
Tel: 024.37711070

Deputy Editor-in-Chief
Dr. DUONG THANH HAI
Tel: 024.38345457

Head-office
No 10 Nguyenconghoan
Badinh - Hanoi - Vietnam
Tel: 024.37711072
Fax: 024.37711073
E-mail: tapchinongnghiep@mard.gov.vn
Website:www.tapchinongnghiep.vn

Printing in Hoang Quoc Viet
technology and science
joint stock company

CONTENTS

- TRAN THI HUYEN TRANG, KIM THI PHUONG OANH. Development of molecular marker for the growth traits of striped catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*) based on the combination of SNP markers identified from genes of Insulin-like Growth Factor system 5-15
- NGUYEN HOANG THUY VY, TRAN HANH TRIET, TRAN THI BINH YEN, BUI NGUYEN CHI HIEU, LE THI THU THAO, VU THI THANH HUONG, TRAN THI THANH HUONG, NGO HUYNH PHUONG THAO. Selection of Single-nucleotide polymorphism (SNP) potentially associated with Tilapia lake virus resistance in red tilapia (*Oreochromis* spp.) 16-25
- KIM THI THOA, TRAN THI MAI HUONG, PHAM HONG NHAT, LE VAN KHOI, HOANG NHAT SON. Research on preservation of giant grouper *Epinephelus lanceolatus* (Bloch, 1790) sperm 26-32
- DANG THI LUA, CAO VAN HANH, DO XUAN HAI. Study on determination of suitable fish size and insertion site in pompano (*Trachinotus falcatus*) for PIT Tagging 33-41
- LE VAN TRUC, DINH KIM DIEU, VO BICH XOAN, NGO MINH LY, NGUYEN MINH DUONG. Rearing all-male giant freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii)* larvae in the improved open clearwater system 42-51
- TRUONG QUOC THAI, NGUYEN VAN MANH, NGUYEN KHAC DAT. Study on culture system design and optimal stocking density in commercial culture of slipper lobster (*Thenus orientalis* Lund, 1793) 52-61
- PHAM DUC PHUONG, PHAM QUOC HUNG. Effect of stocking density and feeding frequency on perfomances of pompano (*Trachinotus falcatus* Linnaeus, 1758) during nursing and grow-out stages 62-71
- LE DUC THUAN, PHAN THI VAN, CHU CHI THIET. Effects of stocking density and substrata structure on growth rate and survival rate of clam (*Meretrix meretrix* Linnaeus, 1758) spat reared from stage 1 to stage 2 72-80
- MAI THAI NGOC, NGUYEN DINH QUANG DUY, TA THI QUYEN. Research on light shading rate and appropriate fertilizer dosage for farming grape seaweed (*Caulerpa lentillifera*) 81-89
- VO VAN NHA, VO THI NGOC TRAM, NGUYEN THI CHI, HA THI THANH HUYEN, NGUYEN THI TU ANH. The effect of water environmental parameters on presence of *Vibrio parahaemolyticus* caused acute hepatopancreatic necrosis disease of brackish water shrimp 90-96
- NGUYEN THI HANH, DANG THI LUA, NGUYEN HUU NGHIA, PHAM THI YEN, TRUONG THI MY HANH. Efficacy anti-bacteria *Aeromonas hydrophila* of the fermented garlic in tilapia (*Oreochromis* sp.) 97-104
- KIM VAN VAN, KIM MINH ANH, VU DUC MANH, DOAN THI NHINH, TRUONG DINH HOAI. Determination of secondary bacterial pathogen in internal organs white spot disease of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) and treatment 105-112
- VO THI NGOC TRAM, VO VAN NHA, NGUYEN THI CHI, HA THI THANH HUYEN, NGUYEN THI TU ANH. Determination of the causes of milky haemolymph disease in spiny lobster *(Panulirus homarus)* in cage-culture in the south central provinces and prevention solution proposal 113-123

VIETNAM JOURNAL OF AGRICULTURE AND RURAL DEVELOPMENT
ISSN 1859 - 4581

THE TWENTY THIRD YEAR

Editor-in-Chief
Dr. NGUYEN THI THANH THUY
Tel: 024.37711070

Deputy Editor-in-Chief
Dr. DUONG THANH HAI
Tel: 024.38345457

Head-office
No 10 Nguyenconghoan
Badinh - Hanoi - Vietnam
Tel: 024.37711072
Fax: 024.37711073
E-mail: tapchinongnghiep@mard.gov.vn
Website:www.tapchinongnghiep.vn

Printing in Hoang Quoc Viet
technology and science
joint stock company

CONTENTS

- TRAN THI HUYEN TRANG, KIM THI PHUONG OANH. Development of molecular marker for the growth traits of striped catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*) based on the combination of SNP markers identified from genes of Insulin-like Growth Factor system 5-15
- NGUYEN HOANG THUY VY, TRAN HANH TRIET, TRAN THI BINH YEN, BUI NGUYEN CHI HIEU, LE THI THU THAO, VU THI THANH HUONG, TRAN THI THANH HUONG, NGO HUYNH PHUONG THAO. Selection of Single-nucleotide polymorphism (SNP) potentially associated with Tilapia lake virus resistance in red tilapia (*Oreochromis* spp.) 16-25
- KIM THI THOA, TRAN THI MAI HUONG, PHAM HONG NHAT, LE VAN KHOI, HOANG NHAT SON. Research on preservation of giant grouper *Epinephelus lanceolatus* (Bloch, 1790) sperm 26-32
- DANG THI LUA, CAO VAN HANH, DO XUAN HAI. Study on determination of suitable fish size and insertion site in pompano (*Trachinotus falcatus*) for PIT Tagging 33-41
- LE VAN TRUC, DINH KIM DIEU, VO BICH XOAN, NGO MINH LY, NGUYEN MINH DUONG. Rearing all-male giant freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii)* larvae in the improved open clearwater system 42-51
- TRUONG QUOC THAI, NGUYEN VAN MANH, NGUYEN KHAC DAT. Study on culture system design and optimal stocking density in commercial culture of slipper lobster (*Thenus orientalis* Lund, 1793) 52-61
- PHAM DUC PHUONG, PHAM QUOC HUNG. Effect of stocking density and feeding frequency on perfomances of pompano (*Trachinotus falcatus* Linnaeus, 1758) during nursing and grow-out stages 62-71
- LE DUC THUAN, PHAN THI VAN, CHU CHI THIET. Effects of stocking density and substrata structure on growth rate and survival rate of clam (*Meretrix meretrix* Linnaeus, 1758) spat reared from stage 1 to stage 2 72-80
- MAI THAI NGOC, NGUYEN DINH QUANG DUY, TA THI QUYEN. Research on light shading rate and appropriate fertilizer dosage for farming grape seaweed (*Caulerpa lentillifera*) 81-89
- VO VAN NHA, VO THI NGOC TRAM, NGUYEN THI CHI, HA THI THANH HUYEN, NGUYEN THI TU ANH. The effect of water environmental parametrs on presence of *Vibrio parahaemolyticus* caused acute hepatopancreatic necrosis disease of brackish water shrimp 90-96
- NGUYEN THI HANH, DANG THI LUA, NGUYEN HUU NGHIA, PHAM THI YEN, TRUONG THI MY HANH. Efficacy anti-bacteria *Aeromonas hydrophila* of the fermented garlic in tilapia (*Oreochromis* sp.) 97-104
- KIM VAN VAN, KIM MINH ANH, VU DUC MANH, DOAN THI NHINH, TRUONG DINH HOAI. Determination of secondary bacterial pathogen in internal organs white spot disease of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) and treatment 105-112
- VO THI NGOC TRAM, VO VAN NHA, NGUYEN THI CHI, HA THI THANH HUYEN, NGUYEN THI TU ANH. Determination of the causes of milky haemolymph disease in spiny lobster *(Panulirus homarus)* in cage-culture in the south central provinces and prevention solution proposal 113-123

VIETNAM JOURNAL OF AGRICULTURE AND RURAL DEVELOPMENT
ISSN 1859 - 4581

THE TWENTY THIRD YEAR

Editor-in-Chief
Dr. NGUYEN THI THANH THUY
Tel: 024.37711070

Deputy Editor-in-Chief
Dr. DUONG THANH HAI
Tel: 024.38345457

Head-office
No 10 Nguyenconghoan
Badinh - Hanoi - Vietnam
Tel: 024.37711072
Fax: 024.37711073
E-mail: tapchinongnghiep@mard.gov.vn
Website:www.tapchinongnghiep.vn

Printing in Hoang Quoc Viet
technology and science
joint stock company

- DINH THI TUYET VAN, LE KIEU TRINH, NGUYEN THAI DUONG, NGUYEN THI MEN, TRAN VAN KHANH. Isolation and selection of reducing - nitrite bacteria from white shrimp (*Penaeus vannamei*) ponds in Nghia Hung district, Nam Dinh province 124-130
- TRUONG THI HOA, TRAN NAM HA, HO THI TUNG. Investigating factors associated with white feces disease (WFD) in whiteleg shrimp (*Penaeus vannamei*) cultivated in Thua Thien Hue province 131-137
- NGUYEN THI TRUC LINH, LUU THI THUY HAI. Effect of the supplementing *Mimosa pigra* extract on the hematological parameters and the resistance to acute hepatopancreatic necrosis disease on whiteleg shrimp (*Penaeus vannamei*) 138-146
- TRAN NGUYEN NGOC, NGUYEN THI HUE LINH, NGUYEN QUANG LINH, NGUYEN NGOC PHUOC. Evaluation of the effectiveness of *Wedelia chinensis* extract on the prevention of acute epatopancreatic necrosis disease in white leg shrimp (*Penaeus vannamei*) 147-154
- TRAN THE MUU, NGUYEN TRUNG THANH, PHAN MINH QUY. Effects of maturation diets on fecundity of mitten crab (*Eriocheir sinensis* H. Milne Edwards, 1853) female broodstock and larval quality 155-163
- NGUYEN THI MAI, NGUYEN HAI VAN. Influence of ratio supplementation of dietary sesame oil on growth, hematological indices, and flesh physiochemical quality in nile tilapia *Oreochromis niloticus* 164-175
- NGUYEN HUU NGHIA, DO DINH MINH, PHAM THAI GIANG, PHAN TRONG BINH, TONG TRAN HUY. Study the changes of water quality in mollusk farming area in Quang Ninh province period 2018 - 2022 176-186
- BUI DAC THUYET. Risk screening of the potential invasiveness of the red swamp crayfish (*Procambarus clarkii*) in Vietnam by using invasive screening toolkits 187-194
- TRAN VAN HUONG, NGUYEN VAN HIEU, VU QUYET THANH, HOANG THI THUY DUONG, TRAN VAN DAT, NGUYEN KHAC BAT. Assessment of fluctuation coral reef fish at the coral recovery position in the Toc Tan reef, Truong Sa archipelago, Vietnam 195-205
- NGUYEN DINH TAO, LE HUNG ANH, DO VAN TU. Diversity of ichthyofauna in Van Long lagoon, Ninh Binh province 206-211
- PHAM VAN LONG, TRAN XUAN LAM. Research on complete oceanic tuna preservation process by nano UFB technology on handliner 212-219
- NGUYEN XUAN THI, TRUONG QUOC CUONG. Quality change of mackerel preserved by slurry ice technology combined with nano-nitrogen gas on gillnet vessels 220-229
- DANG THI HAI YEN, NGUYEN PHI UY VU. The role of intermediary traders in the value chain of white clam (*Meretrix lyrata*) in Mekong Delta 230-238

PHÁT TRIỂN CHỈ THỊ PHÂN TỬ LIÊN QUAN ĐẾN TÍNH TRẠNG SINH TRƯỞNG DỰA TRÊN TỔ HỢP SNP TỪ CÁC GEN THUỘC HỆ THỐNG INSULIN-LIKE GROWTH FACTOR (IGF) CỦA CÁ TRA NUÔI (*Pangasianodon hypophthalmus*)

Trần Thị Huyền Trang[1, 2], Kim Thị Phương Oanh [1, 2, *]

TÓM TẮT

Việc phát triển các chương trình chọn giống cá tra nuôi (*Pangasianodon hypophthalmus*) theo hướng sinh trưởng nhanh đã và đang là một trong những nhiệm vụ quan trọng nhằm tăng năng suất và chất lượng con giống của loài cá này. Trên cơ sở phát triển chỉ thị phân tử dựa trên đa dạng di truyền của các gen liên quan đến tính trạng tăng trưởng, 6 chỉ thị đa hình nucleotit đơn (SNP) liên quan đến tính trạng tăng trưởng đã được tìm thấy trên các gen thuộc hệ thống Insulin-like Growth Factor (IGF), bao gồm *IGF1*.13680A>T, *IGF1R*.13357T>C, *IGFBP3*.704C>G, *IGFBP5*.525T>A, *IGFBP7*.2060A>G và *IGFBP7*.4559A>C. Với mục đích phát triển chỉ thị phân tử liên quan đến tính trạng sinh trưởng dựa trên tổ hợp các chỉ thị SNP tiềm năng, nghiên cứu này đã đánh giá sự liên quan của tổ hợp 6 chỉ thị SNP trên với tính trạng sinh trưởng của cá tra nuôi, thông qua sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa hai nhóm cá sinh trưởng nhanh và sinh trưởng chậm về tần số kiểu gen đơn bội (haplotype) cũng như tần số tổ hợp kiểu gen (diplotype). Từ bộ dữ liệu SNP trên tổng số 80 cá thể sinh trưởng nhanh và 80 cá thể sinh trưởng chậm thu được từ những công bố trước đây, nghiên cứu này đã chỉ ra các kiểu gen đơn bội (haplotype) và tổ hợp kiểu gen (diplotype) chiếm tỉ lệ cao hơn, hoặc chỉ xuất hiện ở nhóm sinh trưởng nhanh tạo ra từ tổ hợp các chỉ thị SNP trên các cặp gen có liên quan về chức năng (gen *IGF1* với các gen *IGFBP*) và của cả 6 chỉ thị SNP. Các kiểu gen đơn bội (haplotype) và tổ hợp kiểu gen (diplotype) này là cơ sở để phát triển chỉ thị phân tử dạng tổ hợp các SNP (SNP panel) hỗ trợ chọn giống cá tra nuôi theo hướng tăng trưởng.

Từ khóa: *Cá tra nuôi, chỉ thị phân tử, hệ thống IGF, tăng trưởng, tổ hợp SNP.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Loài cá tra nuôi (*Pangasianodon hypophthalmus*) thuộc họ cá tra (*Pangasiidae*) [1], là một trong những loài cá được nuôi phổ biến ở vùng lưu vực sông Mê kông (Việt Nam, Thái Lan, Lào, Campuchia) và lưu vực sông Chao Phraya (Thái Lan). Thị phần xuất khẩu cá tra nuôi của Việt Nam dẫn đầu trên thế giới và tổng sản lượng cá tra nuôi năm 2022 đạt mức cao với 1,6 triệu tấn [2]. Tuy nhiên, hiện nay thị phần xuất khẩu cá tra nuôi của Việt Nam có xu hướng giảm, đặc biệt kim ngạch xuất khẩu cá tra 5 tháng đầu năm 2023 giảm so với cùng kỳ [3]. Một trong những nguyên nhân là do sự suy giảm của chất lượng nguồn giống và tình hình dịch bệnh gia tăng đã ảnh hưởng trực tiếp đến nguồn cung ứng cá tra.

Để cải thiện tình hình này, nhiệm vụ đặt ra là chủ động nâng cao chất lượng nguồn giống cá tra về khả năng sinh trưởng, tăng năng suất, chất lượng cũng như khả năng phòng bệnh, thông qua các chương trình chọn giống. Các chương trình chọn giống nâng cao khả năng sinh trưởng ở cá tra nuôi đã được tiến hành trong một thời gian dài ở Việt Nam, ứng dụng lý thuyết di truyền số lượng [4, 5] và ở Indonesia [6]. Tuy nhiên, các chương trình chọn giống dựa trên kiểu gen, đặc biệt là các chỉ thị phân tử hiện mới chỉ được quan tâm gần đây, thông qua việc tìm kiếm các đa hình trên hệ gen cũng như trên các gen đích có liên quan đến tính trạng sinh trưởng của cá tra nuôi [7-12].

Hệ gen tham chiếu của cá tra nuôi được công bố bởi Kim và cs (2018) [13], kết quả nghiên cứu đã cung cấp dữ liệu đầy đủ về trình tự và chú giải

[1] Viện Nghiên cứu hệ gen, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam
[2] Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam
[*] Email: ktpoanh@igr.ac.vn

chức năng của các gen thuộc hệ gen của cá tra nuôi. Trong đó, hệ thống các yếu tố tăng trưởng tương tự insulin (Insulin-like Growth Factor (IGF)) được nhấn mạnh, bao gồm các gen quy định phối tử IGF1, IGF2, các thụ thể tương ứng của IGF (IGF Receptor (IGF1R và IGF2R)) và các protein bám vào các IGF (IGF binding proteins (IGFBP-1,-2, -3, -5, -6, -7)). Sự tương tác giữa IGF, IGFR và IGFBP cùng các protein khác trong chuỗi dẫn truyền tín hiệu dẫn tới quá trình tăng trưởng, biệt hóa và tăng sinh tế bào. Do sự đa hình trên các gen thuộc hệ thống IGF đã được chứng minh có liên quan đến quá trình sinh trưởng của động vật có xương sống nói chung và các loài cá xương nói riêng [14], nên tác giả đã lựa chọn các gen này để tìm kiếm các chỉ thị đa hình nucleotit đơn (SNP) liên quan đến tính trạng sinh trưởng của cá tra nuôi. Cụ thể, sáu chỉ thị SNP tiềm năng liên quan đến tính trạng sinh trưởng của cá tra nuôi đã được xác định, bao gồm g.13680A>T thuộc gen *IGF1*, *g.*13357T>C thuộc gen *IGF1R* [8], *g.*704C>G thuộc gen *IGFBP3* [11], g.525T>A thuộc gen *IGFBP5* [12], g.2060A>G và g.4559A>C thuộc gen *IGFBP7* [10]. Thành phần kiểu gen và/hoặc thành phần alen từ các SNP này thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) giữa nhóm cá sinh trưởng nhanh và nhóm cá sinh trưởng chậm. Các chỉ thị SNP này có tiềm năng ứng dụng trong các chương trình sử dụng các chỉ thị phân tử hỗ trợ chọn giống (Marker-assisted selection (MAS)), phục vụ chọn giống cá tra theo hướng sinh trưởng nhanh.

Đối với các tính trạng do nhiều gen quyết định như tính trạng sinh trưởng [15], việc phân tích sự liên quan của tổ hợp các kiểu gen đơn bội (haplotype), tổ hợp kiểu gen (diplotype) tạo nên từ các chỉ thị phân tử riêng lẻ với tính trạng đó là rất cần thiết để tăng cường hiệu quả chọn lọc [16]. Các nghiên cứu trên các loài cá xương đã chỉ ra vai trò của các kiểu gen đơn bội (haplotype) tạo thành từ các SNP trong việc chọn lọc tính trạng sinh trưởng [17, 18]. Bên cạnh đó, các tổ hợp kiểu gen (diplotype) đã cung cấp thông tin rất ý nghĩa để tìm mối tương quan giữa các SNP trên các gen đích và tính trạng sinh trưởng của cá [19, 20]. Do đó, mục tiêu của nghiên cứu này là phân tích sự liên quan của tổ hợp các chỉ thị SNP được tìm thấy trên các gen thuộc hệ thống IGF của cá tra nuôi nêu trên với tính trạng sinh trưởng, góp phần phát triển chỉ thị phân tử dạng panel [21, 22] phục vụ chọn giống cá tra theo hướng tăng trưởng.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Sử dụng bộ dữ liệu của từng chỉ thị SNP tiềm năng liên quan đến tính trạng sinh trưởng của cá tra nuôi

Để phân tích sự liên quan giữa tổ hợp sáu chỉ thị SNP tiềm năng trên các gen thuộc hệ thống IGF với tính trạng sinh trưởng của cá tra nuôi, nghiên cứu đã sử dụng dữ liệu của từng SNP trên bộ mẫu gồm 160 cá thể (trong đó bao gồm 80 cá thể sinh trưởng nhanh và 80 cá thể sinh trưởng chậm) đã được công bố trong các nghiên cứu của Tran và cs (2021) [8], Tran và cs (2023 b, 2023 c, 2023 a) [10-12].

Về nguồn gốc mẫu, các cá thể cá tra nuôi được thu thập từ quần đàn chọn lọc theo hướng sinh trưởng dựa trên di truyền số lượng, thuộc chương trình chọn giống tiến hành tại Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản II [4]. Chương trình chọn giống này bắt đầu từ năm 2001, tính đến thời điểm thu thập mẫu, 3 thế hệ quần đàn đã được chọn lọc theo hướng sinh trưởng nhanh là G1, G2 và G3. Các cá thể cá tra phục vụ nghiên cứu này thuộc quần đàn G3-cộng gộp (2014) được phối từ cá bố, mẹ thuộc các quần đàn G3-2001, G2-2002 và G2-2003 theo phương pháp ghép phối tổ hợp thứ bậc (nested design). Quy trình phối giống, ương nuôi, gắn dấu từ nhận diện PIT đã được mô tả trong các nghiên cứu trước đây [4, 8]. Theo đó, khối lượng cơ thể trung bình, tỉ lệ sống sót và tỉ lệ chuyển hóa thức ăn được sử dụng để tính toán khả năng di truyền và giá trị chọn giống ước đoán (Estimated breeding values (EBV)) dựa trên mô hình tuyến tính hỗn hợp cá thể (animal linear mixed model) [4] và phần mềm ASReml 2.0 (VSN International Ltd).

Dữ liệu các SNP tiềm năng được thu thập từ quy trình phát hiện, sàng lọc SNP trên các gen quan tâm và kiểm nghiệm sự liên quan của các SNP được sàng lọc với tính trạng sinh trưởng. Để phát hiện và sàng lọc SNP trên các gen quan tâm,

bộ mẫu khởi tạo được thu thập gồm 10 cá thể cá tra sinh trưởng nhanh (là 10 cá thể có giá trị EBV cá thể cao nhất thuộc 9 gia đình có giá trị EBV gia đình cao nhất), 10 cá thể cá tra sinh trưởng chậm (là 10 cá thể có giá trị EBV cá thể thấp nhất thuộc 9 gia đình có giá trị EBV gia đình thấp nhất). Để kiểm nghiệm sự liên quan của các SNP được sàng lọc với tính trạng sinh trưởng của cá tra nuôi, bộ mẫu kiểm nghiệm có cỡ mẫu lớn hơn được thu thập, gồm 70 cá thể cá tra sinh trưởng nhanh (là 70 cá thể có giá trị EBV cá thể cao nhất thuộc 24 gia đình có giá trị EBV gia đình cao nhất) và 70 cá thể cá tra sinh trưởng chậm (là 70 cá thể có giá trị EBV cá thể thấp nhất thuộc 31 gia đình có giá trị EBV gia đình thấp nhất) [8]. Dữ liệu SNP thu được từ quy trình phát hiện/sàng lọc và kiểm nghiệm trên tổng cộng 80 cá thể sinh trưởng nhanh và 80 cá thể sinh trưởng chậm được sử dụng để xác định các chỉ thị SNP liên quan đến tính trạng sinh trưởng của cá tra nuôi. Các bước tiến hành thí nghiệm, phân tích thống kê để phát hiện, sàng lọc SNP, cũng như kiểm nghiệm các SNP đã được mô tả cụ thể trong các nghiên cứu của Tran và cs (2021) [8], Tran và cs (2023 b, 2023 c, 2023 a) [10-12].

2.2. Phân tích sự liên quan của tổ hợp các chỉ thị SNP với tính trạng sinh trưởng của cá tra nuôi

Phân tích sự liên quan của tổ hợp các chỉ thị SNP với tính trạng sinh trưởng được quan tâm khi các chỉ thị SNP có khả năng di truyền cùng nhau. Khả năng này được đánh giá thông qua sự mất cân bằng liên kết (linkage disequilibrium - LD) - là sự kết hợp không ngẫu nhiên giữa các alen thuộc các locus khác nhau, dựa trên các giá trị D'dao động từ 0 - 1 [23]. Giá trị D' càng gần đến 1 chứng tỏ các SNP có khả năng cao được di truyền cùng nhau [23], được tính toán từ dữ liệu SNP trên 160 cá thể thông qua bằng phần mềm SHEsis [24]. Cụ thể, giá trị D' lớn hơn 0 và nhỏ hơn 0,33 thể hiện khả năng di truyền không ngẫu nhiên cùng nhau ở mức trung bình - yếu, giá trị D' lớn hơn hoặc bằng 0,33 và nhỏ hơn 0,8 thể hiện khả năng di truyền không ngẫu nhiên cùng nhau ở mức trung bình và giá trị D' lớn hơn 0,8 - 1 thể hiện khả năng di truyền không ngẫu nhiên cùng nhau ở mức cao - rất cao.

Khi các SNP có khả năng di truyền cùng nhau, sự liên quan của tổ hợp các SNP với tính trạng sinh trưởng của cá tra nuôi được đánh giá thông qua sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa hai nhóm sinh trưởng nhanh/chậm về tần số các kiểu gen đơn bội (haplotype) cũng như tần số các tổ hợp kiểu gen (diplotype). Từ dữ liệu SNP ở 80 cá thể sinh trưởng nhanh và 80 cá thể sinh trưởng chậm, tần số kiểu gen đơn bội (haplotype) ở mỗi nhóm được liệt kê bằng phần mềm SHEsis [24]. Các kiểu gen đơn bội có tần số xuất hiện ở cả hai nhóm đều nhỏ hơn 0,03 không được đánh giá sự khác biệt, theo tiêu chí mặc định của phần mềm SHEsis. Tần số tổ hợp kiểu gen (diplotype) ở mỗi nhóm sinh trưởng nhanh/chậm được thống kê bằng phần mềm NCSS2021. Các tổ hợp kiểu gen có tần số xuất hiện ở cả hai nhóm đều nhỏ hơn 0,03 không được đánh giá sự khác biệt. Sự khác biệt có ý nghĩa về tần số kiểu gen đơn bội cũng như tần số tổ hợp kiểu gen giữa hai nhóm sinh trưởng nhanh/chậm được kiểm định bằng phép kiểm nghiệm Fisher Exact Test với giá trị p nhỏ hơn 0,05 thông qua phần mềm SHEsis [24] và NCSS2021 (Mỹ), tương ứng.

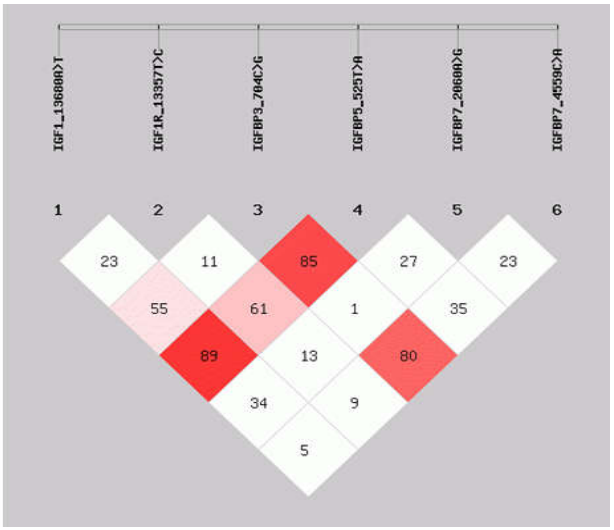
3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Sự di truyền cùng nhau của các chỉ thị SNP tiềm năng

Sự di truyền cùng nhau của các chỉ thị SNP tiềm năng được đánh giá bởi sự mất cân bằng liên kết thông qua giá trị D' (Hình 1).

Với SNP *IGF1*.13680 A>T, khả năng di truyền không ngẫu nhiên cùng SNP *IGFBP5*.525 T>A ở mức rất cao (D'= 0,89), cùng *IGFBP3*. 704 C>G, *IGFBP7*. 2060 A>G ở mức trung bình (D'= 0,55 và D'= 0,34, tương ứng và cùng *IGF1R*.13357 T>C, *IGFBP7*. 4559 C>A ở mức yếu (D'= 0,23 và D'= 0,05, tương ứng). Với SNP *IGF1R*.13357 T>C, khả năng di truyền không ngẫu nhiên cùng SNP *IGFBP5*.525 T>A ở mức trung bình (D'= 0,61), cùng với *IGFBP3*. 704 C>G, *IGFBP7*. 2060 A>G và *IGFBP7*. 4559 C>A ở mức yếu (các giá trị D'< 0,33). Với SNP *IGFBP3*. 704 C>G, khả năng di truyền không ngẫu nhiên cùng SNP *IGFBP5*.525 T>A và *IGFBP7*. 4559 C>A ở mức cao (D'= 0,85 và D'= 0,80), nhưng cùng với *IGFBP7*. 2060 A>G lại ở mức rất yếu (D'= 0,01). Trên gen *IGFBP7*, hai SNP

2060 A>G và 4559 C>A di truyền không ngẫu nhiên cùng nhau ở mức độ trung bình (D'= 0,35) (Hình 1). Trong hệ thống IGF, IGF1 có liên quan chặt chẽ về chức năng với IGF1R, IGFBP3, IGFBP5 [14], cũng như có thể được vận chuyển bởi IGFBP7 [25]. Sự di truyền của tổ hợp chỉ thị SNP trên gen *IGF1* và trên các gen liên quan chức năng khác có khả năng xảy ra đồng thời, dẫn đến tác động tổng thể đến tính trạng sinh trưởng. Nghiên cứu của Tran và cs (2021) [8] cũng đã chỉ ra tổ hợp kiểu gen tạo nên từ SNP g.13680 A>T trên gen *IGF1* và SNP g.13357 T>C trên gen *IGF1R* có liên quan chặt chẽ đến tính trạng sinh trưởng của cá tra nuôi. Do đó, nghiên cứu này tiếp tục phân tích sự liên quan của tổ hợp SNP tạo nên từ chỉ thị g.13680 A>T trên gen *IGF1* và các chỉ thị SNP trên các gen *IGFBP3, -5, -7*.



Hình 1. Đánh giá sự di truyền cùng nhau của các chỉ thị SNP bởi sự mất cân bằng liên kết thông qua giá trị D'

Ghi chú: Giá trị D' trong mỗi ô được biểu diễn bằng đơn vị %. Ô màu trắng thể hiện giá trị D' thấp, tương đương với sự di truyền không ngẫu nhiên của cặp SNP ở mức trung bình yếu. Ô màu hồng thể hiện giá trị D' trung bình, tương đương với sự di truyền không ngẫu nhiên của cặp SNP ở mức trung bình. Ô màu đỏ - đỏ đậm thể hiện giá trị D' cao - rất cao, tương đương với sự di truyền không ngẫu nhiên ở cặp SNP ở mức cao - rất cao.

Mặc dù, cặp SNP *IGF1*.13680 A>T và *IGFBP7*. 4559 C>A có khả năng di truyền trực tiếp cùng nhau thấp, nhưng hai SNP này đều có khả năng cao di truyền trực tiếp cùng *IGFBP5*.525 T>A, hoặc trung bình với *IGFBP7*. 2060 A>G (Hình 1). Như vậy, các SNP *IGF1*.13680 A>T, *IGFBP5*.525 T>A, *IGFBP7*. 4559 C>A có thể di truyền cùng nhau. Tương tự, cặp SNP *IGFBP3*. 704 C>G và *IGFBP7*. 2060 A>G gần như không có khả năng di truyền cùng nhau, nhưng hai SNP này đều có khả năng di truyền ở mức trung bình với *IGF1*.13680 A>T, hoặc trung bình/cao với *IGFBP5*.525 T>A (Hình 1). Như vậy, 6 chỉ thị SNP này có thể được di truyền cùng nhau thông qua mối liên kết trung gian. Đó là cơ sở để phân tích sự liên quan của các tổ hợp tạo nên từ cả 6 chỉ thị SNP trên với tính trạng sinh trưởng của cá tra nuôi.

3.2. Sự liên quan của các kiểu gen đơn bội (haplotype), tổ hợp kiểu gen (diplotype) tạo nên từ các chỉ thị SNP trên gen IGF1 và IGFBP3 với tính trạng sinh trưởng của cá tra nuôi

Trong hệ thống IGF, IGF1 và IGFBP3 có tác động chặt chẽ với nhau. IGFBP3 bảo vệ IGF1 khỏi sự phân hủy của các protease và kéo dài thời gian luân chuyển của IGF1 ở trong máu. Ngoài ra, IGFBP3 còn liên kết với p53 dẫn tới con đường kích thích tự tiết/cận tiết của tế bào, kéo theo các quá trình được điều khiển hoặc phụ thuộc vào các IGF như tăng trưởng, biến nạp và sống sót của tế bào [14]. Khả năng di truyền không ngẫu nhiên cùng nhau của SNP 13680 A>T trên gen *IGF1* và SNP 704 C>G trên gen *IGFBP3* cũng được đánh giá ở mức độ trung bình. Do đó, sự liên quan giữa tổ hợp tạo nên từ hai chỉ thị SNP này với tính trạng sinh trưởng của cá tra nuôi tiếp tục được đánh giá thông qua sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa hai nhóm sinh trưởng nhanh/chậm về tần số kiểu gen đơn bội và tần số tổ hợp kiểu gen (Bảng 1).

Cụ thể, kiểu gen đơn bội H1a (AC) chỉ xuất hiện ở nhóm sinh trưởng nhanh ($p<0,001$), trong khi kiểu gen đơn bội H4a (TG) chiếm tỉ lệ cao hơn ở nhóm sinh trưởng chậm ($p<0,01$) (Bảng 1, haplotype). Tổ hợp kiểu gen AA và CG (diplotype H1a/H2a) chỉ xuất hiện ở nhóm sinh trưởng nhanh ($p< 0,01$), trong khi tổ hợp kiểu gen AT và GG (diplotype H2a/H4a) chiếm tỉ lệ cao hơn ở nhóm sinh trưởng chậm ($p<0,05$) (Bảng 1, tổ hợp kiểu gen). Kết quả này phù hợp với sự khác biệt giữa hai nhóm về thành phần kiểu gen của từng SNP riêng rẽ. Với SNP *IGF1*.13680 A>T, tỉ lệ kiểu

gen AA ở nhóm sinh trưởng nhanh cao hơn [8]. Với SNP *IGFBP3*. 704C>G, tỉ lệ kiểu gen CG cao hơn ở nhóm sinh trưởng nhanh, trong khi tỉ lệ kiểu gen GG cao hơn ở nhóm sinh trưởng chậm [11]. Bên cạnh đó, sự khác biệt về tần số tổ hợp kiểu gen (diplotype) giữa hai nhóm sinh trưởng nhanh/chậm cũng tương thích với sự khác biệt về tần số kiểu gen đơn bội tương ứng giữa hai nhóm. Cụ thể, tổ hợp kiểu gen AA & CG (diplotype H1a/H2a) chứa kiểu gen đơn bội H1a chỉ xuất hiện ở nhóm sinh trưởng nhanh, trong khi tổ hợp kiểu gen AT & GG (diplotype H2a/H4a) chứa kiểu gen đơn bội H4a chiếm tỉ lệ cao hơn ở nhóm sinh trưởng chậm (Bảng 1).

Bảng 1. Thành phần kiểu gen đơn bội (haplotype), tổ hợp kiểu gen (diplotype) tạo nên từ SNP 13680 A>T trên gen *IGF1* và 704C>G trên gen *IGFBP3*

Haplotype tạo thành từ 2 SNP		Ký hiệu haplotype	STN ([a])	STC ([a])	p
IGF1.13680 A>T	*IGFBP3*.704 C>G				
A	C	H1a	12,54 (0,078)	0,01 (0,000)	0,0006***
A	G	H2a	84,46 (0,528)	76,99 (0,500)	0,620
T	C	H3a	32,46 (0,203)	24,99 (0,162)	0,352
T	G	H4a	30,54 (0,191)	52,01 (0,338)	0,003**
Tổ hợp kiểu gen tạo thành từ 2 SNP		Diplotype tương ứng	STN ([b])	STC ([b])	p
AA & CG		H1a/H2a	8 (0,100)	0 (0,000)	0,004**
AA & GG		Không xác định	10 (0,125)	7 (0,875)	0,466
AT & CG		Không xác định	37 (0,462)	23 (0,287)	0,07
AT & GG		H2a/H4a	24 (0,300)	40 (0,500)	0,045*
TT & GG		Không xác định	1 (0,012)	5 (0,062)	0,102

*Ghi chú: STN: Số lượng haplotype/tổ hợp kiểu gen của nhóm sinh trưởng nhanh, STC: số lượng haplotype/tổ hợp kiểu gen của nhóm sinh trưởng chậm. ([a]) Tần số haplotype, ([b]) Tần số tổ hợp kiểu gen. Haplotype/tổ hợp kiểu gen có tần số xuất hiện trong cả hai nhóm đều nhỏ hơn 0,03 sẽ không được tính giá trị p. *p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001.*

3.3. Sự liên quan của các kiểu gen đơn bội (haplotype), tổ hợp kiểu gen (diplotype) tạo nên từ các chỉ thị SNP trên gen *IGF1* và *IGFBP5* với tính trạng sinh trưởng của cá tra nuôi

Ngoài IGFBP3, IGFBP5 cũng tham gia vận chuyển IGF trong hệ tuần hoàn nhưng với lượng ít hơn [26]. Khả năng di truyền không ngẫu nhiên cùng nhau của SNP 13680 A>T trên gen *IGF1* và 525 T>A trên gen *IGFBP5* được đánh giá ở mức độ rất cao. Do đó, sự liên quan giữa tổ hợp tạo nên từ hai chỉ thị SNP này với tính trạng sinh trưởng của cá tra nuôi tiếp tục được đánh giá thông qua sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa hai nhóm sinh trưởng nhanh/chậm về tần số kiểu gen đơn bội và tần số tổ hợp kiểu gen (Bảng 2).

Bảng 2. Thành phần kiểu gen đơn bội (haplotype), tổ hợp kiểu gen (diplotype) tạo nên từ SNP 13680 A>T trên gen *IGF1* và 525 T>Atrên gen *IGFBP5*

Haplotype tạo thành từ 2 SNP		Ký hiệu haplotype	STN ([a])	STC ([a])	p
IGF1.13680 A>T	*IGFBP5*.525T>A				
A	A	H1b	15,45 (0,098)	36,99 (0,243)	0,0006***
A	T	H2b	80,55 (0,510)	39,01 (0,257)	4,79e-6***
T	A	H3b	59,55 (0,377)	0,01 (0,000)	5,22e-15***
T	T	H4b	2,45 (0,015)	75,99 (0,500)	9,99e-16***
Tổ hợp kiểu gen tạo thành từ 2 SNP		Diplotype tương ứng	STN ([b])	STC ([b])	p
AA & TA		H2b/H1b	12 (0,150)	1 (0,012)	0,002**
AA & TT		Không xác định	6 (0,075)	6 (0,075)	1,000
AT & AA		Không xác định	3 (0,375)	0 (0,000)	0,083

AT & TA	H2b/H3b	57 (0,712)	36 (0,450)	0,029*
AT & TT	H2b/H4b	0 (0,000)	26 (0,325)	<0,00001***
TT & TT	H4b/H4b	1 (0,012)	7 (0,087)	0,033*

*Ghi chú: STN: Số lượng haplotype/tổ hợp kiểu gen của nhóm sinh trưởng nhanh, STC: Số lượng haplotype/tổ hợp kiểu gen của nhóm sinh trưởng chậm. (a) Tần số haplotype, (b) Tần số tổ hợp kiểu gen. Haplotype/tổ hợp kiểu gen có tần số xuất hiện trong cả hai nhóm đều nhỏ hơn 0,03 sẽ không được tính giá trị p. *p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001.*

Trong số 4 kiểu gen đơn bội được tạo nên từ hai chỉ thị SNP trên, kiểu gen đơn bội H2b (AT) và kiểu gen đơn bội H3b (TA) chiếm tỉ lệ cao hơn ở nhóm sinh trưởng nhanh (các giá trị p<0,001), trong khi kiểu gen đơn bội H1b (AA) và H4b (TT) chiếm tỉ lệ cao hơn ở nhóm sinh trưởng chậm (các giá trị p<0,001) (Bảng 2, haplotype). Tổ hợp kiểu gen AA & TA (diplotype H2b/H1b) và tổ hợp kiểu gen AT & TA (diplotype H2b/H3b) chiếm tỉ lệ cao hơn ở nhóm sinh trưởng nhanh (p< 0,01 và p < 0,05, tương ứng). Tổ hợp kiểu gen AT và TT (diplotype H2b/H4b) và tổ hợp kiểu gen TT & TT (diplotype H4b/H4b) chiếm tỉ lệ cao hơn ở nhóm sinh trưởng chậm (p< 0,001 và p < 0,05, tương ứng) (Bảng 2, Tổ hợp kiểu gen). Kết quả này phù hợp với kết quả về sự khác biệt giữa hai nhóm về thành phần kiểu gen của từng SNP riêng rẽ. Với SNP *IGF1*.13680 A>T, tỉ lệ kiểu gen AA cao hơn ở nhóm sinh trưởng nhanh, tỉ lệ kiểu gen TT cao hơn rõ rệt ở nhóm sinh trưởng chậm [8]. Với SNP *IGFBP5*. 525T>A, tỉ lệ kiểu gen TA cao hơn rõ rệt ở nhóm sinh trưởng nhanh, trong khi tỉ lệ kiểu gen TT cao hơn rõ rệt ở nhóm sinh trưởng chậm [12].

3.4. Sự liên quan của các kiểu gen đơn bội (haplotype), tổ hợp kiểu gen (diplotype) tạo nên từ các chỉ thị SNP trên gen *IGF1* và *IGFBP7* với tính trạng sinh trưởng của cá tra nuôi

Ngoài khả năng bám với insulin, IGFBP7, hay còn gọi là IGFBP-rP1, cũng bám với IGF1 và IGF2 như các IGFBP khác trong siêu họ, từ đó điều hòa lượng IGF trong dịch cơ thể và các mô [25]. Do vậy, protein này đóng một vai trò quan trọng trong con đường tín hiệu liên quan đến insulin và IGF, giúp điều hòa quá trình sinh trưởng, phát triển và sự chuyển hóa năng lượng [27]. Như đã phân tích tại phần 3.1, bộ 3 SNP (*IGF1*. 13680 A>T, *IGFBP7*. 2060 A>G và *IGFBP7*. 4559 C>A) có khả năng di truyền cùng nhau qua SNP *IGFBP7*. 2060 A>G làm trung gian. Do đó, sự liên quan giữa tổ hợp tạo nên từ ba SNP này với tính trạng sinh trưởng của cá tra nuôi tiếp tục được đánh giá thông qua sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa hai nhóm sinh trưởng nhanh/chậm về tần số kiểu gen đơn bội và tần số tổ hợp kiểu gen (Bảng 3).

Bảng 3. Thành phần kiểu gen đơn bội (haplotype), tổ hợp kiểu gen (diplotype) tạo nên từ SNP 13680 A>T trên gen *IGF1* và 2060 A>G, 4559 C>Atrên gen *IGFBP7*

Haplotype tạo thành từ 3 SNP			Ký hiệu haplotype	STN (a)	STC (a)	p
IGF1. 13680A>T	*IGFBP7*. 2060A>G	*IGFBP7*. 4559A>C				
A	A	A	H1c	13,30 (0,083)	55,14 (0,363)	2,00e-9***
A	G	A	H2c	73,16 (0,457)	8,42 (0,055)	2,22e-16***
A	G	C	H3c	10,55 (0,066)	0,00 (0,000)	0,001**
T	A	A	H4c	37,66 (0,235)	27,22 (0,179)	0,231
T	A	C	H5c	3,05 (0,019)	9,21 (0,061)	0,057
T	G	A	H6c	20,89 (0,131)	37,22 (0,245)	0,008**
T	G	C	H7c	1,41 (0,009)	2,35 (0,015)	Không tính
A	A	C	H8c	0,00 (0,000)	12,44 (0,082)	0,0002***
Tổ hợp kiểu gen tạo thành từ 3 SNP			Diplotype tương ứng	STN (b)	STC (b)	p
IGF1. 13680A>T	*IGFBP7*. 2060A>G	*IGFBP7*. 4559A>C				

AA	AA	AA	Không xác định	0 (0,000)	3 (0,037)	0,083
AA	AG	AA	Không xác định	6 (0,075)	2 (0,025)	0,157
AA	GG	AA	H2c/H2c	8 (0,100)	1 (0,025)	0,019*
AT	AA	AA	H1c/H4c	4 (0,050)	17 (0,212)	0,004**
AT	AA	AC	H8c/H4c	0 (0,000)	9 (0,112)	0,002**
AT	AG	AA	Không xác định	35 (0,437)	26 (0,325)	0,249
AT	AG	AC	Không xác định	3 (0,037)	7 (0,087)	0,205
AT	GG	AA	H2c/H6c	16 (0,020)	1 (0,012)	0,0002***
TT	GG	AA	Không xác định	0 (0,000)	3 (0,037)	0,083

*Ghi chú: STN: Số lượng haplotype/tổ hợp kiểu gen của nhóm sinh trưởng nhanh, STC: Số lượng haplotype/tổ hợp kiểu gen của nhóm sinh trưởng chậm. (a) Tần số haplotype, (b) Tần số tổ hợp kiểu gen. Haplotype/tổ hợp kiểu gen có tần số xuất hiện trong cả hai nhóm đều nhỏ hơn 0,03 sẽ không được tính giá trị p. *p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001.*

Hai kiểu gen đơn bội H2c (AGA) và H3c (AGC) có tần số cao hơn ở nhóm sinh trưởng nhanh (p < 0,001 và p<0,01, tương ứng), trong khi đó, kiểu gen đơn bội H1c (AAA), H6c (TGA) và H8c (AAC) có tần số cao hơn ở nhóm sinh trưởng chậm (p < 0,001, p< 0,01 và p < 0,001, tương ứng) (Bảng 3, haplotype). Tổ hợp kiểu gen AA & GG & AA (diplotype H2c/H2c) và tổ hợp kiểu gen AT & GG & AA (diplotype H2c/H6c) có tần số cao hơn ở nhóm sinh trưởng nhanh (p<0,05 và p < 0,001, tương ứng). Tổ hợp kiểu gen AT & AA &AA (diplotype H1c/H4c) và tổ hợp kiểu gen AT & AA & AC (diplotype H2c/H6c) có tần số cao hơn ở nhóm sinh trưởng chậm (các giá trị p< 0,01) (Bảng 3, tổ hợp kiểu gen). Kết quả này phù hợp với kết quả về sự khác biệt giữa hai nhóm về thành phần kiểu gen của từng SNP riêng rẽ. Với SNP *IGF1*.13680 A>T, kiểu gen AA có tỉ lệ cao hơn ở nhóm sinh trưởng nhanh [8]. Với SNP *IGFBP-7*. 2060 A>G, kiểu gen GG có tỉ lệ cao hơn rõ rệt ở nhóm sinh trưởng nhanh, trong khi kiểu gen AA chiếm tỉ lệ cao hơn rõ rệt ở nhóm sinh trưởng chậm [10].

3.5. Sự liên quan của các kiểu gen đơn bội (haplotype), tổ hợp kiểu gen (diplotype) tạo nên từ sáu chỉ thị SNP trên các gen thuộc hệ thống IGF với tính trạng sinh trưởng của cá tra nuôi

Do sáu chỉ thị SNP có khả năng di truyền không ngẫu nhiên cùng nhau nên sự liên quan giữa tổ hợp tạo nên từ sáu chỉ thị SNP này với tính trạng sinh trưởng của cá tra nuôi tiếp tục được đánh giá thông qua sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa hai nhóm sinh trưởng nhanh/chậm về tần số kiểu gen đơn bội và tần số tổ hợp kiểu gen (diplotype) (Bảng 4). Kết quả cho thấy, bốn kiểu gen đơn bội chiếm tỉ lệ cao hơn ở nhóm sinh trưởng nhanh là H2d, H5d, H11d, H14d và bảy kiểu gen đơn bội chiếm tỉ lệ cao hơn ở nhóm sinh trưởng chậm là H1d, H3d, H7d, H8d, H9d, H10d, H14d (với các giá trị p đều < 0,05). Trong đó, kiểu gen đơn bội H2d (ATGTGA) chiếm tỉ lệ cao nhất trong số các kiểu gen đơn bội xuất hiện trong nhóm sinh trưởng nhanh (0,414) và thể hiện sự khác biệt rõ rệt nhất về tần số giữa nhóm sinh trưởng nhanh và nhóm sinh trưởng chậm (p=2,22e-16) (Bảng 4). Như vậy, các chỉ thị kiểu gen đơn bội H2d (ATGTGA), H5d (TTCAGA), H11d (TCCAAA) và H14d (TCGAAA) tạo nên từ tổ hợp sáu chỉ thị SNP trên có thể được coi như các chỉ thị phân tử hỗ trợ chọn giống cá tra theo hướng sinh trưởng nhanh. Theo thứ tự các SNP *IGF1*.13680A>T, *IGF1R*.13357T>C, *IGFBP3*.704C>G, *IGFBP5*.525T>A, *IGFBP7*.2060A>G và *IGFBP7*.4559A>C, tổ hợp kiểu gen AT, CT, GC, AT, GA & AA (diplotype H2d/H11d) chiếm tỉ lệ cao hơn ở nhóm sinh trưởng nhanh (p < 0,05) và tổ hợp kiểu gen AT, TT, GC, AT, GG & AA (diplotype H2d/H5d) chỉ xuất hiện ở nhóm sinh trưởng nhanh (các giá trị p< 0,01). Kết quả này phù hợp với sự khác biệt giữa hai nhóm sinh trưởng nhanh/chậm về thành phần kiểu gen của từng SNP riêng rẽ trong các nghiên cứu của Tran và cs (2021) [8], Tran và cs (2023 b, 2023 c, 2023 a) [10-12] cũng như về tần số kiểu gen đơn bội nêu trên.

Bảng 4. Thành phần kiểu gen đơn bội (haplotype), tổ hợp kiểu gen (diplotype) tạo nên từ 6 chỉ thị SNP trên các gen thuộc hệ thống IGF

Haplotype tạo thành từ 6 SNP						Ký hiệu haplotype	STN [a]	STC [a]	p
IGF1 13680A>T	*IGF1R* 13357 T>C	*IGFBP* 3704C>G	*IGFBP* 5525T>A	*IGFBP* 72060A>G	*IGFBP* 4559A>C				
A	T	G	T	A	A	H1d	5,39 (0,034)	26,92 (0,179)	7,18e-5***
A	T	G	T	G	A	H2d	65,44 (0,414)	4,69 (0,031)	2,22e-16***
A	C	G	T	A	A	H3d	0,00 (0,000)	33,54 (0,224)	9,09e-10***
T	T	C	A	A	A	H4d	6,98 (0,044)	12,46 (0,083)	0,218
T	T	C	A	G	A	H5d	9,37 (0,059)	1,99 (0,013)	0,022*
T	T	G	A	A	A	H6d	6,34 (0,040)	2,32 (0,015)	0,152
T	T	G	T	A	A	H7d	0,00 (0,000)	7,88 (0,053)	0,004**
T	T	G	T	A	C	H8d	0,00 (0,000)	8,52 (0,057)	0,003**
T	T	G	T	G	A	H9d	1,20 (0,008)	7,70 (0,051)	0,029*
T	T	G	A	G	A	H10d	2,27 (0,014)	9,64 (0,064)	0,032*
T	C	C	A	A	A	H11d	16,54 (0,105)	0,00 (0,000)	2,04e-05***
T	C	C	A	G	A	H12d	3,20 (0,020)	4,51 (0,030)	0,658
T	C	G	T	G	A	H13d	0,00 (0,000)	7,79 (0,052)	0,005**
T	C	G	A	A	A	H14d	7,84 (0,050)	0,00 (0,000)	0,003**
Tổ hợp kiểu gen được tạo thành từ 6 SNP						Diplotype	STN [b]	STC [b]	p
IGF1 13680A>T	*IGF1R* 13357T>C	*IGFBP3* 704C>G	*IGFBP5* 525T>A	*IGFBP7* 2060A>G	*IGFBP7* 4559A>C				
AA	CT	GG	AT	GG	AA	Không xác định	3 (0,037)	0 (0,000)	0,083
AA	CT	GC	AT	GA	AA	Không xác định	3 (0,037)	0 (0,00)	0,083
AT	CT	GG	AT	GG	AA	Không xác định	3 (0,037)	0 (0,00)	0,083
AT	CT	GG	AT	GA	AA	Không xác định	8 (0,107)	6 (0,075)	0,592
AT	CT	GG	TT	AA	AA	Không xác định	0 (0,000)	3 (0,037)	0,083
AT	CT	GG	TT	AA	AC	Không xác định	0 (0,000)	3 (0,037)	0,083
AT	CT	GG	TT	AG	AA	Không xác định	0 (0,000)	3 (0,037)	0,083
AT	CT	GC	AT	GG	AA	Không xác định	3 (0,037)	0 (0,000)	0,083
AT	CT	GC	AT	GA	AA	H2d/H11d	14 (0,175)	5 (0,062)	0,038*
AT	CT	GC	AT	AA	AA	Không xác định	2 (0,025)	6 (0,075)	0,157
AT	TT	GG	AT	GA	AA	Không xác định	4 (0,050)	4 (0,050)	1,000
AT	TT	GG	TT	AA	AC	Không xác định	0 (0,000)	3 (0,037)	0,083
AT	TT	GG	TT	AG	AA	Không xác định	0 (0,000)	3 (0,037)	0,083
AT	TT	GG	TT	AG	AC	Không xác định	0 (0,000)	3 (0,037)	0,083
AT	TT	GC	AT	GG	AA	H2d/H5d	8 (0,100)	0 (0,000)	0,004**
AT	TT	GC	AT	GA	AA	Không xác định	6 (0,075)	1 (0,012)	0,058

AT	TT	GC	AT	AA	AA	Không xác định	1 (0,012)	4 (0,050)	0,179
TT	CT	GG	TT	GG	AA	Không xác định	0 (0,000)	3 (0,037)	0,083

*Ghi chú: STN: Số lượng haplotype/tổ hợp kiểu gen của nhóm sinh trưởng nhanh, STC: Số lượng haplotype/tổ hợp kiểu gen của nhóm sinh trưởng chậm. (a) Tần số haplotype, (b) Tần số tổ hợp kiểu gen. Haplotype/tổ hợp kiểu gen có tần số xuất hiện trong cả hai nhóm đều nhỏ hơn 0,03 sẽ không được tính giá trị p. *p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001.*

Sự liên quan giữa tổ hợp các chỉ thị SNP tiềm năng nằm trên các locus khác nhau của các gen với tính trạng sinh trưởng đã góp phần chỉ ra tính trạng tăng trưởng của cá tra nuôi là tính trạng đa gen, tương tự như tính trạng tăng trưởng của các loài cá khác như cá hồi vân (*Oncorynchus mykiss*) [28], cá chép (*Cyprino carpio*) [29]. Như vậy, việc phát triển chỉ thị phân tử dạng panel dựa trên tổ hợp các SNP tiềm năng trên các gen đích khác nhau để đánh giá tính trạng tăng trưởng, phục vụ công tác chọn giống cá tra nuôi là có cơ sở khoa học và rất ý nghĩa, cần được tiến hành song song với việc tìm kiếm các chỉ thị SNP riêng lẻ.

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã chứng minh được sự liên quan của tổ hợp các chỉ thị SNP tiềm năng trên các gen thuộc hệ thống IGF lên tính trạng sinh trưởng của cá tra nuôi, thông qua sự khác biệt về tần số các kiểu gen đơn bội (haplotype) cũng như các tổ hợp kiểu gen (diplotype) giữa nhóm cá tra sinh trưởng nhanh và nhóm cá tra sinh trưởng chậm. Qua đó, các kiểu gen đơn bội và các tổ hợp kiểu gen (diplotype) liên quan chặt chẽ đến nhóm sinh trưởng nhanh là cơ sở để phát triển chỉ thị phân tử dạng tổ hợp (SNP panel) phục vụ chọn giống cá tra theo hướng sinh trưởng nhanh.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu được thực hiện bởi kinh phí của các đề tài: "Phân tích hệ gen của cá tra nhằm phát triển chỉ thị phân tử phục vụ chọn giống cá tra theo hướng tăng trưởng (giai đoạn 2)" - thuộc Đề án phát triển và ứng dụng công nghệ sinh học trong lĩnh vực thủy sản của Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn và "Nghiên cứu đa dạng di truyền các gen trong hệ thống IGF và sự liên quan của chúng đối với tính trạng sinh trưởng ở cá tra nuôi (Pangasianodon hypophthamus)" - mã số 106.05-2017.29 thuộc Quỹ Phát triển khoa học và công nghệ Quốc gia (NAFOSTED) do TS. Kim Thị Phương Oanh là chủ nhiệm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Roberts, T.R. and Chavalit, V. (1991). *Systematic revision of the Asian catfish family Pangasiidae, with biological observations and descriptions of three new species.* Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia, 143: p. 97-143.

2. VASEP (2022). Tổng quan ngành cá tra. Sản phẩm xuất khẩu/Cá tra https://vasep.com.vn/san-pham-xuat-khau/ca-tra/tong-quan-nganh-ca-tra, truy cập ngày 30/12/2022.

3. VASEP (2023). Infographic - Xuất khẩu cá tra Việt Nam tháng 1 đến tháng 5/2023. Sản phẩm xuất khẩu, https://vasep.com.vn/san-pham-xuat-khau/infographic/infographic-xuat-khau-ca-tra-viet-nam-t1-t5-2023-28306.html, truy cập ngày 22/06/2023.

4. Nguyen, V. S., Klemetsdal, G., Ødegård, J., and Gjøen, H. M. (2012). Genetic parameters of economically important traits recorded at a given age in striped catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*). *Aquaculture*, 344-349: p. 82-89.

5. Vu, N. T., Van Sang, N., Phuc, T. H., Vuong, N. T., and Nguyen, N. H. (2019). Genetic evaluation of a 15-year selection program for high growth in striped catfish *Pangasianodon hypophthalmus*. *Aquaculture*, 509: p. 221-226.

6. Irwan, I., Soelistyowati, D. T., Carman, O., and Noor, R.R. (2019). Performance of the third generation striped catfish, *Pangasianodon hypophthalmus* Sauvage, 1878 as results of the selection for bodyweight character in Freshwater Aquaculture Fisheries Center, Sungai Gelam, Jambi. *Journal Iktiologi Indonesia*, 19(3): p. 411-423.

7. Marnis, H. (2018). Correlation of microsatellite DNA markers with growth traits in striped catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*). *Indonesian Aquaculture Journal*, 13: p. 51-56.

8. Tran, T. T. H., Nguyen, H. T., Le, B. T. N., Tran, P. H., Nguyen, S. V., and Kim, O. T. P. (2021). Characterization of single nucleotide polymorphism in IGF1 and IGF1R genes associated with growth traits in striped catfish (*Pangasianodon hypophthalmus* Sauvage, 1878). *Aquaculture*, 538: p. 736542.

9. Jiang, L.-S., Ruan, Z.-H., Lu, Z.-Q., Li, Y.-F., Luo, Y.-Y., Zhang, X.-Q., and Liu, W.-S. (2022). Novel SNPs in the 3'UTR region of GHRb gene associated with growth traits in striped catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*), a valuable aquaculture species. *Fishes*, 7: p. 230.

10. Tran, T. T. H., Tran, H. S., Le, B. T. N., Van Nguyen, S., Vu, H. A., and Kim, O. T. P. (2023b). Novel single nucleotide polymorphisms of insulin-like growth factor-binding protein 7 (IGFBP7) gene significantly associated with growth traits in striped catfish (*Pangasianodon hypophthalmus* Sauvage, 1878). *Molecular Genetics & Genomics*, 298 (4): p. 883-893.

11. Tran, T. H. T., Le, T. N. B., Nguyen, V. S., and Kim, T. P. O. (2023c). Non-synonymous polymorphism in IGFBP-3 gene associated with growth traits in striped catfish (*Pangasianodon hypophthalmus,* Sauvage, 1878). *Vietnam Journal of Biotechnology*: p. accepted.

12. Tran, T. T. H., Tran, H. S., Le, B. T. N., Nguyen, S. V., Vu, H. A., and Kim, O. T. P. (2023a). Significant association between a non-synonymous SNP in IGFBP5 gene and the growth of striped catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*, Sauvage, 1878). *Vietnam Journal of Biotechnology*, 21(1): p. 1-11.

13. Kim, O. T. P., Nguyen, P. T., Shoguchi, E., Hisata, K., Vo, T. T. B., Inoue, J., Shinzato, C., Le, B. T. N., Nishitsuji, K., Kanda, M., Nguyen, V. H., Nong, H. V., and Satoh, N. (2018). *A draft genome of the striped catfish, Pangasianodon hypophthalmus, for comparative analysis of genes relevant to development and a resource for aquaculture improvement*. BMC Genomics, 19(1): p. 733.

14. Wood, A. W., Duan, C., and Bern, H. A. (2005). *Insulin-like growth factor signaling in fish*. International Review of Cytology, 243: p. 215-285.

15. Tsai, H. Y., Hamilton, A., Guy, D. R., Tinch, A. E., Bishop, S. C., and Houston, R.D. (2015). *The genetic architecture of growth and fillet traits in farmed Atlantic salmon (Salmo salar)*. BMC genetics, 16: p. 51-51.

16. Zenger, K. R., Khatkar, M. S., Jones, D. B., Khalilisamani, N., Jerry, D. R., and Raadsma, H. W. (2019). *Genomic Selection in Aquaculture: Application, limitations and opportunities with special reference to Marine Shrimp and Pearl Oysters.* Frontiers in Genetics, 9(693).

17. Li, X., Bai, J., Hu, Y., Ye, X., Li, S., and Yu, L. (2012). *Genotypes, haplotypes and diplotypes of IGF-II SNPs and their association with growth traits in largemouth bass (Micropterus salmoides)*. *Molecular Biology Reports*, 39 (4): p. 4359-65.

18. Zhang, S., Li, X., Chen, X., Pan, J., Wang, M., Zhong, L., Qin, Q., and Bian, W. (2019). *Significant associations between prolactin gene polymorphisms and growth traits in the channel catfish* (*Ictalurus punctatus Rafinesque*, 1818) *core breeding population*. Meta Gene, 19: p. 32-36.

19. Feng, X., Yu, X., and Tong, J. (2014). Novel single nucleotide polymorphisms of the insulin-like growth factor-I gene and their associations with growth traits in common carp (*Cyprinus carpio* L.). *International Journal of Molecular Sciences*, 15(12): p. 22471-22482.

20. Jaser, S., Dias, M., Lago, A., Neto, R., and Hilsdorf, A. (2017). *Single nucleotide polymorphisms in the growth hormone gene of Oreochromis niloticus and their association with growth performance.* Aquaculture Research, 48 (12): p. 5835-5845.

21. Zhao, H., Fuller, A., Thongda, W., Mohammed, H., Abernathy, J., Beck, B., and Peatman, E. (2019). *SNP panel development for genetic management of wild and domesticated white bass (Morone chrysops)*. Animal Genetics, 50 (1): p. 92-96.

22. Boudry, P., Allal, F., Aslam, M. L., Bargelloni, L., Bean, T. P., Brard-Fudulea, S., Brieuc, M. S. O., Calboli, F. C. F., Gilbey, J., Haffray, P., Lamy, J.-B., Morvezen, R., Purcell, C.,

Prodöhl, P. A., Vandeputte, M., Waldbieser, G. C., Sonesson, A. K., and Houston, R. D. (2021). *Current status and potential of genomic selection to improve selective breeding in the main aquaculture species of International Council for the Exploration of the Sea (ICES) member countries.* Aquaculture Reports, 20: p. 100700.

23. Slatkin, M. (2008). *Linkage disequilibrium--understanding the evolutionary past and mapping the medical future.* Nature reviews. Genetics, 9 (6): p. 477-485.

24. Shi, Y. Y. and He, L. (2005). *She sis, a powerful software platform for analyses of linkage disequilibrium, haplotype construction, and genetic association at polymorphism loci.* Cell Research, 15 (2): p. 97-98.

25. Yamanaka, Y., Wilson, E. M., Rosenfeld, R. G., and Oh, Y. (1997). Inhibition of insulin receptor activation by insulin-like growth factor binding proteins. *Journal of Biological Chemistry*, 272 (49): p. 30729-30734.

26. Schneider, M. R., Wolf, E., Hoeflich, A., and Lahm, H. (2002). IGF-binding protein-5: flexible player in the IGF system and effector on its own. *Journal of Endocrinology*, 172 (3): p. 423-440.

27. Lau, H. E. and Chalasani, S. H. (2014). *Divergent and convergent roles for insulin-like peptides in the worm, fly and mammalian nervous systems*. Invertebrate Neuroscience, 14 (2): p. 71-78.

28. Salem, M., Vallejo, R. L., Leeds, T. D., Palti, Y., Liu, S., Sabbagh, A., Rexroad, C.E., 3rd, and Yao, J. (2012). *RNA-Seq identifies SNP markers for growth traits in rainbow trout*. PLoS One, 7 (5): p. e36264.

29. Luo, L., Huang, R., Zhang, A., Yang, C., Chen, L., Zhu, D., Li, Y., He, L., Liao, L., Zhu, Z., and Wang, Y. (2018). *Selection of growth-related genes and dominant genotypes in transgenic Yellow River carp Cyprinus carpio* L. Functional & Integrative Genomics, 18 (4): p. 425-437.

DEVELOPMENT OF MOLECULAR MARKER FOR THE GROWTH TRAITS OF STRIPED CATFISH (*Pangasianodon hypophthalmus*) BASED ON THE COMBINATION OF SNP MARKERS IDENTIFIED FROM GENES OF INSULIN-LIKE GROWTH FACTOR SYSTEM

Tran Thi Huyen Trang [1, 2], Kim Thi Phuong Oanh [1, 2]

[1] *Institute of Genome Research, Vietnam Academy of Science and Technology*

[2] *Graduate University of Science and Technology, Vietnam Academy of Science and Technology*

Summary

Breeding program to improve the growth traits and brood stocks of striped catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*) is one of the most important issues to the aquaculture industry. Based on the approach of development SNP markers from polymorphisms in candidate genes, our previous studies identified six potential SNP markers from genes involved in Insulin-like Growth Factor (IGF) system. The SNP markers, including *IGF1*.13680A>T, *IGF1R*.13357T>C, *IGFBP3*.704C>G, *IGFBP5*.525T>A, *IGFBP7*.2060A>G and *IGFBP7*.4559A>C, were associated significantly with the growth traits of striped catfish. To develop SNP panel based on the combination of SNP markers identified previously, we investigated the association between the combination of these 6 SNP markers (haplotypes, combined genotypes (diplotypes)) and the growth traits of striped catfish, based on the previous SNP data of 80 fast-growing fish and 80 slow-growing fish. This study suggested the haplotypes/combined genotypes (diplotypes), which were performed from the SNP markers in pairwise of functional related genes in IGF system and from all 6 SNP markers, presenting the significant difference in frequency between fast- and slow-growing groups. These haplotypes and combined genotypes (diplotypes) could become useful data source for development SNP panel for growth traits which could be applied in pangasius breeding via marker-assisted selection.

Keywords: *Growth traits, IGF system, Pangasianodon hypophthalmus, SNP panel, striped catfish.*

Người phản biện: TS. Nguyễn Minh Thành

Ngày nhận bài: 13/7/2023

Ngày thông qua phản biện: 16/8/2023

Ngày duyệt đăng: 19/9/2023

CHỌN LỌC SINGLE-NUCLEOTIDE POLYMORPHISM (SNP) TIỀM NĂNG LIÊN QUAN ĐẾN TÍNH KHÁNG TILAPIA LAKE VIRUS (TiLV) Ở CÁ RÔ PHI ĐỎ (*Oreochromis* spp.)

Nguyễn Hoàng Thụy Vy[1], Trần Hạnh Triết[1], Trần Thị Bình Yên[2], Bùi Nguyễn Chí Hiếu[1], Lê Thị Thu Thảo[1], Vũ Thị Thanh Hương[1], Trần Thị Thanh Hương[1], Ngô Huỳnh Phương Thảo[1,*]

TÓM TẮT

Tilapia Lake Virus (TiLV) được báo cáo là mối đe dọa đối với nuôi cá rô phi ở 17 quốc gia từ bốn châu lục với các đợt bùng phát gây ra tỷ lệ tử vong lên đến 90%. Đây là nghiên cứu đầu tiên ở Việt Nam về hệ gen phiên mã của cá rô phi đỏ sống và chết sau khi công độc với chủng TiLV. Chủng TiLV HB196-VN-2020 phân lập từ mẫu cá rô phi bị bệnh đã được nuôi cấy thành công sử dụng dòng tế bào E-11 và có độc lực gây chết 70% của chủng TiLV này ở cá rô phi đỏ là ở mật độ virus 9,1 x 10^4 $TCID_{50}$ $cá^{-1}$. Mẫu mô gan, thận, lách và ruột của 6 mẫu cá, gồm 3 cá chết sau khi công độc với TiLV và 3 cá sống khi thử nghiệm công độc kết thúc được tách chiết RNA để giải trình tự. Tổng số trình tự đọc của mỗi mẫu đều lớn hơn 20 triệu, Q30>93%, tỷ lệ sắp gióng (alignment) với bộ gen tham chiếu Orenil1.0 lớn hơn 90%. So với nhóm cá chết, nhóm cá sống có số lượng single-nucleotide polymorphism (SNP) riêng ở từng hệ gen phiên mã (gan, thận, lách, ruột) lần lượt là 1.460, 1.939, 6.217 và 896. Những dữ liệu ban đầu này gợi ý cho các nghiên cứu tiếp theo về việc ứng dụng SNP trong chọn giống thủy sản bằng hệ gen.

Từ khóa: *Cá rô phi đỏ, Tilapia Lake Virus, RNA-seq, single-nucleotide polymorphism (SNP).*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cá rô phi (*Oreochromis* spp.) là đối tượng nuôi thích hợp và hiệu quả cho vùng đất nông nghiệp năng suất thấp. Đồng bằng sông Cửu Long là khu vực sản xuất cá rô phi đỏ (*Oreochromis* spp.) chính của cả nước. Tuy nhiên, công tác quản lý cá bố mẹ và cá giống chưa chặt chẽ dẫn đến chất lượng cá giống suy giảm. Điều này ảnh hưởng lớn đến hiệu quả của nghề nuôi do cá lớn chậm, tỉ lệ sống thấp dẫn đến gia tăng hệ số thức ăn và phát sinh các chi phí khác như hóa chất xử lý môi trường, thuốc trị bệnh trong quá trình nuôi. Do đó, sản xuất con giống có chất lượng cao đang là một yêu cầu cấp thiết của nghề nuôi. Nghề nuôi cá rô phi đỏ tại đồng bằng sông Cửu Long đòi hỏi con giống có chất lượng, nhất là tăng trưởng nhanh, màu sắc đỏ đẹp, kháng bệnh. Trong các bệnh phổ biến trên cá rô phi, Tilapia Lake Virus (TiLV) được báo cáo là mối đe dọa đối với nuôi cá rô phi ở 16 quốc gia (bao gồm Việt Nam) từ bốn châu lục với các đợt bùng phát gây ra tỷ lệ tử vong lên đến 90% [1]. Chính vì vậy, việc chọn lọc con giống cá rô phi đỏ có khả năng kháng TiLV là điều cần thiết.

Trong vài năm qua, RNA-seq đã được ứng dụng trong nhiều nghiên cứu liên quan đến hệ gen chức năng của các loài cá khác nhau, không chỉ ở cá ngựa vằn [2] mà còn ở các loài cá có giá trị thương mại như cá nheo Mỹ (*Ictalurus punctatus*) [3], cá mú châu Âu (*Dicentrarchus labrax*) [4], cá hồi vân (*Oncorhynchus mykiss*) [5], … Công nghệ RNA-seq đã được dùng để lập bản đồ và chú giải hệ gen chức năng của cá, phát hiện các vùng phiên mã mới, tìm hiểu sự biến đổi sau phiên mã như quá trình xử lý RNA (RNA splicing), xác định chỉ thị phân tử single nucleotide polymorphism (SNP), định lượng mức độ biểu hiện gen liên quan đến sinh trưởng, miễn dịch, sinh học tiến hóa, sinh lý, độ chọc và dịch bệnh [6]. SNP là một thay đổi base đơn lẻ tại một vị trí nhất định trên bộ gen giữa các sinh vật cùng loài. SNP phân bố rải rác khắp bộ gen và được dung phổ biến như là chỉ thị

[1] Phòng Công nghệ sinh học Thủy sản, Trung tâm Công nghệ sinh học thành phố Hồ Chí Minh
[2] Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia thành phố Hồ Chí Minh
* Email:nhpthao.snn@tphcm.gov.vn

phân tử trong các nghiên cứu về di truyền học và hệ gen. Với độ nhạy cao và độ phân giải ở mức độ một base, RNA-seq được chứng minh là một công cụ rất hiệu quả để nhận diện các SNP ở phạm vi toàn bộ gen [6]. Vì 90% sự khác biệt di truyền giữa các cá thể được ghi nhận bằng các SNP nên SNP là các chỉ thị phân tử vô giá giúp chọn lọc các tính trạng quan trọng trong chọn giống. Ngoài ra, SNP còn được dùng để phân biệt các bản phiên mã đặc trưng theo alen (allelic transcripts) trong các nghiên cứu về sinh trưởng học và các cơ chế của tế bào [7].

Chính vì vậy, nghiên cứu này ứng dụng kỹ thuật RNA-Seq để chọn ra các SNP tiềm năng liên quan đến khả năng kháng TiLV ở cá rô phi đỏ từ dữ liệu hệ gen phiên mã.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Dịch nuôi cấy chủng vi-rút TiLV HB196-VN-2020 ở mật độ 1,82 x 10^6 $TCID_{50}$ mL^{-1} được kế thừa từ nghiên cứu của Tran và cs (2022) [1] và bảo quản ở -80°C. Cá rô phi đỏ ở giai đoạn bột được cung cấp bởi Trại giống Cổ Lịch (Huyện Cái Bè, tỉnh Tiền Giang) và Trại giống Tư Tiến (Huyện Cái Bè, tỉnh Tiền Giang) và ương nuôi trong các bể composite 0,5 m^3 ở Trung tâm Công nghệ sinh học thành phố Hồ Chí Minh. Cá đạt kích thước (5 - 10 g/con) được bố trí với mật độ là 30 con/bể cho các thí nghiệm công độc. Hàng ngày cá được cho ăn thức ăn công nghiệp Aquaxcel (Cargill, Vietnam) ở mức 5% khối lượng thân/ngày và 3 lần/ngày (8h00, 13h30 và 17h00). Các thông số chất lượng nước như nhiệt độ, hàm lượng oxy hòa tan, pH và hàm lượng NH_3^+/NH_4^+ được kiểm tra hằng ngày. Định kỳ thay nước 3 - 7 ngày/lần, mỗi lần thay 30% lượng nước trong bể nuôi.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Thí nghiệm công độc TiLV trên cá rô phi đỏ

Trước khi tiến hành thử nghiệm, chọn ngẫu nhiên 5 mẫu cá rô phi để kiểm tra sự hiện diện của TiLV bằng phương pháp semi-nested PCR (theo kết quả nghiên cứu của Tran và cs (2022)) [1]. Để giảm stress cho cá trong quá trình công độc, cá được nhịn ăn một ngày trước đó. Thí nghiệm công độc gồm hai nghiệm thức, mỗi nghiệm thức gồm 20 cá/bể và hai lần lặp lại. Cá rô phi đỏ (5,02 ± 1,56 g) được gây mê bằng cách ngâm trong dung dịch benzocaine (50 mg mL^{-1}). Cá trong nhóm đối chứng âm được tiêm vào màng bụng dịch nổi của tế bào E-11, trong khi cá ở nhóm công độc được tiêm với dịch nổi của tế bào E-11 được gây nhiễm với dịch nuôi cấy TiLV liều 9,1 x 10^4 $TCID_{50}$ $cá^{-1}$(100 µL $cá^{-1}$). Cá được kiểm tra hai tiếng một lần trong 21 ngày để thu 10 mẫu cá chết đầu tiên kể từ khi tiến hành công độc tiêm và thu toàn bộ số cá sống sót sau khi kết thúc thí nghiệm. Mẫu cá chết được thu trong vòng hai tiếng nhằm đảm bảo mẫu RNA tách chiết từ các mẫu cá được đồng đều.

Sau công độc, cá có dấu hiệu bệnh lý lâm sang của việc nhiễm TiLV (chán ăn, sẫm màu, bơi lờ đờ, xung huyết, xuất huyết não, lở loét trên da; mang tái nhợt; mắt bị teo lại hoặc lồi ra, có hiện tượng đục thủy tinh thể; xoang bụng và hậu môn phình to; vẩy dựng lên, có thể bong tróc; đuôi bị ăn mòn) được thu. Mẫu cá chết được cân khối lượng, lau khô bề mặt cá bằng cồn 75° và được tiến hành mổ khoang bụng để thu ruột, thận, gan, lách bằng kéo, nhíp và dao mổ. Các mẫu mô được bảo quản trong RNAlater (Invitrogen) ở -80°C cho đến khi tiến hành phân tách RNA. Mẫu mô não được dung để kiểm tra sự hiện diện của TiLV bằng semi-nested RT-PCR. Toàn bộ cá sống sau thử nghiệm ở cả hai nghiệm thức được gây mê ở liều gây chết của benzocaine (500 mg mL^{-1}) và thu mẫu các cơ quan tương tự như cá chết.

2.2.2. Tách RNA tổngsố

Tổng số mẫu mô của cá rô phi thu trong quá trình công độc từ 4 cơ quan (ruột, thận trước, gan và lách) của 3 mẫu cá chết và 3 mẫu cá sống là 24 mẫu. Các mẫu mô được thấm hết RNAlater, cắt nhỏ và đồng nhất trong 500 µL TRISure (Bioline) có bổ sung 3 - 4 viên bi thủy tinh bằng máy Qiagen TissueLyser II ở tần số rung (Oscillation frequency) 50 Hz/giây trong thời gian 2 phút ở 4°C cho đến khi không còn mảnh mô vụn. Sau khi đồng nhất, mẫu được ủ 5 phút trong đá và bổ sung thêm 100 µL Chloroform (Merck), lắc mạnh tuýp trong 15 giây và tiếp tục ủ 3 phút trong đá. Mẫu được ly tâm ở tốc độ 20.000 *xg* trong 5 phút ở 4°C để tách các pha. Phần pha nổi bên trên được chuyển qua tuýp 1,5 mL mới (khoảng 250 µL), bổ sung thêm 100 µL Chloroform, lắc mạnh tuýp và ly tâm ở tốc độ 20.000 *xg* trong 5 phút ở 4°C để thu

pha nổi (khoảng khoảng 200 µL). Lượng isopropanol lạnh (250 µL) được bổ sung vào các mẫu để tủa RNA. Các tuýp được đảo đều 5 - 7 lần, ủ trong đã 10 phút và ly tâm ở tốc độ 20.000 *xg* trong 10 phút ở 4°C. Cặn ở đáy tuýp được rửa với 500 µL ethanol 75% lạnh và tiếp tục ly tâm ở 20.000 *xg* trong 5 phút ở 4°C. Cặn ở đáy tuýp tiếp tục được rửa với 500 µL ethanol 100% lạnh và tiếp tục ly tâm ở 20.000 *xg* trong 5 phút ở 4°C. Cặn sau khi rửa được phơi khô ở nhiệt độ phòng trong 5 - 10 phút. Sau đó, cặn được hòa trong 20 µL nước nuclease-free (Thermo Fisher Scientific). Hàm lượng và chất lượng RNA được kiểm tra bằng Nanodrop ND-1000 (Thermo Fisher Scientific).

ADN nhiễm sắc thể lẫn trong mẫu RNA được loại bỏ bằng cách sử dụng DNA-*free*™ kit (Ambion) theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Hàm lượng và chất lượng RNA sau khi xử lý DNase được kiểm tra lại bằng Nanodrop ND-1000 và gel agarose 1% (Bioline) với dung dịch điện di TAE 0.5 X. Các mẫu RNA đạt yêu cầu về tỷ lệ 260/280 (1.8 - 2.0) và sự nguyên vẹn trên gel (với 2 vạch RNA 28S và 18S) được điều chỉnh hàm lượng 1 µg với nồng độ là 20 ng mL^{-1} và bảo quản đông khô trong tuýp GenTegra®-RNA (GenTegra, Mỹ) trước khi gửi giải trình tự.

2.2.3. Giải trình tự RNA

RNA tổng từ mỗi mẫu mô (gan, thận lách và ruột) của 3 mẫu cá chết đầu tiên và 3 mẫu cá sống sót sau quá trình công độc với TiLV được gửi giải trình tự bằng hệ thống Illumina tại Trung tâm K test (thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam).

2.2.4. Chọn lọc các SNP tiềm năng có liên quan đến tính kháng TiLV ở cá rô phi đỏ

Tổng số trình tự thô (raw reads) được kiểm tra chất lượng bằng công cụ FastQC [8] và được loại bỏ adapter và tinh sạch thông qua công cụ Trimmomatic [9] khi có chất lượng giải ≥ Q30 và độ dài tối thiểu 70. Các đoạn trình tự RNA-seq sau khi được tinh sạch sẽ thực hiện sắp gióng cột lên trình tự bộ gen tham chiếu (Orenil1.0) bằng công cụ HISAT2 [10]. Các vùng gen hoặc transcript mới sẽ được chú giải theo tên gen kết hợp từ cơ sở dữ liệu của NCBI và UCSC. Từ kết quả sắp gióng cột với trình tự gen tham chiếu, các nucleotide sai biệt hay còn gọi là biến thể (variant) có chất lượng tốt (≥ Q20) sẽ được xác định bằng bộ công LoFreq [11]. Các công cụ phân tích hệ gen phiên mã này được tích hợp trong nền tảng Galaxy Australia v23.0. Các gen chứa SNP được phân tích nhóm gen chức năng thuộc Gene Ontology Resource (GO) và Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) bằng công cụ KOBAS 2.0 [12].

2.3. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Các thí nghiệm được triển khai tại Trung tâm Công nghệ Sinh học thành phố Hồ Chí Minh trong thời gian từ tháng 8/2021 - tháng 12/2022.

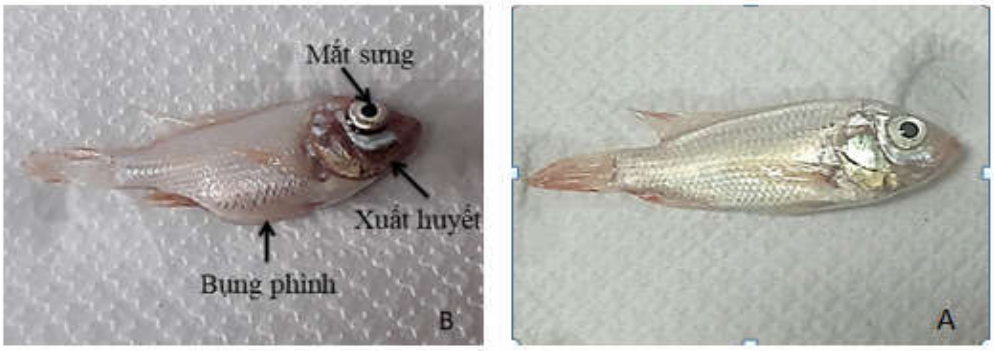
3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Công độc cá rô phi đỏ với TiLV HB196-VN-2020 để thu mẫu phân tích hệ gen phiên mã

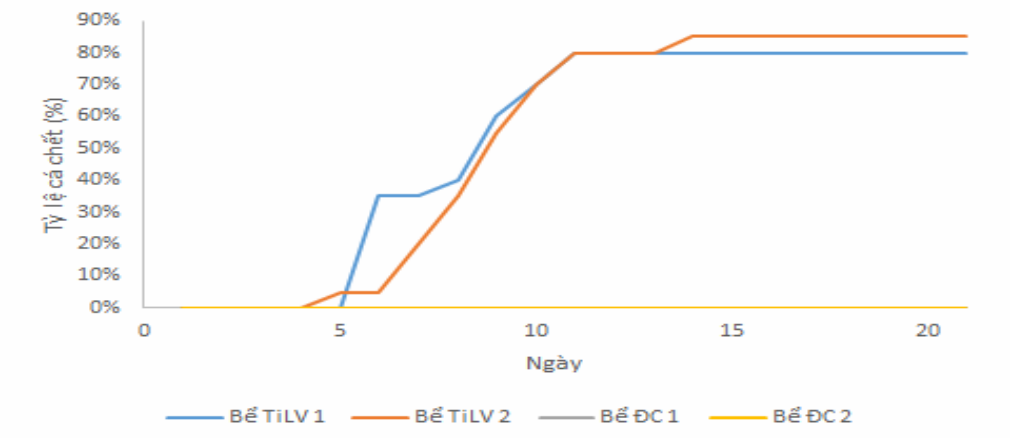
Khi công độc cá rô phi đỏ với liều virus này, cá bắt đầu chết từ ngày thứ 5 sau khi tiêm với các biểu hiện bệnh lý tương tự mục 2.2 (Hình 1). Tỷ lệ chết tích lũy sau 21 ngày theo dõi là 80% ở bể 1 (n = 16, trong đó có 9 mẫu cá lờ đờ) và 85% ở bể 2 (n = 17, trong đó có 7 mẫu cá lờ đờ) (Hình 2). Tổng cộng 12 mẫu cá thu được từ thử nghiệm công độc này, gồm 3 mẫu cá tiêm TiLV chết đầu tiên cùng 3 mẫu cá đối chứng thu cùng thời điểm và 3 mẫu cá tiêm TiLV còn sống ở ngày 21 cùng 3 mẫu cá đối chứng thu cùng thời điểm, được kiểm tra sự hiện diện của TiLV bằng phản ứng semi-nested RT-PCT. Kết quả cho thấy, 6 mẫu cá tiêm TiLV chết và sống trong quá trình công độc đều dương tính với TiLV, trong khi cá đối chứng thì âm tính với TiLV.

Bảng 1. Bố trí thí nghiệm công độc cá rô phi đỏ với chủng TiLV HB196-VN-2020

Liều virus	Số bể	Kích cỡ cá (g)	Tổng số cá (con)	Tổng số cá chết (con)	Tỷ lệ cá chết (%)	Tỷ lệ chết trung bình (%)
Cá tiêm TiLV ($9,1 \times 10^4$ $TCID_{50}$ $cá^{-1}$)	Bể 1	4,81 ± 1,42	20	16	80	82,5 ± 2,5
	Bể 2	4,5 ± 1,14	20	17	85	
Đối chứng âm	Bể 1	5,11 ± 1,84	20	0	0	0 ± 0
	Bể 2	5,07 ± 1,37	20	0	0	



Hình 1. Biểu hiện bệnh lý của cá đối chứng (A) so với cá sau khi tiêm TiLV (B) trong quá trình công độc với chủng HB196-VN-2020



Hình 2. Tỷ lệ chết của cá rô phi đỏ sau khi công độc với chủng TiLV. Bể TiLV: Bể cá rô phi đỏ được tiêm dung dịch TiLV HB196-VN-2020 ở mật độ 9,2 x 10^4 $TCID_{50}$ $cá^{-1}$ bằng phương pháp tiêm; bể ĐC: Bể cá rô phi đối chứng, được tiêm dịch nổi của tế bào E-11

3.2. Giải trình tự RNA

Tổng số trình tự thô thu được từ các mẫu mô cá sống và cá chết được trình bày ở bảng 2. Tổng cộng có 61.078.888 và 61.109.616 trình tự thô từ mô gan của 3 mẫu lặp lại lần lượt ở nhóm cá sống và cá chết; 72.147.568 và 77.493.178 trình tự thô từ mô thận, 61.081.837 và 62.935.656 trình tự từ mô lách; 61.081.422 và 73.261.447 trình tự thô từ mô ruột. Khi gióng với bộ gen tham chiếu của cá rô phi vằn (*Oreochromis niloticus*) Orenil 1.0, bộ gen RNA của các mẫu có tỷ lệ gióng từ 91,31 - 98,64%.

Bảng 2. Bảng tóm tắt kết quả phân tích hệ gen phiên mã của các mẫu mô cá rô phi sống và chết sau khi công độc với vi-rútTiLV

Mô	Mẫu	Trình tự đạt chất lượng Q30 (%)	Tổng số trình tự thô (raw reads)	Trình tự tinh sạch (clean reads)	Trình tự giống được với bộ gen tham chiếu Orenil1.0 (%, mapped reads)
Gan	Cá sống 1	94,90	20.360.372	15.312.563	94,00
	Cá sống 2	94,70	20.358.982	14.992.686	95,07
	Cá sống 3	94,60	20.359.534	14.940.037	94,58
	Cá chết 1	94,30	20.336.756	14.436.127	92,11
	Cá chết 2	94,80	20.360.779	15.166.414	93,71
	Cá chết 3	94,90	20.412.081	15.436.371	93,23

Thận	Cá sống 1	94,40	22.836.135	16.570.305	94,10
	Cá sống 2	94,20	25.354.124	18.258.909	94,86
	Cá sống 3	94,40	23.957.309	17.470.233	94,24
	Cá chết 1	94,60	26.137.240	19.190.466	93,74
	Cá chết 2	94,50	26.025.206	19.046.612	92,94
	Cá chết 3	94,30	25.330.732	18.194.499	91,31
Lách	Cá sống 1	95,00	20.360.774	15.438.671	95,09
	Cá sống 2	94,40	20.360.218	14.608.046	93,81
	Cá sống 3	94,70	20.360.845	15.079.715	93,04
	Cá chết 1	93,00	21.313.640	14.606.226	96,75
	Cá chết 2	94,80	21.211.731	15.843.090	93,66
	Cá chết 3	94,50	20.410.285	14.874.380	92,63
Ruột	Cá sống 1	94,70	20.358.355	15.149.338	90,75
	Cá sống 2	94,60	20.362.028	14.848.373	92,30
	Cá sống 3	94,80	20.361.039	15.193.433	95,27
	Cá chết 1	94,50	20.901.871	15.229.750	94,19
	Cá chết 2	94,60	20.988.958	15.329.726	92,23
	Cá chết 3	93,00	31.370.618	21.496.976	98,64

3.3. Chọn lọc các SNPs tiềm năng liên quan đến tính TiLV ở cá rô phi đỏ

3.3.1. Mô gan

Khi so sánh với bộ gen tham chiếu Orenil1.0, số lượng và đặc điểm các SNP phát hiện trên hệ gen phiên mã mẫu mô gan của cá rô phi đỏ dung trong nghiên cứu được trình bày ở bảng 3. Tổng cộng 1.460 SNP chỉ hiện diện ở nhóm cá sống và không có mặt ở nhóm cá chết được lọc ra từ dữ liệu SNP của 6 mẫu cá. Trong đó có 1.380 SNP thuộc các gen phiên mã chưa rõ chức năng. Các SNP còn lại nằm trên 58 gen thuộc nhóm gen chức năng về chu trình sinh học, 62 gen thuộc nhóm chức năng phân tử, 41 gen có chức năng về cấu trúc tế bào 91 gen không rõ chức năng trong dữ liệu GO. Đối với dữ liệu KEGG, các SNP này tồn tại ở 2 gen thuộc nhóm gen chức năng về chu trình tế bào, 4 gen thuộc nhóm chu trình thông tin môi trường, 5 gen có chức năng về trao đổi chất, 6 gen liên quan chức năng hệ thống sinh vật và 2 gen không xác định rõ chức năng trong dữ liệu KEGG.

Bảng 3. Các SNPs hiện diện tại các mẫu mô cá rô phi đỏ khi so với bộ gen tham chiếu Orenil1.0 của cá rô phi vằn

Loại cá	Số lượng SNP so với bộ gen tham chiếu Orenil1.0				Số lượng SNP chỉ hiện diện ở nhóm cá sống sau quá trình công độc TiLV			
	Gan	Thận	Lách	Ruột	Gan	Thận	Lách	Ruột
Cá sống 1	33.130	69.409	54.984	47.172	1.460	1.939	6.217	896
Cá sống 2	35.889	94.746	73.004	61.618				
Cá sống 3	61.125	74.428	103.301	28.980				
Cá chết 1	30.131	71.628	2.820	32.228	-	-	-	-
Cá chết 2	33.965	62.364	34.031	55.254				
Cá chết 3	31.629	80.188	65.358	4.273				

Vì gan là một trong những cơ quan đích chính của TiLV nên việc phân tích hệ gen phiên mã của gan sau khi công độc với TiLV sẽ cung cấp nhiều thông tin hữu ích về con đường xâm nhiễm của tác nhân gây bệnh này trên cá và tiềm năng chống chịu lại TiLV của cơ quan này [13].

3.3.2. Mô thận

Khi so sánh với bộ gen tham chiếu Orenil1.0, số lượng và đặc điểm các SNP phát hiện trên hệ gen phiên mã mẫu mô thận của cá rô phi đỏ dùng trong nghiên cứu được trình bày ở bảng 3. Tổng cộng 1.939 SNP chỉ hiện diện ở nhóm cá sống và không có mặt ở nhóm cá chết được lọc ra từ dữ liệu SNP của 6 mẫu cá. Trong đó, có 1.904 SNP thuộc các gen phiên mã chưa rõ chức năng. Các SNP còn lại nằm trên 73 gen thuộc nhóm gen chức năng về chu trình sinh học, 87 gen thuộc nhóm chức năng phân tử, 65 gen có chức năng về cấu trúc tế bào và 121 gen không rõ chức năng trong dữ liệu GO. Đối với dữ liệu KEGG, các SNP này tồn tại ở 3 gen thuộc nhóm gen chức năng về chu trình tế bào, bốn gen thuộc nhóm chu trình thông tin môi trường, 20 gen có chức năng về trao đổi chất, 4 gen liên quan chức năng hệ thống sinh vật và 2 gen không xác định rõ chức năng trong dữ liệu KEGG.

Chức năng của thận ở cá bao gồm hệ thống tạo máu, lưới nội mô, nội tiết và bài tiết [14], [15]. Phần trước của thận (được định nghĩa là thận trước, thận trước, hay thận đầu) là vị trí chính để tạo máu và chủ yếu bao gồm mô tạo máu và mô bạch huyết với một số mô nội tiết giống tuyến thượng thận. Trong khi đó, thận sau hoạt động như một hệ thống thận thông thường [14], [15]. Phần thận đầu của cá dường như là cơ quan chính để sản xuất kháng thể với sự hiện diện của tiền chất tế bào B và tế bào plasma đang tăng sinh. Sự phát triển của các tế bào B xảy ra ở thận trước, sau đó được phân phối qua máu đến lá lách và thận sau để hoạt hóa, dẫn đến giai đoạn nguyên bào và các tế bào huyết tương trưởng thành, sau đó được di dời ở thận trước để tồn tại lâu dài [16], [17].

3.3.3. Mô lách

Khi so sánh với bộ gen tham chiếu Orenil1.0, số lượng và đặc điểm các SNP phát hiện trên hệ gen phiên mã mẫu mô lách của cá rô phi đỏ dùng trong nghiên cứu được trình bày ở bảng 3. Tổng cộng 6.217 SNP chỉ hiện diện ở nhóm cá sống và không có mặt ở nhóm cá chết được lọc ra từ dữ liệu SNP của 6 mẫu cá. Trong đó, có 3.823 SNP thuộc các gen phiên mã chưa rõ chức năng. Các SNP còn lại nằm trên 456 gen thuộc nhóm gen chức năng về chu trình sinh học, 557 gen thuộc nhóm chức năng phân tử, 497 gen có chức năng về cấu trúc tế bào và 774 gen không rõ chức năng trong dữ liệu GO. Đối với dữ liệu KEGG, các SNP này tồn tại ở 40 gen thuộc nhóm gen chức năng về chu trình tế bào, 23 gen thuộc nhóm chu trình thông tin môi trường, 112 gen có chức năng về trao đổi chất, 20 gen liên quan chức năng hệ thống sinh vật và 14 gen không xác định rõ chức năng trong dữ liệu KEGG.

Lách được tìm thấy ở hầu hết các động vật có xương sống và có vai trò như lọc máu, phá hủy hồng cầu, biểu diễn kháng nguyên và sản xuất kháng thể [15], [18]. Cấu trúc lách của cá có xương sống và động vật có vú tương tự nhau với mạch máu và phần củi đỏ và trắng khác biệt [14], [15]. Lách có thể là ở chứa dịch bệnh chủ yếu. So với các cơ quan khác (da, cơ, mang và gan), lách và thận được tìm thấy có chứa lượng tác nhân gây bệnh (virus và vi khuẩn) cao, có thể dẫn đến việc ức chế hệ thống miễn dịch [19].

3.3.4. Mô ruột

Khi so sánh với bộ gen tham chiếu Orenil1.0, số lượng và đặc điểm các SNP phát hiện trên hệ gen phiên mã mẫu mô ruột của cá rô phi đỏ dùng trong nghiên cứu được trình bày ở bảng 3. Tổng cộng 896 SNP chỉ hiện diện ở nhóm cá sống và không có mặt ở nhóm cá chết được lọc ra từ dữ liệu SNP của 6 mẫu cá. Trong đó, có 883 SNP thuộc các gen phiên mã chưa rõ chức năng. Các SNP còn lại nằm trên 15 gen thuộc nhóm gen chức năng về chu trình sinh học, 13 gen thuộc nhóm chức năng phân tử, 6 gen có chức năng về cấu trúc tế bào và 34 gen không rõ chức năng trong dữ liệu GO. Đối với dữ liệu KEGG, các SNP này tồn tại ở 2 gen thuộc nhóm gen chức năng về chu trình tế bào, 1 gen thuộc nhóm chu trình thông tin môi trường, 2 gen có chức năng về trao đổi chất, 3 gen liên quan chức năng hệ thống sinh vật và 2 gen không xác định rõ chức năng trong dữ liệu KEGG.

Mô lympho gắn với ruột được xem là một đặc tính cố định của động vật có xương, mặc dù ở cá chưa thấy cấu trúc Peyer hay các khu tích tụ tế bào lympho rõ ràng như ở động vật có vú, chim và

bò sát [20]. Mô lympho gắn với ruột cá bao gồm quần thể thường xuyên trộn lẫn giữa các tế bào miễn dịch cũng như các tế bào lympho tập hợp lỏng lẻo và phân tán, tế bào hạt bạch cầu ái toan, tế bào hình que, bạch cầu trung tính và đại thực bào trong lớp đệm ruột [21]. Mặc dù globulin miễn dịch IgM trong huyết thanh được vận chuyển vào niêm mạc ruột khi gặp tác nhân gây bệnh, các kháng thể hòa tan được sản xuất tại chỗ (IgM, IgT, IgZ) có thể được tiết ra tích cực bởi các tế bào huyết tương tương tự GALT [22]. Đoạn ruột sau, hay đoạn ruột sau, ban đầu được phát hiện là vị trí ưu tiên của quá trình hấp thu và xử lý kháng nguyên của vi khuẩn, gây ra phản ứng miễn dịch của cả hệ thống và niêm mạc đối với các tác nhân gây bệnh trong ruột [23].

Fu và cs (2014) tìm thấy các SNP ở gen mã hóa protein liên kết lipopolysaccharide có liên quan đến mức độ kháng khác nhau đối với *Aeromonas hydrophila* [24], trong khi đó một nghiên cứu khác của Fu và cs (2014), Shen và cs (2015) lần lượt công bố rằng SNP trên các kiểu gen đơn bội trên gen mã hóa mast cell protease 8 và gen *duodenase-1* có liên kết với tính kháng *S. agalactiae* ở cá rô phi sau khi phân tích trình tự nulelotide của các gen này ở các cơ quan khác nhau như gan, thận, ruột và lách [25], [26]. Tương tự đối với một số loài cá khác, bằng kỹ thuật RNA-seq, Liu và cs (2011) đã phát hiện 342.104 SNP của cá nheo Mỹ, 366.269 SNP của cá nheo lục (*Ictalurus furcatus*) và 420.727 SNP chung giữa hai loài cá này [27]. Tương tự, 712.042 SNP riêng và 53.893 SNP chung của bốn dòng cá chép thường (*Cyprinus carpio*) cũng đã được tìm thấy và đây là những dữ liệu quan trọng phục vụ các nghiên cứu di truyền tiếp theo trên các dòng cá này [28]. 22 SNP và một kiểu gen ty thể đơn bội đã được chứng minh có liên quan đến tính trạng tăng trưởng của cá hồi vân [29]. RNA-seq đã thành công trong việc đánh giá sự biểu hiện gen đặc trưng theo alen (allele-specific expression) ở con lai F1 của cá mún (*Xiphophorus maculates*) và cá kiếm (*Xiphophorus couchianus*) [30]. Gần đây, Lillehammer và cs (2020) xác định 18.643 SNP có thể dung để chọn lọc hệ gen ở tôm thẻ chân trắng (*Litopenaeusvannamei*) đối với tính kháng virus Đốm trắng (White spot syndrome virus) [31].

Trong những năm gần đây, việc phát triển và ứng dụng SNP trong nghiên cứu thủy sản đang dần được quan tâm và đầu tư. Năm 2014, Nguyen và cs (2014) đã phát triển được bộ chỉ thị với 179 SNP để ước tính giá trị chọn giống và hệ số di truyền của khối lượng, hình dạng và năng suất thịt của vẹm xanh (*Mytilus galloprovosystemis*) [32]. Nguyễn Thị Minh Thanh và cs (2018) đã chọn lọc 1.799 SNP ở nhóm tôm sú (*Penaeus monodon*) lớn nhanh và 2 SNP trên gen mã hóa protein myosin heavy chain (MHC) liên quan đến tính trạng tăng trưởng của họ giáp xác [33].

4. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

4.1. Kết luận

Đây là nghiên cứu đầu tiên ở Việt Nam về hệ gen phiên mã của cá rô phi đỏ sống và chết sau khi công độc với chủng TiLV. Tổng cộng 10.512 SNP tiềm năng được tìm thấy từ dữ liệu hệ gen phiên mã của bốn mẫu mô (gan, thận, lách và ruột) có thể được ứng dụng để phát triển chip SNP nhằm chọn giống cá rô phi đỏ có sức đề kháng lại sự xâm nhiễm của TiLV.

4.2. Đề nghị

Kết quả của nghiên cứu hiện tại còn mang tính bước đầu nên cần phải được tìm hiểu sâu hơn về mối liên hệ của các SNP này với tính kháng TiLV của cá rô phi đỏ với số lượng mẫu lớn hơn. Dữ liệu di truyền hiện tại là hệ gen phiên mã (hệ gen chức năng) nên chỉ chiếm một phần nhỏ so với toàn bộ hệ gen của loài cá rô phi đỏ. Do đó, dữ liệu bộ gen cần được giải trình tự thêm để sàng lọc các SNP ở vùng gen không mã hóa.

LỜI CẢM ƠN

Các kết quả nghiên cứu trong bài báo này đều thuộc nhiệm vụ khoa học công nghệ "Phân tích hệ gen phiên mã (transcriptome) của cá rô phi đỏ (Oreochromis spp.) nhằm sang lọc các chỉ thị phân tử tiềm năng có liên quan đến tính kháng virus TiLV (Tilapia Lake Virus)" (Mã số:TS01/19-21) do Sở Nông nghiệp và Phát triển nông thôn thành phố Hồ Chí Minh cấp kinh phí.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Tran T. H., V. T. H. Nguyen, H. C. N. Bui, Y. B. T. Tran, H. T. T. Tran, T. T. T. Le, H. T. T. Vu, T. P. H. Ngo (2022). Tilapia Lake Virus (TiLV) from Vietnam is genetically distantly related to TiLV strains from other countries. *Journal of Fish Diseases.*, 45 (9): 1389–1401.

2. Collins J. E, S. White, S. M Searle and D. L. Stemple (2012). Incorporating RNA-seq data into the zebrafish Ensemblgenebuild. *Genome Research*, 22 (10): 2067–2078.

3. Liu S., Y. Zhang, Z. Zhou, G. Waldbieser, F. Sun, J. Lu, J. Zhang, Y. Jiang, H. Zhang, X. Wang, K. V. Rajendran, L. Khoo, H. Kucuktas, E. Peatman and Z. Liu (2012). Efficient assembly and annotation of the transcriptome of catfish by RNA-Seq analysis of a doubled haploid homozygote. *BMC Genomics*, 13 (1): 595

4. Sarropoulou E., J. Galindo-Villegas, A. Garcia-Alcazar, P Kasapidis and V Mulero (2012). Characterization of European sea bass transcripts by RNA SEQ after oral vaccine against *V. anguillarum. Marine Biotechnology* (NY)., 14 (5): 634–642.

5. Palstra A. P., S. Beltran, E Burgerhout, S. A. Brittijn, L. J. Magnoni, C. V. Henkel, H. J. Jansen, GE van den Thillart, HP Spaink and J. V. Planas (2013). Deep RNA sequencing of the skeletal muscle transcriptome in swimming fish. *PLoS One*, 8 (1): e53171.

6. Qian X., Y. Ba, Q. Zhuang and G. Zhong (2013). RNA-Seq technology and its application in fish transcriptomics. *OMICS*, 18 (2): 98-110.

7. Bell C. G. & S. Beck (2009). Advances in the identification and analysis of allele-specific expression. *Genome Medicine*, 1 (5): 56.

8. Andrews S. (n.d.). *Fast QC A Quality control tool for High Throughput Sequence Data*. http://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/. Access 25/6/2023.

9. Bolger A. M., M. Lohse and B. Usadel (2014). Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data. *Bioinformatics*, 30 (15): 2114–2120.

10. Kim D., B. Langmead and S. L. Salzberg (2015). HISAT: a fast spliced aligner with low memory requirements. *Nature Methods*, 12 (4): 357–360.

11. Wilm A., P. P. Aw, D. Bertrand, G. H. Yeo, S. H. Ong, C. H. Wong, C. C. Khor, R. Petric, M. L. Hibberd and N. Nagarajan (2012). LoFreq: a sequence-quality aware, ultra-sensitive variant caller for uncovering cell-population heterogeneity from high-throughput sequencing datasets *Nucleic Acids Research*, 40 (22): 11189–11201.

12. Xie C., X. Mao, J. Huang, Y. Ding, J. Wu, S. Dong, L. Kong, G. Gao, C. Y. Li and L. Wei (2011). KOBAS 2.0: A web server for annotation and identification of enriched pathways and diseases *Nucleic Acids Research.*, 39 (Web Server issue): W316-22.

13. Sood N., D. K. Verma, A Paria, S. C. Yadav, M. K. Yadav, M. K. Bedekar, S. Kumar, T. R. Swaminathan, C. V. Mohan, K. V. Rajendran, P. K. Pradhan (2021). Transcriptome analysis of liver elucidates key immune-related pathways in Nile tilapia *Oreochromis niloticus* following infection with tilapia lake virus. *Fish and Shellfish Immunology*, 111: 208–219.

14. Secombes C. J. and T. Wang (2012). The innate and adaptive immune system of fish, in *Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition*, B. B. T. -I. D. in A. Austin, Ed. Woodhead Publishing, 3 - 68.

15. Castro R. and C. Tafalla (2015). Overview of fish immunity. B. H. Beck and E. B. T.-M. H. in A. Peatman, Eds. San Diego: Academic Press, 3–54.

16. Zwollo P., A. Haines, P. Rosato and J. Gumulak-Smith (2008). Molecular and cellular analysis of B-cell populations in the rainbow trout using Pax5 and immunoglobulin markers. *Developmental and Comparative Immunology*, 32 (12): 1482–1496.

17. Ye J., I. Kaattari and S. Kaattari (2011). Plasmablasts and plasma cells: reconsidering teleost immune system organization. *Developmental and Comparative* Immunology, 35 (12): 1273–1281.

18. Zapata A. (1982). Lymphoid organs of teleost fish. III. Splenic lymphoid tissue of *Rutilus rutilus* and *Gobio gobio*. *Developmental and Comparative Immunology*, 6 (1): 87 - 94.

19. Nazarenko E. L., R. J. Crawford and E. P. Ivanova (2011). The structural diversity of carbohydrate antigens of selected gram-negative marine bacteria. *Marine Drugs*, 9 (10): 1914-1954.

20. Peterson B. C., C. Flora, M. Wood, B. G. Bosworth and S. M. Quiniou (2016. Vaccination of Full-sib Channel Catfish Families Against Enteric Septicemia of Catfish with an Oral Live Attenuated *Edwardsiellaictaluri* Vaccine. *Journal of World Aquaculture Society*, 47 (2): 207–211.

21. Reite O. B. and O. Evensen (2006). Inflammatory cells of teleostean fish: a review focusing on mast cells/eosinophilic granule cells and rodlet cells. *Fish and Shellfish Immunology*, 20 (2): 192–208.

22. Flajnik M. F. (2010). All GOD's creatures got dedicated mucosal immunity. *Nature Immunology*, 11 (9): 777–779.

23. Rombout J. H. W. M., H. E. Bot and J. J. Taverne-Thiele (1989). Immunological importance of the second gut segment of carp. *Journal of Fish Biology*, 35: 167-178.

24. Fu G. H., Liu F., Xia J. and Yue G. H. (2014). The LBP gene and its association with resistance to *Aeromonas hydrophila* in Tilapia. *International Journal of Molecular Sciences*, 15 (12): 22028 – 22041.

25. Fu G. H., Wan Z. Y., Xia J. H., Liu F., Liu X. J., and Yue G. H. (2014). The MCP-8 gene and its possible association with resistance to *Streptococcus agalactiae* in tilapia. *Fish and Shellfish Immunology*, 40(1): 331 - 336.

26. Shen Y, Fu GH, Liu F and Yue GH (2015). Characterization of the duodenase-1 gene and its associations with resistance to *Streptococuus agalactiae* in hybrid tilapia (*Oreochromis* spp.). *Fish and Shellfish Immunology*, 45(2): 717–724.

27. Liu S., Zhou Z., Lu J., Sun F., Wang S., Liu H., Jiang Y., Kucuktas H., Kaltenboeck L., Peatman E. and Liu Z. (2011). Generation of genome-scale gene-associated SNPs in catfish for the construction of a high-density SNP array. *BMC Genomics*, 12(53), doi: 10.1186/1471-2164-12-53.

28. Xu J., Ji P., Zhao Z., Zhang Y., Feng J., Wang J., Li J., Zhang X., Zhao L., Liu G., Xu P. and Sun (2012). Genome-Wide SNP Discovery from Transcriptome of Four Common Carp Strains. *PLoS One*, 7(10): e48140.

29. Salem M., Vallejo R. L., Leeds T. D., Palti Y., Liu S., Sabbagh A., Rexroad 3rd C. D., Yao J. (2012). RNA-Seq Identifies SNP Markers for growth traits in rainbow trout. *PLoS One*, 7(5): e36264

30. Shen Y., Catchen J., Garcia T., Amores A., Beldorth I., Wagner J., Zhang Z., Postlethwait J., Warren W., Schartl M. and Walter R. B. (2012). Identification of transcriptome SNPs between Xiphophorus lines and species for assessing allele specific gene expression within F1 interspecies hybrids. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 155(1): 102–108.

31. Lillehammer M., Bangera R., Salazar M., Vela S., Erazo E. C., Suarez A., Cock J., Rye M. and Robinson N. A. (2020). Genomic selection for white spot syndrome virus resistance in whiteleg shrimp boosts survival under an experimental challenge test. *Scientific Reports*, 10(1): 20571.

32. Nguyen T. T. T., Hayes B. J., and Ingram B. A. (2014). Genetic parameters and response to selection in blue mussel (*Mytilus galloprovincialis*) using a SNP-based pedigree. *Aquaculture*, 420 - 421: 295 - 301

33. Nguyễn Thị Minh Thanh, Nguyễn Quyết Tâm, Nguyễn Văn Hảo, Nguyễn Văn Sáng, Nguyễn Đăng Tôn, Ma Thị Huyền Thương, Kim Thị Phương Oanh, Nông Văn Hải, Nguyễn Thị Hoa, Hà Thị Thu, Vũ Thị Hiền, Nguyễn Đình Duy, Trần Xuân Thạch, Nguyễn Thị Tuyết Nhung, Nguyễn Hữu Ninh, Đồng Văn Quyền, Đinh Duy Kháng (2018). Ứng dụng kỹ thuật xác định kiểu gen bằng giải trình tự (GBS) để sàng lọc các đa hình nucleotide đơn (SNPs) liên quan đến tính trạng tăng trưởng ở tôm sú (*Penaeus monodon*). *Tạp chí Công nghệ sinh học*, 16(1): 75-85.

SELECTION OF SINGLE-NUCLEOTIDE POLYMORPHISM (SNP) POTENTIALLY ASSOCIATED WITH TILAPIA LAKE VIRUS RESISTANCE IN RED TILAPIA (*Oreochromis* spp.)

Nguyen Hoang Thuy Vy[1], Tran Hanh Triet[1], Tran Thi Binh Yen[2], Bui Nguyen Chi Hieu[1], Le Thi Thu Thao[1], Vu Thi Thanh Huong[1], Tran Thi Thanh Huong[1], Ngo Huynh Phuong Thao[1]

[1] Division of Aquacultural Biotechnology, Biotechnology Center of Ho Chi Minh city

[2] University of Science, Vietnam National University Ho Chi Minh city

Summary

Tilapia Lake Virus (TiLV) is recorded as a threat to tilapia farms in 17 countries from four continents with the fish mortalities up to 90%. This is the first study in Vietnam on the transcriptomic analysis of dead and survived red tilapia post the TiLV challenge. A TiLV isolate HB196-VN-2020 was propagated successfully from a diseased tilapia sample using an E-11 cell line and had 70% lethal dose of 9.1 x 10^4 $TCID_{50}$ $fish^{-1}$in red tilapia. Liver, kidney, gut and spleen of three dead fish during the TiLV challenge and three survived ones at the end of the challenge experiment were collected for RNA extraction and sequencing. Total raw reads of each sample were over 20 million, Q30> 93%, alignment percent with the reference genome Orenil1.0 >90%. In comparison with transcriptomic data of dead fish, those of live fish contained the number of unique single-nucleotide polymorphism (SNPs) in liver, kidney, spleen and gut at 1,460, 1,939, 6,217 and 896, respectively. These initial results suggest further work on employing SNPs in aquatic animal breeding using genomic information.

Keywords: *Red tilapia, Tilapia Lake Virus, RNA-seq, single-nucleotide polymorphism (SNP).*

Người phản biện: PGS.TS. Đặng Thị Lụa

Ngày nhận bài: 17/7/2023

Ngày thông qua phản biện: 6/8/2023

Ngày duyệt đăng: 5/9/2023

NGHIÊN CỨU BẢO QUẢN TINH CÁ SONG VUA (*Epinephelus lanceolatus* Bloch, 1790)

Kim Thị Thoa[1, *], Trần Thị Mai Hương[1], Phạm Hồng Nhật[1],
Lê Văn Khôi[1], Hoàng Nhật Sơn[1]

TÓM TẮT

Nghiên cứu xác định dung dịch bảo quản, nồng độ chất chống đông phù hợp nhằm xây dựng quy trình kỹ thuật bảo quản tinh cá song vua ngắn hạn và dài hạn trong nitơ lỏng. Tinh trùng cá song vua được pha loãng trong các dung dịch bảo quản (ASP, Hank cải tiến, Frank), tỷ lệ pha loãng tinh: dung dịch bảo quản là 1: 3 và được bảo quản trong tủ lạnh ở nhiệt độ 4°C. Bảo quản tinh dài hạn sử dụng 3 dung dịch bảo quản (MPRS, AP và Ex.3) với chất chống đông Dimethyl sunfoxit (DMSO) ở các nồng độ (8%, 10%, 12%). Kết quả cho thấy, Frank là dung dịch bảo quản tối ưu bảo vệ tinh trùng cá song vua lưu giữ ở nhiệt độ 4°C, cho chất lượng tốt nhất với hoạt lực 70,5% sau 5 ngày và duy trì hoạt lực 16% sau 11 ngày. Sử dụng MPRS (DMSO 12%) và AP (DMSO 10%) là những dung dịch bảo quản tối ưu trong bảo quản tinh cá song vua dài hạn. Hoạt lực tinh sau bảo quản 1 tháng cao nhất lần lượt đạt 63,89% và 65,00% so với đối chứng sử dụng tinh tươi 88,89% ($p<0,05$). Nghiên cứu này đã xác định phương pháp bảo quản lạnh tinh trùng cá song vua tối ưu cùng với hướng nghiên cứu sử dụng tinh đông lạnh đánh giá hiệu quả thụ tinh nhằm ứng dụng trong sản xuất giống tạo cá song lai.

Từ khóa: *Bảo quản tinh, cá song vua, dung dịch bảo quản.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bảo quản tinh ngắn hạn ở nhiệt độ thấp 0 - 4°C và bảo quản tinh dài hạn trong nitơ lỏng (-196°C) là hai phương pháp phổ biến sử dụng trong bảo tồn, lưu giữ nguồn gen và cho việc chủ động sinh sản nhân tạo. Kỹ thuật bảo quản tinh ngắn hạn đã được phát triển cho một số loài có giá trị kinh tế và thương mại. Từ năm 2009 đến nay có nhiều công trình nghiên cứu về bảo quản tinh dài hạn trên đối tượng cá song nhằm mục đích ứng dụng tinh bảo quản để tạo con lai khác loài, tạo ưu thế lai [1], [2].

Ở Việt Nam nghiên cứu bảo quản tinh động vật thủy sản được thực hiện từ năm 2000 đến nay và chủ yếu trên một số loài cá nước ngọt như cá chép, cá tra, cá bỗng, trắm cỏ, Mrigal, đối với một số đối tượng cá biển việc bảo quản tinh đã được công bố như cá giò, cá song [3], [4], [5], cá chẽm [6], cá mú cọp [7] còn đối với cá song vua thì chưa công trình nào được công bố.

Dựa trên kết quả nghiên cứu bảo quản tinh cá song vua trên thế giới đã thành công và tiếp cận với kết quả nghiên cứu bảo quản tinh cá chẽm mõm nhọn, cá mú cọp trong tủ lạnh [6], [7], nghiên cứu bảo quản tinh cá song vua, là loài lớn nhất trong tất cả các loài cá song, sinh trưởng nhanh và có giá trị kinh tế cao đã được thực hiện. Mục đích của nghiên cứu là xác định dung dịch bảo quản, nồng độ chất chống đông phù hợp là cơ sở xây dựng quy trình kỹ thuật bảo quản tinh cá song vua ngắn hạn và dài hạn, tiến tới ứng dụng tinh bảo quản tạo cá song lai ở nước ta, phục vụ nhu cầu giống của người nuôi cá biển.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Thu mẫu tinh và đánh giá chất lượng tinh cá song vua

Cá song vua sử dụng trong nghiên cứu là hai con có khối lượng 43 kg và 69 kg, độ tuổi >8, thành thục được nuôi giữ trong các lồng nuôi có kích thước 3 x 6 x3 m tại Bè Việt Hải, thuộc Trung tâm Quốc gia Giống hải sản miền Bắc, Cát Bà, Hải Phòng. Nghiên cứu được tiến hành trong thời gian từ tháng 7 đến tháng 11 năm 2022.

Trước khi thu tinh, dùng khăn lau sạch xung quanh lỗ sinh dục để không lẫn tạp nhằm thu được

[1] Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản I
[*] Email: kimthoa7575@ria1.org

mẫu đạt chất lượng. Dùng tay vuốt nhẹ từ phía bụng xuôi về lỗ sinh dục, cho tinh chảy từ từ vào cốc thuỷ tinh đã khử trùng, sẹ đặc màu trắng sữa chảy ra, để khô, tránh không để tạp chất như phân, máu lẫn vào. Tinh thu xong giữ trong hộp xốp có đá lạnh, đảm bảo nhiệt độ khoảng 10 - 15°C và tránh ánh nắng trực tiếp ảnh hưởng đến chất lượng tinh trùng.

Xác định hoạt lực tinh: Nhỏ 10 µl tinh trùng trên lam kính, cho thêm một giọt nước biển sạch để kích hoạt tinh trùng. Nhanh chóng đậy một lamen lên giọt tinh dịch sao cho giọt tinh dịch được giàn đều ra 4 cạnh. Quan sát hoạt động của tinh trùng trên kính hiển vi có độ phóng đại 400 lần. Chất lượng tinh trùng được đánh giá bằng tỷ lệ % tinh trùng có hoạt động tiến thẳng trên tổng số tinh trùng có trong vi trường quan sát. Những mẫu tinh có hoạt lực trên 85% được đưa vào nghiên cứu.

2.2. Bảo quản tinh cá song vua ngắn hạn

Thí nghiệm 1: Xác định dung dịch bảo quản phù hợp. Pha loãng tinh dịch với 3 dung dịch bảo quản (Extender) sau: ASP, Hank cải tiến, Frank ở tỷ lệ pha loãng tinh: dung dịch bảo quản là 1: 3. Thành phần dung dịch bảo quản sử dụng để bảo quản tinh trùng trong tủ lạnh được thể hiện ở bảng 1. Tinh trùng sau khi pha loãng trong dung dịch bảo quản được cho vào các ống trữ mẫu cryotube 2 ml và ống pancol 20 ml, chuyển vào lưu giữ trong tủ lạnh nhiệt độ 4°C. Sau thời gian 1 ngày và cứ cách 2 ngày kiểm tra hoạt lực tinh, theo dõi trong 11 ngày.

Bảng 1. Thành phần dung dịch bảo quản (Extender) trong 500 ml nước cất

Đơn vị tính: g

Thành phần	Dung dịch bảo quản					
	ASP	Hanks cải tiến	Frank	MPRS	AP	Ex.3
NaCl	2,5	4,0	0,5	1,76	3,95	5,0
NaH_2PO_4	0,13		0,075	0,108		
$NaHCO_3$	0,05	0,175	2,5	0,126	0,84	0,25
KCl	0,2	0,2	0,1	0,195	0,075	
KH_2PO_4		0,03				
$CaCl_2.2H_2O$	0,05	0,09	0,033	0,083	0,095	
$MgCl_2.6H_2O$	0,1			0,15	0,234	
$MgSO_4$			0,025			
$MgSO_4.7H_2O$		0,1				
Na_2HPO_4		0,0239	0,075			
D-Glucose		0,5	4,5	5,0		3,3
HEPES					1,19	
pH	8,1			6,5		

Ghi chú: ASP: artificial seminal plasma, Hanks cải tiến: Modified Hank'sbalanced salt solution [8], MPRS: modifi ed plaice ringer solution, AP: artificial plasma, Ex.3: Extender 3

2.3. Bảo quản tinh cá song vua dài hạn

Pha loãng tinh dịch với dung dịch bảo quản và chất chống đông Dimethyl sunfoxit (DMSO), tỷ lệ pha loãng tinh: Dung dịch bảo quản là 1: 3. Sau khi tinh được pha loãng với extender và chất chống đông, lắc đều để cân bằng ở nhiệt độ 4 - 6°C trong 5 phút. Sau đó tinh được hút vào cọng mẫu có thể tích 0,25 ml bằng pipet và được hàn kín bằng panh đã hơ nóng trên đèn cồn, thấm khô và làm lạnh theo phương pháp sử dụng hơi nitơ lỏng trực tiếp cách bề mặt 6 cm trong 10 phút, sau đó chuyển vào các Canister trong bình nitơ lỏng (-196°C) để bảo quản dài hạn. Sau 1 tuần, 1 tháng tinh bảo quản được giải đông trong nước ấm khoảng 40°C trong thời gian 5 - 6 giây, thấm khô

cọng rạ cắt 2 đầu cọng, kiểm tra hoạt lực tinh sau bảo quản.

Để xác định dung dịch bảo quản và nồng độ chất chống đông phù hợp, tiến hành các thí nghiệm sau:

Thí nghiệm 2: Xác định dung dịch bảo quản. Sử dụng 3 dung dịch bảo quản là MPRS, AP và Ex.3 (Bảng 1), chất chống đông DMSO 10%, tỷ lệ pha loãng tinh: Dung dịch bảo quản là 1: 3. Các cọng mẫu tinh được làm lạnh, giải đông và kiểm tra hoạt lực tinh. Thí nghiệm lặp lại 3 lần cho mỗi công thức thí nghiệm. Đối chứng là tinh tươi trước khi đưa vào bảo quản.

Thí nghiệm 3: Xác định nồng độ chất chống đông. Dựa trên kết quả thí nghiệm 1, 2 dung dịch bảo quản cho hiệu quả cao (MPRS và AP) kết hợp với chất chống đông DMSO ở các nồng độ khác nhau (8, 10, 12%), tỷ lệ pha loãng tinh: dung dịch bảo quản là 1: 3. Các cọng mẫu tinh được làm lạnh, giải đông và kiểm tra hoạt lực tinh. Thí nghiệm lặp lại 3 lần cho mỗi công thức thí nghiệm. Đối chứng là tinh tươi trước khi đưa vào bảo quản.

2.4. Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu được thu thập và phân tích phương sai một yếu tố (One-way ANOVA) bằng phần mềm SPSS 22.0, so sánh Turkey với mức ý nghĩa α = 0,05. Số liệu là tỷ lệ phần trăm được chuyển đổi (arcos) về dạng phân phối chuẩn trước khi đưa vào phân tích.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Xác định dung dịch bảo quản phù hợp để bảo quản tinh trùng cá song vua trong tủ lạnh

Hoạt lực (%) của tinh trùng cá song vua bảo quản trong ba dung dịch bảo quản và hai ống trữ mẫu thể tích khác nhau được theo dõi trong 11 ngày được trình bày ở bảng 2.

Bảng 2. Ảnh hưởng của dung dịch bảo quản và ống trữ mẫu khác nhau đến chất lượng tinh cá song vua bảo quản ngắn hạn

Chất bảo quản/ốngtrữ mẫu	Sau 1 ngày (N = 10)	Sau 3 ngày (N = 10)	Sau 5 ngày (N = 10)	Sau 7 ngày (N = 10)	Sau 9 ngày (N = 10)	Sau 11 ngày (N = 10)
ASP/Cryotube (E1S1)	82,5 ± 5,40^{a}	79,0 ± 5,68^{a}	62,5 ± 7,91^{b}	39,50 ± 6,43^{c}	15,5 ± 3,69^{c}	-
ASP/Pancol (E1S2)	81,5 ± 3,37^{a}	78,0 ± 5,87^{a}	61,5 ± 4,74^{b}	40,00 ± 7,45^{c}	16,0 ± 3,94^{c}	-
Hanks/Cryotube (E2S1)	81,5 ± 3,37^{a}	76,5 ± 4,12^{a}	69,5 ± 3,69^{a}	50,50 ± 6,85^{b}	30,0 ± 4,08^{b}	10,0 ± 4,08^{b}
Hanks/ Pancol(E2S2)	80,5 ± 4,38^{a}	77,5 ± 4,25^{a}	67,0 ± 5,37^{ab}	51^{a},50 ± 6,69^{b}	28,5 ± 5,30^{b}	10,5 ± 3,69^{b}
Frank/Cryotube (E3S1)	83,5 ± 4,12^{a}	80,0 ± 3,33^{a}	70,5 ± 3,69^{a}	62,00 ± 4,83^{a}	40,5 ± 6,85^{a}	16,0 ± 3,94^{a}
Frank/ Pancol(E3S2)	82,5 ± 3,5^{a}	81,5 ± 3,37^{a}	70,0 ± 3,33^{a}	61,50 ± 4,74^{a}	39,5 ±5,99^{a}	15,0 ± 4,08^{a}
Đối chứng	41,0 ± 4,59^{b}	26,5 ± 5,30^{b}				

Ghi chú: Số liệu được biểu diễn trung bình ± sai số chuẩn (TB ± SE) trong cùng một cột, các giá trị trung bình có ký tự mũ (a, b, c) khác nhau thì khác nhau có ý nghĩa thống kê (p<0,05).

Tinh trùng được bảo quản trong dung dịch Hanks cải tiến và Frank trong tủ lạnh ở nhiệt độ 4°C duy trì khả năng sống lâu nhất sau 11 ngày với hoạt lực tương ứng là 10,5%, 15,0% trong ống pancol và 10,0%, 16,0% trong ống trữ mẫu cryotube. Với dung dịch ASP hoạt lực tinh trùng đạt tương đương 15,5% và 16% ở 9 ngày sau bảo quản. Kết quả ở bảng 2 cho thấy, hoạt lực của tinh trùng có sự sai khác không đáng kể (p>0,05) giữa các dung dịch bảo quản sau 1 ngày và 3 ngày bảo quản và nhóm này sai khác so với lô đối chứng là tinh tươi không pha loãng (p<0,05). Nhưng sau 5 ngày, 7 ngày thì đã có sự sai khác hoàn toàn giữa 3 dung dịch bảo quản, trong đó dung dịch Frank đạt kết quả tối ưu nhất, hoạt lực tinh đạt tương ứng 70,5%

và 62,0% với ống cryotube và 70,0% và 61,5% với ống pancol.

Chất lượng tinh của hầu hết các loài cá sẽ giảm nhanh chóng sau khi thụ tinh và sẽ giữ được 1 - 2 ngày ở nhiệt độ 4 - 5°C và một vài giờ ở nhiệt độ phòng 25°C. Việc lựa chọn dung dịch bảo quản thích hợp rất quan trọng, với mục đích kéo dài thời gian bảo quản và tránh suy giảm chức năng của tinh trùng. Thành phần của chất bảo quản dựa trên thành phần có trong tinh dịch cá, cung cấp chất dinh dưỡng và năng lượng cho tinh trùng, đó là điều cần thiết để duy trì chúng trong quá trình bảo quản. Nghiên cứu về bảo quản tinh trùng cá song ngắn hạn còn rất hạn chế. Với các đối tượng cá biển khác, dung dịch Frank đã được sử dụng nhiều trong bảo quản tinh của một số loài cá như cá da trơn, cá song và cá tầm, ... [8]. Đối với tinh trùng của cá đù vàng (*Larimichthys polyactis*) khi bảo quản trong ASP có thể sống được 14 ngày [9] và cá chẽm mõm nhọn có thể sống được 24 ngày, hoạt lực tinh còn 9,44% [6], cá mú cọp duy trì 24 ngày, hoạt lực tinh 10,00% [7]. Tuy vậy, trong nghiên cứu này, dung dịch ASP chỉ có thể duy trì tinh trùng cá song vua còn hoạt động sau 9 ngày và 11 ngày với dung dịch Frank và Hanks hiệu quả hơn. Dung dịch Hanks cải tiến hiệu quả cao với bảo quản tinh trùng cá bơn Đại Tây Dương (*Hippoglossus hippoglossus*), hoạt lực tinh đạt 30 - 40% sau 79 ngày bảo quản ở nhiệt độ 4°C [10]. Như vậy, ở các loài cá khác nhau thì chất bảo quản cũng khác nhau.

3.2. Xác định dung dịch bảo quản phù hợp trong bảo quản tinh trùng cá song vua trong nitơ lỏng

Hoạt lực (%) của tinh trùng cá song vua bảo quản dài hạn trong ba dung dịch bảo quản khác nhau được trình bày ở bảng 3.

Bảng 3. Ảnh hưởng của dung dịch bảo quản đến chất lượng tinh cá song vua sau bảo quản

Dung dịch bảo quản	HLT (%) sau 1 tuần (N = 9)	HLT (%) sau 1 tháng (N = 9)
MPRS	$52,22 \pm 7,95^{b}$	$53,33 \pm 4,33^{b}$
AP	$60,56 \pm 7,68^{b}$	$55,00 \pm 4,33^{b}$
Ex.3	$31,67 \pm 4,33^{c}$	$30,00 \pm 3,54^{c}$
Đối chứng	$87,78 \pm 4,41^{a}$	$87,78 \pm 4,41^{a}$

Ghi chú: Số liệu được biểu diễn trung bình ± sai số chuẩn (TB ± SE) trong cùng một cột, các giá trị trung bình có ký tự mũ (a, b, c) khác nhau thì khác nhau có ý nghĩa thống kê (p<0,05).

Hoạt lực tinh sau bảo quản 1 tuần và 1 tháng có sai khác khi sử dụng dung dịch bảo quản khác nhau (p<0,05). Sử dụng dung dịch bảo quản MPRS và AP cho kết quả cao hơn khi sử dụng Ex.3, hoạt lực tinh sau giải đông 1 tuần bảo quản đạt tương ứng là 52,22 ± 7,95%, 60,56 ± 7,68% (tinh tươi là 87,78 ± 4,41%) và sau giải đông 1 tháng bảo quản đạt tương ứng 53,33 ± 4,33%, 55,00 ± 4,33% (p<0,05). Kết quả này thấp hơn so với nghiên cứu của Fan và cs (2013) [11] khi dùng dung dịch bảo quản là MPRS kết hợp với chất chống đông DMSO 12% cho hoạt lực tinh sau bảo quản cao 90,61 ± 3,03% (đối chứng tinh tươi 94,34 ± 4%), tuy nhiên nghiên cứu không đề cập thời gian bảo quản và đối chứng hoạt lực tinh cao hơn nghiên cứu này. Một nghiên cứu khác tinh đông lạnh cá song vua được sản xuất sử dụng dung dịch bảo quản AP kết hợp với DMSO 10,7% đạt hiệu quả cao, tuy nghiên cứu không công bố hoạt lực tinh sau bảo quản, nhưng tỷ lệ thụ tinh cao 90,99 ± 2,97% (đối chứng 93,01 ± 3,15%) khi sử dụng tinh đông lạnh cá song vua trong đá khô cho thụ tinh với trứng của cá song hổ [2]. Có rất nhiều dung dịch pha loãng được sử dụng trong bảo quản tinh động vật thủy sản và với mỗi đối tượng có thể có dung dịch pha loãng tối ưu hơn. Trong nghiên cứu này dung dịch bảo quản Ex.3 cho kết quả thấp nhất, hoạt lực tinh sau bảo quản 1 tháng chỉ đạt 30,00%, nhưng với cá song 7 sọc (*Epinephelus septemfasciatus*) dung dịch bảo quản Ex.3 cho kết quả cao, hoạt lực tinh sau bảo quản 76,67% [12].

3.3. Xác định dung dịch bảo quản và nồng độ chất chống đông phù hợp trong bảo quản tinh trùng cá song vua trong nitơ lỏng

Dựa trên kết quả nghiên cứu của thí nghiệm 2, hai dung dịch bảo quản MPRS và AP cho kết quả tốt hơn so với dung dịch Ex.3, từ đó nghiên cứu tiến hành thí nghiệm sử dụng 2 dung dịch bảo quản này kết hợp với chất chống đông DMSO ở các nồng độ khác nhau. Kết quả hoạt lực (%) của tinh trùng cá song vua bảo quản trong hai dung dịch bảo quản và 3 nồng độ chất chống đông DMSO khác nhau được trình bày ở bảng 4.

Bảng 4. Ảnh hưởng của dung dịch bảo quản và nồng độ chất chống đông đến chất lượng tinh cá song vua bảo quản dài hạn

Dung dịch bảo quản	HLT (%) sau 1 tuần (N = 9)	HLT (%) sau 1 tháng (N = 9)
MPRS - 8%	$55,00 \pm 6,61^{c}$	$54,44 \pm 3,9^{c}$
MPRS - 10%	$57,22 \pm 6,18^{bc}$	$58,33 \pm 5,59^{bc}$
MPRS - 12%	$65,00 \pm 8,66^{b}$	$63,89 \pm 4,17^{b}$
AP - 8%	$57,78 \pm 5,07^{bc}$	$55,56 \pm 6,35^{c}$
AP - 10%	$64,44 \pm 6,82^{bc}$	$65,00 \pm 5,59^{b}$
AP - 12%	$60,56 \pm 7,26^{bc}$	$58,89 \pm 4,86^{bc}$
Đối chứng	$88,89 \pm 3,33^{a}$	$88,89 \pm 3,33^{a}$

Ghi chú: Số liệu được biểu diễn trung bình ± sai số chuẩn (TB ± SE) trong cùng một cột, các giá trị trung bình có ký tự mũ (a, b, c) khác nhau thì khác nhau có ý nghĩa thống kê (P<0,05).

Hoạt lực tinh cá song vua cao nhất 65,0% (sau 1 tuần bảo quản) khi sử dụng dung dịch bảo quản MPRS kết hợp với chất chống đông DMSO 12%, tiếp đến hoạt lực tinh đạt 64,44% khi sử dụng AP kết hợp chất chống đông DMSO 10%, thấp hơn so với đối chứng là tinh tươi 88,89% (p<0,05). Tương tự sau 1 tháng bảo quản, hoạt lực tinh của 2 dung dịch bảo quản trên cho kết quả cao tương ứng là 63,89% và 65,00%. Kết quả ở bảng 4 cũng cho thấy, sử dụng AP - 8% và MPRS - 8% cho kết quả thấp nhất, hoạt lực tinh sau bảo quản 1 tháng là 55,56% và 54,44%. Kết quả này cao hơn kết quả bảo quản tinh cá giò tại Việt Nam đã được công bố, hoạt lực tinh cá giò sau 1 tuần bảo quản đạt 47,22% khi dùng dung dịch bảo quản Durbin B, chất chống đông Ethylen Glycol 5%, tỷ lệ pha loãng tinh: dung dịch bảo quản là 1: 3 [4].

Cùng với việc lựa chọn dung dịch bảo quản phù hợp thì chất chống đông cũng ảnh hưởng đến kết quả bảo quản tinh trùng, trong nghiên cứu này đã lựa chọn DMSO là chất chống đông cho các thí nghiệm bảo quản tinh dài hạn và có hiệu quả hơn các chất chống đông khác đã được công bố trong bảo quản tinh một số loài cá song [1], [12], [11]. Nồng độ chất chống đông trong các thử nghiệm nghiên cứu bảo quản tinh cũng được quan tâm, thông thường nồng độ chất chống đông phù hợp với các loài cá dao động 10 - 15%, tuy nhiên có những loài cá phù hợp với nồng độ chất chống đông phổ rộng, như kết quả nghiên cứu của Fan và cs (2013) [11] cho thấy, nồng độ 8 - 16% DMSO là phù hợp với cá song vua. Nghiên cứu của Gwo (1993) cho thấy, nồng độ chất chống đông DMSO phù hợp dao động từ 10 - 20% với cá song song chanh (*E. malabaricus)* [13]. Kết quả nghiên cứu của Liu và cs (2016) [14] sử dụng tinh đông lạnh cá song vua sản xuất sử dụng chất chống đông DMSO 10% tạo con lai với cá song hổ, tỷ lệ thụ tinh cao 88,7 ± 5,3% (đối chứng 92,2 ± 1,4%)

4. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

4.1. Kết luận

Bảo quản tinh cá song vua ngắn hạn trong tủ lạnh ở nhiệt độ 4°C, sử dụng dung dịch bảo quản Frank cho thời gian hoạt lực tốt nhất sau 5 ngày hoạt lực tinh đạt 70,5%, duy trì sau 11 ngày còn 16% và ngắn nhất bảo quản trong ASP sau 5 ngày đạt 62,5%, duy trì sau 9 ngày còn 16%.

Bảo quản tinh cá song vua dài hạn sử dụng dung dịch bảo quản MPRS, chất chống đông DMSO 12% và dung dịch bảo quản AP, chất chống đông DMSO 10%, tỷ lệ pha loãng tinh: dung dịch

bảo quản là 1: 3, làm lạnh theo phương pháp sử dụng hơi nitơ lỏng cách bề mặt 6 cm trong 10 phút, hoạt lực tinh sau bảo quản 1 tháng cao nhất lần lượt đạt 63,89% và 65,00% (đối chứng 88,89%).

4.2. Kiến nghị

Do hạn chế về thời gian nghiên cứu nên các thí nghiệm sau này cần lặp lại, nghiên cứu thêm các yếu tố khác ảnh hưởng chất lượng tinh bảo quản và các thí nghiệm đánh giá hiệu quả thụ tinh sử dụng tinh đông lạnh cá song vua.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Martínez-Páramo S., Horváth A., Labbéc C., Zhangd T., Roblese V., Herráezf P., Suquet M., Adams S., Viveiros A., Tiersch T. R., and Cabrita A. (2016). Cryobanking of aquatic species HHS *Public Access, Aquaculture*, vol. 472. pp. 156 - 177

2. Che-Zulkifli C. I., Koha I. C. C., Mustafad S., Taufika M., Syafaata M.N., Amin-Safwan A. and Ikhwanuddin M. (2019). The performance of dry ice-transported cryopreserved spermatozoa in the artificial insemination of the hybrid grouper (*Epinephelus uscoguttatus* ♀ x *Epinephelus lanceolatus* ♂). *Journal of Applied Aquaculture*, 1 - 10, https://doi.org/10.1080/10454438.2019.1689217

3. Nguyễn Minh Thành, Trịnh Quốc Trọng, Hoàng Quang Bảo, Nguyễn Thị Hồng Vân (2003). *Bảo quản tinh cá tra* (*Pangasianodon hypophthalmus*) *dài hạn bằng nitơ lỏng*. Tuyển tập báo cáo khoa học về nuôi trồng thuỷ sản tại Hội nghị khoa học toàn quốc lần thứ 2. Nxb Nông nghiệp Hà Nội, trang 39 - 44.

4. Kim Thị Thoa, Trần Thế Mưu, Lê Quang Hưng, Phạm Hồng Nhật, Nguyễn Văn Đại, Ngô Đăng Nghĩa, Nguyễn Văn Minh (2010). *Nghiên cứu ứng dụng công nghệ lạnh sâu xây dựng ngân hàng tinh động vật thủy sản*. Báo cáo kết quả thực hiện đề tài thuộc Chương trình Công nghệ sinh học Thủy sản: 2008 - 2010.

5. Kim Thị Thoa, Nguyễn Hữu Đức, Trần Thị Bình Nguyên, Hoàng Nhật Sơn, Nguyễn Văn Đại, Trịnh Quốc Trọng, Lê Anh Thủy (2014). *Nghiên cứu nâng cao quy trình kỹ thuật bảo quản đông lạnh tinh một số loài thủy sản quan trọng*. Báo cáo tổng hợp kết quả khoa học công nghệ, đề tài thuộc Chương trình Công nghệ sinh học Thủy sản: 2011 - 2013.

6. Lê Minh Hoàng, Bông Minh Đương, Mai Như Thủy, Phạm Quốc Hùng (2013). Nghiên cứu bảo quản tinh trùng cá chẽm mõm nhọn (*Psammoperca waigiensis*) trong tủ lạnh. *Tạp chí Khoa học - Công nghệ Thủy sản,* số 4, 16 - 20.

7. Lê Minh Hoàng, Phạm Quốc Hùng (2016). Ảnh hưởng của tỷ lệ pha loãng, chất bảo quản và nhiệt độ đến chất lượng tinh trùng cá mú cọp bảo quản trong tủ lạnh. *Tạp chí Khoa học - Công nghệ Thủy sản*, số 4, 65 - 71.

8. Tian Y., Qui W., Jiang J., Wang N., Zhai J., Chen C., & Chen S. (2013). Sperm cryopreservation of sex-reversed seven-band grouper, *Epinephelus septemfasciatus*, Animal reproduction Science 137, 230 - 236.

9. Frank A. Chapman. (2019). A sement extender for short-term storage of fish sperm. Fisheries and Aquatic Sciences Department at, https://edis.ifas.ufl.edu/publication/ FA193, date: 28/2/2019.

10. Le, M. H., H. K. Lim, B. H. Min, M. S. Park, and Y. J. Chang. (2011). Storage of yellow croaker *Larimichthys polyactis* semen. *The Israeli Journal of Aquaculture - Bamidgeh* 63, 1 - 7.

11. Fan, B., X. C. Liu, Z. N. Meng, B. H. Tan, L. Wang, H. F. Zhang, Y. Zhang, Y. X. Wang, and H. R. Lin. (2013). Cryopreservation of giant grouper *Epinephelus lanceolatus* (Bloch, 1790) sperm. *Journal of Applied Ichthyology,* 30 (2): 334 - 39. doi:10.1111/jai.12321.

12. Contreras P., Dumorn K., Ulloa-Rodrıguez P., Merino O., Figueroa E., Farıas J. G., Valdebenito I. and Risopatron J. (2019). Effects of short-term storage on sperm fuction in fish semen: a reviews. *Reviews in Aquaculture*, 1 - 17.

13. Gwo, J. C. (1993). Cryopreservation of black grouper (*Epinephelus malabaricus*) spermatozoa. *Theriogenology,* 39, 1331 - 1342.

14. Liu, Q. H., Z. Z. Xiao, X. Y. Wang, S. H. Xu, S. G. Guan, C. A. Xu, H. S. Zhang, and J. Li. (2016). Sperm cryopreservation in different grouper subspecies and application in interspecific hybridisation. *Theriogenology,* 85 (8): 1399 - 407.

RESEARCH ON PRESERVATION OF GIANT GROUPER *Epinephelus lanceolatus* (Bloch, 1790) SPERM

Kim Thi Thoa[1], Tran Thi Mai Huong[1], Pham Hong Nhat [1], Le Van Khoi[1], Hoang Nhat Son[1]

[1]Research Institute for Aquaculture No. 1

Summary

Research to determine the suitable extender solutions and cryoprotectant concentrations to develop a technical process to preserve the short-term and long-term giant grouper sperm. For short-term storage, the sperm of the giant grouper was diluted in different extenders (ASP, improved Hank, Frank) at dilution ratios of 1: 3 (sperm: extender) and stored in the refrigerator at 4˚C. For long-term preservation, cryopreservation of the giant grouper sperm was tested using three extender solutions (MPRS, AP, and Ex.3) with the cryoprotectant Dimethyl sulfoxide (DMSO) at concentrations of 8%, 10%, and 12%. The results from these experiments showed that the sperm quality of the giant grouper was the best when it was stored in Frank at a temperature of 4˚C, giving the best quality with 70.5% activity after 5 days and maintaining 16% motility even after 11 days. Using MPRS (DMSO 12%) and AP (DMSO 10%), were the optimum extenders for long-term preservation of giant grouper semen. The highest post-thawn motility after one month of storage was 63.89% and 65.00%, respectively, compared with the control using fresh semen of 88.89% ($P<0.05$). This study has determined the optimal method of preservation of giant grouper sperm along with the next direction of research using frozen sperm to evaluate the efficiency of fertilization for application in order to poduce hybrid grouper fingerlings.

Keywords: *Sperm storage, giant grouper, Epinephelus lanceolatus, extender solution.*

Người phản biện: PGS.TS. Nguyễn Quang Huy

Ngày nhận bài: 11/7/2023

Ngày thông qua phản biện: 10/8/2023

Ngày duyệt đăng: 5/9/2023

NGHIÊN CỨU XÁC ĐỊNH VỊ TRÍ, KÍCH CỠ CÁ CHIM VÂY VÀNG (*Trachinotus falcatus*) THÍCH HỢP CHO BẮN DẤU PIT Tags

Đặng Thị Lụa[1, 2, *], Cao Văn Hạnh[1], Đỗ Xuân Hải[1]

TÓM TẮT

Dấu PIT (Passive Integrated Transponder) Tags đã và đang được sử dụng rộng rãi trong các chương trình chọn giống thủy sản vì chúng mang lại nhiều ưu việt như khả năng cho phép sử dụng hàng tỷ thẻ chíp mà không bị trùng lặp, kỹ thuật gắn thẻ đơn giản và dễ đọc, tỷ lệ giữ dấu PIT Tags cao, ít tác dụng phụ đối với động vật gắn thẻ. Nhằm xác định được kích cỡ và vị trí bắn dấu PIT Tags thích hợp trên cá chim vây vàng, trong nghiên cứu này, chiều dài và khối lượng cá, tỷ lệ sống, tỷ lệ dị hình và tỷ lệ mất dấu của cá sau khi bắn dấu PIT Tags được đánh giá. Thí nghiệm được tiến hành trên 3 nhóm cá (10 g/con, 12 g/con, 15 g/con), mỗi nhóm gồm 3 nghiệm thức thí nghiệm (bắn dấu PIT Tags tại gốc vây lưng (PITTag GVL), tại xoang bụng (PITTag XB) và bắn dấu CWT). Kết quả phân tích tại thời điểm 30, 45 và 60 ngày thí nghiệm cho thấy, ở cả 3 nhóm cá thí nghiệm, khối lượng cá bắn dấu PITTag GVL thấp nhất, tiếp đến là khối lượng cá bắn dấu PITTag XB và cao nhất là khối lượng cá bắn dấu CWT, sự sai khác này có ý nghĩa thống kê ($p < 0,001$). Tỷ lệ sống của cá bắn dấu PIT Tags ở cả 3 nhóm cá đều đạt ≥ 93%. Tỷ lệ dị hình và tỷ lệ mất dấu ở cá bắn dấu PIT Tags đều đạt ≤ 5%, trong đó tỷ lệ dị hình quan sát được ở nghiệm thức PITTag GVL là cao hơn ở nghiệm thức PITTag XB ở cả 3 nhóm cá. Kết quả thí nghiệm cho thấy, cá chim vây vàng có thể bắn dấu PIT Tags từ kích cỡ cá giống 10 - 15 g và vị trí bắn dấu xoang bụng thích hợp hơn vị trí gốc vây lưng, trong đó kích cỡ cá giống 15 g/con là tốt nhất vì ít ảnh hưởng hơn đến tỷ lệ dị hình và tỷ lệ mất dấu.

Từ khóa: *Cá chim vây vàng, PIT Tags, Trachinotus, tỷ lệ giữ dấu, tỷ lệ sống.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Chương trình chọn giống trong thủy sản đã được triển khai từ những năm 1970 với thành công đầu tiên trên cá hồi Đại Tây Dương (*Salmo salar*) tại Na Uy, góp phần nâng cao năng suất cá nuôi, đảm bảo an ninh lương thực [1, 2]. Ở Việt Nam, chọn giống thuỷ sản đã được thực hiện trên nhiều đối tượng nuôi chủ lực như ở cá chép [3], cá rô phi [4], cá tra [5], tôm chân trắng [6], gần đây là trên đối tượng cá biển như cá chẽm [7] và cá chim vây vàng bắt đầu triển khai pha đầu tiên của nhiệm vụ cấp Bộ "*Chọn giống cá chim vây vàng (Trachinotus falcatus) sinh trưởng nhanh*" giai đoạn 2021 - 2023 [8].

Trong chương trình chọn tạo giống thủy sản, một khâu quan trọng ảnh hưởng đến kết quả chọn lọc giống đó là khi các cá thể được tạo ra từ các gia đình chọn giống hoặc từ các tổ hợp lại đạt đến kích cỡ thích hợp, chúng cần phải nuôi chung trong cùng điều kiện môi trường sống để đánh giá hiệu quả chọn giống thông qua việc theo dõi và thu thập thông di truyền của từng cá thể riêng lẻ [9]. Chính vì vậy phương pháp bắn dấu trên từng cá thể đã được sử dụng phổ biến trong các chương trình chọn giống thủy sản như một phương tiện để giải quyết bài toán nuôi chung đánh giá và xây dựng phả hệ di truyền [3, 7, 10, 11]. Các dấu PIT (Passive Integrated Transponder) còn gọi là PIT Tags có thể được bắn vào khoang bụng, vào phần cơ hoặc dưới da tùy thuộc ở từng loài cá, kích cỡ hình dạng cá, kích cỡ PIT Tags [12]. Các tiêu chí thường được dùng để đánh giá sự thành công của quá trình bắn dấu PIT Tags là khả năng lưu giữ

[1] Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản I
[2] Khoa Thủy sản, Học viện Nông nghiệp Việt Nam
[*] Email: danglua@ria1.org

PIT Tags trong cơ thể cá và những ảnh hưởng của PIT Tags đến khả năng vận động, tỷ lệ sống và tốc độ phát triển của cá [13].

Nhằm cung cấp cơ sở khoa học và thực tiễn của việc sử dụng dấu PIT Tags trong chương trình chọn giống cá chim vây vàng, đã tiến hành nghiên cứu xác định vị trí, kích cỡ cá chim vây vàng thích hợp cho bắn dấu PIT Tags thông qua việc đánh giá tỷ lệ sống, tốc độ tăng trưởng, tỷ lệ dị hình và tỷ lệ mất dấu của cá sau khi bắn dấu.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Cá chim vây vàng vây ngắn thí nghiệm có nguồn gốc từ Trung tâm Quốc gia Giống hải sản miền Bắc, Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản I với 3 nhóm kích cỡ tương ứng với 3 công thức thí nghiệm: Nhóm 1 tương ứng công thức 1 có chiều dài trung bình 7,1 cm và khối lượng trung bình 10 g/con; nhóm 2 tương ứng công thức 2 có chiều dài trung bình 8,0 cm và khối lượng trung bình 12 g/con; nhóm 3 tương ứng công thức 3 có chiều dài trung bình 8,9 cm; khối lượng trung bình 15 g/con (Bảng 1). Cá thí nghiệm đảm bảo khỏe mạnh, màu sắc sáng bóng không dị hình.

Bảng 1. Chiều dài và khối lượng cá chim vây vàng thí nghiệm

Công thức thí nghiệm	Nghiệm thức thí nghiệm	Chiều dài (cm)	Khối lượng (g)
Công thức 1 (CVV_10 g/con)	TN10_PITTag GVL	7,11 ± 0,05	10,02 ± 0,09
	TN10_PITTag XB	7,09 ± 0,03	9,99 ± 0,06
	ĐC10_CWT	7,08 ± 0,03	10,00 ± 0,05
Công thức 2 (CVV_12 g/con)	TN12_PITTag GVL	7,99 ± 0,04	12,05 ± 0,07
	TN12_PITTag XB	7,99 ± 0,04	11,99 ± 0,07
	ĐC12_CWT	8,00 ± 0,04	12,06 ± 0,03
Công thức 3 (CVV_15 g/con)	TN15_PITTag GVL	8,89 ± 0,02	15,01 ± 0,05
	TN15_PITTag XB	8,90 ± 0,02	14,99 ± 0,04
	ĐC15_CWT	8,91 ± 0,03	15,00 ± 0,05

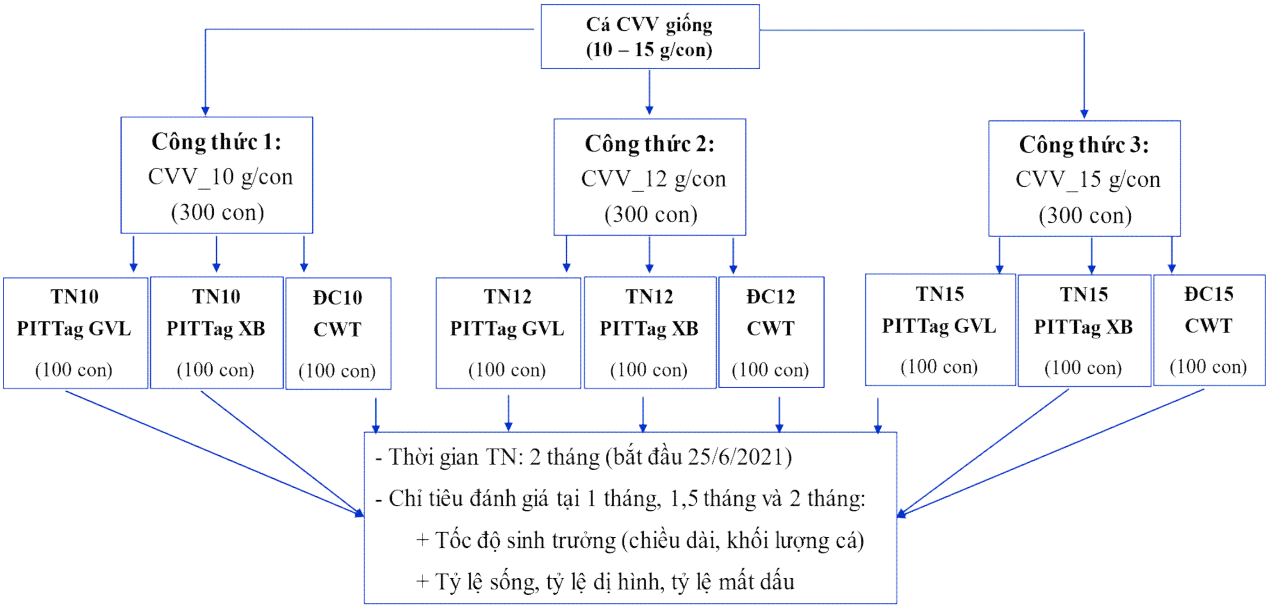
Ghi chú: CVV: Chim vây vàng; GVL: Gốc vây lưng; XB: Xoang bụng; CWT: Coded Wire Tags.

Dấu PIT Tags sử dụng trong nghiên cứu có kích cỡ 8,5 x 2,12 mm (Hãng FISHBIO), dấu CWT (Coded Wire Tags) có đường kính 0,25 mm (Hãng Northwest Marine Technology, Inc sản xuất).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm được tiến hành gồm 3 công thức thí nghiệm tương ứng với 3 nhóm kích cỡ cá (CVV_10 g/con; CVV_12 g/con và CVV_15 g/con), mỗi công thức thí nghiệm gồm 3 nghiệm thức (2 nghiệm thức thí nghiệm bắn dấu PIT Tags vị trí gốc vây lưng (PITTag GVL) và PIT Tags vị trí xoang bụng (PITTag XB) và 1 nghiệm thức đối chứng bắn dấu CWT), mỗi nghiệm thức gồm 100 cá thể cá chim vây vàng (Hình 1). CWT là thẻ dây được mã hóa chứa một mã duy nhất, cũng thường được dùng trong các chương trình chọn giống. Cá thí nghiệm sau khi bắn dấu PIT Tags (các nghiệm thức thí nghiệm) và dấu CWT (nghiệm thức đối chứng) được nuôi theo dõi trên hệ thống bể có dung tích 9 m^3/bể tại Trung tâm Quốc gia Giống hải sản miền Bắc tại Xuân Đán, Cát Bà. Thí nghiệm được tiến hành trong thời gian 2 tháng.



Hình 1. Sơ đồ bố trí thí nghiệm

2.2.2. Chăm sóc quản lý

Cá thí nghiệm được nuôi trong bể có sục khí với một số thông số môi trường nuôi được duy trì phù hợp với sự phát triển của cá chim vây vàng (Nhiệt độ dao động 29-31^{0}C; độ mặn dao động 25 - 30$^0/_{00}$; pH dao động 7,8 - 8,5, sục khí 24/24 giờ). Cá được cho ăn thức ăn công nghiệp hãng Inve (G8, G12 và P22) định kỳ ngày 4 lần (7h30, 10h, 13h30 và 16h). Bể nuôi được bố trí hệ thống chảy tràn để mỗi ngày lượng nước thay 20 - 30% thể tích bể. Trong quá trình thí nghiệm định kì si phong đáy 2 lần/ngày (trưa và chiều tối), bổ sung chế phẩm vi sinh để cải thiện chất lượng nước.

2.2.3. Các chỉ tiêu phân tích

Cá thí nghiệm được cân đo (số lượng bắt ngẫu nhiên 30 cá thể/nghiệm thức) vào các thời điểm 1 tháng, 1,5 tháng và 2 tháng thí nghiệm (kết thúc thí nghiệm) để cân đo chiều dài và khối lượng cá. Các số liệu về tỷ lệ sống, tỷ lệ dị hình được thu thập vào thời điểm 1 tháng, 1,5 tháng và 2 tháng thí nghiệm, riêng số liệu về tỷ lệ mất dấu được thu thập vào thời điểm kết thúc thí nghiệm (sau 2 tháng thí nghiệm). Các công thức tính toán như sau:

+ Khối lượng trung bình cá (WTB) = Khối lượng (cá thể 1 + cá thể 2 + …+ cá thể 30)/30 (g/con).

+ Tỷ lệ sống (TLS) = Số lượng cá đếm được/Số lượng cá thí nghiệm x 100 (%).

+ Tỷ lệ dị hình (TLDH) = Số lượng cá dị hình/Số lượng cá đếm được x 100 (%).

+ Tỷ lệ mất dấu (TLMD) = Số lượng cá mất dấu/Số lượng cá đếm được x 100 (%).

2.3. Phương pháp phân tích, xử lý số liệu

Các số liệu về chiều dài và khối lượng cá được phân tích và xử lý thống kê sử dụng phần mềm SPSS phiên bản 22.0. Phương pháp phân tích ANOVA, LSD post-hoc test và *t*-test được sử dụng để đánh giá sự sai khác có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) giữa các nghiệm thức thí nghiệm trong cùng nhóm kích cỡ cá. Giá trị trung bình của các tham số chiều dài, khối lượng, tỷ lệ sống, tỷ lệ dị hình và tỷ lệ mất dấu được chuẩn hóa bằng cách đưa về giá trị Z-Score để phân tích mối tương quan giữa các tham số này sử dụng phương pháp phân tích thành phần chính (PCA, Principal Component Analysis) thực hiện trên phần mềm Statistica 12 (StatSoft).

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả thí nghiệm ở thời điểm 1 tháng (30 ngày) sau khi bắn dấu PIT Tags

Kết quả nghiên cứu bảng 2 cho thấy, sau một tháng bắn dấu PIT Tags chiều dài cá giữa các nghiệm thức thuộc công thức 1 (kích cỡ cá thí nghiệm 10 g/con) có sự sai khác có ý nghĩa ($p <$

0,05), trong khi đó giữa các nghiệm thức thuộc công thức 2 (kích cỡ cá thí nghiệm 12 g/con) và thuộc công thức 3 (kích cỡ cá thí nghiệm 15 g/con) không có sự sai khác ý nghĩa (p > 0,05). Về khối lượng cá, ở cả 3 kích cỡ cá thí nghiệm 10 g/con, 12 g/con và 15 g/con, nghiệm thức bắn dấu PIT Tags tại vị trí gốc vây lưng (PITTag GVL) có khối lượng nhỏ nhất, nghiệm thức bắn dấu PIT Tags tại vị trí xoang bụng (PITTag XB) có khối lượng lớn hơn và nghiệm thức đối chứng bắn dấu CWT có khối lượng lớn nhất và sự sai khác này có ý nghĩa thống kê (p < 0,001).

Tỷ lệ sống của cá ở các nghiệm thức thí nghiệm ở tất cả các nghiệm thức thí nghiệm đều đạt ≥ 94%, trong đó công thức 1 (kích cỡ cá thí nghiệm 10 g/con) cho tỷ lệ sống cao nhất (dao động 96 - 100%), tiếp đến là công thức 2 (kích cỡ cá thí nghiệm 12 g/con) tỷ lệ sống dao động 95 - 99%, và thấp nhất (kích cỡ cá thí nghiệm 15 g/con) tỷ lệ sống dao động 94 - 98%. Ở thời điểm 30 ngày sau khi bắn dấu PIT Tags, tỷ lệ cá bị dị hình quan sát thấy ở tất cả các nghiệm thức thí nghiệm của cả 3 kích cỡ cá đều < 2%.

Bảng 2. Kết quả thí nghiệm ở thời điểm 30 ngày sau khi bắn dấu PIT Tags

Công thức thí nghiệm	Nghiệm thức thí nghiệm	Các chỉ tiêu phân tích			
		Chiều dài (cm)	Khối lượng (g)	Tỷ lệ sống (%)	Tỷ lệ dị hình (%)
Công thức 1 (CVV_10 g/con)	TN10_PIT Tag GVL	9,70±0,19^{a}	23,98±0,94^{a}	96	2
	TN10_PIT Tag XB	10,32±0,22^{b}	26,87±1,04^{b}	97	0
	ĐC10_CWT	11,08±0,20^{c}	32,08±0,81^{c}	100	0
Công thức 2 (CVV_12 g/con)	TN12_PIT Tag GVL	10,97±0,16^{a}	29,18±0,55^{a}	95	2
	TN12_PIT Tag XB	10,83±0,22^{a}	33,25±0,71^{b}	97	1
	ĐC12_CWT	11,28±0,24^{a}	40,17±0,85^{c}	99	0
Công thức 3 (CVV_15 g/con)	TN15_PIT Tag GVL	12,92±0,14^{b}	37,02±1,04^{a}	96	2
	TN15_PIT Tag XB	12,90±0,24^{b}	42,42±1,13^{b}	94	1
	ĐC15_CWT	12,97±0,25^{b}	51,00±1,27^{c}	98	0

Ghi chú: Các ký tự (a, b, c) được dùng để chỉ sự sai khác có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức thí nghiệm trong cùng công thức thí nghiệm (p <0,05).

3.2. Kết quả thí nghiệm ở thời điểm 1,5 tháng (45 ngày) sau khi bắn dấu PIT Tags

Kết quả phân tích ở bảng 3 cho thấy, tại thời điểm 1,5 tháng (45 ngày) sau khi bắn dấu PIT Tags, về chiều dài cá không có sự sai khác có ý nghĩa (p > 0,05) giữa các nghiệm thức thuộc cùng công thức thí nghiệm, ngoại trừ ở công thức 2 (kích cỡ cá thí nghiệm 12 g/con) chiều dài cá nghiệm thức bắn dấu PITTag XB có sự sai khác ý nghĩa với nghiệm thức đối chứng bắn dấu CWT (p = 0,01). Khối lượng cá, tương tự kết quả thu được tại thời điểm 30 ngày thí nghiệm, ở cả 3 kích cỡ cá thí nghiệm 10 g/con, 12 g/con và 15 g/con, nghiệm thức bắn dấu PITTag GVL có khối lượng nhỏ nhất, tiếp đến là khối lượng cá ở nghiệm thức bắn dấu PIT Tag XB và khối lượng cá lớn nhất thu được ở nghiệm thức đối chứng bắn dấu CWT và sự sai khác này có ý nghĩa thống kê (p < 0,001).

Tỷ lệ sống của cá tại thời điểm 45 ngày sau khi bắn dấu PIT Tags cho thấy ở tất cả các nghiệm thức thí nghiệm tỷ lệ sống đều đạt ≥ 93%, trong đó nghiệm thức bắn dấu PIT Tag GVL có tỷ lệ sống thấp hơn nghiệm thức bắn dấu PIT Tag XB và tỷ lệ sống cao nhất ở nghiệm thức đối chứng bắn dấu CWT. Về tỷ lệ dị hình cao nhất ở công thức 3 (kích cỡ cá thí nghiệm 15 g/con) dao động 1 - 3%, tiếp đến là công thức 2 (kích cỡ cá thí nghiệm 12 g/con) dao động 0 - 3% và thấp nhất ở công thức 1 (kích cỡ cá thí nghiệm 10 g/con) dao động 0 - 2%. Đặc biệt, tỷ lệ dị hình xuất hiện ở nghiệm thức bắn dấu PIT Tag GVL là cao hơn so với vị trí PIT Tag XB, lên đến 3% (Bảng 3).

Bảng 3. Kết quả thí nghiệm ở thời điểm 45 ngày sau khi bắn dấu PIT Tags

Công thức thí nghiệm	Nghiệm thức thí nghiệm	Các chỉ tiêu phân tích			
		Chiều dài (cm)	Khối lượng (g)	Tỷ lệ sống (%)	Tỷ lệ dị hình (%)
Công thức 1 (CVV_10 g/con)	TN10_PIT Tag GVL	12,00±0,18^{a}	30,90±1,02^{a}	94	3
	TN10_PIT Tag XB	11,80±0,20^{a}	36,81±0,74^{b}	96	2
	ĐC10_CWT	12,33±0,22^{a}	44,10±0,96^{c}	99	0
Công thức 2 (CVV_12 g/con)	TN12_PIT Tag GVL	13,30±0,13^{b}	49,83±1,20^{a}	95	2
	TN12_PIT Tag XB	13,77±0,18^{bc}	55,52±1,24^{b}	97	1
	ĐC12_CWT	13,97±0,22^{c}	69,87± 1,36^{c}	99	0
Công thức 3 (CVV_15 g/con)	TN15_PIT Tag GVL	14,10±0,21^{a}	58,85±1,92^{a}	96	3
	TN15_PIT Tag XB	14,18±0,32^{a}	68,93±2,49^{b}	93	2
	ĐC15_CWT	14,18±0,31^{a}	77,67±2,41^{c}	98	1

Ghi chú: Các ký tự (a, b, c) được dùng để chỉ sự sai khác có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức thí nghiệm trong cùng công thức thí nghiệm (p <0,05).

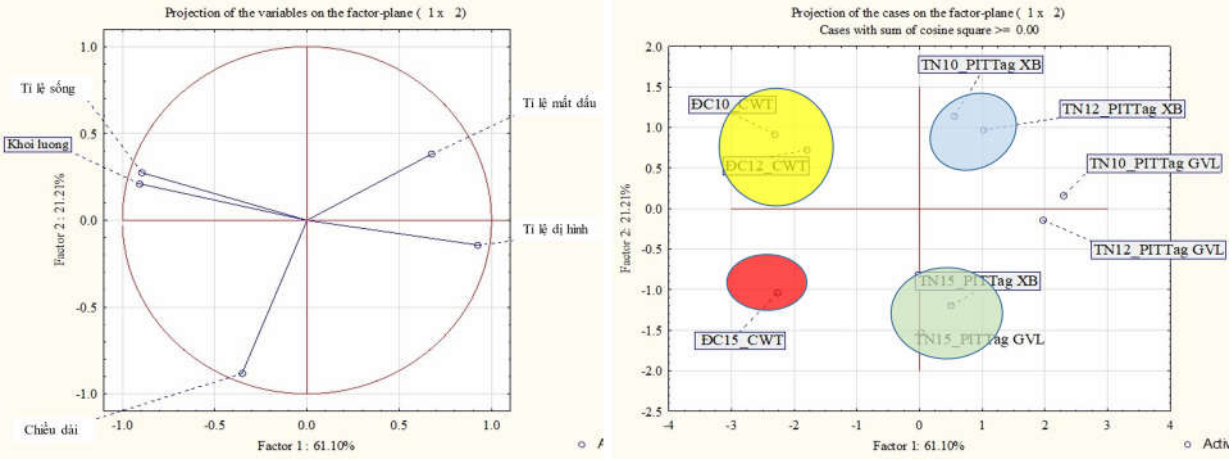
3.3. Kết quả thí nghiệm ở thời điểm 2 tháng (60 ngày) sau khi bắn dấu PIT Tags

Kết quả ở bảng 4 cho thấy, sau 2 tháng (60 ngày) bắn dấu PIT Tags chiều dài cá không có sự sai khác có ý nghĩa thống kê (p > 0,05) giữa các nghiệm thức thuộc cùng công thức thí nghiệm ở cả 3 kích cỡ cá thí nghiệm 10 g/con, 12 g/con và 15 g/con. Về khối lượng cá, tương tự kết quả thu được tại thời điểm 30 ngày và 45 ngày thí nghiệm, ở cả 3 kích cỡ cá thí nghiệm, nghiệm thức bắn dấu PITTag GVL có khối lượng nhỏ nhất, tiếp đến là khối lượng cá ở nghiệm thức bắn dấu PITTag XB và khối lượng cá lớn nhất thu được ở nghiệm thức đối chứng bắn dấu CWT, sự sai khác này có ý nghĩa thống kê (p < 0,001).

Bảng 4. Kết quả thí nghiệm ở thời điểm 60 ngày sau khi bắn dấu PIT Tags

Công thức thí nghiệm	Nghiệm thức thí nghiệm	Các chỉ tiêu phân tích				
		Chiều dài (cm)	Khối lượng (g)	Tỷ lệ sống (%)	Tỷ lệ dị hình (%)	Tỷ lệ mất dấu (%)
Công thức 1 (CVV_10 g/con)	TN10_PIT Tag GVL	14,90±0,39^{a}	118,67±3,07^{a}	94	5	4
	TN10_PIT Tag XB	15,02±0,43^{a}	148,65±4,10^{b}	96	2	5
	ĐC10_CWT	15,42±0,48^{a}	177,02±5,04^{c}	99	0	2
Công thức 2 (CVV_12 g/con)	TN12_PIT Tag GVL	14,97±0,39^{b}	119,83±3,79^{a}	94	5	3
	TN12_PIT Tag XB	15,02±0,42^{b}	152,45±4,77^{b}	95	3	5
	ĐC12_CWT	15,42±0,47^{b}	178,85±5,36^{c}	98	1	2
Công thức 3 (CVV_15 g/con)	TN15_PIT Tag GVL	19,42±0,27^{c}	128,33±3,36^{a}	96	3	2
	TN15_PIT Tag XB	19,80±0,34^{c}	153,00±4,28^{b}	93	2	4
	ĐC15_CWT	20,43±0,36^{c}	181,33±4,07^{c}	98	1	2

Ghi chú: Các ký tự (a, b, c) được dùng để chỉ sự sai khác có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức thí nghiệm trong cùng công thức thí nghiệm (p <0,05).



Hình 2. Phân tích thành phần chính (PCA) về mối tương quan giữa các tham số chiều dài, khối lượng, tỷ lệ sống, tỷ lệ dị hình và tỷ lệ mất dấu

Tỷ lệ sống của cá tại thời điểm 60 ngày sau khi bấn dấu PIT Tags ở tất cả các nghiệm thức thí nghiệm đều đạt ≥ 93%, trong đó tương tự số liệu thu được ở thời điểm 45 ngày thí nghiệm, nghiệm thức bấn dấu PIT Tag GVL có tỷ lệ sống thấp hơn nghiệm thức bấn dấu PIT Tag XB và tỷ lệ sống cao nhất ở nghiệm thức đối chứng bấn dấu CWT. Đặc biệt, tại thời điểm 60 ngày sau khi bấn dấu PIT Tags tỷ lệ cá bị dị hình ở nghiệm thức bấn dấu PIT Tag GVL lên đến 5%, so sánh với tỷ lệ dị hình ở nghiệm thức bấn dấu PIT Tag XB 2 - 3% và nghiệm thức đối chứng bấn dấu CWT 1% (Bảng 4). Kiểm tra tỷ lệ mất dấu vào thời điểm kết thúc thí nghiệm cho thấy, tỷ lệ mất dấu đều ≤ 5% ở tất cả các nghiệm thức bấn dấu PIT Tags ở cả 3 kích cỡ cá thí nghiệm.

Kết quả phân tích thành phần chính (PCA) về mối tương quan giữa các tham số chiều dài, khối lượng, tỷ lệ sống, tỷ lệ dị hình và tỷ lệ mất dấu giữa các nhóm thí nghiệm (Hình 2) cho thấy, kích cỡ cá bấn dấu và vị trí bấn dấu có ảnh hưởng đến tỷ lệ dị hình và tỷ lệ mất dấu của cá chim vây vàng. Cụ thể, nhóm công thức 1 (CVV_10 g/con) và công thức 2 (CVV_12 g/con) làm gia tăng tỷ lệ dị hình và tỷ lệ mất dấu nhiều hơn so với nhóm công thức 3 (CVV_15 g/con). Về vị trí bấn dấu, ở hai nhóm kích cỡ (CVV_10 g/con và CVV_12 g/con) vị trí bấn dấu ở gốc vây lưng có tỷ lệ dị hình cao hơn vị trí bấn dấu xoang bụng. Đồng thời ở 3 nhóm cá thí nghiệm, nhóm công thức 3 (CVV_15 g/con) cá đạt tăng trưởng về chiều dài tốt nhất.

3.4. Thảo luận

Trong nghiên cứu này, cá chim vây vàng giống được thử nghiệm bấn dấu PIT Tags ở 3 kích cỡ cá 10 g/con, 12 g/con, 15 g/con và ở 2 vị trí bấn dấu là gốc vây lưng (PIT Tag GVL) và xoang bụng (PIT Tag XB). Kết quả đánh giá tốc độ tăng trưởng của cá thông qua việc theo dõi chiều dài và khối lượng cá bấn dấu tại các thời điểm 30 ngày, 45 ngày và 60 ngày sau khi bấn dấu cho thấy, việc bấn dấu có ảnh hưởng đến tốc độ sinh trưởng của cá trong đó vị trí bấn dấu PIT Tag GVL ảnh hưởng nhiều hơn vị trí bấn dấu PIT Tag XB thể hiện khối lượng cá bấn dấu PIT Tag GVL thấp hơn khối lượng cá bấn dấu PIT Tag XB và nhóm đối chứng bấn dấu CWT, sự sai khác có ý nghĩa thống kê (Bảng 2, 3, 4). Kết quả nghiên cứu này phù hợp với các nghiên cứu trước thể hiện ít hay nhiều việc bấn dấu PIT Tags có ảnh hưởng đến tốc độ tăng trưởng của cá [14, 15]. Knudsen và cs (2009) [16] cũng chỉ ra rằng chiều dài và khối lượng của cá hồi (*Oncorhynchus tshawytscha*) bấn dấu PIT Tags thấp hơn có ý nghĩa so với cá hồi không bấn dấu PIT Tags.

Về tỷ lệ sống, cá chim vây vàng bấn dấu PIT Tags ở cả 3 nhóm kích cỡ đều đạt ≥ 93%, trong đó xu hướng tỷ lệ sống ở nghiệm thức bấn dấu PIT Tag XB cao hơn PITTag GVL (Bảng 2, 3, 4) cho

thấy việc bắn dấu PIT Tags có ảnh hưởng đến tỷ lệ sống của cá bắn dấu nhưng chấp nhận được. Rasal và cs (2022) [17] khi nghiên cứu về ảnh hưởng của dấu PIT Tags đến cá rohu và cá catla chọn giống kích cỡ từ 10 g/con đến 150 g/con cho thấy, tỷ lệ chết trung bình ở cá rohu là 3% trong khi ở cá catla lên tới 14%. Theo Musselman và cs (2017) [18] khi tổng quan các nghiên cứu về ảnh hưởng của việc bắn dấu PIT Tags đến 31 loài cá khác nhau cho thấy, tỷ lệ sống của cá bắn dấu PIT Tags đều đạt trên 88%, ngoại trừ nghiên cứu trên cá *Etheostoma spectabile* tỷ lệ sống chỉ đạt 56%.

Kết quả phân tích về tỷ lệ dị hình và tỷ lệ mất dấu ở cá chim vây vàng bắn dấu PIT Tags cho thấy, ở cả 3 nhóm cá thử nghiệm tỷ lệ mất dấu và tỷ lệ dị hình đều đạt ≤ 5% (dao động trong khoảng 2% - 5%), trong đó tỷ lệ dị hình quan sát được ở nghiệm thức bắn dấu PIT Tag GVL là cao hơn ở vị trí PIT Tag XB ở cả 3 nhóm kích cỡ cá (Bảng 4). Tổng hợp kết quả nghiên cứu trên 31 loài cá khác nhau, tỷ lệ giữ dấu ở cá bắn PIT Tags đều đạt trên 90%, tương đương tỷ lệ mất dấu < 10% [18]. Khi theo dõi tỷ lệ giữ dấu PIT Tags ở cá hồi Đại Tây Dương (*Salmo salar*) giai đoạn cá giống lớn đến sau 1 năm nuôi trong môi trường biển cho thấy, tỷ lệ giữ dấu đạt 91% sau 49 ngày bắn dấu PIT Tags [19]. Tuy nhiên, khi phân tích thành phần chính (PCA) về mối tương quan giữa các tham số chiều dài, khối lượng, tỷ lệ sống, tỷ lệ dị hình và tỷ lệ mất dấu giữa các nhóm thí nghiệm cho thấy, kích cỡ cá bắn dấu và vị trí bắn dấu có ảnh hưởng đến tỷ lệ dị hình và tỷ lệ mất dấu của cá chim vây vàng. Cụ thể, nhóm cá CVV_10 g/con và nhóm cá CVV_12 g/con làm gia tăng tỷ lệ dị hình và tỷ lệ mất dấu nhiều hơn so với nhóm cá CVV_15 g/con. Về vị trí bắn dấu, ở hai nhóm cá (CVV_10 g/con và CVV_12 g/con) vi trí bắn dấu ở gốc vây lưng có tỷ lệ dị hình cao hơn vị trí bắn dấu xoang bụng (Hình 2).

Tổng hợp kết quả đánh giá ảnh hưởng việc bắn dấu PIT Tags đến chiều dài và khối lượng cá, tỷ lệ sống, tỷ lệ dị hình và tỷ lệ mất dấu ở cá chim vây vàng ở 3 nhóm kích cỡ 10 g/con, 12 g/con, 15 g/con và 2 vị trí bắn dấu là gốc vây lưng và xoang bụng (Bảng 2, 3, 4 và hình 2) có thể thấy rằng kích cỡ cá chim vây vàng và vị trí bắn dấu PIT Tags thích hợp là cá có khối lượng 10 - 15 g/con và vị trí xoang bụng, trong đó cá có khối lượng 15 g/con cho kết quả tốt nhất, ít ảnh hưởng nhất đến tỷ lệ dị hình và mất dấu. Nhận định này cũng phù hợp với các kết quả nghiên cứu bắn dấu PIT Tags trên cá brown trout (*Salmo trutta* L.) và cá rô hu vị trí thường là xoang bụng, phần cơ hoặc dưới da [12, 17], trong khi vị trí cơ lưng thường áp dụng đối với cá lớn và vị trí xoang bụng thường áp dụng với cá nhỏ hơn hay cá giống [18].

4. KẾT LUẬN

Cá chim vây vàng có thể bắn dấu PIT Tags từ kích cỡ cá giống 10 - 15 g và vị trí bắn dấu xoang bụng thích hợp hơn vị trí gốc vây lưng, trong đó kích cỡ cá giống 15 g/con là tốt nhất vì ít ảnh hưởng hơn đến tỷ lệ dị hình và tỷ lệ mất dấu.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được tài trợ kinh phí từ Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn thông qua đề tài khoa học công nghệ "Chọn giống cá chim vây vàng (Trachinotus falcatus) sinh trưởng nhanh".

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Gjedrem, T. (2000). Genetic improvement of cold-water fish species. *Aquaculture research*, 31(1): 25-33.

2. Yue, G. H., Orban, L., Lim, H. S. (2015). The breeding program of Asian seabass in Singapore. *J. Aquac. Res. Development*: 6.

3. Ninh, N. H., Ponzoni, R. W., Nguyen, N. H., Woolliams, J. A., Taggart, J. B., McAndrew, B. J., Penman, D. J. (2011). A comparison of communal and separate rearing of families in selective breeding of common carp (*Cyprinus carpio*): Estimation of genetic parameters. *Aquaculture,* 322, 39–46.

4. Nguyễn Công Dân, Trần Đình Luân, Phan Minh Quý, Nguyễn Thị Hoa (2003). Chọn giống cá

rô phi *Oreochromis niloticus* (dòng GIFT) nhằm nâng cao sức sinh trưởng và chịu lạnh. Tuyển tập báo cáo khoa học về nuôi trồng thủy sản. Hội thảo khoa học về nuôi trồng thủy sản lần thứ 2, Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thuỷ sản I.

5. Nguyễn Văn Sáng, Nguyễn Văn Hảo, Nguyễn Quyết Tâm, Nguyễn Thị Đang, Nguyễn Thế Vương, Bùi Thị Liên Hà (2015). Chọn giống cá tra theo tính trạng khối lượng thu hoạch. *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn,* số tháng 6: 147-156.

6. Trần Thế Mưu và Nguyễn Hữu Ninh (2015). Nghiên cứu tạo nguồn vật liệu ban đầu phục vụ chọn giống nâng cao sinh trưởng tôm chân trắng (*Litopenaeus vannamei*). *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn,* số tháng 6: 91-99.

7. Khang, P. V., Phuong, T. H., Dat, N. K., Knibb, W., Nguyen, N. H. (2018). An 8-Year Breeding Program for Asian Seabass *Lates calcarifer*: Genetic Evaluation, Experiences, and Challenges. *Front. Genet.* 9:191. doi: 10.3389/fgene.2018.00191

8. Bộ Nông nghiệp và PTNT (2020). *Quyết định số 5053/QĐ-BNN-KHCN phê duyệt nội dung và kinh phí thực hiện đề tài nghiên cứu khoa học và dự án sản xuất thử nghiệm cấp Bộ bắt đầu thực hiện từ năm 2021.*

9. WorldFish Center (2004). GIFT Technology Manual: An Aid to Tilapia Selective Breeding. *WorldFish Center, Penang, Malaysia*, p. 56.

10. Castro-Santos, T., Haro, A., Walk, S. (1996). A passive integrated transponder (PIT) tag system for monitoring fishways. *Fish. Res.* 28 (3), 253–261.

11. Grieve, B., Lee, J. B., Robinson, W., Silva, L. G., Pomorin, K., Thorncraft, G., Ning, N. (2018). Flexible and non-invasive passive integrated transponder (PIT) tagging protocols for tropical freshwater fish species. *MethodsX* 5, 299–303.

12. Gheorghiu, C., Hanna, J., Smith, J. W., Smith, D. S., Wilkie, M. P. (2010). Encapsulation and migration of PIT tags implanted in brown trout (*Salmo trutta* L.). *Aquaculture* 298 (3–4), 350–353.

13. Lauzon-Guay, J. S., Scheibling, R. E. (2008). Evaluation of passive integrated transponder (PIT) tags in studies of sea urchins: caution advised. *Aquat. Biol.* 2, 105–112.

14. D'Amico, T. W., Winkelman, D. L., Swarr, T. R., Myrick, C. A. (2021). Retention of passive integrated transponder tags in a small-bodied catfish. *N. Am. J. Fish. Manag.* 41 (1), 187–195.

15. Fuller, S. A., McEntire, M. (2013). The effect of PIT tagging on survival, tag retention, and weight gain in fingerling white bass. *J. Appl. Aquac.* 25 (2), 95–101.

16. Knudsen, C. M., Johnston, M.V., Schroder, S. L., Bosch, W. J., Fast, D. E., Strom, C. R. (2009). Effects of passive integrated transponder tags on smolt-to-adult recruit survival, growth, and behavior of hatchery spring chinook salmon. *North American Journal of Fisheries Management* 29: 658-669.

17. Rasal, A., Patnaik, M., Murmu K., Sundaray J. K., Vasam M., Swain J.K., Mahapatra K. D. (2022). A comparative analysis of Passive Integrated Transponder (PIT) tagging in selective breeding programme of improved rohu (Jayanti) and catla. *Aquaculture Reports* 26 (2022) 101284. https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2022.101284.

18. Musselman, W. C., Worthington, T.A., Mouser, J., Williams, D. M., Brewer, S. K. (2017). Passive integrated transponder tags: review of studies on warm water fishes with notes on additional species. *J. Fish Wildl. Manag.* 8, 353–364.

19. Foldvik, A., Kvingedal, E. (2018). Long-term PIT tag retention rates in Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Anim. Biotelem.* 6 (1), 1–4.

STUDY ON DETERMINATION OF SUITABLE FISH SIZE AND INSERTION SITE IN POMPANO (*Trachinotus falcatus*) FOR PIT TAGGING

Dang Thi Lua[1, 2], Cao Van Hanh[1], Do Xuan Hai[1]

[1]*Research Institute for Aquaculture No.1*

[2]*Faculty of Fisheries, Vietnam National University of Agriculture*

Summary

Passive Integrated Transponder (PIT) tags have been popularly used in aquaculture selective breeding programs because PIT tagging offers many advantages like accession to billions of unique tag numbers, tagging and reading ease, high tag retention rates, minimal side effects to the tagged fish. In order to determine the size and insertion site of pompano suitable for PIT tagging, in this study, the fish length and weight, survival rate, malformation rate, and tag loss rate of PIT-tagged fish were analyzed. The experiment was conducted with 3 different groups of fish (10 g/fish, 12 g/fish, 15 g/fish), each group consisted of 3 experimental treatments (the fish was implanted with PIT tags into the muscle below dorsal fin (PITTag GVL), into abdominal cavity (PITTag XB) and the fish was implanted with CWT). The results analyzed at 30 days, 45 days and 60-days post-tagging showed that, in all 3 experimental groups, the weight of PITTag GVL-tagged fish was statistically significantly lower compared to the weight of PITTag XB-tagged fish and CWT-tagged fish. The survival rates of PIT-tagged fish in all 3 experimental groups were ≥ 93%. In addition, the rates of malformation and the rates of tag loss in PIT-tagged fish were ≤ 5%, in which the rate of malformation observed in the PITTag GVL-tagged fish was higher than that in the PITTag XB-tagged fish in all 3 experimental groups. The study result demonstrates the ideal size and insertion site for PIT tagging in pompano to be 10 - 15 g and abdominal cavity, respectively, in which the best size of pompano is 15 g/fish because tagging at this size is less influence on malformation rate and tag loss rate.

Keywords: *Pompano, PITTag, Trachinotus, tag retention rate, survival rate.*

Người phản biện: TS. Phạm Anh Tuấn
Ngày nhận bài: 3/7/2023
Ngày thông qua phản biện: 5/8/2023
Ngày duyệt đăng: 18/9/2023

ƯƠNG ẤU TRÙNG TÔM CÀNG XANH TOÀN ĐỰC (*Macrobrachium rosenbergii*) BẰNG QUY TRÌNH NƯỚC TRONG CẢI TIẾN

Lê Văn Trúc[1, *], Đinh Kim Diệu[1],
Võ Bích Xoàn[1], Ngô Minh Lý[1], Nguyễn Minh Đương[1]

TÓM TẮT

Nghiên cứu so sánh 2 nghiệm thức ứng dụng 2 quy trình ương ấu trùng tôm càng xanh toàn đực khác nhau: i) Thí nghiệm (TN): Nghiệm thức áp dụng quy trình nước trong hở có cải tiến kỹ thuật nâng nhiệt, tăng cường ánh sáng, mực nước ban đầu thấp và nâng cao dần, sử dụng thức ăn là Lansy Shrimp PL kết hợp Artemia và Moina mật độ ương ban đầu 158 ấu trùng/lít; ii) Đối chứng (ĐC): Nghiệm thức áp dụng quy trình sản xuất tôm càng xanh hiện hành của trại giống là quy trình nước trong hở, không áp dụng kỹ thuật nâng nhiệt và tăng ánh sáng, sử dụng thức ăn là Artemia kết hợp thức ăn chế biến, mật độ ương ban đầu 63 ấu trùng/lít. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần trong 6 bể xi măng thể tích mỗi bể 5,5 m^3, nước có độ mặn 12‰. Kết quả cho thấy, chỉ số về chiều dài hậu ấu trùng ở các bể TN (8,9 ± 0,20 mm) cao hơn không có ý nghĩa thống kê ($p>0,05$) so với chiều dài của ấu trùng ở các bể ĐC (8,8 ± 0,22 mm). Chỉ số biến thái của ấu trùng ở các bể TN dao động trong khoảng 2,0 - 11,9; chỉ số này ở các bể ĐC dao động từ 2,2 - 11,6, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê trong các lần kiểm tra ($p>0,05$). Thời gian kết thúc chu kỳ ương ở các bể TN (23,8 ±0,98 ngày) ngắn hơn không có ý nghĩa thống kê ($p>0,05$) so với chỉ số tương đương ở các bể ĐC (24,7 ± 0,58 ngày). Tỷ lệ sống và năng suất tôm Post larvae ở các bể TN (53,4 ± 8,20%; 33,8 ± 5,56 PL/lít) cao hơn đáng kể và khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p<0,05$) so với các chỉ số tương đương ở các bể ĐC (39,8 ± 4,58%; 25,0 ± 3,61 PL/lít).

Từ khóa: *Tôm càng xanh toàn đực, tỷ lệ sống, ương giống, quy trình ương cải tiến.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Nghiên cứu cải tiến quy trình sản xuất giống tôm càng xanh toàn đực thông qua việc tạo tôm cái giả và áp dụng các giải pháp kỹ thuật mới trong ương ấu trùng đã đạt được những kết quả nhất định. Các quy trình đang được được ứng dụng chủ yếu trong ương ấu trùng tôm càng xanh bao gồm: Quy trình nước trong tuần hoàn kín (Clear water-closed system), quy trình nước trong hở (Clear water-open system) và quy trình nước xanh (Green water system), mỗi quy trình có những ưu, nhược điểm khác nhau [1].

Hiện nay, quy trình nước trong hở đang được áp dụng nhiều hơn nhờ tính giản đơn, dễ kiểm soát chất lượng nước trong bể ương thông qua thay nước định kỳ. Chi phí vận hành của quy trình này cũng thấp hơn so với 2 quy trình còn lại, không đòi hỏi có sự hiểu biết sâu về hệ thống lọc sinh học như với quy trình tuần hoàn, không đòi hỏi kỹ thuật nuôi cao và điều chỉnh mật độ tảo trong bể ương như với quy trình nước xanh. Mặc dù vậy, kết quả về tỷ lệ sống trung bình còn thấp và chưa ổn định, do một số nguyên nhân như kỹ thuật cấp nước, thay nước, điều chỉnh nhiệt độ, ánh sáng và loại thức ăn sử dụng chưa phù hợp với sự phát triển của ấu trùng.

Thí nghiệm này nhằm khẳng định việc áp dụng quy trình nước trong hở có cải tiến kỹ thuật nâng nhiệt, tăng cường ánh sáng, cấp nước thấp ban đầu, sử dụng thức ăn tổng hợp để thay thế thức ăn chế biến, có bổ sung Moina giúp nâng cao và ổn định tỷ lệ sống của ấu trùng, hướng tới mục tiêu áp dụng đại trà, nâng cao hiệu quả kinh tế trong sản xuất giống tôm càng xanh toàn đực.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Ấu trùng tôm càng xanh toàn đực được sản xuất từ tôm cái giả vi phẫu tại Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản II.

[1] Phân viện Nghiên cứu Thủy sản Nam Sông Hậu, Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản II
[*] Email: levantruc80@gmail.com

Các vật liệu khác bao gồm thức ăn công nghiệp chuyên dùng cho sản xuất giống tôm he Lansy Shrimp PL, Artemia Vĩnh Châu, Moina, thức ăn chế biến, thuốc, hóa chất, vi sinh, khoáng đảm bảo chất lượng theo tiêu chuẩn ngành.

2.2. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Thí nghiệm được thực hiện tại trại sản xuất giống của Công ty TNHH Thuận Phát Aqua tại tỉnh Bạc Liêu, trong thời gian từ tháng 3/2021 - 5/2021.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

- Chuẩn bị trại giống:

+ Trại giống nơi bố trí các bể thí nghiệm được cải tạo bằng cách thay 50% tấm tôn kim loại bằng các tấm tôn sáng, hai loại tấm che được bố trí xen kẽ với nhau để lấy ánh sáng mặt trời chiếu vào các bể ương. Phía dưới mái tôn được căng một lớp màng nhựa mỏng, chất liệu plastic trong suốt tạo "hiệu ứng nhà kính" giúp nâng nhiệt trong trại giống. Trong trại có bố trí quạt hút thông gió để điều chỉnh khi nhiệt độ không khí trong trại tăng lên quá cao.

+ Trại giống nơi bố trí các bể đối chứng áp dụng quy trình hiện hành, mái che được bố trí 30% tấm lợp là các tấm tôn sáng, phía dưới không có màng tạo "hiệu ứng nhà kính", các điều kiện khác giống như trại tôm giống thông thường.

- Chuẩn bị bể ương: Bể ương trong thí nghiệm này là các bể xi măng thể tích mỗi bể là 5,5 m^3(2,2 x 2 x 1,25 m). Trước khi cấp nước, các bể được vệ sinh sạch sẽ bằng nước ngọt có pha chất iodine, nồng độ 50 ppm, sau đó rửa lại bằng nước sạch. Trong quá trình ương, bể ương được sục khí liên tục 24/24 giờ. Khi mới thả ấu trùng, sục khí được vặn ở mức khoảng 20% so với mức tối đa, sau đó tăng dần sục khí lên mức tối đa vào ngày ương thứ 8 - 10, để đảm bảo cung cấp đủ ôxy và đảo đều thức ăn trong bể ương.

- Chuẩn bị nước: Nước ương ấu trùng được pha từ nước biển và nước máy sử dụng cho sinh hoạt thành nước có độ mặn 12‰, sau đó xử lý bằng Chlorine nồng độ 30 g/m^3, sục khí để đảo đều và tắt khí trong 3 - 5 giờ để tăng tác dụng diệt khuẩn của Chlorine, sau đó tiếp tục sục khí mạnh trong 48 - 72 giờ cho dư lượng Chlorine bốc hơi hết trước khi bơm vào bể ương qua ống lọc 1 µm.

- Chuẩn bị tôm ấu trùng: Ấu trùng tôm càng xanh toàn đực trước khi đưa vào bể ương, ấu trùng được tắm bằng dung dịch Iodine 10 ppm trong 1 phút để diệt mầm bệnh.

- Chuẩn bị thức ăn:

+ Thức ăn cho ấu trùng cho ấu trùng tôm gồm Artemia nauplii, Lansy Shrimp PL, Moina cấp đông.

+ Thức ăn chế biến theo công thức được thể hiện ở bảng 1.

Bảng 1. Thành phần thức ăn chế biến

(tính cho 1 kg thức ăn)

TT	Thành phần	Số lượng (g)
1	Thịt mực	160
2	Thịt tôm	160
3	Trứng gà	500
4	Sữa bột	150
5	Khoáng	10
6	Premix, lecithin	10
7	Vitamine	10

- Các chất bổ sung: Từ ngày thứ 2 của quá trình ương, định kỳ 2 ngày/lần sử dụng vi sinh làm sạch nước, enzyme kích thích tiêu hóa và hỗn hợp khoáng vi lượng có các thành phần Mg, Zn, Fe, Mn, liều lượng 2 g/m^3.

2.4. Bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm có 2 nghiệm thức được lặp lại 3 lần, tổng cộng có 6 bể ương xi măng, mỗi bể có thể tích 5,5 m^3. Nghiệm thức 1 (Thí nghiệm - TN) tiến hành ương ấu trùng bằng quy trình nước trong hở có cải tiến kỹ thuật nâng nhiệt, tăng cường ánh sáng, cấp nước thấp ban đầu, sử dụng thức ăn tổng hợp để thay thế thức ăn chế biến, có bổ sung Moina có thể giúp nâng cao và ổn định tỷ lệ sống của ấu trùng. Nghiệm thức 2 (Đối chứng - ĐC) tiến hành ương nuôi ấu trùng bằng quy trình nước trong hở thông thường. Điều kiện ương nuôi của 2 nghiệm thức được thể hiện ở bảng 2.

Bảng 2. Điều kiện ương ấu trùng của 2 nghiệm thức

Nghiệm thức 1 (TN)	Nghiệm thức 2 (ĐC)
1) Mái nhà xưởng được tăng cường tôn sáng lên 50% diện tích, có màng che plastic tạo "hiệu ứng nhà kính".	1) Mái nhà xưởng có tỷ lệ tôn sáng là 30% diện tích, không có màng che plastic tạo "hiệu ứng nhà kính".
2) Mức nước trong bể khi mới thả ấu trùng là 50 cm, từ ngày thứ 3 cấp thêm nước vào bể ương, mỗi lần 20% x 2 ngày/lần cho đến khi đạt mức cao nhất. Áp dụng kỹ thuật phun nước liên tục, tần suất phun 5 - 10 phút/lần trong khoảng 5 - 6 giờ đầu tiên.	2) Mức nước trong bể khi mới thả ấu trùng là 120 cm. Không áp dụng kỹ thuật phun nước
3) Mật độ ương ban đầu 158 ấu trùng/lít.	3) Mật độ ương ban đầu 63 ấu trùng/lít.
4) Ấu trùng tôm được cho ăn bằng 3 loại thức ăn: Artemia nauplii, Lansy Shrimp PL và Moina. Artemia nauplii bắt đầu cho ăn từ ngày thứ 2 của quá trình ương, lượng cho ăn lần đầu 20 g/100.000 ấu trùng/ngày, các ngày sau tăng khoảng 5% so với ngày trước đó Thức ăn Lansy Shrimp PL, lượng cho ăn lần đầu khoảng 50 g/100.000 ấu trùng/ngày, các ngày sau tăng khoảng 5% so với ngày trước đó. Thức ăn Moina, lượng cho ăn lần đầu khoảng 50 g/100.000 ấu trùng/ngày, các ngày sau tăng khoảng 5% so với ngày trước đó	4) Ấu trùng tôm được cho ăn bằng 2 loại thức ăn: Artemia nauplii và thức ăn chế biến. Artemia nauplii bắt đầu cho ăn từ ngày thứ 2 của quá trình ương, lượng cho ăn lần đầu 20 g/100.000 ấu trùng/ngày, các ngày sau tăng khoảng 5% so với ngày trước đó Thức ăn chế biến (công thức như bảng 1), lượng cho ăn lần đầu khoảng 50 g/100.000 ấu trùng/ngày, các ngày sau tăng khoảng 5% so với ngày trước đó
5) Thay nước bắt đầu từ ngày ương thứ 8 - 10, tần suất thay nước 2 ngày/lần, mức thay 20 - 30%	5) Thay nước bắt đầu từ ngày ương thứ 8 - 10, tần suất thay nước 2 ngày/lần, mức thay 20 - 30%

Cách cho ăn ở 2 nghiệm thức được thể hiện ở bảng 3. Hiện nay, quy trình nước trong hở thông thường có mật độ nuôi trung bình là 60 ấu trùng/lít với mức nước trong bể nuôi trung bình là 120 cm. Ở nghiệm thức TN, áp dụng quy trình nước trong cải tiến, với biện pháp giảm mực nước nuôi ban đầu xuống còn 50 cm để tăng mật độ nuôi lên tương đương 150 con/lít, nhằm tăng khả năng bắt mồi của ấu trùng ở giai đoạn đầu. Bên cạnh đó, quy trình nước trong cải tiến còn áp dụng một số biện pháp kỹ thuật khác để hỗ trợ cho việc tăng mật độ nuôi.

Bảng 3. Kỹ thuật cho ấu trùng ăn ở các nghiệm thức

Ngày tuổi	Giờ cho ăn			
	Artemia	Lansy Shrimp PL	Thức ăn chế biến	Moina
	TN và ĐC	TN	ĐC	TN
2 – 9	6:30 và 17:00			
10 - 11	6:30 và 17:00	9:00 và 14:00	9:00 và 14:00	
12 - 19	6:30 và 17:00	10:00, 14:00 và 21:00	10:00, 15:00 và 21:00	8:00; 16:00
20 - 24	6:30 và 17:00	10:00, 14:00 và 21:00	10:00, 15:00 và 21:00	8:00; 16:00

2.5. Các chỉ tiêu theo dõi

Nhiệt độ được đo 2 lần/ngày (sáng, chiều) bằng nhiệt kế, pH đo bằng máy đo pH. Độ kiềm, TAN, NO_2-N được thu mẫu kiểm tra 3 ngày/lần. Vi khuẩn *Vibrio* spp. trong nước được thu mẫu kiểm tra 3 ngày/lần. Vi khuẩn *Vibrio* spp. trong tôm được kiểm tra lúc bắt đầu, giữa đợt và kết thúc thí nghiệm.

Chỉ số biến thái của ấu trùng (LSI) được xác định 3 ngày/lần, mỗi lần thu ngẫu nhiên 10 ấu trùng/bể. Chiều dài ấu trùng và hậu ấu trùng được đo ở các giai đoạn 5, 11 và PL12, mỗi lần đo 10 con/bể. Tỷ lệ sống và năng suất của PL12 được tính bằng phương pháp định lượng khối lượng.

Đánh giá chất lượng tôm PL12: theo phương pháp sốc formol (150 ppm), sốc độ mặn (giảm 50% độ mặn) theo TCVN 8398: 2012 [2]; kiểm tra bằng phương pháp PCR bệnh đục cơ do MrNV và hoại tử cơ do IMNV khi kết thúc thí nghiệm.

2.6. Phương pháp xử lý số liệu

Các số liệu thu thập được tính toán giá trị trung bình, độ lệch chuẩn, so sánh sự khác biệt về chiều dài, chỉ số biến thái, tỷ lệ sống và năng suất ương giữa 2 nghiệm thức, áp dụng phương pháp kiểm định post hoc test và T-test (mức ý nghĩa α= 0,05), sử dụng phần mềm Excel của Office 2016 và SPSS phiên bản 16.0.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Các yếu tố môi trường trong bể ương ấu trùng

Kết quả bảng 4 cho thấy, nhiệt độ ở các bể TN dao động trong khoảng 29,2 - 30,4°C, trong các bể ĐC là 28 - 29,4°C. Các bể TN được bố trí trong nhà có mái che được thay bằng 50% tấm tôn sáng, phía dưới mái tôn được căng một lớp bạt nhựa mỏng plastic trong suốt để tạo "hiệu ứng nhà kính" giúp giữ nhiệt cao trong không khí và trong nước, nên nhiệt độ nước cao hơn khoảng 1°C so với các bể ĐC.

Giá trị pH sáng và chiều dao động không lớn, ở các bể TN trong khoảng 8,0 - 8,1, các bể ĐC từ 7,9 - 8,0. Độ kiềm được kiểm soát trong khoảng thích hợp, dao động từ 104 - 105 mg/L ở cả bể TN và bể ĐC. Hàm lượng TAN của các bể ương có xu hướng tăng dần về cuối chu kỳ ương nhưng không lớn, cao nhất chỉ đạt 0,23 mg/L, trung bình ở mức 0,07 mg/L ở cả bể TN và bể ĐC, hàm lượng NO_2-N dao động từ 0,05 - 0,08 mg/L, giá trị cao nhất vào cuối chu kỳ ương là 0,17 mg/L.

Bảng 4. Các yếu tố môi trường ở bể ương ấu trùng tôm càng xanh toàn đực

Nghiệm thức		Nhiệt độ		pH		Kiềm (mg/L)	TAN (mg/L)	NO_2-N (mg/L)
		Sáng	Chiều	Sáng	Chiều			
TN	Nhỏ nhất	28,5	29,5	7,7	7,7	90	0	0
	Lớn nhất	30,0	31,3	8,1	8,3	120	0,23	0,18
	Trung bình	29,2 ± 0,29	30,4 ± 0,28	8,0 ± 0,09	8,1 ± 0,09	105 ± 6,6	0,07 ± 0,066	0,05 ± 0,057
ĐC	Nhỏ nhất	27,3	28,5	7,8	7,8	100	0	0
	Lớn nhất	29,0	31,0	8,1	8,3	110	0,20	0,20
	Trung bình	28,0 ± 0,33	29,4 ± 0,57	7,9 ± 0,09	8,0 ± 0,12	104 ± 5,3	0,07 ± 0,066	0,08 ± 0,072

3.2. Các chỉ tiêu vi sinh

Kết quả về kiểm tra chỉ tiêu vi khuẩn được thể hiện ở bảng 4 cho thấy, mật độ vi khuẩn *Vibrio* spp. trong nước ương ấu trùng tôm càng xanh toàn đực trung bình dao động từ 476 - 554 CFU/mL (cao nhất là 1.680 CFU/mL), mật độ vi khuẩn nằm trong giới cho phép trong nước ương ấu trùng tôm.

Kiểm tra ấu trùng tôm càng xanh trước khi tắm Iodine cho thấy, mật độ vi khuẩn *Vibrio* spp. rất cao 1.190 x 10^3 CFU/g. Sau khi ấu trùng được tắm Iodine để đưa vào bể ương thì mật độ vi khuẩn *Vibrio* spp. đã giảm xuống rất nhiều chỉ còn 14,2 - 15,3 x 10^3 CFU/g. Mật độ vi khuẩn *Vibrio* spp. trong tôm có tăng lên vào giữa chu kỳ ương, dao động trong khoảng 41,8 - 47,8 x 10^3 CFU/g, nhưng sau đó được kiểm soát và đã giảm, kết quả kiểm tra trước khi thu hoạch tôm hậu ấu trùng, mật độ *Vibrio* spp. trong tôm con 30,3 - 35,5 x 10^3 CFU/g.

Kết quả cho thấy, việc định kỳ vệ sinh bể, thay nước, sử dụng men vi sinh, men tiêu hóa, sử dụng khoáng và kiểm soát lượng thức ăn trong quá trình ương tôm càng xanh toàn đực đã giúp ổn định chất lượng nước ương nuôi và ấu trùng phát triển tốt.

Bảng 5. Mật độ vi khuẩn *Vibrio* spp. trong nước ương và ấu trùng tôm càng xanh toàn đực

Nghiệm thức	*Vibrio* spp. trong nước (CFU/mL)	*Vibrio* spp. trong tôm (10^3 CFU/g)			
		Ban đầu chưa tắm Iodine	Ban đầu sau tắm Iodine	Giữa đợt	Kết thúc
TN	554 ± 444,2	1.189,9 ± 360,15	14,2 ± 3,67	47,8 ± 16,38	30,3 ± 14,85
ĐC	476 ± 319,7		15,3 ± 2,80	41,8 ± 15,95	35,5 ± 13,21

3.3. Tăng trưởng của ấu trùng và hậu ấu trùng tôm càng xanh toàn đực

Bảng 6. Chiều dài của ấu trùng và hậu ấu trùng tôm càng xanh toàn đực

Nghiệm thức	Chiều dài (mm)		
	Giai đoạn 5	Giai đoạn 11	Giai đoạn PL12
TN	$2,9^a$ ± 0,22	$6,9^a$ ± 0,21	$8,9^a$ ± 0,20
ĐC	$2,9^a$ ± 0,24	$6,8^a$ ± 0,24	$8,8^a$ ± 0,22

Ghi chú: Các giá trị trên cùng một cột có chữ cái giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê (p>0,05).

Sự tăng trưởng về chiều dài của ấu trùng tôm càng xanh toàn đực ở giai 5, 11 và PL12 được trình bày ở bảng 6. Tôm phát triển tương đối đồng đều ở cả bể TN và bể ĐC, chiều dài trung bình của tôm ấu trùng ở các bể TN lớn hơn so với các bể ĐC, nhưng khác biệt không có ý nghĩa thống kê (p>0,05).

3.4. Chỉ số biến thái (LSI) của ấu trùng tôm càng xanh toàn đực

Chỉ số biến thái thể hiện quá trình biến thái và mức độ đồng đều của ấu trùng tôm càng xanh trong bể ương. Sự phát triển của ấu trùng tôm càng xanh được quan sát thông qua chu kì lột xác và biến thái. Ấu trùng tôm càng xanh trải qua 11 lần lột xác và biến thái để hình thành hậu ấu trùng [1].

Kết quả ở bảng 7 cho thấy, chỉ số LSI trung bình của ấu trùng ở các bể TN luôn lớn hơn chỉ số LSI trung bình của ấu trùng ở các bể ĐC, nhưng sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê (p>0,05).

Bảng 7. Chỉ số biến thái (LSI) của ấu trùng tôm càng xanh toàn đực

Nghiệm thức	Chỉ số biến thái (LSI)							
	LSI - 3 ngày	LSI - 6 ngày	LSI - 9 ngày	LSI - 12 ngày	LSI - 15 ngày	LSI - 18 ngày	LSI - 21 ngày	LSI - 24 ngày
TN	$2,0^a$ ± 0,13	$4,5^a$ ± 1,48	$6,3^a$ ± 0,55	$8,4^a$ ± 0,67	$9,9^a$ ± 0,35	$10,8^a$ ± 0,49	$11,4^a$ ± 0,34	$11,9^a$ ± 0,36
ĐC	$2,2^a$ ± 0,10	$3,9^a$ ± 0,15	$5,8^a$ ± 0,36	$7,8^a$ ± 0,25	$9,5^a$ ± 0,15	$10,4^a$ ± 0,25	$11,1^a$ ± 0,35	$11,6^a$ ± 0,23

Ghi chú: Các giá trị trên cùng một cột có chữ cái giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê (p>0,05).

3.5. Tỷ lệ sống và năng suất ương ấu trùng tôm càng xanh toàn đực

Sự khác biệt về thời gian kết thúc chu kỳ ương ấu trùng giữa các bể TN (23,8 ± 0,98 ngày) và các bể ĐC là (24,7 ± 0,58 ngày) không có ý nghĩa thống kê (p>0,05). Tuy nhiên, có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (p<0,05) về tỷ lệ sống và năng suất tôm giống, tỷ lệ sống và năng suất tôm của các bể TN (lần lượt là 53,4 ± 8,20% và 33,8 ± 5,56 PL/lít) cao hơn đáng kể so với chỉ số tương tự của các bể ĐC (lần lượt là 39,8 ± 4,58% và 25,0 ± 3,61 PL/lít).

Bảng 8. Thời gian ương, tỷ lệ sống và năng suất tôm PL12

Nghiệm thức	Thời gian ương (ngày)	Tỷ lệ sống (%)	Năng suất tôm PL12 (con/lít)
TN	$23,8^a$ ± 0,98	$53,4^a$ ± 8,20	$33,8^a$ ± 5,56
ĐC	$24,7^a$ ± 0,58	$39,8^b$ ± 4,58	$25,0^b$ ± 3,61

Ghi chú: Các giá trị trên cùng một cột có chữ cái giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê (p>0,05).

3.6. Đánh giá chất lượng của tôm càng xanh toàn đực giai đoạn PL12

Kết quả kiểm tra bằng sốc formol và sốc độ mặn cho thấy, tỉ lệ sống của tôm ở cả 2 nghiệm thức đều đạt trên 99%. Điều này chứng tỏ tôm PL12 có chất lượng tốt, có khả năng chống chịu với các yếu tố gây sốc.

Ngoài ra, tôm ở giai đoạn PL12 cũng được kiểm tra các loại bệnh đục cơ, bằng phương pháp PCR, kết quả tôm hoàn toàn không bị nhiễm bệnh.

Bảng 9. Các chỉ tiêu đánh giá tôm PL12

Nghiệm thức	Gây sốc tôm PL12		Mức độ nhiễm bệnh	
	Sốc độ mặn	Sốc formol	MrNV	IMNV
TN	$100,0^{a} \pm 0,13$	$99,6^{a} \pm 0,66$	0	0
ĐC	$99,8^{a} \pm 0,29$	$99,3^{a} \pm 0,76$	0	0

Ghi chú: Các giá trị trên cùng một cột có chữ cái giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê (p>0,05)

4. THẢO LUẬN

Chất lượng nước và dinh dưỡng được coi là những yếu tố quan trọng ảnh hưởng đến quá trình biến thái và tỉ lệ sống của ấu trùng giáp xác [3]. Các thông số chất lượng nước đo được trong nghiên cứu này tương đồng với nghiên cứu của New (1995) và đều thích hợp cho sự phát triển của ấu trùng tôm càng xanh [4]. Khoảng nhiệt độ thích hợp trong ương nuôi ấu trùng tôm càng xanh là 26 - 31°C, tốt nhất là từ 28 - 30°C [1], [4], [5] [6], [7], [8], trong nghiên cứu này, nhiệt độ nước dao động trong khoảng 28,0 - 30,4°C nằm trong mức tối ưu cho sinh trưởng của ấu trùng. Các trại ương đều giữ nhiệt tốt, đặc biệt nhà xưởng nơi bố trí nghiệm thức TN được gắn một lớp bạt nhựa mỏng plastic trong suốt để tạo "hiệu ứng nhà kính" giúp tăng cường ánh sáng, giữ nhiệt cao trong nhà ương nuôi ấu trùng, nghiên cứu cũng cho thấy rằng ánh sáng 20.000 lux cho kết quả ương ấu trùng tốt nhất [9]. Bên cạnh đó, nồng độ chất thải nitơ tăng cao bao gồm NH_3-N, NO_2-N và NO_3-N là mối quan tâm phổ biến trong nuôi trồng thủy sản, đặc biệt là NH_3-N và NO_2-N do độc tính của chúng [10]. Nồng độ các chất độc này cao hơn so với tính đặc hiệu của loài cao sẽ làm giảm tỷ lệ sống sót, ức chế sự phát triển và gây ra một loạt các rối loạn chức năng sinh lý [10], [11], [12], [13], [14]. Trong thí nghiệm này, do bể được siphon và thay nước định kỳ nên hàm lượng NH_3-N và NO_2-N luôn ở mức thấp, NO_3-N chỉ cao trên mức cho phép (>0,1 mg/L) vào cuối chu kỳ ương nhưng không gây ảnh hưởng đến chất lượng ấu trùng. Ngoài ra, việc thường xuyên vệ sinh bể, thay nước định kỳ và bổ sung vi sinh, khoáng chất, sử dụng thức ăn hợp lý đã giúp ổn định chất lượng nước, mật độ vi khuẩn *Vibrio* thấp, nâng cao sức đề kháng của ấu trùng, hạn chế mầm bệnh.

Ở nghiệm thức TN, ấu trùng tôm càng xanh toàn đực được cho ăn Artemia và thức ăn tổng hợp Lansy Shrimp PL. Mặc dù Artemia được coi là thức ăn tươi sống tốt nhất cho ấu trùng của nhiều loài giáp xác nhưng thiếu một số thành phần dinh dưỡng thiết yếu (như HUFA, DHA và EPA) trong đó có thể hạn chế sự sống sót và phát triển của ấu trùng giáp xác và cá [15]. Việc cho ăn kết hợp thức ăn tổng hợp Lansy Shrimp PL giúp cân bằng dinh dưỡng để ấu trùng và hậu ấu trùng phát triển tốt hơn. Ngoài ra, Moina được sử dụng trong nghiệm thức TN từ giai đoạn PL nhằm làm giảm chi phí sản xuất. Moina có kích thước nhỏ, giá trị dinh dưỡng cao, hàm lượng protein chiếm tới 50% khối lượng khô, lượng chất béo chiếm 20 - 27% khối lượng khô ở Moina cái trưởng thành và 4 - 6% ở Moina giai đoạn còn non [16]. Moina là thức ăn phù hợp cho nhiều loài giáp xác như tôm, cua và các loài cá giống [17]. Ở Việt Nam, Moina là nguồn thức ăn rẻ tiền và dễ tìm nên có thể thay thế 1 phần Artemia trong ương ấu trùng tôm càng xanh mà không ảnh hưởng đến tỷ lệ sống của ấu trùng. Kết quả nghiên cứu của Nguyễn Lê Hoàng Yến và Đỗ Trung Kiên (2013) [18] cho thấy, có thể thay thế 50% Artemia bằng Moina mà không làm ảnh hưởng đến tỷ lệ sống của ấu trùng tôm càng xanh.

Ở nghiệm thức ĐC, ấu trùng được cho ăn Artemia và thức ăn chế biến. Thức ăn chế biến

thường được sử dụng trong các trại giống ương tôm càng xanh nhưng chất lượng thay đổi theo từng mẻ chế biến, tỷ lệ phối trộn các thành phần đôi khi chưa được chú ý. Kỹ thuật xay trước khi hấp và nghiền nhỏ trước khi cho ăn khá phức tạp, khó phù hợp với cỡ mồi của ấu trùng làm cho mức độ sử dụng thức ăn của tôm giảm xuống. Hơn nữa, việc bảo quản thức ăn trong vài ngày cũng có thể dẫn đến giảm chất lượng thậm chí có nguy cơ cao nhiễm nấm, mốc, ảnh hưởng đến sức khỏe ấu trùng.

Kỹ thuật cấp nước thấp lúc ban đầu ở các bể của nghiệm thức TN là khâu cải tiến mang lại một số lợi ích sau: Giúp tăng mật độ thức ăn/đơn vị thể tích nước, vì lượng thức ăn được tính toán dựa trên số lượng ấu trùng ương trong bể, khi thể tích nước thấp thì mật độ thức ăn sẽ cao. Như vậy, mặc dù mật độ ấu trùng tăng lên nhưng tần suất bắt gặp thức ăn của ấu trùng cũng tăng lên, các ấu trùng đều có cơ hội bắt gặp và ăn mồi như nhau giúp chúng lột xác đồng đều hơn, ít xảy ra hiện tượng ấu trùng ăn nhau khi lột xác và nhờ đó tỷ lệ sống ấu trùng sẽ cao hơn. Điều này giải thích được nghịch lý mang tính "logic" là nếu mật độ cao hơn thì tỷ lệ sống thường thấp hơn và thời gian chuyển giai đoạn chậm hơn. Nghiên cứu của New (2010) cũng cho rằng, ương ấu trùng 2 giai đoạn sẽ tốt hơn, nghĩa là ban đầu ương với mật độ cao ở bể nhỏ, sau khi ương khoảng 10 ngày thì chuyển sang bể lớn ương với mật độ thấp hơn [19]. Trong nghiệm thức TN, ban đầu ấu trùng được ương với mật độ cao ở mực nước thấp, sau đó giảm dần mật độ bằng cách tăng dần lượng nước trong bể ương, điều này có ưu điểm hơn vì vừa giúp tăng hiệu quả sử dụng thức ăn, tối ưu hóa khu vực ương giống còn giảm tình trạng ấu trùng dễ bị sốc khi phải chuyển từ bể nhỏ qua bể lớn hơn.

Kỹ thuật phun nước ngay sau khi thả ấu trùng cũng mang lại những lợi ích đáng kể. Từ các quan sát của nghiên cứu cho thấy, ấu trùng tôm càng xanh khi mới nở dường như có lớp dầu bao phía ngoài, sức căng bề mặt lớn, làm cho chúng bị nổi rất lâu trên mặt nước và rất dễ bị dính vào thành bể, nếu gặp điều kiện môi trường không khí bất lợi tỷ lệ chết rất cao. Kỹ thuật phun nước liên tục áp dụng trong các bể TN với tần suất phun 5 - 10 phút/lần trong khoảng 5 - 6 giờ đầu tiên, giúp làm chìm ấu trùng vào trong tầng nước, giảm tỷ lệ hao hụt ban đầu giúp tăng hiệu quả trong ương ấu trùng.

Chỉ số LSI thể hiện sự biến thái và mức độ đồng đều của ấu trùng tôm càng xanh trong bể ương. Sự phát triển của ấu trùng tôm càng xanh được quan sát thông qua chu kì lột xác và biến thái. Thời gian lột xác mỗi giai đoạn tùy thuộc vào điều kiện môi trường, dinh dưỡng, mật độ ương và điều kiện sinh lý của chúng. New và Singholka (1985) [20] cho rằng, môi trường ương tôm sẽ ảnh hưởng đến quá trình lột xác của tôm càng xanh. Trong nghiên cứu này, chỉ số biến thái LSI của các bể thí nghiệm sau 24 ngày ương tôm càng xanh trung bình là 11,9 cao hơn số liệu của Châu Tài Tảo và cs (2014) trong hệ thống nước xanh cải tiến (LSI = 10,1 - 11,1) [21], Trần Ngọc Hải và cs (2019) trong công nghệ biofloc (LSI = 10,3 - 11,1) [22]. Sự khác biệt này, có thể là trong hệ thống nước trong hở, lượng nước được thay liên tục giúp cho chất lượng nước được duy trì tốt, kích thích cho sự lột xác và phát triển của tôm càng xanh. Chiều dài của ấu trùng tôm càng xanh giai đoạn 5 và 11 (2,9 ± 0,22 và 6,9 ± 0,21 mm), tương đương với số liệu được công bố của Châu Tài Tảo và cs (2014) (2,71 - 2,95 mm và 6,64 - 6,9 mm mm) [21].

Thời gian kết thúc chu kỳ ương trong nghiên cứu này là 23,8 - 24,7 ngày, trong khi nghiên cứu của Châu Tài Tảo và cs (2014) [21] cho rằng phải mất 22 - 24 ngày mới xuất hiện Post larvae trong bể ương ấu trùng, có thể trong nghiên cứu này nhà ương ấu trùng được gắn 50% diện tích mái bằng tôn sáng, phía dưới có gắn một lớp bạt nhựa mỏng plastic trong suốt để tạo "hiệu ứng nhà kính" giúp giữ nhiệt cao trong nhà ương nuôi ấu trùng của nghiệm thức TN, nhờ đó nhiệt độ khi ương ấu trùng luôn ở mức cao, tối ưu cho sự phát triển của ấu trùng và việc thay nước cũng kích thích cho quá trình biến thái của ấu trùng nhanh hơn.

Tỷ lệ sống của tôm càng xanh đến giai đoạn PL12 ở các bể thí nghiệm đạt 53,4 ± 8,20% sau 24 ngày ương. Kết quả này cao hơn kết quả của Ang (1995), khi tiến hành thí nghiệm sản xuất giống tôm càng xanh với các quy trình nước xanh và nước trong tuần hoàn ở Malaysia với mật độ 60 ấu trùng/lít, sau 35 ngày ương nuôi đạt tỉ lệ sống trung bình 28,5 - 31,5% [23]; thí nghiệm sản xuất tôm càng xanh theo quy trình tuần hoàn và nước trong hở ở Thái Lan với mật độ 80 - 120 con/lít, sau 30 - 35 ngày, tỷ lệ sống tương đương 30% [19]; thí nghiệm sản xuất tôm càng xanh theo quy trình tuần hoàn và nước trong hở ở Brazil với mật độ 50 - 140 con/lít, sau 22 - 23 ngày khi trong bể chuyển PL 90%, tỷ lệ sống đạt 47 - 65,2% [24]. Một số nghiên cứu ở quy mô phòng thí nghiệm được thực hiện tại Việt Nam như: Thí nghiệm ương ấu trùng tôm càng xanh từ các nguồn tôm bố mẹ khác nhau bằng quy trình nước xanh cải tiến với mật độ 60 ấu trùng/lít, tỷ lệ sống đạt 37,6 - 56% đến giai đoạn PL15 [21]; thí nghiệm ương tôm càng xanh bằng công nghệ biofloc với mật độ 40 - 100 ấu trùng/lít, đạt tỷ lệ sống 35,9 - 51,3% đến giai đoạn PL15 [22]. Năng suất PL12 ở các bể thí nghiệm trong nghiên cứu này trung bình 33,8 ± 5,56 con/lít; cao hơn so với nghiên cứu trong hệ thống biofloc là 20,5 - 35,9 con/lít [22] và trong hệ thống nước xanh cải tiến 22,7 - 33,6 con/lít [21].

5. KẾT LUẬN

Các yếu tố môi trường như nhiệt độ, pH, độ kiềm, TAN, NO_2-N, vi sinh trong suốt quá trình ương của cả 2 nghiệm thức đều nằm trong khoảng thích hợp cho sự phát triển của ấu trùng và hậu ấu trùng tôm càng xanh toàn đực.

Ương ấu trùng tôm càng xanh bằng quy trình thí nghiệm cho kết quả tốt hơn so với quy trình ĐC. Ở nghiệm thức TN, chỉ số biến thái (LSI) từ ngày ương 3 - 24 dao động từ 2,0 - 11,9. Thời gian ương ấu trùng 23,8 ± 0,98 ngày, chiều dài tôm giống PL12 đạt 8,9 ± 0,20 mm, tỉ lệ sống đạt trung bình 53,4 ± 8,20%. Năng suất tôm PL12 đạt trung bình 33,8 ± 5,56 con/lít. Tôm giống PL12 đạt tỷ lệ sống từ 99 - 100% khi gây sốc bằng formol và độ mặn, tôm không bị nhiễm bệnh do virus MrNV và IMNV. Ở nghiệm thức ĐC thời gian ương ấu trùng 24,7 ± 0,58 ngày, tỉ lệ sống đạt trung bình 39,8 ± 4,58%, năng suất tôm PL12 đạt trung bình 25,0 ± 3,61 con/lít.

LỜI CẢM ƠN

Nhóm tác giả chân thành cảm ơn cán bộ, nhân viên tham gia thực hiện nghiên cứu và Công ty TNHH Thuận Phát Aqua đã tạo điều kiện về cơ sở vật chất để thực hiện thí nghiệm này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Thanh Phương, Trần Ngọc Hải, Trần Thị Thanh Hiền và Marcy N. Wilder. (2003). *Nguyên lý và kỹ thuật sản xuất giống tôm càng xanh (Macrobrachiumrosenbergii)*. Nxb Nông nghiệp thành phố Hồ Chí Minh, 127 trang.

2. Tiêu chuẩn Quốc gia TCVN 8398: 2012. Tôm biển - Tôm sú giống PL.

3. Anger, K. (2006). Contributions of larval biology to crustacean research: A review. Invertebrate Reproduction and Development. 49: 175 - 205.

4. New, M. B. (2002). Farming Freshwater Prawns: a Manual for the Culture of Giant River Prawn (*Macrobrachium Rosenbergii*). FAO fisheries technical. Paper 428.

5. New, M. B. (1995). Status of freshwater prawn culture: A review. Aquaculture Research. 26, 1 - 54.

6. Davassi, L.A. (2011). Survival and Growth of the Freshwater Prawn (*Macrobrachium rosenbergii)* in Relation to Different Nutrients Composition. *J Fish Aquat Sci*. 6, 49 - 54.

7. Habashy, M, M., Sharshar, K. M. (2020). On some factors affecting molting and growth rate of the giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii* (De Man, 1879). *Egyp J Aquat Biol Fish*. 24, 163 - 75.

8. Tay, J., Suhanizen, A., Aziz, M., Yassin, N., Arai, T. (2022). Effects of domestication and temperature on the growth and survival of the giant freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) postlarvae. Agriculture. 7, 181-190.

9. Tao, C. T., Khoa, T., Truyen, P. M., Hoa, N. V. (2021). Effects of light intensity on growth and survival rate of freshwater prawn *(Macrobrachium rosenbergii)* at larvae and postlarvae stages in biofloc system. AACL Bioflux, Volume 14, Issue 6.

10. Romano, N., Zeng, C. (2013). Toxic effects of ammonia, nitrite, and nitrate to decapod crustaceans: a review on factors influencing their toxicity, physiological consequences, and coping mechanisms. *Rev. Fish. Sci.* 21, 1 - 21.

11. Tomasso, J. R. (1994). Toxicity of nitrogenous wastes to aquaculture animals. Rev. Fish. Sci. 2, 291 - 314.

12. Mallasen, M. and Valenti, W. C. (2006). Effect of nitrite on larval development of giant river prawn *Macrobrachium rosenbergii*. *Aquaculture*, 261, 1292 - 1298.

13. Mallasen, M. and Valenti, W. C. (2005). Larval Development of the Giant River Prawn *Macrobrachiurnrosenbergii* at Different Ammonia Concentrations and pH Values. *Journal of the world aquaculture society*. Volume 36, No. 1.

14. Boyd, C. E. (2014). Nitrite toxicity affected by species susceptibility, environmental conditions. Glob. Aquac. Advocate 17, 34 - 37.

15. Hosain, M. E., Amin, S. M. N., Arshad, A., Kamarudin, M.S., Karim, M. (2021). Effects of carbon sources on the culture of giant river prawn in biofloc system during nursery phase. Aquaculture Reports 19.

16. Pennak, R. W. (1978). Freshwater Invertebrates of the United States. Second edition, John Wiley & Sons Inc. p 803.

17. Rottmann, R. W., Graves, J. S., Watson, C., Yanong, R. P. E. (1992). Culture Techniques of Moina: The Ideal Daphnia for Feeding Freshwater Fish Fry, Florida Cooperative Extension Service. Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida. 1054.

18. Nguyễn Lê Hoàng Yến và Đỗ Trung Kiên (2013). Nghiên cứu khả năng thay thế Artemia bằng Moina macrocopa trong sản xuất giống tôm càng xanh (*Macrobrachium rosenbergii*) theo qui trình nước xanh cải tiến. *Tạp chí Khoa học, Trường Đại học Cần Thơ. Phần B: Nông nghiệp, Thủy sản và Công nghệ Sinh học*: 25, 119 - 124.

19. New, M. B., Valenti, W. C, Tidwell, J. H., D'Abramo, L. R., Kutty, M. N. (2010). Freshwater Prawns: Biology and Farming. Whiey - Blackwell. 531 p.

20. New, M.B., and Singholka, S. (1985). Freshwater Prawn Farming: A manual for culture of *Macrobrachium rosenbergii*. FAO Fisheries Technical Paper 212.

21. Châu Tài Tảo, Trần Minh Nhứt và Trần Ngọc Hải (2014). Đánh giá chất lượng ấu trùng và hậu ấu trùng của một số nguồn tôm càng xanh (*Macrobrachium rosenbergii*) ở các tỉnh phía Nam. *Tạp chí Khoa học, Trường Đại học Cần Thơ*: 34, 64 - 69.

22. Trần Ngọc Hải, Phạm Văn Đầy, Cao Mỹ Án và Châu Tài Tảo (2019). Nghiên cứu ương ấu trùng tôm càng xanh (*Macrobrachium rosenbergii*) bằng công nghệ biofloc với các mật độ khác nhau. *Tạp chí Khoa học, Trường Đại học Cần Thơ*: Tập 55, số 2B, 79 - 87.

23. Ang K. J, (1995). The evolution of an enviromentally friendly hatchery technology for Udang Galah, the king of freshwater prawn and a limpe into future of aquaculture in 21st century. University Pertanian Malaysia.

24. David, F. S., Cohen, F. P. A., Valenti, W. C. (2016). Intensification of the Giant river prawn *Macrobrachium rosenbergii* hatchery production. *Aquaculture Research.*, 47, 3747 - 3752.

REARING ALL-MALE GIANT FRESHWATER PRAWN (*Macrobrachium rosenbergii)* LARVAE IN THE IMPROVED OPEN CLEARWATER SYSTEM

Le Van Truc[1], Dinh Kim Dieu[1], Vo Bich Xoan[1], Ngo Minh Ly[1], Nguyen Minh Dương[1]

[1]Research Sub-Institute For Nam Song Hau Fisheries, Research Institute for Aquaculture No. 2

Summary

This study was conducted to compare 02 treatments applying 02 different rearing protocols of all-male giant freshwater prawn larvae: i) TN: The improved protocol applied the improved open clearwater system with improved heating and light enhancement techniques, low initial water supply and gradually increased water level, using artificial feed combining Artemia and Moina, with initial stocking density of 158 larvae/liter; ii) ĐC: The current protocol applied in the hatchery, which was an open clearwater system, without the application of heat and light enhancement techniques, and the use of feed is Artemia combined with farm-made food, with an initial stocking density of 63 larvae/liter. The experiment was conducted in 6 cement tanks with a volume of 5.5 m^3 each in triplicate, at 12‰ of water salinity. The results showed that the index of postlarval length in the TN tanks (8.9 ± 0.20 mm) was not statistically significant ($p>0.05$) compared to that of the postlarvae in the ĐC tanks (8.8 ± 0.22 mm). The metamorphosis index of larvae in TN tanks varied from 2.0 to 11.9; this index in ĐC tanks varied from 2.2 to 11.6, there is no statistically significant difference in the tests of metamorphosis index between the two treatments ($p>0.05$). The duration of the rearing cycle of the TN tanks (23.8 ± 0.98 days) was not statistically significant shorter than that of the ĐC tanks (24.7 ± 0.58 days) ($p>0.05$). The survival rate and yield of postlarvae in the TN tanks (53.4 ± 8.20%; 33.8 ± 5.56 PL/L respectively) were statistically significantly higher than that of ĐC tanks (39.8 ± 4.58%; 25.0 ± 3.61 PL/L respectively) ($p<0.05$).

Keywords: *All-male giant freshwater, Macrobrachium rosenbergii, survival, larval rearing, improved open clearwater- system.*

Người phản biện: TS. Phan Đình Phúc

Ngày nhận bài: 26/7/2023

Ngày thông qua phản biện: 22/8/2023

Ngày duyệt đăng: 22/9/2023

NGHIÊN CỨU THIẾT KẾ HỆ THỐNG NUÔI VÀ XÁC ĐỊNH MẬT ĐỘ THÍCH HỢP TRONG NUÔI THƯƠNG PHẨM TÔM MŨ NI TRẮNG (*Thenus orientalis* Lund, 1793)

Trương Quốc Thái [1,*], Nguyễn Văn Mạnh [1], Nguyễn Khắc Đạt [1]

TÓM TẮT

Nghiên cứu thiết kế hệ thống nuôi và xác định mật độ thích hợp trong nuôi thương phẩm tôm mũ ni trắng (*Thenus orientalis* Lund, 1793) được tiến hành tại Trung tâm Nghiên cứu và Phát triển nuôi biển Nha Trang, thuộc Viện Nghiên cứu Nuôi trồng thủy sản III từ tháng 6/2021 đến 4/2023. Mục đích của nghiên cứu nhằm thiết kế, vận hành và thử nghiệm nuôi thương phẩm tôm mũ ni trắng, đồng thời xác định mật độ tôm nuôi thích hợp cho hệ thống nuôi. Kết quả nghiên cứu cho thấy, hệ thống nuôi thương phẩm tôm mũ ni trắng được thiết kế, vận hành ổn định và tôm sinh trưởng và phát triển tốt. Ngoài ra, trong nghiên cứu này cũng đã xác định được mật độ thích hợp để nuôi thương phẩm tôm mũ ni trắng là 15 - 20 con/m^2.

Từ khóa: *Mật độ, Thenus spp., tăng trưởng, tôm mũ ni trắng, tỷ lệ sống.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Tôm mũ ni trắng (*Thenus orientalis* Lund, 1793) là một trong số các loài giáp xác có giá trị kinh tế và dinh dưỡng cao, là đối tượng xuất khẩu quan trọng của một nước trên thế giới trong đó có Việt Nam. Trong tự nhiên, tôm mũ ni trắng sống ở môi trường nước sạch, thường vùi mình trong cát hoặc bám, ẩn trong các hang hốc các vách đá, san hô [1]. Tôm thường kiếm ăn vào ban đêm, thức ăn ưa thích của tôm mũ ni trắng là các loại nhuyễn thể hai mảnh vỏ [2], ngoài ra tôm cũng ăn một số loài giáp xác và cá nhỏ. Năm 2010, sản lượng tôm mũ ni thuộc họ Scyllarid chiếm khoảng 3,69% trong tổng số 279.000 tấn tôm hùm được khai thác trên thế giới [3]. Riêng ở khu vực phía Tây Bắc và Tây Thái Bình Dương, tôm mũ ni chiếm 15 - 50% tổng sản lượng tôm hùm khai thác từ tự nhiên [4, 5]. Tại Úc, sản lượng tôm mũ ni (*Thenus* spp.) chiếm khoảng 4% tổng sản lượng thủy sản khai thác, tuy nhiên sản lượng tôm này đang giảm sút nhanh chóng. Ở Việt Nam, tôm mũ ni trắng phân bố từ vịnh Bắc bộ đến vùng phía Đông và Tây Nam bộ (từ tỉnh Quảng Ninh đến Kiên Giang), vùng biển có mật độ tôm mũ ni trắng phân bố cao là khu vực Cù Lao Thu (tỉnh Bình Thuận) và từ Cà Mau tới đảo Phú Quốc (tỉnh Kiên Giang).

Nghiên cứu sản xuất giống nhân tạo tôm mũ ni trắng (*Thenus* spp.) đã ghi nhận sự thành công của một số quốc gia trên thế giới, gồm có: Úc là loài *Thenus orientalis* và *T. autraliensis*) [6], Ấn Độ là loài *T. unimaculatus* (trước đây gọi là *T. orientalis*) [7, 8], Nhật Bản (*Ibacusnovemdentatus*) [9] và Việt Nam (loài *Thenus orientalis*) [10]. Các quốc gia này hiện nay đã và đang tiếp tục nỗ lực thực hiện nghiên cứu nâng cao tỷ lệ sống trong sản xuất giống, đồng thời xây dựng phát triển các mô hình nuôi thương phẩm tôm mũ ni trắng, trong đó hai quốc gia đi tiên phong phát triển nuôi tôm mũ ni trắng thương phẩm là Ấn Độ và Úc. Các mô hình nuôi thương phẩm tôm mũ ni (*Thenus* spp.) đã được nghiên cứu như nuôi thương phẩm tôm mũ ni (*Thenus* spp.) trong hệ thống nước tuần hoàn, hệ thống nước tĩnh, hệ thống race-way. Thành công trong sản xuất giống tôm mũ ni trắng đã được một số công ty phát triển thương mại như Công ty TNHH Australian Fresh Corporation [11] và công ty TNHH Lobster Harvest [12].

Ở Việt Nam, giá trị kinh tế của tôm mũ ni trắng chỉ đứng sau tôm hùm bông (*Panulirus ornatus*) [13], tuy nhiên thực tế hiện nay sản lượng tôm mũ ni trắng khai thác từ tự nhiên đang bị suy giảm nghiêm trọng do việc khai thác, đánh bắt quá mức. Để bảo tồn đối tượng này trước nguy cơ bị cạn kiệt, việc nghiên cứu sản xuất giống nhân tạo

[1] Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản III
* Email: truongqt115@gmail.com

tôm mũ ni trắng, đồng thời sử dụng nguồn giống nhân tạo để phát triển nuôi thương phẩm là một giải pháp hữu hiệu đang được một số nước trên thế giới triển khai thực hiện trong đó có Việt Nam. Cho đến nay, nghề nuôi thương phẩm tôm mũ ni trắng chưa được phát triển ở nước ta, nguồn tôm mũ ni trắng trên thị trường hiện này là khai thác từ tự nhiên. Với thành công trong sản xuất giống tôm mũ ni trắng gần đây ở Việt Nam, cần tập trung nghiên cứu xây dựng mô hình nuôi thương phẩm, để phát triển nghề nuôi thương phẩm tôm mũ ni trắng trong những năm tới.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

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

Đối tượng nuôi: Tôm mũ ni trắng giống (1,5 - 2 cm).

Địa điểm thực hiện: Trung tâm Nghiên cứu và Phát triển nuôi biển Nha Trang - Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản III.

Thời gian: 6/2021 - 4/2023.

2.2. Vật liệu và thiết bị nghiên cứu

Nguồn nước: Nước biển đầu vào phải sạch và được khử khuẩn bằng chlorine (30 ppm), để lắng và lọc trước khi cấp vào bể nuôi. Chỉ tiêu môi trường đầu cần đảm bảo như sau: độ mặn 30 - 35 ppt, nhiệt độ 27 - 29^{0}C, pH 7,5 - 8,0; DO > 5 mg/L.

Hệ thống nuôi: Kế thừa và phát triển từ hệ thống tuần hoàn nuôi tôm mũ ni đỏ (*Scyllarides squammosus*) bố mẹ [14] và hệ thống tuần hoàn nuôi tôm mũ ni loài *T. unimaculatus* thương phẩm [15], với một số bổ sung như: (i) Tăng thể nuôi; (ii) Bổ sung thiết bị UV khử khuẩn; (iii) sử dụng bể bạt thay cho bể xi-măng và bể composite.

2.3. Bố trí thí nghiệm

2.3.1. Thiết kế hệ thống nuôi tuần hoàn và nuôi thử nghiệm tôm mũ ni trắng thương phẩm

Thiết kế hệ thống nuôi

Hệ thống nuôi tôm mũ ni trắng thương phẩm bao gồm các hợp phần như sau:

Bể nuôi tôm mũ ni trắng là bể bạt hình tròn, diện tích đáy 8 m^2. Đáy bể được phủ một lớp cát biển dày từ 10 - 12 cm, diện tích cát chiếm khoảng 1/2 diện tích bể.

Hệ thống lắng, lọc nước. Bể lắng hình tròn bằng composite (V = 1.500 L). Bể lọc thô (V = 500 L) bao gồm: lớp bông lọc, cát và san hô nhỏ.

Hệ thống xử lý nước sau khi qua bể lắng bằng UV.

Bể lọc sinh học bằng composite chứa hạt nhựa Kaldnes (Φ = 1 cm) làm giá thể cho vi khuẩn (V=1.500 L) cho thử nghiệm nuôi thương phẩm tôm mũ ni trắng. Tỷ lệ hạt nhựa chiếm 1/2 thể tích bể, khi hoạt động cần sục khí mạnh để các hạt nhựa được đảo đều trong khối nước bể lọc sinh học. Tỷ lệ thể tích bể lọc sinh học so với thể tích bể nuôi với tỷ lệ 1: 12.

Thử nghiệm nuôi thương phẩm tôm mũ ni trắng

Thử nghiệm nuôi thương phẩm tôm mũ ni trắng trong hệ thống trong hệ thống tuần hoàn được thiết kế như trên. Lựa chọn tôm giống đạt yêu cầu theo tiêu chí chất lượng giống tôm mũ ni trắng từ nguồn tôm giống được sản xuất tại Trung tâm Nghiên cứu và Phát triển nuôi biển Nha Trang. Tôm giống thả có kích thước 1,5 - 2 cm (CL: 4,5 ± 0,1; CW: 6,2 ± 0,1; BW: 0,5 ± 0,1 g). Mỗi bể nuôi bố trí thả 160 con tôm, với mật độ 20 con/m^2. Thức ăn là nhuyễn thể (nghêu trắng hoặc vẹm hoặc sò huyết) và cá. Thời gian nuôi thử nghiệm là 8 tháng.

Quản lý chăm sóc: Tôm được cho ăn ngày 2 lần (sáng 6 – 7 giờ và chiều 16 - 17 giờ). Cho tôm ăn từ 5 - 7% khối lượng thân trong 3 tháng đầu, 3 - 5% khối lượng thân từ sau hai tháng đến tháng thứ 6 và duy trì cho ăn 3% khối lượng thân từ sau tháng thứ 6 đến kết túc thí nghiệm. Định kỳ 10 - 15 ngày thay 20 - 30% nước mới (kết hợp với siphon vệ sinh bể lắng để xả bỏ một lượng nước cũ và thay thế bằng nước mới, chú ý các yếu tố môi trường nước như nhiệt độ, độ mặn, oxy hoàn tan cần phải tương đồng với nước trong hệ thống nuôi, đạt tiêu chuẩn của nước đầu vào nêu ở mục 3.2). Định kỳ sử dụng sản phẩm SD Super Alkaline (Việt Nam) để duy trì độ kiềm trong nước nuôi > 150 mg $CaCO_3$/L và ổn định pH. Sau thời gian nuôi khoảng 15 - 20 ngày tiến hành vệ

sinh bể và cát trong bể nuôi. Theo dõi tình trạng sức khỏe tôm (khả năng bắt mồi, hoạt động, lột xác, bệnh) trong quá trình nuôi.

2.3.2. Thí nghiệm xác định mật độ nuôi thương phẩm tôm mũ ni trắng

Hệ thống nuôi: Sử dụng hệ thống được thiết kế ở mục 2.3.1. Các nghiệm thức được thực hiện trong cùng hệ thống nuôi, mỗi nghiệm thức lặp lại 3 lần với 9 bể nuôi. Hệ thống lọc sinh học tăng thêm 1 bể (V = 1.500 L) so với mục 2.3.1.

Nguồn tôm mũ ni trắng giống: Nguồn tôm giống được sản xuất tại Trung tâm Nghiên cứu và Phát triển nuôi biển Nha Trang. Kích thước 1,5 – 2 cm (CL: 4,2 ± 0,0; CW: 6,0 ± 0,1; BW: 0,5 ± 0,1 g). Tôm giống lựa chọn nuôi đạt yêu cầu theo tiêu chí chất lượng giống tôm mũ ni trắng.

Thức ăn cho tôm: Nhuyễn thể (nghêu trắng hoặc vẹm hoặc sò huyết) và cá.

Bố trí thí nghiệm: Gồm có 3 nghiệm thức về mật độ (MĐ):

MĐ 1: 15 con/m^2; MĐ 2: 20 con/m^2; MĐ 3: 25 con/m^2.

Quản lý chăm sóc: Tương tự như quản lý và chăm sóc nuôi thử nghiệm tôm mũ ni trắng trong mục 3.1.1. Mỗi nghiệm thức trong thí nghiệm được lặp lại 3 lần.

Thời gian thí nghiệm: 8 tháng.

2.4. Phương pháp theo dõi các yếu tố môi trường

Các yếu tố môi trường trong các thí nghiệm được theo dõi định kỳ 3 ngày/lần. Đo chiều dài bằng thước kẹp kỹ thuật (độ chính xác ± 1 mm). Nhiệt độ được đo bằng nhiệt kế (độ chính xác ± 1^0C); Độ mặn đo bằng khúc xạ kế (độ chính xác ± 1 ppt); pH, oxy hòa tan (DO) được đo bằng máy đo U50 serial-Horiba, Nhật Bản; Nitrite (NO_2^-) và ammonia/ammonium (NH_3/NH_4^+) được đo bằng test kit so màu Sera - Đức.

2.5. Phương pháp thu thập số liệu

Xác định tốc độ tăng trưởng của tôm mũ ni: Tốc độ tăng trưởng của tôm mũ nitrắng (chiều dài giáp đầu ngực - CL và chiều rộng giáp đầu ngực - CW; khối lượng - BW) được kiểm tra khi bắt đầu và khi kết thúc quá trình nuôi (riêng thí nghiệm mật độ kiểm tra thêm ở giữa chu kỳ nuôi), số lượng mẫu tôm mỗi lần đo là 30 con. Chiều dài giáp đầu ngực được đo từ giữa trán tôm đến điểm cuối của giáp đầu ngực theo chiều dọc), chiều rộng giáp đầu ngực (là khoảng giữa mấu gai thứ hai bên phải đến mấu giai thức hai bên trái của giáp đầu ngực theo chiều ngang) và cân khối lượng (BW; g). Xác định giá trị trung bình của các chỉ tiêu trên trong từng nghiệm thức.

Tốc độ tăng trưởng tuyệt đối về khối lượng (DWG; khối lượng g/ngày)

$$DWG = (W_2 - W_1)/\Delta t$$

Tốc độ tăng trưởng đặc trưng về khối lượng (SGR_W; %/ngày)

$$SGR_W = (LnW_2 - LnW_1) * 100/\Delta t$$

Trong đó: W_1 là khối lượng ban đầu; W_2 là khối lượng lúc thu.

Xác định tỷ lệ sống: Khi kết thúc nuôi thử nghiệm, riêng thí nghiệm mật độ tỷ lệ sống được xác định hàng tháng, toàn bộ tôm mũ ni trắng trong từng bể được xác định để tính tỷ lệ sống, sau đó xác định tỷ lệ sống trung bình của từng nghiệm thức. Tỷ lệ sống được tính bằng công thức:

$$TLS = \frac{N_2}{N_1} \times 100\%$$

Trong đó: TLS là tỷ lệ sống của tôm mũ ni; N_1 là số lượng tôm mũ ni thả nuôi ban đầu; N_2 là số lượng tôm mũ ni cuối.

2.6. Phương pháp xử lý số liệu

Các số liệu thu thập được tính toán giá trị trung bình và độ lệch chuẩn bằng phần mềm Excel 2013. So sánh sự khác biệt giữa các nghiệm thức bằng phép thử Duncan thông qua phần mềm SPSS 22.0 ở mức ý nghĩa ($p<0,05$). Số liệu được trình bày dưới dạng: Giá trị trung bình (mean) ± độ lệch chuẩn (SD).

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Thiết kế, vận hành hệ thống nuôi thương phẩm tôm mũ ni trắng

3.1.1. Thiết kế hệ thống nuôi

Hệ thống nuôi được thiết kế theo hình 1, chức năng hoạt động của các hệ thống được mô tả như sau:

- Hệ thống bể lắng: Chất thải từ các bể nước nuôi sẽ được thu gom về bể lắng 1 (B1); chất thải kích thước lớn sẽ được lắng đọng tại đây trước khi nước được tràn tiếp tục sang bể lắng 2 (B2), các chất thải có kích cỡ nhỏ hơn sẽ tiếp tục được lắng đọng tại bể B2 bằng hệ thống lọc thô ở giữa bể B2 trước khi chảy qua các hệ thống tiếp theo.

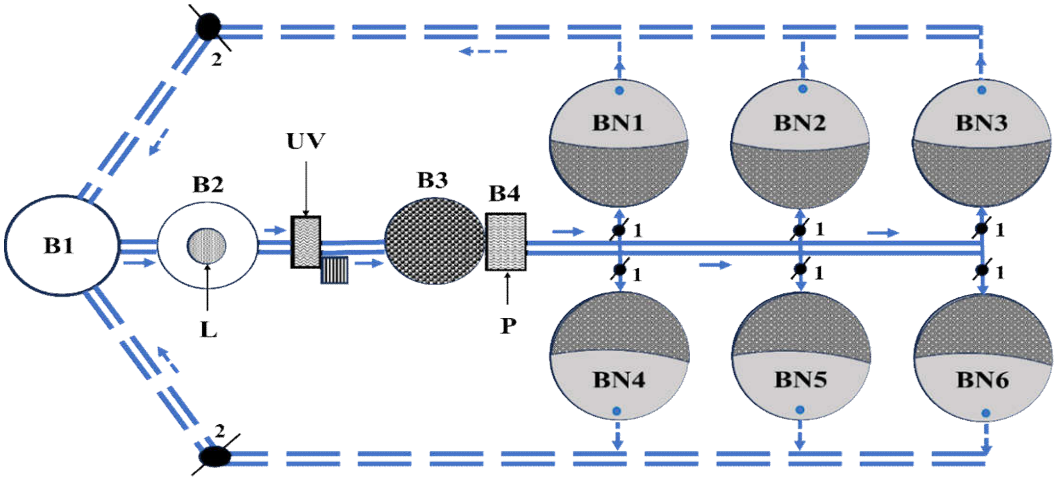
- Hệ thống UV: Nước nuôi sau khi được lắng lọc cơ học ở hai bể B1 và B2 sẽ được xử lý diệt khuẩn bằng hệ thống UV.

- Hệ thống làm mát nước (C): Trong quá trình nuôi, khi nhiệt độ nước tăng cao hệ thống làm mát sẽ hoạt động để điều tiết giảm nhiệt độ nước về 26 – 27^{0}C.

- Hệ thống lọc sinh học (B3): Đảm nhiệm vai trò hấp thụ các chất dinh dưỡng dư thừa trong nước nuôi nhờ hệ vi khuẩn có lợi được nuôi cấy trong bể với hạt nhựa Kaldnes. Ngoài ra, nước nuôi cũng đã được bổ sung hệ vi sinh có lợi trước khi được cấp lại vào bể nuôi tôm từ bể chứa nước B4 bằng máy bơm tự động (tự động bơm theo mực nước trong bể B4).

- Hệ thống bể nuôi tôm (BN1 – BN6): Tôm mũ ni trắng được nuôi trong các bể này từ giai đoạn giống đến kích cỡ thương phẩm.

- Hệ thống ống dẫn nước cấp, thoát để vận chuyển nước nuôi và hệ thống van điều tiết để điều chỉnh lưu lượng nước chảy vào trong các bể tương đối như nhau.



B1 & B2	: Bể lắng	**B4**	: Bể chứa nước
UV	: Hệ thống UV		:Van điều tiết nước (1; 2)
BN1 – BN6	: Bể nuôi tôm		: Nước thoát từ bể nuôi
L	: Hệ thống lọc thô		: Nước cấp vào bể nuôi
P	: Bơm (điều chỉnh bơm tự động theo mức nước trong bể chứa B4)		

Hình 1. Sơ đồ hệ thống nuôi thương phẩm tôm mũ ni trắng

3.1.2. Vận hành hệ thống nuôi

Sau khi hệ thống nuôi đã được cấp đầy đủ nước (nước cấp cần theo đúng tiêu chuẩn nước đầu vào ở mục 2.2), nước từ bể chứa B4 được bơm vào hệ thống nuôi tôm (BN1 - BN6). Lượng nước chảy vào từng bể nuôi sẽ được điều tiết thông qua hệ thống van (1) cấp nước trước khi vào bể nuôi. Lượng nước tuần hoàn trong hệ thống nuôi được điều tiết để đạt lượng nước thay là 200 - 300%/ngày/bể ương. Về hướng đối diện với van nước cấp, nước nuôi tôm mũ ni được thoát ra ngoài qua ống thoát nước đáy và theo hệ thống thu gom nước chảy về bể lắng B1, lượng nước chảy về bể lắng B1 được điều tiết bằng hệ thống van (2).

Nước nuôi được tiếp tục đi từ bể B1 vào bể B2, rồi qua hệ thống UV, hệ thống lọc sinh học (B3) và về lại bể chứa B4, rồi tiếp tục một vòng tuần hoàn mới.

3.1.3. Kết quả thử nghiệm nuôi thương phẩm tôm mũ ni trắng

** Các chỉ tiêu môi trường nước trong hệ thống nuôi*

Kết quả theo dõi các yếu tố môi trường nước nuôi ở hệ thống nuôi được trình bày trong bảng 1. Giá trị các yếu tố môi trường nước trong các nghiệm thức ghi nhận được tương đối ổn định, do thí nghiệm được bố trí trong cùng một khu vực, cùng hệ thống tuần hoàn và cùng chế độ cấp và thay nước. Điều này được thể hiện rõ nhất là ở hai yếu tố nhiệt độ và độ mặn khi giá trị trung bình của hai yếu tố này là không có sự khác nhau trong tất cả các nghiệm thức (27,5°C và 32,0 ppt).

Theo kết quả nghiên cứu của Joe (2006) [16], nhiệt độ thích hợp cho nuôi thương phẩm tôm mũ ni trắng trong khoảng 25 – 27°C. Nghiên cứu của Radhakrishnan và cs (2019) [17] cho thấy, nhiệt độ 27 – 29°C là thích hợp cho nuôi thương phẩm tôm mũ ni loài *T. unimaculatus* trong hệ thống tuần hoàn. Nhiệt độ nuôi ghi nhận trong nghiên cứu này cũng tương đồng so với các nghiên cứu trên.

Bảng 1. Kết quả theo dõi các yếu tố môi trường nước trong hệ thống nuôi

Bể	Độ mặn (ppt)	Nhiệt độ (°C)	pH	DO (mg/L)	NO_2^- (mg/L)	NH_4^+ (mg/L)
1	32,0±1,2	27,5±0,8	7,4 ±0,4	5,3±0,2	< 0,2	< 0,01
2	32,0±1,2	27,5±0,8	7,3 ±0,3	5,3±0,2	< 0,2	< 0,01
3	32,0±1,2	27,5± 0,8	7,3 ±0,5	5,2±0,1	< 0,2	< 0,01

Ghi chú: Số liệu trong bảng trình bày là giá trị TB ± độ lệch chuẩn

Độ mặn được đề cập trong nuôi tôm mũ ni trắng của Joe (2006) [16], Radhakrishnan và cs (2019) [17] tương ứng là 37 - 39 ppt và 36 - 38 ppt, độ mặn này là khá cao so với độ mặn trong nghiên cứu này là 32,0 ppt và 30 - 33 ppt của Wakabayashi và Phillips (2016) [6]. Tuy nhiên, theo nghiên cứu khảo sát về ngư trường khai thác tôm mũ ni ở tỉnh Kiên Giang của Ngô Thị Thu Thảo (2021) độ mặn nước biển ngư trường khai thác tôm mũ ni trắng dao động 30 - 40 ppt [18]. Do đó, độ mặn trong thí nghiệm này cũng không khác biệt so với độ mặn khu vực phân bố tôm mũ ni trắng trong tự nhiên. Trong khi đó, pH ghi nhận trong thí nghiệm này trung bình là 7,3 - 7,4, giá trị này không khác biệt lớn so với pH trong nghiên cứu của Joe (2006) [16] là 8,0 - 8,2 và Radhakrishnan và cs (2019) [17] là 7,8 - 8,2, các giá trị này đều nằm trong khoảng cho phép nuôi các đối tượng thủy sản.

Hàm lượng oxy hòa tan ghi nhận được trong thí nghiệm này trung bình là 5,2 - 5,3 mg/L, giá trị DO này cũng phù hợp với kết quả nghiên cứu của Vijayakumaran và Radhakrishnan (2011) khi nuôi thương phẩm tôm mũ ni loài *T. unimaculatus* trong hệ thống bể nhựa composite là > 4 mg/L [4].

Trong nghiên cứu của Vijayakumaran và Radhakrishnan (2011) khi ương nuôi tôm mũ ni (*T. unimaculatus*) tổng hàm lượng ammonia ghi nhận là < 1 mg/L [4]. Trong thí nghiệm này, giá trị nitrite và ammonia tương ứng là < 0,2 mg/L và < 0,01 mg/L. Các giá trị nằm trong khoảng thích hợp nuôi tôm mũ ni, cũng như nhiều đối tượng nuôi khác.

Nhìn chung, sau 8 tháng nuôi thử nghiệm mô hình, các yếu tố môi trường luôn ổn định và nằm trong khoảng thích hợp cho sự sinh trưởng và phát triển của tôm mũ ni trắng.

** Kết quả thử nghiệm nuôi thương phẩm tôm mũ ni trắng*

Kết quả thử nghiệm nuôi thương phẩm tôm mũ ni trắng được thể hiện ở bảng 2. Thử nghiệm nuôi thương phẩm tôm mũ ni trắng trong hệ thống tuần hoàn sau 8 tháng nuôi cho thấy tốc độ tăng trưởng của tôm đạt chiều dài giáp đầu ngực trung bình là 55,8 mm, chiều rộng giáp đầu ngực là 61,6 mm, khối lượng tôm đạt trung bình từ 42,3 g, tương ứng với tốc độ tăng trưởng tuyệt đối về khối lượng theo ngày trung bình là 0,26 g/ngày và tốc độ tăng trưởng đặc trưng về khối lượng là 2,02%/ngày. Tỷ lệ sống trung bình được ghi nhận là 48%.

Theo nghiên cứu của Anon (2008) [15] về nuôi thương phẩm tôm mũ ni loài *T. unimaculatus* bằng hệ thống tuần hoàn trong nhà với bể nuôi bằng xi-măng (thể tích 12,5 m^2) có đáy cát và độ cao mực nước nuôi là 0,5 m, khối lượng con giống thả ban đầu là 5 g. Kết quả cho thấy, sau 250 ngày nuôi tôm đạt kích cỡ 140 – 175 g/con, tôm sinh trưởng tốt và tỷ lệ sống trên 90%. Cùng loài tôm mũ ni trên, Vijayakumaran và Radhakrishnan (2011) thực hiện nuôi thương phẩm trong hệ thống bể nhựa composite với đáy cát, khối lượng giống thả ban đầu là 10 g/con, sau 350 ngày nuôi tôm đạt kích cỡ trung bình là 150 g/con [4].

Bảng 2. Tăng trưởng và tỷ lệ sống tôm mũ ni trắng nuôi thương phẩm

Chỉ tiêu theo dõi	Bể nuôi			Trung bình
	1	2	3	
CL ban đầu (mm)	4,5±0,1	4,5±0,1	4,5±0,1	-
CW ban đầu (mm)	6,2±0,1	6,2±0,1	6,2±0,1	-
BW ban đầu (g)	0,5±0,1	0,5±0,1	0,5±0,1	-
CL cuối (mm)	56,6±1,7	54,6±1,4	56,2±1,6	55,8
CW cuối (mm)	62,5±2,0	60,4±1,6	61,9±1,8	61,6
BW cuối (g)	65,4±7,4	60,3±8,1	61,8±7,8	41,3
DWG (g/ngày)	0,27 ± 0,01	0,25 ± 0,01	0,26 ± 0,01	0,26
SGR_w (%/ngày)	2,04 ± 0,03	2,00 ± 0,02	2,01 ± 0,02	2,02
Tỷ lệ sống (%)	48	45	51	48

Ghi chú: CL là chiều dài giáp đầu ngực, CW là chiều rộng giáp đầu ngực, BW là khối lượng thân, DWG là tốc độ tăng trưởng tuyệt đối về khối lượng, SGR_w là tốc độ tăng trưởng đặc trưng về khối lượng.

So với các nghiên cứu trên, tỷ lệ sống và khối lượng tôm khi kết thúc thử nghiệm nuôi thương phẩm trong trong nghiên cứu này còn thấp. Tuy nhiên có thể lý giải vấn đề này có thể là do một số lý do: (1) do khác loài tôm mũ ni; (2) kích cỡ giống thả nuôi ban đầu khác nhau (0,5 g của nghiên cứu này so với 5 g và 10 g); (3) phần trăm cho tôm ăn khác nhau (3 - 7%) khối lượng thân trong thí nghiệm này so với cho ăn tối đa, đến khi dư thức ăn thì dừng lại ở các thí nghiệm trên).

3.2. Kết quả nghiên cứu mật độ thích hợp nuôi thương phẩm tôm mũ ni trắng

3.2.1. Các yếu tố môi trường theo dõi trong thí nghiệm mật độ

Kết quả theo dõi các yếu tố môi trường trong thí nghiệm mật độ được trình bày ở bảng 3. Nhìn chung, giá trị của các yếu tố môi trường trong các nghiệm thức tương đối ổn định, không có khác biệt về thống kê, do thí nghiệm được bố trí trong cùng một khu vực, cùng hệ thống tuần hoàn và cùng chế độ cấp và thay nước. Giá trị trung bình các yếu tố môi trường nước ở các nghiệm thức mật độ được ghi nhận dao động tương ứng như sau: độ mặn 31,9 - 32,4 ppt; nhiệt độ 27,0 – 27,3^{0}C; pH 7,4-7,9; DO 5,1- 5,3 mg/L; NO_2< 0,2 mg/L và NH_3< 0,01 mg/L.

Bảng 3. Kết quả theo dõi các yếu tố môi trường nước trong thí nghiệm mật độ

Nghiệm thức	Độ mặn (ppt)	Nhiệt độ (^{o}C)	pH	DO (mg/L)	NO_2^- (mg/L)	NH_3 (mg/L)
MĐ 1	32,2 ± 0,3^a	27,3 ± 0,5^a	7,9 ± 0,2^a	5,3 ± 0,2^a	< 0,2	< 0,01
MĐ 2	32,4 ± 0,4^a	27,3 ± 0,7^a	7,7 ± 0,1^a	5,3 ± 0,3^a	< 0,2	< 0,01
MĐ 3	31,9 ± 0,2^a	27,0 ± 0,8^a	7,4 ± 0,2^a	5,1 ± 0,3^a	< 0,2	< 0,01

Ghi chú: Số liệu trong bảng trình bày là giá trị TB ± độ lệch chuẩn (n=3). MĐ 1: 15 con/m^2; MĐ 2: 20 con/m^2; MĐ 3: 25 con/m^2.

Việc thảo luận các kết quả này cũng tương đồng với thảo luận các yếu tố môi trường trong nuôi thử nghiệm tôm mũ ni trắng trong hệ thống tuần hoàn ở mục 3.1.3. Nhìn chung, các yếu tố môi

trường nước nuôi được theo dõi trong thí nghiệm này đều nằm trong khoảng thích hợp cho sự sinh trưởng và phát triển của tôm mũ ni.

3.2.2. Tăng trưởng và tỷ lệ sống của tôm mũ ni trắng trong thí nghiệm mật độ

** Tăng trưởng về chiều dài, chiều rộng giáp đầu ngực và khối lượng*

Kết quả theo dõi tăng tưởng về chiều dài, chiều rộng giáp đầu ngực và khối lượng của tôm mũ ni trắng trong thí nghiệm mật độ được thể hiện ở bảng 4.

Bảng 4. Ảnh hưởng của mật độ lên tốc độ tăng trưởng về chiều dài giáp đầu ngực, chiều rộng giáp đầu ngực và khối lượng của tôm mũ ni trắng

Chỉ tiêu đánh giá	Nghiệm thức mật độ (con/m^2)		
	MĐ 1	MĐ 2	MĐ 3
CL ban đầu (mm)	4,2 ± 0,0	4,2 ± 0,0	4,2 ± 0,0
CW ban đầu (mm)	6,0 ± 0,1	6,0 ± 0,1	6,0 ± 0,1
BW ban đầu (g)	0,5 ± 0,1	0,5 ± 0,1	0,5 ± 0,1
$CL_{4\ tháng}$ (mm)	41,3 ± 1,1[a]	39,8 ±1,2[a]	40,6 ± 1,0[a]
$CW_{4\ tháng}$ (mm)	46,2 ± 1,2[a]	44,9 ± 1,0[a]	45,4 ± 1,1[a]
$BW_{4\ tháng}$ (g)	40,4 ± 4,0[a]	39,9 ± 3,5[a]	37,9 ± 3,2[a]
$CL_{8\ tháng}$ (mm)	55,6 ±1,4[a]	54,6 ± 1,3[a]	56,2 ± 1,4[a]
$CW_{8\ tháng}$ (mm)	65,8 ± 1,2[a]	65,3 ± 1,3[a]	66,2 ± 1,3[a]
$BW_{8\ tháng}$ (g)	75,5 ± 5,3[a]	73,9 ± 6,5[a]	70,6 ± 7,8[a]
$DWG_{8\ tháng}$ (g/ngày)	0,31 ± 0,02[a]	0,31 ± 0,01[a]	0,29± 0,01[a]
$SGR_{w\ 8\ tháng}$ (%/ngày)	2,09 ± 0,06[a]	2,08 ± 0,04[a]	2,06 ± 0,03[a]

Ghi chú: Các ký tự khác nhau trong cùng một hàng thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (p<0,05). Số liệu trong bảng trình bày là giá trị TB ± độ lệch chuẩn (n=3). MĐ 1: 15 con/m^2; MĐ 2: 20 con/m^2; MĐ 3: 25 con/m^2. CL: Chiều dài giáp đầu ngực; CW: Chiều rộng giáp đầu ngực; BW: khối lượng tôm.

Trong thí nghiệm này, tăng trưởng về khối lượng của tôm mũ ni trắng trong các nghiệm thức dao động trung bình là 37,9 - 40,4 g/con (sau 4 tháng nuôi) và 70,6 - 75,5 g/con (sau 8 tháng nuôi), tốc độ tăng trưởng tuyệt đối về khối lượng và tốc độ tăng trưởng đặc trưng về khối lượng sau 8 tháng nuôi tương ứng là 0,29 - 0,31 g/ngày và 2,06 - 2,09%/ngày cao nhất là ở nghiệm thức 15 con/m^2 và thấp nhất là 25 con/m^2. Trong thí nghiệm này, giá trị tăng trưởng về khối lượng của tôm mũ ni trắng có xu hướng tỷ lệ nghịch với mật độ nuôi.

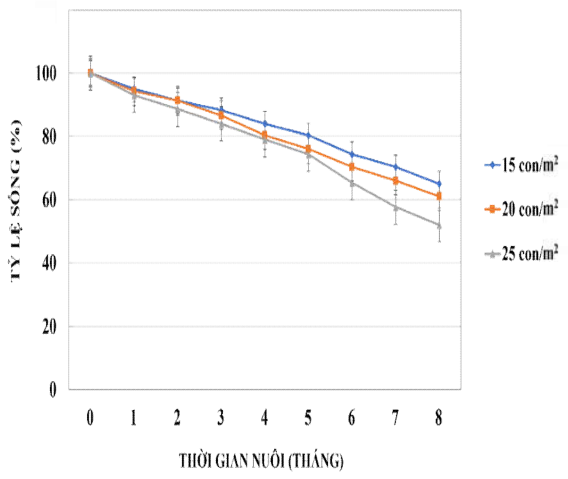
Tăng trưởng về chiều dài giáp đầu ngực (CL) và chiều rộng giáp đầu ngực (CW) của tôm mũ ni trắng không có sự khác biệt lớn giữa các nghiệm thức thí nghiệm, dao động trung bình tương ứng là 39,8 - 41,3 mm CL, 44,9 - 46,2 mm CW sau 4 tháng nuôi và 54,6 - 56,2 mm CL, 65,3 - 66,2 mm CW sau 8 tháng nuôi. Các kết quả ghi nhận không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức trong thí nghiệm này về các giá trị theo dõi là tăng trưởng về chiều dài, chiều rộng giáp đầu ngực và khối lượng của tôm mũ ni trắng.

Kết quả nuôi thương phẩm tôm mũ ni loài *Thenus unimaculatus* tại Phòng thí nghiệm Kovalam Field thuộc Viện Nghiên cứu Thủy sản ở Ấn Độ với hệ thống tuần hoàn, từ giống tôm tự nhiên với kích cỡ ban đầu thả nuôi là 5 g/con. Tôm mũ ni được nuôi trong bể xi-măng với đáy cát cho thấy, sau 250 ngày nuôi tôm đạt kích cỡ 140 - 175 g/con với mật độ nuôi là 30 - 35 con/m^2 [17]. So với mật độ nuôi thương phẩm trong nghiên cứu này thì mật độ của Radhakrishnan và cs (2019) [17] là cao hơn (15 - 25 con/m^2 so với 30 - 35 con/m^2). Ngoài ra, kết quả về khối lượng tôm khi kết thúc cũng có sự khác biệt đáng kể, trong nghiên cứu này là 70,6 - 75,5 g/con so với của Radhakrishnan và cs (2019) [17] là 140 - 175 g/con, mặc dù thời gian nuôi gần như nhau là 240 ngày và 250 ngày. Các yếu tố môi trường cũng ghi

nhận có sự chênh lệch đáng kể về độ mặn trong nghiên cứu của Radhakrishnan và cs (2019) [17] là 36 - 38 ppt so với 31,9 - 32,4 ppt trong nghiên cứu này, trong khi đó nhiệt độ và pH có sự chênh lệch tuy nhiên không lớn 27 – 29°C và pH 7,8 – 8,2 so với nghiên cứu này là 27,0 – 27,3°C và pH 7,4 - 7,9. Ở một nghiên cứu khác, Vijayakumaran và Radhakrishnan (2011) [4] thực hiện nuôi tôm mũ ni loài *T. unimaculatus* trong hệ thống bể nhựa composite với mật độ nuôi ban đầu là 7 con/m^2, với khối lượng con giống ban đầu là 10 g. Sau 350 ngày nuôi, kích cỡ tôm thương phẩm đạt 150 g/con. Ghi nhận về các chỉ tiêu môi trường được thể hiện trong nghiên cứu của Vijayakumaran và Radhakrishnan (2011) [4] là độ mặn 30 - 33 ppt, pH 7,8 - 8,2, nhiệt độ 26 – 32°C; DO > 4 mg/L hầu như không khác biệt so với thí nghiệm này (Bảng 3). Trong khi đó, Vijayanand và cs (2004) [19] cũng nuôi cùng loài mũ ni trên trong hệ thống bể, kết quả ghi nhận sau 6 tháng nuôi tôm từ 5 g/con tăng lên 95 - 100 g/con với mật độ nuôi là 20 con/m^2. Sự khác biệt về những kết quả đạt được về tăng trưởng của các nghiên cứu trên so với kết quả trong nghiên cứu này có thể là do khác loài tôm mũ ni, cỡ giống thả, phần trăm thức ăn cho ăn cần tiếp tục nghiên cứu để làm rõ.

** Tỷ lệ sống*

Kết quả theo dõi tỷ lệ sống của tôm mũ ni trắng trong thí nghiệm mật độ được thể hiện ở hình 2.



Hình 2. Ảnh hưởng của mật độ đến tỷ lệ sống tôm mũ ni trắng qua 8 tháng nuôi

Tỷ lệ sống của tôm nuôi được ghi nhận giảm dần qua từng tháng nuôi và dao động từ 52,0% - 65,4% sau 8 tháng nuôi (Bảng 5). Nhìn chung, mật độ nuôi đã có ảnh hưởng đến tỷ lệ sống của tôm theo khuynh hướng tỷ lệ sống giảm dần khi tăng mật độ nuôi. Mật độ nuôi 20 con/m^2 (MĐ 2) không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với hai nghiệm thức còn lại sau 8 tháng nuôi. Trong khi đó, kết quả ghi nhận có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa tỷ lệ sống của hai nghiệm thức 15 con/m^2 (MĐ 1) và 25 con/m^2 (MĐ 3) (Bảng 4). Kết quả thí nghiệm cho thấy tỷ lệ sống của tôm mũ ni trắng có ảnh hưởng bởi mật độ nuôi, mật độ nuôi thương phẩm tôm mũ ni trắng thích hợp trong thí nghiệm này là 15 – 20 con/m^2.

Bảng 5. Ảnh hưởng của mật độ lên tỷ lệ sống của tôm mũ ni trắng sau 8 tháng nuôi

Nghiệm thức mật độ	Tỷ lệ sống (%)
MĐ 1	$65,4 \pm 5,2^{a}$
MĐ 2	$60,8 \pm 7,4^{ab}$
MĐ 3	$52,0 \pm 6,2^{b}$

Ghi chú: Các ký tự khác nhau trong cùng một hàng thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (p<0,05). Số liệu trong bảng trình bày là giá trị TB ± độ lệch chuẩn (n=3). MĐ 1: 15 con/m^2; MĐ 2: 20 con/m^2; MĐ 3: 25 con/m^2.

Tỷ lệ sống của tôm mũ ni trắng ghi nhận trong thí nghiệm này là thấp hơn so với kết quả công bố của Viện Nghiên cứu Thủy sản ở Ấn Độ với thời gian nuôi như nhau khoảng 8 tháng, tương ứng 52,0 - 65,4% so với 90 - 91%, mặc dù mật độ nuôi của thí nghiệm này cũng thấp hơn là 15 - 25 con/m^2 so với 30 – 35 m^2 [20]. Theo nghiên cứu của Radhakrishnan và cs (2019) [17] cho thấy, khi nuôi tôm mũ ni *T. unimaculatus* trong hệ thống mương nước chảy tỷ lệ sống đạt được là 80% sau 12 tháng nuôi (tính từ giai đoạn trứng) với kích cỡ tôm thương phẩm là 250 g. Luận giải cho sự khác biệt về tỷ lệ sống trong thí nghiệm này có thể là do sự khác biệt về kích thước tôm mũ ni giống thả nuôi, loài tôm nuôi, hệ thống nuôi, phần trăm thức ăn cho ăn, v.v., đồng thời khả năng hao hụt tôm khi ương nuôi tôm cỡ nhỏ sẽ cao hơn so với tôm lớn.

4. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

4.1. Kết luận

Hệ thống nuôi thương phẩm tôm mũ ni trắng đã được thiết kế, vận hành và nuôi thử nghiệm cho thấy hệ thống nuôi phù hợp cho nuôi thương phẩm tôm mũ ni trắng thông qua các chỉ tiêu môi trường nước nuôi ổn định giúp tôm tăng trưởng tốt.

Mật độ nuôi có ảnh hưởng tỷ lệ sống của tôm mũ ni trắng khi nuôi thương phẩm, tuy nhiên chưa ghi nhận thấy có sự ảnh hưởng của mật độ lên tăng trưởng về chiều dài, chiều rộng giáp đầu ngực. Mật độ thích hợp đề xuất để nuôi thương phẩm tôm mũ ni trắng là 15 - 20 con/m^2.

4.2. Kiến nghị

Cần tối ưu hóa hệ thống nuôi thông qua việc nghiên cứu xác định tỷ lệ hợp lý giữa thể tích bể nuôi với thể tích bể lọc sinh học.

Cần xác định mật độ hợp lý cho các giai đoạn nuôi tôm mũ ni trắng khác nhau như giai đoạn I từ tôm 1,5 - 2 cm chiều dài thân (TL) lên cỡ 10 - 12 cm TL và giai đoạn II từ 10 - 12 cm TL lên cỡ 18 - 20 cm TL.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Trần Ngọc Hải, Trần Minh Nhứt và Trần Nguyễn Duy Khoa (2012). Kết quả bước đầu trong ương nuôi ấu trùng tôm mũ ni (*Thenus orientalis*) với các chế độ cho ăn khác nhau. *Tạp chí Khoa học, Trường Đại học Cần Thơ*. Trang 133 - 140.

2. Johnston, D. J. and Yellowlees, D. (1998). Relationship between Dietary Preferences and Digestive Enzyme Complement of the Slipper Lobster Thenus orientalis (Decapoda: Scyllaridae). *Journal of Crustacean Biology*, Vol. 18 (4), 656 - 665.

3. FAO (2010). Fishery statistical collections: global production. Food and Agriculture Organization (FAO) of the UN.

4. Vijayakumaran, M., Radhakrishnan, E. V. (2011). Slipper lobsters. In: Fotedar R. K., Phillips B. F. (eds.) Recent Advances and New Species in Aquaculture, Blackwell, West UK: 85 - 114.

5. FAO (2018). FishStatJ - software for fishery statistical time series. In: FAO Fisheries and Aquaculture Department (online).

6. Wakabayashi, K. and Phillips, B. (2016). Morphological descriptions of laboratory reared larvae and post-larvae of the australian shovel-nosed lobster *Thenus australiensis* Burton & Davie, 2007 (decapoda, scyllaridae). Crustaceana, 89 (1), pp. 97 - 117.

7. Kizhakudan, J. K., Radhakrishnan, E. V., George, R. M., Thirumilu, P., Rajapackiam, S., Manibal, C., & Xavier, J. (2004). Phyllosoma larvae of *Thenus orientalis* and *Scyllarus rugosus* reared to settlement. The Lobster Newsletter, 17 (1), pp. 19.

8. Kizhakudan, J. K., & Krishnamoorthi, S. (2014). Complete larval development of *Thenus unimaculatus* Burton & Davie, 2007 (Decapoda, Scyllaridae). Crustaceana, 87(5), 570 - 584.

9. Wakabayashi, K., Sato, R., Ishii, H., Akiba, T., Nogata, Y., Tanaka, Y. (2012). Culture of phyllosomas of *Ibacus novemdentatus* (Decapoda: Scyllaridae) in a closed recirculating system using jellyfish as food. *Aquaculture*, 330–333, pp. 162–166.

10. Manh, N. V., Thang, N. Q., Uyen, D. M., Thai, T. Q. (2023). Effects of stocking density and diets on survival and growth of lavi-cultured slipper lobster (*Thenus orientalis* Lund, 1793). *Vietnam Journal of Marine Science and Technology* 23(1): 81-92.

11. Mikami, S. & Kuballa, A. V. (2007). Factors important in larval and post larval molting, growth and rearing . In The Biology and Fisheries of the Slipper Lobster (Eds. K.A. Lavalli & E. Spanier), pp. 91 - 110 . CRC Press, Boca Raton, London, New York.

12. Rogers, P. P., Barnard, R. and Johnston, M. (2010). Lobster aquaculture a commercial reality: a review. *Journ. Mar. Biol. Assoc. India* 52: 327-335.

13. Hoàng Tùng (2006). Tôm mũ ni: Một đối tượng nuôi biển cho khu vực miền Trung Việt Nam. Tóm tắt hội thảo ACIAR-Aqua. http://aciar.gov.au/files/node/11536/ACIAR_PR132(online).pdf

14. Nguyễn Cơ Thạch (2009). Nghiên cứu một số đặc điểm sinh học làm cơ sở khoa học cho sản xuất giống nhân tạo và thăm dò khả năng sản xuất giống tôm mũ ni đỏ (*Scyllarides squammosus*). Báo cáo tổng kết đề tài cấp Bộ, Bộ Thủy sản.

15. Anon (2008). CMFRI Annual Report, 2007 - 2008. pp. 62 – 63.

16. Joe, K.K. (2006). Culture potential of the sand lobster *Thenus orientalis* (Lund). Sustain Fish: B.M. Kurup và K. Ravindran (Eds.) School of Industrial Fisheries. Cochin University of Science và Technology. Cochln -682016. India.

17. Radhakrishnan, E.V., Joe, K.K., Vijayakumaran, M., Vijayagopal, P., Koya, M., and Jeena, N.S. (2019). Breeding, Hatchery Production and Mariculture. Radhakrishnan, E.V. (Eds.) Lobsters: Biology, Fisheries and Aquaculture, pp. 409 - 517.

18. Ngô Thị Thu Thảo, Lê Quang Nhã, Lý Văn Khánh, Cao Mỹ Án, Trần Ngọc Hải và Trần Đắc Định (2021). Khảo sát hoạt động khai thác và tiêu thụ tôm mũ ni (*Thenus orientalis*) tại vùng biển Nam Du và Hà Tiên, tỉnh Kiên Giang. *Tạp chí Khoa học, Trường Đại học Cần Thơ*, 57, pp. 51 - 58.

19. Vijayanand, P., Murugan, A., Saravanakumat, K. *et al.* (2004). Experimental farming of sand lobster *Thenus orientalis* (Lund): Abstract. In: *Ocean Life Food & Medicine Expo 2004.* International Conference & Exposition on marine living resources of India for Food & Medicine. Aquaculture Foundation of India.

20. CMFRI (2008). Resreach highlights 2007 - 2008. Central Marine Fisheries Research Institute, Kerala, India.

STUDY ON CULTURE SYSTEM DESIGN AND OPTIMAL STOCKING DENSITY IN COMMERCIAL CULTURE OF SLIPPER LOBSTER (*Thenus orientalis* Lund, 1793)

Truong Quoc Thai [1], Nguyen Van Manh [1], Nguyen Khac Dat [1]

[1]Research Institute for Aquaculture No. 3

Summary

The study on the grow-out system design and suitable stocking density for the commercial culture of *Thenus orientalis* Lund, 1793 was conducted at the Nha Trang Mariculture Research and Development Center under the Research Institute for Aquaculture No 3 from June 2021 to April 2023. The aims of the study were to design, operate and trial the commercial culture of slipper lobsters in the grow-out system and also determine the suitable stocking density for the commercial culture system of slipper lobsters. The results of the study indicated that the grow-out culture system for slipper lobsters was designed and operated successfully, showing good growth and development performancefor slipper lobster. Additionally, the study also determined that the suitable stocking density for the grow-out culture of *Thenus orientalis* was 15 - 20 individuals per square meter.

Keywords: *Density, Thenus spp., growth, slipper lobster, survival.*

Người phản biện: GS.TS. Trần Ngọc Hải

Ngày nhận bài: 27/7/2023

Ngày thông qua phản biện: 23/8/2023

Ngày duyệt đăng: 14/9/2023

ẢNH HƯỞNG CỦA MẬT ĐỘ VÀ SỐ LẦN CHO ĂN LÊN HIỆU QUẢ NUÔI CÁ CHIM VÂY VÀNG (*Trachinotus falcatus* Linnaeus, 1758) GIAI ĐOẠN GIỐNG VÀ THƯƠNG PHẨM

Phạm Đức Phương[1, *], Phạm Quốc Hùng[2]

TÓM TẮT

Thí nghiệm nhằm đánh giá ảnh hưởng của mật độ và số lần cho ăn lên hiệu quả nuôi cá chim vây vàng bằng lồng nhựa HDPE tại vịnh Vân Phong, tỉnh Khánh Hòa. Thí nghiệm đánh giá mật độ ương gồm 3 nghiệm thức: 160; 200 và 240 con/m^3 với 3 lần lặp lại. Thí nghiệm xác định số lần cho ăn gồm 3 nghiệm thức: 2, 3 và 4 lần/ngày, cùng mật độ ương là 200 con/m^3 với 3 lần lặp lại với cùng điều kiện: cá giống cỡ 1,0 ± 0,1 g/con được ương trong hệ thống lồng HDPE vuông 125 m^3, thời gian thí nghiệm 45 ngày, cá được cho ăn thức ăn công nghiệp có hàm lượng protein 48%, lipit 12 - 15%, tỷ lệ cho ăn 3 - 8% khối lượng thân. Thí nghiệm xác định mật độ nuôi trong nuôi thương phẩm gồm 3 nghiệm thức với 3 mật độ: 8, 9 và 10 con/m^3, sử dụng cá giống cỡ 75,0 ± 1 g/con với 3 lần lặp lại. Thí nghiệm đánh giá số lần cho ăn giai đoạn thương phẩm gồm 2 nghiệm thức cho ăn 1 lần và 2 lần/ngày với cùng mật độ nuôi 9 con/m^3. Cả 2 thí nghiệm: Thời gian nuôi là 180 ngày, sử dụng thức ăn công nghiệp chìm chậm có hàm lượng protein 45% và lipit 15%, được bố trí trong hệ thống lồng HDPE tròn, chu vi 60 m và thể tích túi lưới là 2.500 m^3. Ở giai đoạn ương giống, mật độ nuôi tốt nhất là 160 con/m^3 dựa trên các chỉ tiêu tăng trưởng và hệ số chuyển hoá thức ăn. Mật độ ương 240 con/m^3 làm giảm tỷ lệ sống. Tăng số lần cho ăn từ 2 lần lên 4 lần/ngày không cải thiện hiệu quả ương của cá thí nghiệm giai đoạn giống. Giai đoạn thương phẩm, mật độ 8 con/m^3 cho hiệu quả tốt nhất ở chỉ tiêu sinh trưởng và hệ số chuyển hoá thức ăn và không có sự khác biệt về hiệu quả tăng trưởng khi cho ăn 1 hoặc 2 lần/ngày. Cho ăn 1 lần/ngày còn giúp cải thiện khối lượng cá khi thu hoạch. Nghiên cứu này góp phần xây dựng hướng dẫn kỹ thuật nuôi cá chim vây vàng trong lồng tại Việt Nam.

Từ khóa: *Cá chim vây vàng, mật độ, số lần cho ăn, nuôi cá biển.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Công nghệ nuôi cá lồng trên biển đã và đang được phát triển nhanh chóng do có nhiều đặc điểm ưu việt. Lồng nuôi được thiết kế, lắp đặt để có thể chịu đựng được điều kiện khắc nghiệt trên biển như sóng lớn, bão gió, dòng chảy thay đổi và thuận lợi khi vận hành. Hệ thống khung chịu lực kiêm phao nổi được thiết kế bằng ống nhựa HDPE có tuổi thọ cao, từ 40 - 50 năm. Việc phát triển hệ thống nuôi hiện đại và công nghệ nuôi mới này góp phần hiện đại hóa nghề nuôi cá biển tại Việt Nam.

Cá chim vây vàng (*Trachinotus* spp.) là loài cá biển có giá trị kinh tế cao, sinh trưởng nhanh, thích hợp với điều kiện tự nhiên tại Việt Nam. Do có chất lượng thịt ngon, được thị trường ưa chuộng và có thể nuôi hoàn toàn bằng thức ăn công nghiệp nên cá chim vây vàng có tiềm năng phát triển ở quy mô lớn, tạo sản phẩm cho thị trường trong nước và xuất khẩu. Nhằm góp phần hoàn thiện các công đoạn trong quy trình công nghệ nuôi cá chim vây vàng trong lồng trên biển quy mô lớn tại Việt Nam, nghiên cứu ảnh hưởng của mật độ và số lần cho ăn lên hiệu quả nuôi cá chim vây vàng giai đoạn giống và thương phẩm là rất cần thiết.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Cá thí nghiệm

Cá chim vây vàng giống dùng cho nghiên cứu này là loài vây ngắn (*Trachinotus falcatus* Linnaeus, 1758) có nguồn gốc sinh sản nhân tạo từ cá bố mẹ thuộc chương trình giống gốc được nuôi tại vịnh Vân Phong, tỉnh Khánh Hòa. Cá dùng cho

[1] Trung tâm Nuôi biển công nghệ cao, Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thuỷ sản I
[2] Trường Đại học Nha Trang
[*] Email: phuong-norad@ria1.org

các thí nghiệm giai đoạn giống có KLTB 1,0 ± 0,1 g/con. Các thí nghiệm xác định mật độ giai đoạn nuôi thương phẩm sử dụng cá giống lớn, KLTB 75,0 ± 1,0 g/con. Cá giống cho thí nghiệm xác định số lần cho ăn phù hợp giai đoạn thương phẩm có KLTB 200,0 ± 5,0 g/con.

2.2. Thức ăn thí nghiệm

Trong 2 thí nghiệm ương cá giống, cá được cho ăn thức ăn công nghiệp loại chìm chậm, đường kính viên 1,5 mm; 2,0 mm (có cùng hàm lượng CP = 48%, CL = 12%) và 3,0 mm (CP = 48%, CL = 15%) lần lượt ứng với các giai đoạn cá đạt KLTB 5,0 g/con; từ 5,0 - 15,0 g/con và cá lớn hơn 15,0 g/con.

Ở giai đoạn nuôi thương phẩm, thí nghiệm xác định mật độ và số lần cho ăn sử dụng thức ăn công nghiệp chìm chậm, đường kính viên 4,0 mm; 6,0 mm và 8,0 mm có cùng hàm lượng dinh dưỡng (CP = 45% và CL = 15%) lần lượt ứng với các giai đoạn cá đạt KLTB 75,0 g/con; từ 200,0 - 350,0 g/con và cá lớn hơn 350,0 g/con.

2.3. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện từ tháng 4 đến tháng 12 năm 2021, tại Trang trại thực nghiệm nuôi cá lồng biển quy mô công nghiệp của Trung tâm Nuôi biển Công nghệ cao, Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản I, tại vịnh Vân Phong, tỉnh Khánh Hòa.

2.4. Hệ thống lồng nuôi trên biển

Thí nghiệm đánh giá mật độ và số lần cho ăn giai đoạn giống và thương phẩm được bố trí lần lượt trong thống lồng nhựa HDPE vuông và tròn gắn với hệ thống neo để có thể chịu đựng và an toàn với trong các điều kiện sóng, gió… khắc nghiệt trên biển.

Hệ thống lồng vuông: Gồm 2 cụm lồng, mỗi cụm gồm 10 ô lồng, các ô lồng được bố trí liền kề nhau thành 2 hàng, mỗi hàng 5 ô lồng, mỗi ô lồng, túi lưới có thể tích 125 m^3 (5 x 5 x 5 m), hệ thống khung lồng kiêm phao nổi được làm bằng vật liệu nhựa HDPE - PE100, lưới nuôi bằng vật liệu nylon, không có gút, mắt lưới hình vuông, có kích thước 1a = 5, 8, 15 mm.

Hệ thống lồng tròn: Gồm 15 lồng tròn, mỗi lồng có chu vi 60 m, được bố trí hệ thống dây neo độc lập, khoảng cách giữa các lồng là 85 m, hệ thống khung lồng kiêm phao nổi được làm bằng vật liệu nhựa HDPE - PE100. Túi lưới gồm 2 lớp lưới: Lớp lưới bảo vệ bằng vật liệu HDPE siêu bền có kích thước mắt lưới chuẩn hóa 1a = 60 mm và 1 lớp lưới nuôi bằng vật liệu nylon, không có gút, mắt lưới hình vuông, có kích thước 1a = 15, 20, 30 mm. Lưới sâu 8 m, đáy hình nón, mỗi túi lưới có thể tích là 2.500 m^3.

2.5. Bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm 1: Ảnh hưởng của mật độ ương lên hiệu quả nuôi cá chim vây vàng giai đoạn giống: Cá được ương trong 9 lồng vuông với 3 mật độ thả ương khác nhau: 160, 200 và 240 con/m^3, tương ứng 20.000, 25.000, 30.000 con/lồng.

Thí nghiệm 2: Ảnh hưởng của số lần cho ăn lên hiệu quả nuôi cá chim vây vàng giai đoạn giống: Cá được ương trong 9 lồng vuông, mỗi lồng thả ương 25.000 con với 3 số lần cho ăn khác nhau trong ngày là 2, 3 và 4 lần/ngày.

Cả 2 thí nghiệm được tiến hành ương cá chim giống nhỏ có khối lượng trung bình 1,0 ± 0,1 g/con (dài khoảng 2,8 - 3,0 cm) được lựa chọn đồng đều về kích thước và thả phân bố ngẫu nhiên. Thời gian thí nghiệm ương nuôi 45 ngày. Cá được cho ăn bằng thức ăn tổng hợp dành cho cá chim, loại chìm chậm, với cỡ viên 1,5, 2,0, 3,0 mm. Cá được cho ăn bằng tay, tỷ lệ cho ăn chiếm 3 - 8% khối lượng thân, tùy vào từng giai đoạn phát triển của cá. Mỗi nghiệm thức được bố trí nuôi trong 3 lồng, các lồng được bố trí ngẫu nhiên trong 1 cụm lồng.

Thí nghiệm 3: Ảnh hưởng của mật độ nuôi lên hiệu quả nuôi cá chim vây vàng giai đoạn nuôi thương phẩm

Thí nghiệm được thực hiện trên cá giống khối lượng trung bình 75,0 ± 1 g/con. Lựa chọn các cá thể có kích thước và khối lượng đồng đều để bố trí ngẫu nhiên vào 9 lồng tròn thí nghiệm tương ứng với 3 nghiệm thức lần lượt là 8 con; 9 con và 10 con/m^3, mỗi nghiệm thức có 3 lần lặp lại. Số lượng cá trong 1 lồng ở mỗi nghiệm thức nuôi 8, 9, 10 con/m^3 lần lượt là 20.000, 22.500, 25.000 con/lồng.

Các lồng được bố trí theo sơ đồ khối hoàn toàn ngẫu nhiên trong cùng một khu nuôi. Cá được cho ăn 2 lần/ngày vào thời điểm 8:00 và 16:00 giờ. Thời gian nuôi thí nghiệm là 180 ngày, cho tới khi cá đạt khối lượng thu hoạch khoảng 500 - 600 g/con.

Thí nghiệm 4: Ảnh hưởng của số lần cho ăn lên hiệu quả nuôi cá chim vây vàng giai đoạn nuôi thương phẩm.

Thí nghiệm được thực hiện với cá có khối lượng thân trung bình đạt 200 ± 5 g/con. Lựa chọn những cá thể có kích cỡ đồng đều để bố trí ngẫu nhiên trong 6 lồng thí nghiệm tương ứng với 2 chế độ cho ăn 1 lần/ngày (8:00) và 2 lần/ngày (8:00 và 16:00). Mỗi nghiệm thức được lặp lại 3 lần. Mật độ thả nuôi 9 con/m^3 lồng, tương ứng với 22.500 con/lồng. Thời gian thí nghiệm là 120 ngày.

Cả hai thí nghiệm 3 và 4: Cá nuôi giai đoạn từ lúc thả cho đến khi cá đạt 200 g được cho ăn bằng tay. Giai đoạn cá đạt từ trên 200 g đến khi kết thúc thí nghiệm được cho ăn bằng máy phun thổi thức ăn. Thức ăn sử dụng là loại viên chìm chậm với cỡ viên tăng dần theo giai đoạn sinh trưởng lần lượt là: 4, 6, 8 mm. Tỷ lệ cho ăn từ 1,5 - 3,0% khối lượng thân, tùy theo giai đoạn phát triển của cá.

2.6. Thu, xử lý và phân tích số liệu

2.6.1. Thu thập số liệu

Sinh trưởng: Cá được cân bằng cân điện tử xác định khối lượng thân trung bình và đo chiều dài trước khi bắt đầu thí nghiệm và 15 ngày/lần tiếp theo. Cá trong lồng được thu mẫu bằng lưới vây; mỗi lồng thu, cân khối lượng và đo chiều dài tối thiểu 30 con cá.

Tỷ lệ sống: Hàng ngày lặn, thu gom cá chết, ghi vào sổ nhật ký để xác định tỷ lệ sống tại thời điểm nghiên cứu và đếm số lượng cá còn lại khi kết thúc thí nghiệm để xác định tỷ lệ sống, hệ số chuyển hóa thức ăn và so sánh số liệu các mật độ khác nhau và số lần cho ăn khác nhau.

2.6.2. Phương pháp xác định các thông số môi trường

- Nhiệt độ được đo bằng máy OxyGuard Handly Polaris 2, chính xác đến 0,1°C.

- Độ mặn được đo bằng khúc xạ kế hiệu EXTECH RF20 có bù nhiệt độ chính xác ± 0,1‰.

- Oxy hòa tan được đo bằng máy OxyGuard Handly Polaris 2, độ chính xác đến 0,01 mg/L.

Các thông số môi trường nước được đo 2 lần/ngày, tại các thời điểm 7:00 và 15:00 giờ hàng ngày tại độ sâu 1 m và 5 m.

2.6.3. Phương pháp xác định các chỉ tiêu

Các chỉ tiêu đánh giá:

+ Tỷ lệ sống: $S\% = \frac{N_t}{N_0} \times 100\ \%$

Trong đó: N_t là số cá tại thời điểm t; N_0 là số cá thả ban đầu.

+ Tốc độ tăng trưởng đặc trưng theo khối lượng (SGR_w%/ngày)

$$SGR = \frac{Ln(W_2) - Ln(W_1)}{t} \times 100\ \%$$

+ Tốc độ tăng trưởng đặc trưng theo chiều dài (SGR_L%/ngày)

$$SGR = \frac{Ln(L_2) - Ln(L_1)}{t} \times 100\%$$

Trong đó: W_1, W_2 là khối lượng cá lúc bắt đầu và kết thúc thí nghiệm; L_1, L_2 là chiều dài của cá lúc bắt đầu và kết thúc thí nghiệm; t là thời gian thí nghiệm (ngày).

+ Hệ số chuyển hoá thức ăn (FCR): $FCR = \frac{W_{tasd}}{WG}$

Trong đó: W_{tasd} là khối lượng thức ăn sử dụng (g, theo khối lượng). WG là khối lượng cá tăng thêm (g, theo khối lượng tươi). Tăng trọng (Weight Gain-WG): $WG(kg) = Wcuối - Wđầu$. Khối lượng cá ban đầu (Biomass at Innitial): $BI(\text{kg}) = \text{Số cáthínghiệm x W đầu}$

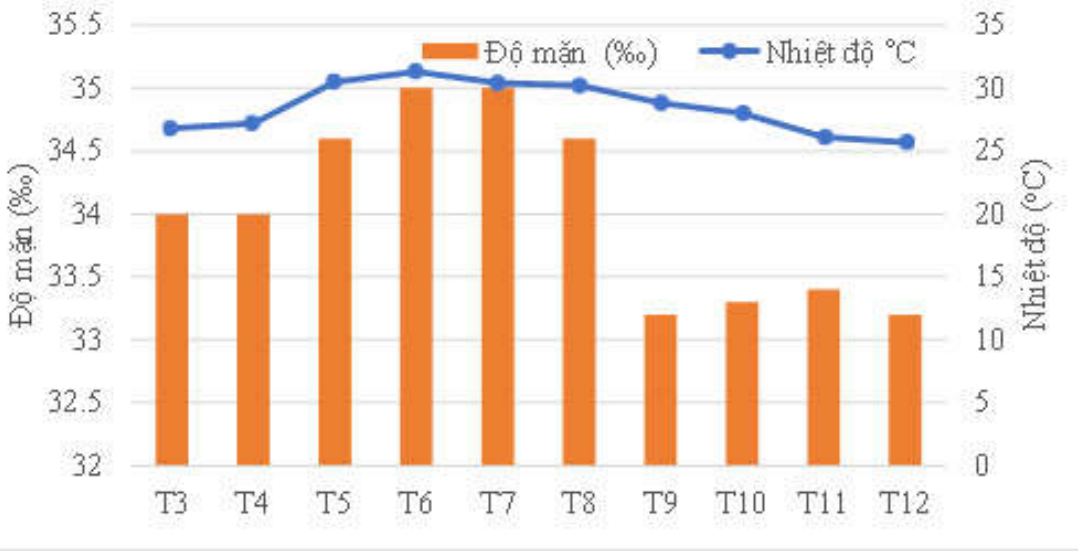
2.6.4. Xử lý và phân tích số liệu

Số liệu tốc độ tăng trưởng, tỷ lệ sống, hệ số thức ăn…của các mật độ khác nhau, số lần cho ăn khác nhau của thí nghiệm 1, 2 và 3 được so sánh theo phương pháp phân tích phương sai một nhân tố (one-way ANOVA). Sự sai khác giữa các nghiệm thức nếu có được phân tích bằng phép kiểm định Duncan. Các chỉ tiêu của thí nghiệm 4 được đánh giá bằng kiểm định T-test. Sự sai khác thống kê đạt được khi $p < 0,05$.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả theo dõi một số yếu tố môi trường nước trong thời gian thí nghiệm

Khu vực lồng nghiên cứu được đặt tại vịnh Vân Phong, tỉnh Khánh Hòa, xa bờ, có độ sâu trung bình > 20 m, độ trong > 6 m, ít chịu ảnh hưởng của nước ngọt từ các sông, suối đổ ra, do đó độ mặn vùng nuôi cao (33 - 35‰) và ổn định, nhiệt độ dao động trong khoảng 25 - 31^{0}C, riêng từ tháng 9 đến tháng 12 hàng năm do ảnh hưởng của mùa mưa và gió mùa Đông Bắc nên độ mặn và nhiệt độ nước giảm nhẹ (Hình 1), hàm lượng oxy hòa tan cao, dao động từ 5 - 6 mg/L. Các yếu tố môi trường nước biển khu vực nghiên cứu phù hợp với điều kiện nuôi cá chim vây vàng.



Hình 1. Biến động của độ mặn và nhiệt độ trong thời gian nghiên cứu

3.2. Ảnh hưởng của mật độ ương lên sinh trưởng và hiệu quả sử dụng thức ăn của cá chim vây vàng giai đoạn giống

Sau 45 ngày ương, khối lượng và tốc độ tăng trưởng đặc trưng của cá chim vây vàng đạt cao nhất khi ương với mật độ 160 con/m^3 và có sai khác ý nghĩa với cá ương ở các mật độ cao hơn ($p < 0,05$). Tốc độ tăng trưởng của cá có xu hướng giảm dần khi tăng mật độ ương. Không có sai khác về chiều dài cuối của cá ương ở mật độ 160 và 200 con/m^3 ($p > 0,05$). Sinh khối của lồng nuôi và hệ số chuyển hoá thức ăn (FCR) có tương quan tuyến tính thuận với mật độ ương, cao nhất ở nhóm ương với mật độ 240 con/m^3. Tỷ lệ sống của cá đạt thấp nhất khi ương ở mật độ cao (240 con/m^3) và có sai khác ý nghĩa với tỷ lệ sống của cá ương ở các mật độ thấp hơn ($p < 0,05$) (Bảng 1).

Bảng 1. Sinh trưởng, hiệu quả sử dụng thức ăn và tỷ lệ sống của cá chim ương ở các mật độ khác nhau

Nghiệm thức	160 con/m^3	200 con/m^3	240 con/m^3
L_0 (cm)	2,52 ± 0,01	2,52 ± 0,001	2,52 ± 0,01
W_0 (g/con)	1,0 ± 0,1	1,0 ± 0,1	1,0 ± 0,1
L_{45} (cm)	10,48 ± 0,02^b	10,41 ± 0,01^b	10,14 ± 0,03^a
W_{45} (g/con)	30,64 ± 0,21^c	29,59 ± 0,04^b	28,11 ± 0,02^a
Sinh khối (kg/lồng)	517,22 ± 1,29^a	633,14 ± 3,70^b	697,44 ± 1,89^c
SGR_L (%/ngày)	3,17 ± 0,01^b	3,16 ± 0,01^b	3,09 ± 0,01^a
SGRw (%/ngày)	7,61 ± 0,02^c	7,53 ± 0,01^b	7,41 ± 0,01^a

BI (kg/lồng)	594,00	739,00	889,00
FCR	$1,20 \pm 0,01^{a}$	$1,22 \pm 0,01^{b}$	$1,33 \pm 0,01^{c}$
Tỷ lệ sống (%)	$84,39 \pm 0,37^{b}$	$85,58 \pm 0,61^{b}$	$82,71 \pm 0,21^{a}$

Ghi chú: Số liệu trình bày trong bảng là giá trị trung bình ± SE; các ký tự khác nhau trong cùng hàng thể hiện sự sai khác có ý nghĩa ở mức p < 0,05.

Theo Thân Thị Hằng và Đỗ Thị Hòa (2013) [1], thí nghiệm ương cá chim vây vàng (*T. blochii*) cỡ 3 - 4 cm bằng giai lưới đặt trong ao đất trong 4 tuần ở các mật độ khác nhau (100, 200, 300, 400, 500 con/m^3) chỉ ra rằng mật độ ương có ảnh hưởng đến sinh trưởng của cá. Trong đó, mật độ ương 400 - 500 con/m^3 đạt kết quả tốt nhất (8,66 g và 7,23 g). Cá chim vây vàng (KLTB 2,0 g/con) nuôi trong hệ thống tuần hoàn đạt sinh trưởng tối ưu ở mật độ 150 con/m^3, cao hơn so với nuôi ở mật độ thấp 60 hay 120 con/m^3 [2]. Theo Yang và cs (2020) [3], khi mật độ ương nuôi cá chim vây vàng (*T. ovatus*) giai đoạn giống (KLTB 9,8 g/con) lên trên 100 cá thể/m^3 làm giảm tăng trưởng và tăng hệ số chuyển hoá thức ăn. Trong nghiên cứu này cũng phản ánh xu hướng chung là tăng mật độ ương từ 160 lên 240 con/m^3 làm giảm tốc độ sinh trưởng và tăng hệ số chuyển hoá thức ăn.

Các nghiên cứu này được tiến hành trong điều kiện thí nghiệm với các yếu tố môi trường được kiểm soát chặt chẽ, thời gian ngắn, quy mô nhỏ nên tác động của sinh khối lên sinh trưởng và hệ số chuyển hoá thức ăn là chưa rõ rệt. Điều này có thể có những khác biệt khi áp dụng trong điều kiện sản xuất thực tế ương nuôi từ cá giống nhỏ lên cá giống lớn cho nuôi thương phẩm ở quy mô lớn. Tăng mật độ thả sẽ làm tăng ức chế cho cá, làm tăng nhu cầu về năng lượng, giảm sinh trưởng, giảm khả năng hấp thụ thức ăn. Do đó, mật độ tối ưu cần phải xác định cho mỗi loài và mỗi giai đoạn của cá để có thể quản lý một cách hiệu quả và làm tối đa năng suất và lợi nhuận. Tuy nhiên, điều này liên quan mật thiết đến nhiều vấn đề như thiết kế hệ thống nuôi, chế độ cho ăn, kỹ thuật chăm sóc, quản lý môi trường và phòng trừ dịch bệnh. Ngoài ra, ương nuôi cá ở mật độ cao làm gia tăng lượng chất thải, ô nhiễm môi trường, cá dễ bị ức chế và nhiễm bệnh, hậu quả làm giảm tỷ lệ sống trong quá trình ương, nuôi [4]. Trong nghiên cứu này mật độ thả 160 con/m^3 cho tốc độ tăng trưởng đặc trưng (SGR) theo khối lượng và hệ số chuyển hóa thức ăn (FCR) tốt hơn so với mật độ 200 và 240 con/m^3.

3.3. Ảnh hưởng của số lần cho ăn lên sinh trưởng, tỷ lệ sống và hiệu quả sử dụng thức ăn của cá chim vây vàng giai đoạn giống

Chiều dài cá thí nghiệm có sự khác biệt ở mức có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Chiều dài cá ở các nghiệm thức cho ăn 2 lần và cho ăn 3 lần/ngày là không khác biệt ở mức thống kê ($p > 0,05$). Tương tự, chiều dài cá ở nghiệm thức cho ăn 3 lần và 4 lần/ngày cũng không có sự khác biệt thống kê ($p > 0,05$) (Bảng 2). Tuy nhiên, kết quả thống kê khối lượng cá cho thấy, sự sai khác không có ý nghĩa thống kê giữa 2 nghiệm thức cho ăn 2 lần và 4 lần/ngày ($p < 0,05$) nhưng lại khác nhau có ý nghĩa thống kê giữa 2 lần với 3 lần ăn/ngày và giữa 3 lần với 4 lần ăn/ngày ($p > 0,05$).

Bảng 2. Ảnh hưởng của số lần cho ăn lên sinh trưởng, tỷ lệ sống và hệ số chuyển hóa thức ăn của cá chim giai đoạn giống

Nghiệm thức	2 lần/ngày	3 lần/ngày	4 lần/ngày
L_0 (cm)	$2,52 \pm 0,01$	$2,52 \pm 0,01$	$2,52 \pm 0,01$
W_0 (g/con)	$1 \pm 0,1$	$1 \pm 0,1$	$1 \pm 0,1$
L_{45} (cm)	$10,81 \pm 0,02^{a}$	$10,86 \pm 0,02^{ab}$	$10,91 \pm 0,02^{b}$
W_{45} (g/con)	$29,73 \pm 0,02^{b}$	$29,63 \pm 0,03^{a}$	$29,79 \pm 0,02^{b}$
Sinh khối (kg/lồng)	$639,00 \pm 1,49$	$637,90 \pm 1,84$	$641,21 \pm 1,59$
SGR_L (%/ngày)	$3,24 \pm 0,01^{a}$	$3,25 \pm 0,01^{ab}$	$3,25 \pm 0,01^{b}$
SGRw (%/ngày)	$7,54 \pm 0,01^{b}$	$7,53 \pm 0,01^{a}$	$7,54 \pm 0,01^{b}$

FI (kg/lồng)	739,00	739,00	739,00
FCR	1,20 ± 0,01	1,21 ± 0,01	1,20 ± 0,01
Tỷ lệ sống (%)	85,98 ± 0,20	86,13 ± 0,17	86,08 ± 0,24

Ghi chú: Số liệu trình bày là giá trị trung bình ± SE*; các ký tự khác nhau trong cùng hàng thể hiện sự sai khác có ý nghĩa, ở mức p < 0,05.*

Tỷ lệ sống trung bình của cá ở các nghiệm thức thí nghiệm được cho ăn 2 lần/ngày là 85,98%; 3 lần/ngày là 86,13% và 3 lần/ngày là 86,08% (Bảng 2). Không có sai khác về tỷ lệ sống, hệ số chuyển hóa thức ăn và sinh khối giữa các nghiệm thức.

Wu và cs (2013) [5] thí nghiệm ương cá chim vây vàng (*T. ovatus*) giống cỡ 10,3 g trong lồng lưới bằng thức ăn tổng hợp với các nghiệm thức cho ăn 1, 2, 3, 4 lần/ngày. Kết quả thí nghiệm cho thấy, nghiệm thức cá được cho ăn 2 lần/ngày cho sinh trưởng tốt hơn cá ăn 1 lần/ngày nhưng vẫn thấp hơn nhiều so với cho ăn 3 và 4 lần/ngày, so sánh thống kê cho thấy, cá ở nghiệm thức được cho ăn 3 và 4 lần/ngày sinh trưởng tương đương nhau và nhanh hơn so với các nghiệm thức còn lại.

Trong nghiên cứu này, việc tăng số lần cho ăn lên 3 hay 4 lần/ngày không cải thiện tăng trưởng so với cho ăn 2 lần/ngày. Kết quả này tương tự như đối với nghiên cứu của Groat (2002) [6] trên cá chim Florida (*T. carolinus*) ương trong hệ thống tuần hoàn, trong đó số cá được cho ăn với 1, 2, 3, 6 lần/ngày. Kết quả cho thấy, sinh trưởng của cá thấp nhất khi cho ăn 1 lần/ngày, tuy nhiên khi tăng từ 2 lên 6 lần/ngày không cải thiện sinh trưởng của cá. Ở giai đoạn giống tốc độ tăng trưởng của cá lớn hơn giai đoạn trưởng thành nên tỷ lệ cho ăn theo khối lượng thân cao hơn. Việc giảm số lần cho ăn có thể ảnh hưởng đến lượng thức ăn cá tiêu thụ, ảnh hưởng đến khả năng hấp thụ thức ăn...từ đó ảnh hưởng đến sinh trưởng của cá. Cùng một lượng thức ăn cho cá ăn trong ngày nhưng cho cá ăn 1 lần/ngày cá không thể sử dụng hay hấp thụ hết thức ăn mà bị đào thải ra ngoài thông qua tiêu hóa và môi trường, làm ảnh hưởng đến chất lượng nước cũng như tăng trưởng của cá. Tuy nhiên, nếu chia ra ăn thành nhiều bữa trong ngày, mỗi lần cá ăn lượng thức ăn vừa phải, sau khi ngấm nước, lượng dinh dưỡng trong thức ăn được hấp thụ hết. Đồng thời cá ăn nhiều bữa trong ngày thì tăng khả năng bắt mồi đối với những con cá nhỏ hơn trong quần đàn giúp cho cá tăng trưởng đồng đều hơn.

3.4. Ảnh hưởng của mật độ lên tốc độ tăng trưởng, tỷ lệ sống và hiệu quả sử dụng thức ăn trong nuôi thương phẩm cá chim vây vàng

Kết quả của nghiên cứu này được trình bày ở bảng 3. Sau 180 ngày nuôi, khối lượng và tốc độ tăng trưởng đặc trưng của cá chim vây vàng đạt cao nhất khi nuôi với mật độ 8 con/m^3 và có sai khác ý nghĩa với cá nuôi ở các mật độ cao hơn ($p < 0,05$) là 9 con/m^3 và 10 con/m^3. Sinh khối cá của lồng nuôi và tốc độ tăng trưởng của cá có xu hướng giảm dần khi tăng mật độ nuôi. Hệ số chuyển hoá thức ăn (FCR) có tương quan tuyến tính thuận với mật độ nuôi, cao nhất ở 3 lồng nuôi với mật độ 10 con/m^3. Tỷ lệ sống của cá đạt thấp nhất khi nuôi ở mật độ cao (10 con/m^3) và có sai khác ý nghĩa với tỷ lệ sống của cá nuôi ở các mật độ 8 và 9 con/m^3 ($p < 0,05$).

Sau 60 ngày nuôi, tỷ lệ chết của cá thấp nhất ở nghiệm thức nuôi mật độ 8 con/m^3 và có sai khác ý nghĩa với các mật độ nuôi cao hơn ($p < 0,05$). Sau 120 ngày nuôi, tỷ lệ chết cao nhất ở nghiệm thức nuôi với mật độ 10 con/m^3 và sai khác ý nghĩa với mật độ thả 8 con/m^3 ($p < 0,05$). Tuy nhiên, sau 150 và 180 ngày nuôi, không có sự sai khác về tỷ lệ chết của cá chim vây vàng nuôi ở các mật độ khác nhau ($p > 0,05$).

Trong giai đoạn nuôi thương phẩm, thay đổi mật độ nuôi có thể ảnh hưởng đến tốc độ tăng trưởng của cá chim vây vàng. Trong thí nghiệm này, tốc độ tăng trưởng SGR của cá chim vây vàng giảm có ý nghĩa khi tăng mật độ nuôi từ 8 lên 10 con/m^3. Kết quả này tương tự như những công bố trên cá chim vây vàng (*T. blochii*), trong đó SGR giảm có ý nghĩa khi tăng mật độ nuôi lên trên 10 con/m^3 [7]. Chavex và cs (2011) [8] cũng cho biết cá chim vây vàng (*T. blochii*) kích cỡ thả 12 g/con, sau 4 tháng nuôi đạt tốc độ tăng trưởng nhanh hơn khi thả với mật độ 20 và 25 con/m^3 so với cá thả ở mật độ 35 con/m^3. Groat (2002) [6] cũng cho rằng,

mật độ thả 18 và 36 con/m^3 không làm ảnh hưởng đến tăng trưởng của cá chim Florida (*T. carolinus*) với kích cỡ thả ban đầu 70 g/con. Những kết quả trên cho thấy, sự thay đổi về sinh trưởng của cá chim vây vàng cũng như các loài cá biển khác phụ thuộc vào loài, mật độ thả cũng như kích thước cá giống và cần được tối ưu cho từng loài ở các giai đoạn nuôi để đạt hiệu quả nuôi cao.

Trong thí nghiệm này, tỷ lệ sống của cá chim vây vàng dao động từ 89,26 ± 0,37% tới 94,52 ± 0,13% khi giảm mật độ nuôi từ 10 xuống 8 con/m^3. Tỷ lệ sống này đạt cao hơn so với các kết quả công bố trên cá chim vây vàng (*T. blochii*) là 64,4 - 84,3% khi nuôi thương phẩm ở mật độ từ 5 - 15 con/m^3 [7] hay loài cá chim vây vàng (*T. ovatus*) là 72% [9]. Kết quả của thí nghiệm này cho thấy, tỷ lệ sống của cá chim vây vàng giảm có ý nghĩa khi tăng mật độ thả từ 8 lên 10 con/m^3. Kết quả này tương tự với nghiên cứu trên cá chim vây vàng (*T. blochii*), trong đó cá thả với mật độ 5 con/m^3 đạt tỷ lệ sống cao hơn có ý nghĩa so với nhóm nuôi với mật độ 10 và 15 con/m^3 [7].

Bảng 3. Ảnh hưởng của mật độ thả lên sinh trưởng, tỷ lệ sống và hệ số chuyển hóa thức ăn của cá chim vây vàng giai đoạn thương phẩm

Nghiệm thức	8 con/m^3	9 con/m^3	10 con/m^3
W_0 (g/con)	73,94 ± 0,20	74,58 ± 0,16	73,82 ± 0,15
Wcuối (g/con)	$608,44 \pm 0,84^c$	$565,49 \pm 1,17^b$	$471,09 \pm 0,99^a$
Sinh khối (kg/lồng)	$11.501,29 \pm 23,98^b$	$11.512,80 \pm 62,29^b$	$10.512,64 \pm 60,87^a$
WG (g)	$534,50 \pm 1,04^c$	$490,92 \pm 1,26^b$	$397,27 \pm 1,15^a$
SGR (%/ngày)	$1,17 \pm 0,01^c$	$1,13 \pm 0,01^b$	$1,03 \pm 0,01^a$
FI (kg/lồng)	20.488	22.808	25.359
FCR	$1,84 \pm 0,01^a$	$2,09 \pm 0,01^b$	$2,63 \pm 0,02^c$
Tỷ lệ sống (%)	$94,52 \pm 0,13^c$	$90,48 \pm 0,31^b$	$89,26 \pm 0,37^a$

Ghi chú: Số liệu trình bày là giá trị trung bình ± SE. Các ký tự khác nhau trong cùng hàng thể hiện sự sai khác có ý nghĩa ở mức p < 0,05.

3.5. Ảnh hưởng của số lần cho ăn lên sinh trưởng, tỷ lệ sống và hiệu quả sử dụng thức ăn của cá chim vây vàng giai đoạn nuôi thương phẩm

Kết quả về ảnh hưởng của số lần cho ăn lên sinh trưởng, tỷ lệ sống và hệ số chuyển hóa thức ăn của cá chim giai đoạn nuôi thương phẩm được thể hiện ở bảng 4. Số lần cho ăn 1 hay 2 lần/ngày không ảnh hưởng đến tỷ lệ sống, tốc độ tăng trưởng về khối lượng và hệ số chuyển hóa thức ăn của cá chim vây vàng nuôi thương phẩm (p > 0,05). Khối lượng cuối và sinh khối của cá cho ăn 1 lần/ngày cao hơn có ý nghĩa so với nhóm cho ăn 2 lần/ngày (p < 0,05). Tỷ lệ chết của cá không có sự khác biệt ở các lần cho ăn khác nhau sau 30, 60, 90 và 120 ngày nuôi (p > 0,05).

Bảng 4. Ảnh hưởng của số lần cho ăn lên sinh trưởng, tỷ lệ sống và hệ số chuyển hóa thức ăn của cá chim vây vàng giai đoạn thương phẩm

Nghiệm thức	1 lần/ngày	2 lần/ngày
W_0 (g/con)	196,39 ± 0,73	193,17 ± 1,55
Wcuối (g/con)	$550,08 \pm 1,19^b$	$537,27 \pm 5,28^a$
Sinh khối (kg/lồng)	$11.353,05 \pm 21,64^b$	$11.041,66 \pm 137,27^a$
WG (g)	$353,69 \pm 0,58^b$	$344,09 \pm 3,75^a$
SGR (%/ngày)	0,86 ± 0,002	0,85 ± 0,002
FI (kg/lồng)	19.696	19.696
FCR	2,56 ± 0,01	2,65 ± 0,04
Tỷ lệ sống (%)	91,73 ± 0,36	91,34 ± 0,31

Ghi chú: Số liệu trình bày là giá trị trung bình ± SE. Các ký tự khác nhau trong cùng hàng thể hiện sự sai khác có ý nghĩa ở mức p < 0,05.

Tốc độ tăng trưởng về khối lượng của cá chim vây vàng trong thí nghiệm trên tương đương với các kết quả về nuôi thương phẩm cá chim vây vàng đã công bố. Ở Đài Loan cá chim vây vàng (*T. blochii*) được nuôi với mật độ 2 - 3 con/m^2, sử dụng thức ăn viên công nghiệp, qua 7 - 12 tháng nuôi có thể đạt cỡ cá thương phẩm 400 - 600 g/con, với hệ số thức ăn 1,6 - 2,0; sản lượng đạt 10 - 15 tấn/ha [10]. Thouard và cs (1990) [11] đã thử nghiệm nuôi cá chim vây vàng (*T. goodie*) ở Pháp trong lồng, cỡ cá thả 15 g, sử dụng thức ăn viên công nghiệp với hàm lượng protein 50% sau 5 tháng nuôi cá đạt 300 g. Lan và cs (2007) [12] đã công bố kết quả nuôi cá chim vây vàng (*T. blochii)* trong lồng với cỡ cá thả là 20 g, mật độ 9,6 con/m^3 sau 146 ngày nuôi cá đạt cỡ trung bình 610 g và tỷ lệ sống là 99%, hệ số chuyển hoá thức ăn từ 2,51 - 2,59.

Tùy thuộc vào đặc điểm cấu tạo của hệ tiêu hóa và đặc điểm sinh học của loài mà người nuôi cần chú ý cách cho ăn phù hợp để đảm bảo đạt hiệu quả kinh tế cao nhất. Yoo và Lee (2016) [13] cho biết, cá nóc (*Takifugu obscurus*) ương nuôi với tần suất cho ăn 5 lần/ngày cho tốc độ sinh trưởng cao hơn cá chỉ cho ăn 1 lần/ngày. Alemayehu và Getahun (2017) [14] thí nghiệm cho cá rô phi (*Oreochromis niloticus*) nuôi lồng được cho ăn với các tần suất khác nhau từ 1 lần/2 ngày đến 4 lần/ngày đã kết luận rằng cho ăn nhiều lần/ngày cho tăng trưởng tốt hơn. Tuy nhiên, Aydin và cs (2011) [15] cho biết, cá bơn (*Psetta maxima* Linnaeus 1758) cho ăn 1 lần/ngày có tốc độ sinh trưởng tốt hơn cá được cho ăn 2 lần/ngày và 1 lần/2 ngày. Mizanur và cs (2014) [16] cũng cho biết cá đá Hàn Quốc (*Sebastes schlegeli*) kích cỡ 92 g/con khi cho ăn 1 lần/ngày có tốc độ tăng trưởng đặc trưng tương đương với cho ăn 2 lần/ngày và cao hơn so với cá cho ăn 3 hay 4 lần/ngày. Cho ăn 1 lần/ngày cũng đạt được hiệu quả sử dụng protein tốt hơn so với cá cho ăn 3 hay 4 lần/ngày.

Nhiều kết quả nghiên cứu đã cho thấy, khi tăng số lần cho ăn hay rút ngắn thời gian giữa các lần cho ăn không giúp cải thiện tăng trưởng của cá, nhất là ở giai đoạn nuôi thương phẩm. Điều này có thể do thức ăn được dịch chuyển trong ống tiêu hóa nhanh hơn, từ đó làm giảm hiệu quả tiêu hóa thức ăn và hấp thụ các chất dinh dưỡng [17], [18]. Ở số lần cho ăn phù hợp, cá có xu hướng tối ưu quá trình tiêu hóa để tăng hiệu quả hấp thụ các chất dinh dưỡng [13].

4. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ XUẤT

Mật độ nuôi có ảnh hưởng đến tốc độ tăng trưởng, sinh khối và tỷ lệ sống của cá chim vây vàng giai đoạn giống. Mật độ thả 160 con/m^3 cho tốc độ tăng trưởng đặc trưng theo khối lượng và hệ số chuyển hóa thức ăn tốt hơn so với cá ương ở mật độ 200 và 240 con/m^3. Mật độ ương 240 con/m^3 làm giảm tỷ lệ sống của cá chim vây vàng giai đoạn giống.

Tăng số lần cho ăn từ 2 lên 4 lần/ngày không cải thiện tăng trưởng về khối lượng, hiệu quả sử dụng thức ăn của cá chim vây vàng giai đoạn giống.

Trong giai đoạn nuôi thương phẩm, cá đạt sinh trưởng, tỷ lệ sống và hệ số chuyển hoá thức ăn tốt nhất khi thả với mật độ 8 con/m^3. Tăng mật độ lên 9 hay 10 con/m^3 làm giảm sinh trưởng, tỷ lệ sống và tăng hệ số chuyển hoá thức ăn của cá chim vây vàng.

Tăng số lần cho ăn từ 1 lên 2 lần/ngày làm giảm tốc độ tăng trưởng của cá chim vây vàng giai đoạn nuôi thương phẩm, tuy nhiên không có ảnh hưởng đến hệ số chuyển hoá thức ăn và tỷ lệ sống của cá.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Thân Thị Hằng, Đỗ Thị Hòa (2013). Ảnh hưởng của mật độ, loại thức ăn và khẩu phần ăn lên sinh trưởng, tỷ lệ sống của cá chim vây vàng (*Trachinotus blochii* Lacépède, 1801) giống ương bằng giai đặt trong ao đất. *Tạp chí Khoa học - Công nghệ Thủy sản, Trường Đại học Nha Trang*, 3, 95 - 99.

2. Lý Văn Khánh, Cao Mỹ Án và Trần Ngọc Hải (2021). Ảnh hưởng của mật độ lên tăng trưởng và tỷ lệ sống của cá chim vây vàng (*Trachinotus blochii*) giống ương trong hệ thống tuần hoàn. *Tạp chí Khoa học, Trường Đại học Cần Thơ*, số 57 (CĐ Thủy sản), 20 - 25.

3. Yang Quan, Liang Guo, Bao-Suo Liu, Guo Huayang (2020). Effects of stocking density on the growth performance, seru biochemistry, muscle composition and HSP70 gene expression ofjuvenile golden pompano (*Trachinotus ovatus*). *Aquaculture* 518.

4. Li D., Liu, J., Xie, C. (2012). Effect of stocking density on growth and serum concentrations of thyroid hormones and cortisol in Amur sturgeon (*Acipenser schrenckii). Fish Physiology and Biochemistry*, 38 (2): 511 - 515.

5. Wu, Y., Han, H., Qin, J.& Wang, Y. (2013). Effect of feeding frequency on growth, feed utilization, body composition and waste output of juvenile golden pompano (*Trachinotus ovatus*) reared in net pens. *Aquaculture Research*, Volume 46, Issue 6, June 2015. 1436-1443.

6. Groat, D. R. (2002). *Effects of feeding strategies on growth of Florida pompano* (*Trachinotus carolinus*) *in closed recirculating systems*. LSU Master's theses.

7. Kalidas C., Ramesh Kumar P., Linga Prabu D., Tamilmani G., Anbarasu M., Rajendran P. & Thiagu R. (2020). Optimizing stocking density for grow-out culture of silver pompano (*Trachinotus blochii* Lacépède, 1801) in marine floating cages. *Journal of Applied Aquaculture*. Volume 34. 223 – 233

8. Chavez H. M., Amparo L., Fang and Aurelio A. (2011). Effect of stocking density on growth performance, survival and production of silver pompano (*Trachinotus blochii* Lacépède, 1801) in marine floating cages. *Asian Fisheries Science* 24 (2011): 321 - 330.

9. Cremer M., and Zhang Jian (1999). Pompano (*Trachinotus ovatus*) growth performance in 1.5-m^3 cages with soybean meal and fishmeal based feed rations. Liao, I. C., Su, H. M., Chang, E. Y. (2001). Techniques in finfish larviculture in Taiwan. *Aquaculture,* 200, 1 - 31.

10. Thouard, E., Soletchnik, P., Marion, J. P. (1990). Selection of finfish species for aquaculture development in Martinique (F.W.I.). *Aquaculture,* 89, 193 - 197.

11. Lan Hsiang Pin, Craig Cremer Michael, Jesse, C., Hawke John, O'Keefe Tim (2007). Growth performance of pompano (*Trachinotus blochii*) fed fishmeal and soy based diets in offshore OCAT ocean cages. Engineering 13.

12. Yoo G. Y. and Lee J. Y. (2016). The effect of feeding frequency, water temperature and stocking density on the growth of river puffer (*Takifugu obscurus*) reared in a zero-exchange water system. Fisheries and Aquatic Sciences, 19 - 23.

13. Alemayehu, T. A., Getahun, A. (2017). Effect of feeding frequency on growth performance and survival of Nile tillapia (*Oreochromis niloticus* L, 1758) in cage culture system in Lake Hore-Asrsedi, Ethiopia. *Journal of Aquaculture Research and Development*, 8 (4).

14. Aydin, I., Kucuk, E., Sahin, T., Kolotoglu, L. (2011). The effect of feeding frequency and feed rate on growth performance of juvenile Black sea turbot (*Psetta maxima*, Linneaus, 1758). *Journal of Fisheries Science,* 5 (1) 35-42.

15. Mizanur R. M., Bai S. C., Yun H., Kim K. W. (2014). Effects of feeding rate and water temperature on growth and body composition of juvenile Korean rockfish (*Sebastes schlegeli* Hilgendorf 1880). *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences,* 27 (5): 690 - 699.

16. Van Ham Erich, Marc H. G. Berntssen, Albert K. Lmsland, Alkistis C. Parpuora, Sjoerd E. Wendelaar Bonga, Sigurd O. Stefansson. (2003). The influence of temperature and ration on growth, feed conversion, body composition and nutrient retention of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*). *Aquaculture,* 217, 547 - 558.

17. Biswas, G., Thirunavukkarasu, A. R., Sundara, J. K., Kailasam, M., (2010). Optimization of feeding frequency of Asian seabass (*Lates calcarifer*) fry reared in net cages under brackish water environment. *Aquaculture,* 305: 26 - 31.

EFFECT OF STOCKING DENSITY AND FEEDING FREQUENCY ON PERFOMANCES OF POMPANO (*Trachinotus falcatus* linnaeus, 1758) DURING NURSING AND GROW-OUT STAGES

Pham Duc Phuong[1] , Pham Quoc Hung[2]

[1]Center for Advance Marine Aquaculture Technology - Research Institutes for Aquaculture No. 1

[2] Nha Trang University

Summary

This study was conducted to determine the effects of stocking density and feeding frequency on growth performance, survival and production of pompano (*Trachinotus falcatus*) cultured in advance marine HDPE cages at Van Phong bay Khanh Hoa province. Three treatments representing for three stocking densities: 160, 200 and 240 inds/m^3 were designated three replicates and the experiment to determine feeding frequencies per day during nursery stage included three treatments: 2, 3 and 4 times per day, with a stocking density 200 inds/m^3 in triplicates for fingerling nursery. Fingerlings with an average body weight 1 g/fish were stocked in 125 m^3 square cages. Both experiments using completed commercial feeds with pellet sizes from 1.5 mm to 3.0 mm with the same nutrient contents CP = 48%, CL = 12%-15% were fed for 45 days, the feeding rate was 3-8% of the fish body weight. For grow-out: the experiments with three stocking densities of 8, 9 and 10 inds/m^3 using large fingerlings (average weight 75.0 Ơ 1g/fish) with 2 times feeding per day were setup in triplicates. The last experiment to evaluate the feeding frequencies was setup with two treatments: one and two times per day with triplicates. Commercial slow-singking feed (CP = 45% and CL = 15%) and HDPE 60 m circumference cages with volume of 2,500 m^3 were usaged for both experiments for 180 days. At the end of the feeding trials of nursing stages, the fish stocked at 160 inds/m^3 showed the best performances interm of growth rate, FCR and was significantly higher than the treatments stocked at 200 and 240 inds/m^3. No significant difference on the length was observed in the fish stocked at 160 and 200 inds/m^3. Increasing feeding frequencies from 2 times to 4 times/day during nursing did not improve the performances. At the grow-out, the best growth performances were recorded at the stocking density of 8 inds/m^3. Survival rate was significantly different among treatments. There was no significantly difference in growth performances between treatments fed 1 or 2 times/day during grow-out stage. Feeding once a day also helped to improve fish weight gain at harvest. This study contributes to the development of the technical guidelines for short-fin pompano farming in Vietnam.

Keywords: *Pompano, stocking density, feeding frequency, marine fish.*

Người phản biện: TS. Nguyễn Văn Tiến

Ngày nhận bài: 8/7/2023

Ngày thông qua phản biện: 23/8/2023

Ngày duyệt đăng: 4/9/2023

ẢNH HƯỞNG CỦA MẬT ĐỘ, NỀN ĐÁY ĐẾN SINH TRƯỞNG VÀ TỶ LỆ SỐNG CỦA NGAO DẦU (*Meretrix meretrix* Linnaeus, 1758) ƯƠNG TỪ GIAI ĐOẠN GIỐNG CẤP 1 LÊN CẤP 2

Lê Đức Thuần[1,*], Phan Thị Vân[2], Chu Chí Thiết[2]

TÓM TẮT

Nghiên cứu nhằm xác định ảnh hưởng mật độ, cấu trúc nền đáy đến sinh trưởng và tỷ lệ sống của ngao dầu (*Meretrix meretrix* Linnaeus, 1758) ương từ giai đoạn giống cấp 1 lên cấp 2, được tiến hành với 2 thí nghiệm: i) Ảnh hưởng của mật độ ương với 4 nghiệm thức: 4.000, 6.000, 8.000 và 10.000 con/m^2; ii) Ảnh hưởng của cấu trúc nền đáy với 4 nghiệm thức: 30% cát + 7 0% bùn; 50% cát + 50% bùn, 70% cát + 30% bùn và 100% cát. Thí nghiệm được tiến hành trong các giai lưới kích thước 4 m^2, đặt trong ao bạt diện tích 200 m^2, thời gian từ tháng 11 - 12/2022, tại Trung tâm Nghiên cứu khảo nghiệm và Dịch vụ giống Thủy sản Thanh Hóa. Kết quả nghiên cứu cho thấy, ngao ương ở nghiệm thức mật độ 10.000 con/m^2 và nghiệm thức nền đáy với tỷ lệ 70 - 100% cát có tốc độ tăng trưởng, tỷ lệ sống cao hơn các nghiệm thức khác; có thể bổ sung vào quy trình ương ngao dầu giống giai đoạn cấp 1 lên cấp 2.

Từ khóa: *Mật độ, Meretrix meretrix, nền đáy, ngao dầu.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ngao dầu (*Meretrix meretrix* Linnaeus, 1758) phân bố tự nhiên ở khu vực phía Bắc, còn ngao trắng (*Meretrix lyrata* Sowerby, 1851) hay nghêu Bến Tre phân bố ở phía Nam. Hiện ngao là đối tượng nuôi chủ lực, sản phẩm phục vụ xuất khẩu và tiêu thụ nội địa. Ngao dầu có kích thước thương phẩm lớn, khoảng 50 - 60 g/con, thậm chí có cá thể đạt 250 g/con. Thịt ngao có giá trị dinh dưỡng cao, hàm lượng protein dao động từ 22,4 - 45,7%, lipid từ 6,3 - 23,2%, carbohydrate có thời điểm giá trị cao nhất đạt 24,2%, khoáng tổng số từ 6,8 - 22,3%, tỷ lệ thịt so với toàn thân chiếm 21,9 - 32,8% [1].

Ngao dầu là loài rộng nhiệt và muối, giai đoạn giống (cỡ 3 - 4 mm/cá thể) chúng có thể sống ở độ mặn từ 6,5 - 39,5‰, khoảng thích hợp là 15 - 23‰. Nhiệt độ nước dao động từ 4 - 36,1^{0}C, khoảng tối ưu giao động 24 - 27^{0}C [2], [3]. Theo Narasimham và cs (1988) [4] ngao dầu sống ở vùng đáy cát - bùn (cát chiếm 60 - 80%), độ sâu <1 m, nhiệt độ thích hợp 25 - 31^{0}C, độ muối từ 5,3 - 42,5‰. Trong khi đó, Ranade (1964) [5] cho rằng, ngao dầu bắt đầu chết ở độ mặn 10,5‰, nhưng có thể thích ứng tốt ở độ mặn 34,2‰, nhiệt độ nước cao nhất là 35^{o}C. Độ mặn tăng, giảm đột ngột sẽ làm cho ngao bị sốc, dễ chết [6], [3]. Hiện nay, việc nghiên cứu xác định các thông số kỹ thuật phù hợp trong sinh sản và ương giống ngao dầu chưa được thực hiện có hệ thống. Ảnh hưởng của mật độ và nền đáy chưa được nghiên cứu trên đối tượng ngao dầu mà mới chỉ tiến hành trên ngao trắng [7], [8]. Vì vậy, mục đích của nghiên cứu này là xác định mật độ và nền đáy phù hợp trong ương ngao dầu giống giai đoạn từ cấp 1 lên cấp 2 nhằm bổ sung vào quy trình sản xuất giống ngao dầu quy mô hàng hóa phù hợp với điều kiện sinh thái tại tỉnh Thanh Hóa.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Ngao dầu giống cấp 1, kích thước 2,25 - 2,27 mm/con, có nguồn gốc từ sinh sản nhân tạo.

2.2. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Các thí nghiệm được triển khai trong tháng 11 - 12/2022, tại Trạm Nghiên cứu thực nghiệm và sản xuất giống thủy sản - Trung tâm Nghiên cứu khảo nghiệm và Dịch vụ giống Thủy sản Thanh Hóa, xã Hoằng Thanh, huyện Hoằng Hóa, tỉnh Thanh Hóa.

[1] Nghiên cứu sinh chuyên ngành Nuôi trồng Thủy sản, Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản I
[2] Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản I
[*] Email: thuanphuclinh@gmail.com

2.3. Phương pháp bố trí thí nghiệm

- Thí nghiệm 1. Xác định mật độ ương ngao dầu giống từ con giống cấp 1 lên giống cấp 2. Thí nghiệm được bố trí 4 nghiệm thức mật độ (MĐ) ương: MĐ - 1: 4.000 con/m^2; MĐ - 2: 6.000 con/m^2; MĐ - 3: 8.000 con/m^2; MĐ - 4: 10.000 con/m^2. Thí nghiệm được bố trí ngẫu nhiên trong 12 giai lưới (diện tích 4 m^2/giai), mỗi nghiệm thức lặp lại 3 lần, đặt trong ao có diện tích 200 m^2, độ sâu nước 1,2 - 1,5 m; nền đáy là cát - bùn. Ngao thí nghiệm được cho ăn 2 lần/ngày (vào hồi 7 giờ và 17 giờ), bằng hỗn hợp vi tảo *Nannochloropsis oculata*, *Chaetaceros muelleri*, *Isochrysis galbana* với tỷ lệ 1: 1: 1, mật độ dao động 25.000 - 40.000 tế bào/ml theo nhu cầu của chúng. Các giai được bố trí sục khí ở giữa, đảm bảo lượng ôxy hòa tan > 4 mg/l. Thí nghiệm được tiến hành trong 28 ngày.

- Thí nghiệm 2: Xác định nền đáy ương ngao dầu giống từ con giống cấp 1 lên giống cấp 2. Thí nghiệm được tiến hành với 4 nghiệm thức: NĐ - 1: 100% cát; NĐ - 2: 30% cát + 70% bùn; NĐ - 3: 50% cát + 50% bùn; NĐ - 4: 70% cát + 3 0% bùn. Thí nghiệm bố trí ngẫu nhiên trong 12 giai (diện tích 4 m^2/giai), mỗi nghiệm thức lặp lại 3 lần, đặt trong ao 200 m^2. Ngao thí nghiệm được cho ăn 2 lần/ngày (vào hồi 7 giờ và 17 giờ) bằng hỗn hợp vi tảo *Nannochloropsis oculata*, *Chaetaceros muelleri*, *Isochrysis galbana* với tỷ lệ 1: 1: 1, mật độ dao động 25.000 - 40.000 tế bào/ml, theo nhu cầu của chúng. Các giai được bố trí sục khí ở giữa, đảm bảo lượng ôxy hòa tan luôn > 4 mg/l. Thí nghiệm được tiến hành trong 28 ngày.

Các yếu tố môi trường trong các giai ở cả 2 thí nghiệm được đo 2 lần/ngày (vào hồi 7 giờ và 17 giờ). Siphôn kết hợp thay 50% lượng nước trong ao thí nghiệm và theo dõi khả năng vận động, bắt mồi của ngao 2 ngày/lần. Định kỳ 7 ngày/lần, xác định tốc độ tăng trưởng (theo chiều cao vỏ) và tỷ lệ sống của ngao thí nghiệm. Nguồn nước sử dụng cho cả 2 thí nghiệm được bơm từ ao lắng vào bể chứa thể tích 8 m^3 qua túi lọc 20 µm, sau đó tiếp tục được bơm vào ao thí nghiệm qua hệ thống ống lọc bông (0,5 µm).

2.4. Phương pháp thu thập và xử lý số liệu

2.4.1. Thu mẫu và số liệu

Thu mẫu ngao thí nghiệm bằng khung thu mẫu diện tích 100 cm^2 (10 x 10 cm). Tắt sục khí, đưa khung thu mẫu xuống đáy, dùng ống dây khí hút nhẹ toàn bộ nền đáy trong khung mẫu. Tiến hành thu mẫu tại 5 điểm (4 điểm ở mỗi góc và 1 điểm ở giữa), sau đó lọc loại bỏ cát, chất vẩn, trộn đều. Ngao giống được thu toàn bộ, trộn đều, cân khối lượng tổng số, sau đó lấy 1 g mẫu để đếm số số lượng. Số lượng ngao từ 1 g mẫu được nhân với tổng khối lượng thu được để xác định tổng số ngao giống sau khi kết thúc thí nghiệm.

Các chỉ tiêu về môi trường như: Nhiệt độ được đo bằng nhiệt kế bách phân, độ chính xác 0,1^{0}C; pH: Đo bằng máy đo pH cầm tay, độ chính xác 0,1; độ trong bằng đĩa Secchi; độ mặn được đo bằng khúc xạ kế (ATAGO, thang chia từ 0 - 100‰), độ chính xác 1‰; hàm lượng ôxy hòa tan trong nước được đo bằng máy đo cầm tay.

2.4.2. Phương pháp xác định các thông số kỹ thuật

- Tỷ lệ sống (%): Tỷ lệ sống của ngao giống được xác định sau mỗi 7 ngày ương và tại thời điểm kết thúc thí nghiệm, tính theo công thức: S (%) = 100*(S_1/S_2). Trong đó: S là tỉ lệ sống của ngao giống; S_1, S_2 là số lượng ngao giống đưa vào thí nghiệm và tại thời điểm kết thúc thí nghiệm.

- Tốc độ tăng trưởng: Tốc độ tăng trưởng của ngao được xác định qua tăng trưởng chiều cao vỏ [9]. Tốc độ tăng trưởng bình quân theo ngày của ngao (ADG) được tính theo công thức: ADG (mm/ngày) = (FL - IL)/(T_2 - T_1). Tốc độ tăng trưởng đặc thù của ngao (SGR) được tính theo công thức: SGR (%/ngày) = 100*[(Ln(FL) - Ln (IL))/T_2-T_1]. Trong đó: IL là chiều cao tại thời điểm bố trí thí nghiệm T_1; FL là chiều cao tại thời điểm T_2.

2.4.3. Xử lý và phân tích số liệu

Số liệu được xử lý, phân tích bằng phần mềm SPSS 22.0. Phân tích phương sai một nhân tố (One-way ANOVA), kiểm định Ducan mức ý nghĩa

0,05 để đánh giá sai khác về giá trị trung bình giữa các nghiệm thức thí nghiệm.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của mật độ ương đến sinh trưởng và tỷ lệ sống của ngao dầu giai đoạn giống cấp 1 lên cấp 2

3.1.1. Một số chỉ tiêu môi trường trong ao ương

Kết quả theo dõi một số yếu tố môi trường nước trong thí nghiệm được thể hiện ở bảng 1.

Bảng 1. Một số yếu tố môi trường trong giai thí nghiệm

Chỉ tiêu		Mật độ (con/m^2)			
		4.000	6.000	8.000	10.000
Nhiệt độ (^{o}C)	Sáng	26,63 ± 1,65	26,45 ± 1,41	26,88 ± 1,22	26,28 ± 1,53
	Chiều	28,62 ± 1,81	28,53 ± 1,61	28,31 ± 1,45	28,48 ± 1,51
pH	Sáng	7,78 - 8,42	7,50 - 8,36	7,75 - 8,22	7,82 - 8,12
	Chiều	7,67 - 8,52	7,58 - 8,47	7,62 - 8,38	7,82 - 8,26
DO (mg/l)	Sáng	5,53 ± 1,52	5,86 ± 1,41	5,66 ± 1,34	5,24 ± 1,34
	Chiều	6,02 ± 1,18	6,18 ± 1,32	6,25 ± 1,25	6,32 ± 1,38
Độ mặn (‰)	Sáng	23,14 ± 1,66	23,54 ± 1,84	23,26 ± 1,63	23,38 ± 1,93
	Chiều	23,24 ± 1,61	23,32 ± 1,46	23,44 ± 1,58	23,61 ± 1,69

Ghi chú: Số liệu ở bảng trình bày dưới dạng giá trị trung bình ± sai số chuẩn.

Kết quả ở bảng 1 cho thấy, nhiệt độ nước, pH, ô xy hòa tan (DO), độ mặn đều trong phạm vi sinh trưởng, phát triển của ngao dầu giống, phù hợp với các kết quả nghiên cứu của Trương Quốc Phú (1999) [10], Cao fujun và cs (2009) [2], Nguyễn Xuân Thành (2016) [11].

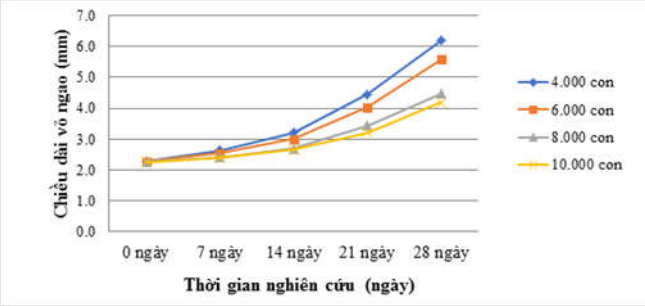
3.1.2. Ảnh hưởng của mật độ đến tốc độ tăng trưởng của ngao dầu giống

Kích cỡ (chiều cao vỏ) ban đầu và tại thời điểm kết thúc thí nghiệm, tốc độ tăng trưởng của ngao dầu theo kích thước ở các nghiệm thức mật độ ương được thể hiện ở bảng 2. Kết quả thí nghiệm cho thấy mật độ ương ảnh hưởng đến tốc độ tăng trưởng của ngao thí nghiệm. Tốc độ tăng trưởng bình quân ngày (ADG, mm/ngày) theo kích thước của ngao giống đạt cao nhất ở nghiệm thức MĐ - 1 (0,14 mm/ngày), sai khác có ý so với ngao ương ở mật độ MĐ - 3 và MĐ - 4 ($p<0,05$) nhưng không thể hiện sai khác có ý nghĩa ($p>0,05$) so với ngao ương ở MĐ - 2 (0,12 mm/ngày). ADG của ngao thấp nhất ở nghiệm thức MĐ - 4 (0,069 mm/ngày), nhưng sai khác không có ý nghĩa so với ngao ương ở MĐ - 3 (0,079 mm/ngày), ($p>0,05$).

Bảng 2. Kích cỡ (mm) và tốc độ tăng trưởng (theo kích thước) của ngao dầu ương ở các mật độ khác nhau

Nghiệm thức thí nghiệm	Chỉ tiêu			
	H đầu (mm)	H cuối (mm)	ADG (mm/ngày)	SGR (%/ngày)
MĐ - 1	2,27^a ± 0,11	6,20^a ± 0,49	0,140^a ± 0,019	3,58^a ± 0,10
MĐ - 2	2,27^a ± 0,26	5,58^a ± 0,48	0,120^a ± 0,019	3,22^a ± 0,14
MĐ - 3	2,27^a ± 0,15	4,47^b ± 0,28	0,079^b ± 0,012	2,42^b ± 0,09
MĐ - 4	2,25^a ± 0,22	4,18^b ± 0,34	0,069^b ± 0,015	2,20^b ± 0,13

Ghi chú: MĐ - 1: 4.000 con/m^2; MĐ - 2: 6.000 con/m^2; MĐ - 3: 8.000 con/m^2; MĐ - 4: 10.000 con/m^2. H là chiều cao vỏ ngao. Số liệu được trình bày: Giá trị trung bình ± sai số chuẩn (n = 30). Số liệu cùng cột có chữ cái mũ khác nhau thể hiện sự sai khác có ý nghĩa (p<0,05).



Hình 1. Kích thước (mm) của ngao giống ở các mật độ khác nhau

Tương tự, tốc độ tăng trưởng đặc thù (SGR, %/ngày) theo kích thước của ngao ở nghiệm thức MĐ - 1 đạt 3,58%/ngày, cao hơn và có ý nghĩa ($p<0,05$) so với ngao ở nghiệm thức MĐ - 3 và MĐ - 4, nhưng sai khác không có ý nghĩa ($p>0,05$) so với ngao ở nghiệm thức MĐ - 2 (3,22%/ngày). ADG của ngao ở nghiệm thức MĐ - 4 thấp nhất (2,20%/ngày), nhưng sai khác không có ý nghĩa ($p>0,05$) so với ngao ở nghiệm thức MĐ - 3 (2,42%/ngày).

Kết quả thí nghiệm ở bảng 2 và hình 1 cho thấy, tại thời điểm kết thúc thí nghiệm, chiều cao vỏ ngao ở nghiệm thức MĐ - 1 (6,20 mm) cao hơn hẳn ngao ương ở nghiệm thức MĐ - 3 (4,47 mm) và MĐ - 4 (4,18 mm), ($p<0,05$), nhưng sai khác không có ý nghĩa so với ngao ương ở nghiệm MĐ - 2 (5,58 mm), ($p>0,05$). Kích cỡ ngao ở nghiệm thức MĐ - 3 và MĐ - 4 cũng sai khác không có ý nghĩa ($p>0,05$). Kích cỡ của ngao giống bắt đầu có sự phân hóa từ ngày thứ 7 của thí nghiệm, nhưng khác biệt rõ ràng xuất hiện ở ngày thứ 14 cho đến ngày thứ 28.

Kết quả nghiên cứu khá tương đồng với nghiên cứu trên ngao trắng của Chu Chí Thiết và cs (2015) [12], sau 20 ngày ương, kích cỡ và tốc độ tăng trưởng đặc thù của ngao trắng ương ở mật độ 400.000, 600.000 con/m^2 đạt lần lượt là 0,94 mm/con; 4,83%/ngày và 0,92 mm/con; 4,73%/ngày, sai khác không có ý nghĩa ($p>0,05$). Ngao trắng ương ở mật độ 800.000 con/m^2 đạt kích cỡ và SGR thấp nhất, lần lượt 0,84 mm/con và 4,26%/ngày ($p<0,05$). Đặc điểm sinh trưởng của ngao dầu 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 [13].

3.1.3. Ảnh hưởng của mật độ ương đến tỷ lệ sống của ngao dầu giống

Tỷ lệ sống của ngao dầu giống ương ở các nghiệm thức nền đáy trong 28 ngày được thể hiện ở bảng 3.

Bảng 3. Tỷ lệ sống (%) của ngao dầu ở các mật độ khác nhau

Thời gian ương (ngày)	Mật độ ương (con/m^2)			
	MĐ - 1	MĐ - 2	MĐ - 3	MĐ - 4
0	100	100	100	100
7	91,48^a ± 0,28	90,88^a ± 0,15	90,62^b ± 0,31	90,33^b ± 0,40
14	88,38^a ± 0,25	86,22^b ± 0,29	78,26^b ± 0,37	75,83^b ± 0,34
21	84,31^a ± 0,42	81,87^b ± 0,15	73,45^c ± 0,32	68,19^c ± 0,18
28	80,42^a ± 0,31	77,50^a ± 0,40	68,46^b ± 0,35	61,72^b ± 0,53

Ghi chú: MĐ - 1: 4.000 con/m^2; MĐ - 2: 6.000 con/m^2; MĐ - 3: 8.000 con/m^2; MĐ - 4: 10.000 con/m^2. Số liệu trình bày: Giá trị trung bình ± sai số chuẩn (n = 30). Số liệu cùng hàng có ký tự chữ cái mũ khác nhau thể hiện sự sai khác có ý nghĩa (p<0,05).

Kết quả ở bảng 3 cho thấy, tỷ lệ sống của ngao giống tỷ lệ nghịch với mật độ ương. Tại ngày thứ 7, tỷ lệ sống của ngao ở nghiệm thức MĐ - 1 đạt 91,48%, cao hơn có ý nghĩa so với ngao ương ở nghiệm thức MĐ - 3 (90,62%) và nghiệm thức MĐ - 4 (90,33%), ($p<0,05$), nhưng sai khác không có ý nghĩa ($p>0,05$) so với ngao ở nghiệm thức MĐ - 2 (90,62%). Từ ngày thứ 14, tỷ lệ sống của ngao khác biệt rõ giữa các nghiệm thức ($p<0,05$), lớn nhất ở nghiệm thức MĐ - 1 (88,38%), tiếp theo là MĐ - 2 (86,22%) và thấp nhất là ở nghiệm thức MĐ - 4, nhưng giữa MĐ - 2, MĐ - 3 và MĐ - 4 lại sai khác

không có ý nghĩa ($p>0,05$). Tại thời điểm kết thúc thí nghiệm, tỷ lệ sống của ngao ở nghiệm thức MĐ - 1 cao nhất (80,42%), sai khác có ý nghĩa ($p<0,05$) với ngao ương ở nghiệm thức MĐ - 3 (68,46%).

Kết quả thí nghiệm phù hợp với nghiên cứu của Liu và cs (2006) [14] khi ương ngao ở mật độ cao, sự cạnh tranh về thức ăn, ôxy hòa tan và hiện tượng stress là nguyên nhân chính làm giảm tỷ lệ sống của chúng và cũng phù hợp với nghiên cứu trên ngao trắng giống ương ở mật độ 800.000 con/m^2 có tỷ lệ sống (88,23%), thấp hơn ngao ương ở các mật độ 400.000, 600.000 con/m^2 ($p<0,05$). Tỷ lệ sống của ngao giữa các mật độ ương 400.000, 600.000 con/m^2, sai khác không có ý nghĩa [12].

Bảng 4. Sản lượng ngao giống tại thời điểm kết thúc thí nghiệm ở các nghiệm thức mật độ

Chỉ tiêu	Mật độ thí nghiệm (con/m^2)			
	4.000	6.000	8.000	10.000
Số lượng ngao giống lúa bắt đầu thí nghiệm (con)	16.000	24.000	32.000	40.000
Tỷ lệ sống (%)	80,42	77,50	68,46	61,72
Số lượng ngao tại thời điểm thu hoạch (con)	12.867	18.600	21.907	24.688

Kết quả tại bảng 4 cho thấy, với mật độ ương và tỷ lệ sống đạt được khác nhau ở các nghiệm thức thí nghiệm, thì sản lượng ngao giống thu hoạch tại thời điểm kết thúc thí nghiệm (ngày thứ 28) khác nhau. Mặc dù tỷ lệ sống cao, nhưng do mật độ thả giống thấp nên sản lượng ngao giống cấp 2 thu được thấp nhất (12.867 con). Trong khi đó, tỷ lệ sống của ngao thấp nhất ở nghiệm thức mật độ cao nhất (10.000 con/m^2), thu được sản lượng con giống cấp 2 cao nhất (24.688 con). Như vậy, kết quả thí nghiệm cho thấy, có thể ương ngao dầu giống từ giai đoạn cấp 1 lên cấp 2 với mật độ 10.000 con/m^2 nhằm tiết kiệm được chi phí, giảm giá thành sản xuất.

3.2. Ảnh hưởng của nền đáy trong ương ngao dầu giai đoạn giống cấp 1 lên cấp 2

3.2.1. Theo dõi biến động môi trường

Bảng 5. Một số yếu tố môi trường trong quá trình thí nghiệm

Chỉ tiêu		Nghiệm thức thí nghiệm			
		NĐ - 1	NĐ - 2	NĐ - 3	NĐ - 4
Nhiệt độ (°C)	*Sáng*	18,11 ± 1,75	18,12 ± 1,74	18,12 ± 1,76	18,11 ± 1,75
	Chiều	20,53 ± 1,36	20,51 ± 1,35	20,52 ± 1,36	20,52 ± 1,34
pH	*Sáng*	7,61 - 8,49	7,73 - 8,48	7,58 - 8,49	7,78 - 8,48
	Chiều	7,82 - 8,60	7,88 - 8,60	7,75 - 8,60	7,73 - 8,60
DO (mg/l)	*Sáng*	5,15 ± 0,56	5,11 ± 0,54	5,16 ± 0,58	5,21 ± 0,53
	Chiều	5,73 ± 0,99	6,01 ± 0,96	6,02 ± 0,98	5,93 ± 0,98
Độ mặn (‰)	*Sáng*	23,71 ± 1,69	23,72 ± 1,68	23,71 ± 1,66	23,72 ± 1,67
	Chiều	23,71 ± 1,69	23,71 ± 1,65	23,73 ± 1,68	23,71 ± 1,66

Ghi chú: NĐ - 1: 70% bùn - 30% cát; NĐ - 2: 50% cát - 50% bùn; NĐ - 3: 70% cát - 30% bùn; NĐ - 4: 100% cát. Số liệu biểu diễn ở dạng: Trung bình ± sai số chuẩn.

Kết quả tại bảng 5 cho thấy, nhiệt độ nước dao động từ 18 - 20,5°C, pH, DO và độ mặn không có biến động lớn. Nhìn chung, các yếu tố môi trường trong thí nghiệm đều nằm trong ngưỡng cho phép, đảm bảo ngao dầu giống sinh trưởng bình thường, phù hợp với nghiên cứu của Lin Junzhuo (1997) [15], Nguyễn Xuân Thành (2013) [3].

3.2.2. Ảnh hưởng của nền đáy đến tốc độ tăng trưởng của ngao dầu giống

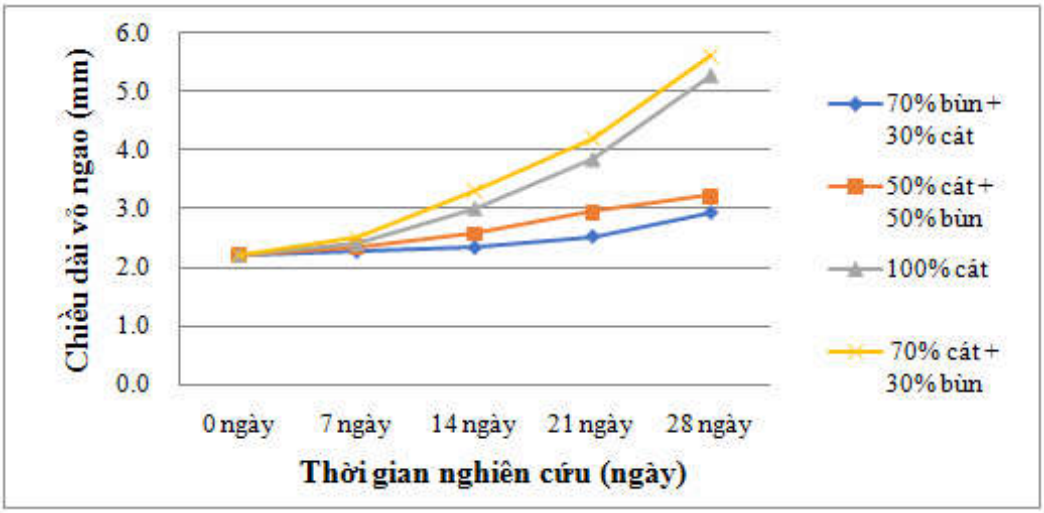
Kích cỡ (chiều cao vỏ) ban đầu và tại thời điểm kết thúc thí nghiệm, tốc độ tăng trưởng theo kích thước của ngao dầu giống ương ở các nghiệm thức nền đáy được thể hiện ở bảng 6.

Bảng 6. Kích cỡ và tốc độ tăng trưởng của ngao dầu ở các nền đáy khác nhau

Nghiệm thức thí nghiệm	Chỉ tiêu			
	H đầu (mm)	H cuối (mm)	ADG (mm/ngày)	SGR (%/ngày)
NĐ - 1	$2,21^{a} \pm 0,40$	$2,95^{b} \pm 0,51$	$0,013^{b} \pm 0,030$	$1,06^{b} \pm 0,93$
NĐ - 2	$2,21^{a} \pm 0,59$	$3,23^{b} \pm 0,61$	$0,036^{b} \pm 0,027$	$1,43^{b} \pm 1,15$
NĐ - 3	$2,21^{a} \pm 0,58$	$5,62^{a} \pm 0,82$	$0,121^{a} \pm 0,040$	$3,39^{a} \pm 1,06$
NĐ - 4	$2,21^{a} \pm 0,54$	$5,28^{a} \pm 0,81$	$0,110^{a} \pm 0,031$	$3,16^{a} \pm 0,92$

Ghi chú: NĐ - 1: 70% bùn - 30% cát; NĐ - 2: 50% cát - 50% bùn; NĐ - 3: 70% cát - 30% bùn; NĐ - 4: 100% cát. H là chiều cao vỏ của ngao. Số liệu trình bày: Trung bình ± sai số chuẩn (n=30). Số liệu cùng cột có chữ số mũ khác nhau thể hiện sự sai khác có ý nghĩa (p<0,05).

Kết quả tại bảng 6 cho thấy, tốc độ tăng trưởng bình quân theo ngày (ADG) và tăng trưởng đặc trưng (SGR) theo kích thước của ngao tỷ lệ thuận với việc tăng tỷ lệ cát ở nền đáy. ADG của ngao ở nghiệm thức NĐ - 1 đạt 0,013 mm/ngày, thấp hơn ngao ương ở NĐ - 2 (0,036 mm/ngày), nhưng sai khác không có ý nghĩa (*p>0,05*). ADG của ngao cao nhất ở nghiệm thức NĐ - 3 (0,121 mm/ngày), sai khác có ý nghĩa (*p<0,05*) so với ngao ở NĐ - 1 và NĐ - 2 và sai khác không có ý nghĩa (*p>0,05*) với ngao ở NĐ - 4 (0,110 mm/ngày). Tương tự, SGR của ngao thấp nhất ở nghiệm thức NĐ - 1 (1,06%/ngày), sai khác không có ý nghĩa (*p>0,05*) so với ngao ở NĐ - 2 (1,43%/ngày). Ngao ương ở nghiệm thức NĐ - 3 có SGR cao nhất (3,39%/ngày), sai khác có ý nghĩa so ngao ở NĐ - 1 và NĐ - 2 (*p<0,05*), nhưng lại sai khác không có ý nghĩa với ngao ở NĐ - 4 (3,16%/ngày).



Hình 2. Kích thước của ngao dầu giống ương ở các nền đáy khác nhau

Kích cỡ ngao giống bắt đầu xuất hiện sự khác biệt rõ ràng từ ngày thứ 14 thí nghiệm, ngao ương ở nghiệm thức NĐ - 3 có kích cỡ 3,32 mm, cao hơn ngao ở NĐ-1 và NĐ - 2, nhưng sai khác không có ý nghĩa so ngao ở NĐ - 4 (*p>0,05*). Tại thời điểm kết thúc thí nghiệm, kích cỡ ngao ở nghiệm thức NĐ - 1 (2,95 mm) và NĐ - 2 (3,23 mm), sai khác không có ý nghĩa (*p>0,05*), nhưng thấp hơn ngao ương ở NĐ - 3 và NĐ - 4 (*p<0,05*). Kích thước ngao giống ở NĐ - 3 là 5,62 mm cao hơn ngao ở NĐ - 4 (5,28 mm), nhưng sai khác không có ý nghĩa (*p<0,05*) (Bảng 6 và hình 2).

Mỗi loài động vật thân mềm hai mảnh vỏ loài khác nhau sẽ ảnh hưởng bởi cấu trúc nền đáy khác

nhau. Theo Zhuang và Wang (2004) [16] nền đáy ảnh hưởng đến tốc độ lọc, độ tiêu hoá thức ăn của ngao. Ngao dầu nuôi ở nền đáy cát có tốc độ lọc, tốc độ tiêu hoá thức ăn cao hơn 2 - 3 lần so với chúng nuôi ở nền đáy trơ (đáy bể). Ngô Thị Thu Thảo và Lâm Thị Quang Mẫn (2012b) [8] 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 là điều kiện thích hợp nhất cho sinh trưởng của sò huyết, với tốc độ tăng trưởng về khối lượng cao nhất là 1,51%/ngày sau 60 ngày ương.

Kết quả nghiên cứu cho thấy, ngao dầu giống ương ở nền đáy 70% cát + 30% bùn và 100% cát có kích cỡ và tốc độ tăng trưởng về kích thước cao hơn ương ở nền đáy 30% cát + 70% bùn và 50% cát + 50% bùn. Kết quả phù hợp với khuyến cáo là bãi triều nuôi ngao nên có tỷ lệ cát từ 90-95%, đối với những bãi triều có tỷ lệ bùn cao hơn 20% hoặc những khu vực bãi triều gần cửa sông, nơi có phù sa bồi đắp, ngao thường chết vì bị sặc bùn [17] .

3.2.3. Ảnh hưởng của nền đáy đến tỷ lệ sống của ngao dầu giống

Tỷ lệ sống của ngao dầu giống ương tại các nghiệm thức nền đáy được thể hiện ở bảng 7. Sau 7 ngày thí nghiệm, tỷ lệ sống của ngao giống đã có sự khác biệt giữa các nghiệm thức nền đáy, thấp nhất ở nghiệm thức NĐ-1 (86,52%), sai khác có ý nghĩa ($p<0,05$) so với ngao ương ở NĐ-3 (90,22%) và NĐ-4 (91,88%), nhưng sai khác không có ý nghĩa ($p>0,05$) so với ngao tại NĐ-2 (88,37%). Giữa các nghiệm thức NĐ-3 và NĐ-4, tỷ lệ sống của ngao sai khác không có ý nghĩa ($p>0,05$), lần lượt là 90,22% và 91,88%. Chiều hướng ảnh hưởng đến tỷ lệ sống của ngao theo cấu trúc nền đáy đến ngày thứ 21. Tại thời điểm kết thúc thí nghiệm (ngày 28), tỷ lệ sống của ngao giống thấp nhất ở nghiệm thức NĐ-1 (22,11%), sai khác có ý nghĩa ($p<0,05$) với các nghiệm thức còn lại; tiếp đến là ngao ở nghiệm thức NĐ-2 (38,22%), thấp hơn ở NĐ-3 (68,22%) và NĐ-4 (73,11%) ($p<0,05$). Tỷ lệ sống của ngao ở nghiệm thức NĐ-4 sai khác không có ý nghĩa so với ngao ương ở NĐ-3 ($p>0,05$).

Bảng 7. Tỷ lệ sống (%) của ngao dầu ở các nền đáy khác nhau

Ngày ương (ngày)	Nghiệm thức thí nghiệm			
	NĐ-1	NĐ-2	NĐ-3	NĐ-4
0	100	100	100	100
7	$86,52^{b} \pm 0,28$	$88,37^{b} \pm 0,11$	$90,22^{a} \pm 0,38$	$91,88^{a} \pm 0,42$
14	$68,35^{b} \pm 0,36$	$70,24^{b} \pm 0,25$	$82,11^{a} \pm 0,26$	$86,75^{a} \pm 0,26$
21	$42,63^{b} \pm 0,42$	$57,42^{b} \pm 0,36$	$74,34^{a} \pm 0,28$	$78,22^{a} \pm 0,38$
28	$22,11^{c} \pm 0,25$	$38,22^{b} \pm 0,42$	$68,22^{a} \pm 0,48$	$73,11^{a} \pm 0,43$

Ghi chú: NĐ-1: 70% bùn - 30% cát; NĐ-2: 50% cát - 50% bùn; NĐ-3: 70% cát - 30% bùn; NĐ-4: 100% cát. Số liệu trình bày: Trung bình ± sai số chuẩn (n=30). Số liệu cùng hàng có ký tự chữ cái khác nhau thể hiện sự sai khác có ý nghĩa (p<0,05).

Kết quả ở bảng 7 cho thấy, tương đồng với nhận định của Hà Quang Hiến (1964) [18] trên loài ngao trắng (*M. lyrata*) phân bố ở vùng bãi bồi ven biển có cấu trúc nền đáy với tỷ lệ cát từ 60 - 90%. Nghiên cứu của Nguyễn Hữu Phụng (1996) [19] cũng cho thấy, ngao trắng phân bố ở những bãi triều có tỷ lệ cát chiếm 85-90%, những bãi có tỷ lệ cát thấp (khoảng 40-50%) tỷ lệ sống của ngao rất thấp. Kết quả thí nghiệm cho thấy, cấu trúc nền đáy có tỷ lệ 70 - 100% cát phù hợp cho sinh trưởng và tỷ lệ sống của ngao dầu giống ương từ giống cấp 1 lên cấp 2.

4. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

Kết quả thí nghiệm về mật độ cho thấy, ngao ương ở nghiệm thức mật độ 10.000 con/m^2 có tốc độ tăng trưởng và tỷ lệ sống sai khác không có ý nghĩa so với nghiệm thức mật độ 8.000 con/m^2, trong khi đó, số lượng ngao giống ở nghiệm thức mật độ 10.000 con/m^2 cao hơn nhiều so với các nghiệm thức còn lại. Với thí nghiệm về nền đáy,

cấu trúc nền đáy có tỷ lệ 70 - 100% cát phù hợp để ương ngao dầu giống cấp 1 lên cấp 2, thể hiện qua tốc độ tăng trưởng và tỷ lệ sống cao hơn các nghiệm thức còn lại. Vì vậy, có thể sử dụng mật độ ương 10.000 con/m^2 và nền đáy có tỷ lệ cát từ 70% để bổ sung vào quy trình ương ngao dầu giống giai đoạn cấp 1 lên cấp 2.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Baker S., Hoover E. and Sturmer L. (2007). *The role of salinity in Hard clam*, Aquaculture, CIR1500, University of Florida.

2. Cao fujun, Liu zhigang, Luo zheng jie. (2009). Effects of sea water temperature and salinity on the growth and survival of juvenile *Meretrix meretrix* Linnaeus. *Journal of Applied Ecology*, 20(10): p 2545 - 2550 (Abstract in English, full paper in Chinese).

3. 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, trang 161 – 167.

4. Narasimham. K. A, Muthiah. P., Sundararajan. D., Vaithinathan. N (1988). Biology of the great clam *(Meretrix meretrix)* in the Korampallam Creek, Tuticorin. *Indian J. Fish* 35 (4) p 288 -293.

5. Ranade, M. R., (1964). *Studies on the biology, ecology and physiology of the marine clams*. Ph.D. thesis, University of Bombay. 286 pp.

6. Đỗ Công Thung, Lê Thị Thúy (2015). *Lớp động vật thân mềm hai mảnh vỏ (bivalvia) kinh tế biển Việt Nam.* Nxb Khoa học tự nhiên và Công nghệ, 255 trang.

7. Chu Chí Thiết, Trần Kim Anh (2012). Ảnh hưởng của mật độ ương và cấu trúc nền đáy đến sinh trưởng và tỷ lệ sống của ấu trùng nghêu (*Meretrix lyrata*) từ giai đoạn bơi tự do (D-Veliger) đến giai đoạn sau biến thái (*post-metamorphosis*). *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn*. Số 185 kỳ 2 tháng 1 năm 2012. Trang 71-74.

8. Ngô Thị Thu Thảo và Lâm Thị Quang Mẫn (2012b). Ảnh hưởng của nhiệt độ và độ mặn đến tốc độ lọc tảo, chỉ số độ béo và tỷ lệ sống của nghêu (*Meretrix lyrata*). *Tạp chí Khoa học, Trường Đại học Cần Thơ*: 23b: 265-271

9. Wang Hongxia, Chai Xueliang, Liu Baozhong (2011). Estimation of genetic parameters for growth traits in cultured clam *Meretrix meretrix (Bivalvia: Veneridae)* using the Bayesian method based on Gibbs sampling. *Aquaculture Research*, 42: 240 - 247.

10. Trương Quốc Phú (1999). *Nghiên cứu một số đặc điểm sinh học, sinh hóa và kỹ thuật nuôi nghêu (Meretrix lyrata) ở vùng ven biển Tiền Giang, Bến Tre*, Luận án tiến sĩ, khoa học nông nghiệp. Trường Đại học Thủy sản Nha Trang.

11. 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, 1758 *và Meretrix lyrata* Sowerby, 1851*) tại vùng ven biển tỉnh Nam Định*. Luận án tiến sĩ sinh học, Viện Nghiên cứu Hải sản.

12. Chu Chí Thiết, Nguyễn Văn Đức, Lê Thanh Ghi, Nguyễn Bá Lương, Phan Gia Thanh, Nguyễn Thị Lệ Thuỷ, Nguyễn Văn Cửu, Châu Hữu Trị (2015). *Nghiên cứu quy trình sản xuất giống nghêu (Meretrix lyrata) ở quy mô hàng hoá*. Báo cáo tổng kết đề tài khoa học công nghệ cấp Bộ.

13. Qayle, D. B. and Newkirk, G. F. (1989). *Farming Bivalve Mollusc Methods Study and Development Advances in World Aquaculture* Published by the World Aquaculture Society Association with International Development Research Center, 1989, Vol. I, 294 pp.

14. 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* Linnaeus. *Aquculture* 258: 344-349.

15. Lin Junzhuo (1997). *The* Effects of Temperature and Salinity on the Development of *Meretrix meretrix* Larvae. *Journal Fujian Fishseries* 1997 - 01. (Abstract in English).

16. Zhuang S. H. and Wang Z. Q. (2004), Influence of size, habitat and food concentration on the feeding ecology of the Bivalve *Meretrix meretrix* Linnaeus. *Aquaculture* 241: 689 - 699.

17. Trung tâm Bảo tồn Sinh vật Biển & Phát triển Cộng đồng (2009). *Sổ tay hướng dẫn kỹ thuật sản xuất giống và nuôi nghêu M. lyrata*. Nxb Hà Nội, tr. 16-19.

18. Hà Quang Hiển (1964). *Kỹ thuật nuôi Hải sản*. Nxb Nông nghiệp Hà Nội.

19. Nguyễn Hữu Phụng (1996). Đặc điểm sinh học và kỹ thuật ương nuôi ấu trùng ngao Bến Tre (*Meretrix lyrata* Sowerby). *Tạp chí Khoa học và Công nghệ,* số 7 và 8, tr. 13-21 và tr. 14 - 18.

EFFECTS OF STOCKING DENSITY AND SUBSTRATA STRUCTURE ON GROWTH RATE AND SURVIVAL RATE OF CLAM (*Meretrix meretrix* Linnaeus, 1758) SPAT REARED FROM STAGE 1 TO STAGE 2

Le Duc Thuan[1], Phan Thi Van[2], Chu Chi Thiet[2]

[1] PhD student on Aquaculture, Research Institute for Aquaculture No. 1

[2] Research Institute for Aquaculture No. 1

Summary

The study aimed to determine the effect of stocking density and substrata structure on the growth rate and survival rate of clam (*Meretrix meretrix*) spat reared from stage 1 to stage 2. The experiment was conducted with two experiments: i) the effect of stocking density with four treatments: 4000, 6000, 8000, and 10000 spats per m^2; and ii) the effect of the substrate with four treatments: 30% sand+70% mud; 50% sand + 50% mud, 70% sand + 30% mud and 100% sand. The experiment was carried out in 4 m^2 grid stages, placed in a 200 m^2 pond, from November to December, 2022 at Thanh Hoa Aquatic Breeding Research and Service Center, Hoang Thanh commune, Hoang Hoa district, Thanh Hoa province. The results show that the stocking density of 10000 spats per m^2 and the substrate structure with the ratio of 70% to 100% sand can be added to the protocol of rearing clam spat from stage 1 to stage 2.

Keywords: *Clam, stocking density, substrata, Meretrix meretrix.*

Người phản biện: TS. Phan Đình Phúc

Ngày nhận bài: 8/7/2023

Ngày thông qua phản biện: 23/8/2023

Ngày duyệt đăng: 22/9/2023

NGHIÊN CỨU MỨC ĐỘ CHE SÁNG VÀ LIỀU LƯỢNG BÓN PHÂN THÍCH HỢP TRỒNG RONG NHO (*Caulerpa lentillifera*)

Mai Thái Ngọc[1,*], Nguyễn Đình Quang Duy[1], Tạ Thị Quyên[1]

TÓM TẮT

Nghiên cứu này được thực hiện nhằm mục tiêu xác định độ che sáng và liều lượng bón phân thích hợp cho trồng rong nho (*Caulerpa lentillifera*) trong ao. Thí nghiệm về độ che sáng gồm có 4 nghiệm thức với các mức che phủ ánh sáng lần lượt là (i) không che, (ii) che 70%, (iii) che 80% và (iv) che 90% ánh sáng tự nhiên. Thí nghiệm về liều lượng bón phân gồm có 4 nghiệm thức có liều lượng bón phân lần lượt là (i) không bón phân, (ii) 2 g/m^3, (iii) 2,5 g/m^3 và (iv) 3 g/m^3, tần suất bón phân 3 ngày/lần. Các thí nghiệm được bố trí trong các ô lưới (đối với thí nghiệm che sáng) hoặc ô bạt (đối với thí nghiệm bón phân) có diện tích 100 m^2 được quây trong ao, mật độ thả giống 1.000 g/m^2. Mỗi nghiệm thức được lặp lại 3 lần. Kết quả nghiên cứu cho thấy, rong nho được trồng với mức che phủ ánh sáng 70% và 80% cho kết quả về tốc độ tăng trưởng (G), tỉ lệ khối lượng thân đứng trên tổng khối lượng rong (C) và khối lượng thân đứng thương phẩm đều cao hơn so với khi trồng ở mức che sáng 90% hoặc không che ($p<0,05$). Tốc độ tăng trưởng của rong nho thí nghiệm được bón phân với lượng 2,5 - 3,0 g/m^3 cao hơn so với bón phân 2,0 g/m^3 và không bón phân ($p < 0,05$).

Từ khóa: *Rong nho, bón phân, mức độ che sáng.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Rong nho (*Caulerpa lentillifera*) là loài có giá trị kinh tế cao, phân bố tự nhiên ở các vùng biển nhiệt đới và cận nhiệt đới như Biển Đông, Đông Nam Á, Nhật Bản, Đài Loan và châu Đại Dương [1]. Rong nho còn được xem là một loài rong biển có giá trị thực phẩm cao nên rất được ưa chuộng hiện nay [2], là một trong những loài rong biển phổ biến được canh tác qui mô thương mại ở nhiều nước như Thái Lan, Philippine, Đài Loan, Nhật Bản, Trung Quốc [3], [4]. Việt Nam có tổng diện tích nuôi trồng rong nho ước tính khoảng 600 ha, năng suất bình quân mỗi ha đạt 20 tấn/năm, vùng nuôi tập trung ở tỉnh Khánh Hòa và Ninh Thuận [5]. Tuy nhiên, sản lượng và chất lượng rong nho hiện chưa ổn định. Nhiều nghiên cứu cho thấy sinh trưởng và chất lượng của rong nho chịu ảnh hưởng bởi các yếu tố môi trường (nhiệt độ, độ mặn) và điều kiện nuôi trồng (mật độ ban đầu, phương thức nuôi trồng...) [6], [7], [8]. Nghiên cứu của Fakhrulddin và cs (2021) chỉ ra rằng, rong nho tăng trưởng khi nuôi trồng ở độ mặn trên 25‰, tuy nhiên tốc độ tăng trưởng của rong sẽ giảm dần theo thời gian khi nuôi trồng trong điều kiện không bón phân. Ở cường độ ánh sáng khác nhau, rong nho có xu hướng phát triển tốt hơn dưới ánh sáng tự nhiên và thời gian chiếu sáng dài (10 giờ/ngày) so với ánh sáng nhân tạo hay thời gian chiếu sáng ngắn (5 giờ/ngày). Ngoài ra, việc bón phân đã có tác dụng tích cực đến tốc độ sinh trưởng và sinh khối của rong nho [6]. Tuy nhiên, nghiên cứu về phân bón trong nuôi trồng rong nho chưa được quan tâm đúng mức. Rong nho nuôi trồng ngoài nhu cầu về dinh dưỡng đạm như bột cá thì khoáng cũng là yếu tố cần thiết cho sự phát triển cũng như chất lượng của rong nho thành phẩm. Ngoài ra, với hình thức nuôi thâm canh rong nho sử dụng lưới che để giảm cường độ ánh sáng thì chưa có các nghiên cứu xác định độ che phủ thích hợp cho rong nho phát triển tốt nhất. Vì vậy, nghiên cứu này được thực hiện nhằm xác định độ che ánh sáng và liều lượng bón phân thích hợp nuôi trồng rong nho góp hoàn thiện quy trình công nghệ nuôi trồng thương phẩm rong nho phù hợp quy mô thương mại.

[1] Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản III
[*] Email: ngocmt54ntts@gmail.com

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguồn rong thí nghiệm

Rong giống sử dụng cho thí nghiệm là rong nho được thu từ ao trồng rong thương phẩm tại thôn Xuân Đông, huyện Vạn Ninh, tỉnh Khánh Hòa. Rong giống được tuyển chọn từ các cá thể rong khỏe mạnh, mập, màu sắc tươi sáng và không bị dập, nhánh túi to, tròn và có màu xanh đậm. Chiều cao của thân đứng từ 8 - 10 cm, chiều dài thân bò từ 2 - 3 cm. Rong giống không lẫn rong tạp hoặc tạp chất.

2.2. Phân bón thí nghiệm

Phân bón sử dụng cho thí nghiệm là phân hữu cơ khoáng HVP301.B do Công ty Cổ phần Dịch vụ Kỹ thuật Nông nghiệp thành phố Hồ Chí Minh. Thành phần phân hữu cơ gồm chất hữu cơ (20%); N - P_2O_5 - K_2O (3% - 2% - 2%); CaO (0,2%); MgO (0,1%); Fe (1.000 ppm); Cu (800 ppm); Zn (700 ppm); Mn (450 ppm); B (250 ppm).

2.3. Bố trí thí nghiệm

+ Thí nghiệm xác định độ che sáng thích hợp trồng rong nho được thiết kế với 4 nghiệm thức với mức che sáng khác nhau là 70%, 80% và 90% và không che sáng (đối chứng). Các nghiệm thức được bố trí trong ao trồng rong thương phẩm diện tích 2.000 m^2. Kích thước mỗi ô thí nghiệm là 10,0 m dài x 10,0 m rộng x 1,0 m cao (1 đơn vị thí nghiệm). Các ô được ngăn cách bằng cách quây lưới cước xanh kích thước mắt lưới 0,7 cm, được che lưới lan bên trên bằng các loại lưới với tỷ lệ che sáng tương ứng với thiết kế thí nghiệm. Các nghiệm thức thí nghiệm che sáng không được bổ sung phân bón. Ao trồng rong có nền đáy là cát bùn, nguồn nước biển được cấp qua ao lắng với chế độ thay nước là 30%/ngày.

+ Thí nghiệm xác định liều lượng bón phân thích hợp trồng rong nho được thiết kế với 4 nghiệm thức gồm 3 NT có bón phân với liều lượng khác nhau (2 g/m^3, 2,5 g/m^3 và 3 g/m^3, tần suất bón phân 3 ngày/lần) và 1 NT không bón phân (đối chứng). Các ô thí nghiệm được bố trí với kích thước 10,0 x 10,0 x 1,5 m (dài x rộng x cao). Từng ô được quây bạt ngăn cách và kiểm soát nguồn nước, phía trên được che lưới lan với độ che phủ 70% (kết quả tối ưu thu được qua thí nghiệm trước đó). Ao trồng rong nơi bố trí thí nghiệm có diện tích 2.000 m^2, nền đáy là cát bùn, với nguồn nước biển được cấp từ ao lắng và thường xuyên bổ sung để duy trì mức nước 1,5 m.

Tất cả các nghiệm thức thí nghiệm đều được bố trí ngẫu nhiên, mỗi NT được lặp lại 3 lần. Mật độ rong thí nghiệm là 1.000 g/m^2. Thời gian thí nghiệm là 30 ngày.

2.4. Phương pháp xác định và tính toán một số chỉ tiêu

+ Các thông số môi trường

- Các yếu tố môi trường như nhiệt độ, pH và độ mặn được đo 2 lần/ngày (8 h và 14 h) bằng máy đo điện tử Hanna HI 9829, hàm lượng TAN, NO_3^- và PO_4^{3-} được đo 7 ngày/lần bằng bộ test Sera của Đức sản xuất.

+ Thu hoạch và đánh giá chất lượng rong

- Toàn bộ sinh khối rong được thu khi kết thúc thí nghiệm (30 ngày). Theo đó, phần thân đứng (kích thước >5 cm) được thu trước, trước khi thu toàn bộ phần còn lại để lấy số liệu tổng khối lượng rong.

- Các thông số đánh giá và công thức xác định:

Tốc độ tăng trưởng (G) của rong nho và tỷ lệ khối lượng thân đứng so với toàn bộ tản rong (C) được tính theo công thức của Shokita và cs (1991) [9]:

$$G\ (\%/\text{ngày}) = (100 \times \log (W_1/W_0))/N$$

$$C\ (\%) = W_d/W_1 \times 100$$

Trong đó: W_0 là khối lượng rong ban đầu (g); W_1 là khối lượng rong khi kết thúc thí nghiệm (g); W_d là khối lượng thân đứng khi kết thúc thí nghiệm (g); N là thời gian thí nghiệm (ngày).

+ Các chỉ tiêu và phương pháp phân tích thành phần kim loại nặng và sinh hóa của rong nho

Khi kết thúc thí nghiệm, thu mẫu phần thân đứng (đạt kích thước >5 cm) của rong nho ở các nghiệm thức để phân tích đánh giá mức độ tích lũy kim loại nặng và một số thành phần dinh dưỡng quan trọng của rong theo các phương pháp tiêu chuẩn như hàm lượng Hg (TCVN 7993: 2009), Cd (TCVN 8126: 2009), As (TCVN 8427: 2010), Pb (TCVN 10643: 2014), Iodine (TCVN 9517: 2012) và hàm lượng protein (CASE.NS.0009) [10, 11, 12, 13, 14, 15].

2.5. Phân tích và xử lý số liệu

Các chỉ tiêu đánh giá được phân tích thống kê bằng phương pháp phân tích phương sai một yếu tố (one-way ANOVA), sử dụng phần mềm SPSS 22.0. So sánh sự khác biệt giữa các giá trị trung bình bằng kiểm định Tukey LSD ở mức ý nghĩa $p < 0,05$.

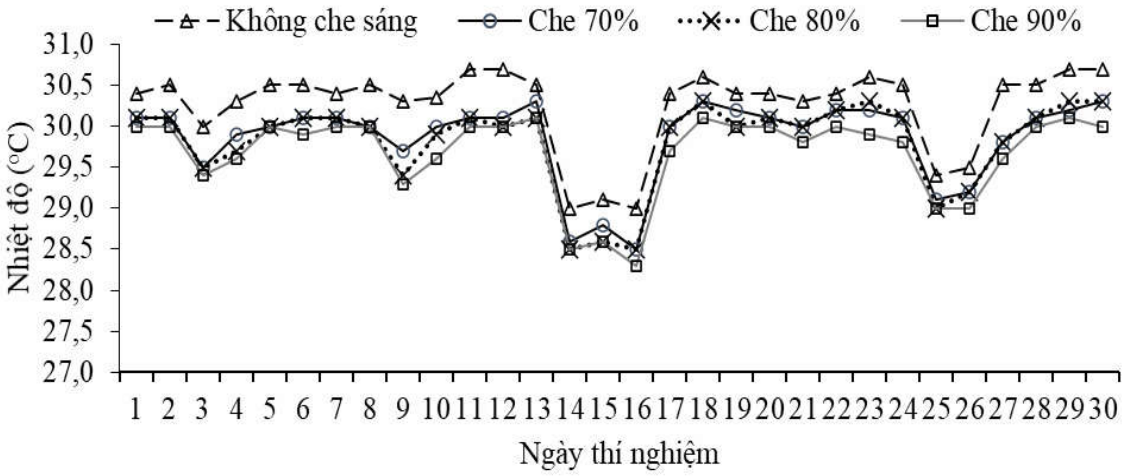
3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Xác định độ che sáng thích hợp trồng rong nho

3.1.1. Kết quả theo dõi yếu tố môi trường trong các ô thí nghiệm

Trong suốt thời gian thí nghiệm, nhiệt độ nước đo được hàng ngày vào buổi sáng (8 giờ) dao động trong khoảng 26,5 - 27,3°C, không khác biệt nhiều giữa các nghiệm thức. Điều này cho thấy việc che sáng từ 70 - 90% không ảnh hưởng đến nhiệt độ nước vào buổi sáng. Tuy nhiên, nhiệt độ nước vào buổi chiều (14 h) dao động mạnh hơn trong phạm vi 28,5 - 30,7°C và nhiệt độ nước ở nghiệm thức không che sáng luôn cao hơn từ 0,4 - 0,9°C so với các nghiệm thức có che (Hình 1).

Trong quá trình thí nghiệm, độ mặn dao động trong khoảng 30 - 35‰ và độ pH dao động trong khoảng 7,8 - 8,6, không khác nhau nhiều giữa các nghiệm thức được bố trí trong cùng một ao, mặc dù ở các ô lưới khác nhau.



Hình 1. Biến động nhiệt độ nước buổi chiều (lúc 14 h) ở các nghiệm thức với mức che sáng khác nhau

Nguyễn Hữu Đại và cs (2006) cho rằng nhiệt độ tối ưu cho sự phát triển của của rong nho là khoảng 28 - 30°C. Khi nhiệt độ tăng đến 34°C, cường độ quang hợp giảm dẫn đến rong nho chậm phát triển. Rong nho cũng sinh trưởng chậm hoặc ngừng sinh trưởng khi nhiệt độ giảm xuống 20°C và khi nhiệt độ thấp hơn 20°C rong nho bị tàn [8]. Theo FAO (2003), các loài rong biển phát triển tốt trong môi trường nước biển tự nhiên với pH = 7,5 - 8,5 [7].

Theo Shokita và cs (1991), độ mặn thích hợp cho rong nho phát triển là 33‰ [9]. Nguyễn Xuân Hòa và cs (2004) cũng ghi nhận độ mặn thích hợp nhất cho rong nho phát triển là 33‰, tốc độ tăng trưởng cao nhất là 2,45%/ngày. Khi độ mặn tăng lên trên 40‰ rong nho cũng phát triển tốt, không chênh lệch nhiều so với ở 33‰ nhưng khi giảm xuống 26‰, rong còi và kém phát triển. Vì độ mặn ảnh hưởng tới áp suất thẩm thấu của tế bào nên khi giảm độ mặn sẽ gây tổn hại đến tế bào, ảnh hưởng tới sự quang hợp và hô hấp làm rong phát triển kém. Rong nho thích nghi tốt ở độ mặn cao tương đương với độ mặn nước biển tự nhiên [16]. Như vậy, nhiệt độ, pH và độ mặn trong thí nghiệm này đều nằm trong khoảng thích hợp cho sự phát triển của rong nho.

Trong suốt thời gian thí nghiệm, hàm lượng TAN, NO_3^- và PO_4^{3-} trung bình ở các nghiệm thức thí nghiệm tương tự nhau, dao động lần lượt trong khoảng 0,11 - 0,12; 0,10 - 0,11 và 0,13 - 0,14 mg/L (Bảng 1). Thí nghiệm được bố trí trong cùng một ao, nước biển cấp cho ao thí nghiệm thông qua ao lắng và trong quá trình thí nghiệm không bón phân cho rong nên hàm lượng dinh dưỡng trong nước đều khá thấp.

Bảng 1. Hàm lượng TAN, NO_3^-, PO_4^{3-} trung bình ở các ô thí nghiệm

Nghiệm thức	TAN (mg/L)	NO_3^- (mg/L)	PO_4^{3-} (mg/L)
Không che sáng	0,11 ± 0,02	0,11 ± 0,02	0,13 ± 0,07
Che 70%	0,12 ± 0,02	0,11 ± 0,03	0,14 ± 0,07
Che 80%	0,11 ± 0,02	0,11 ± 0,02	0,14 ± 0,08
Che 90%	0,11 ± 0,02	0,10 ± 0,02	0,14 ± 0,07

3.1.2. Tốc độ sinh trưởng của rong nho

Tốc độ sinh trưởng của rong ở các nghiệm thức đạt trung bình 1,88 - 2,51%/ngày. Rong ở nghiệm thức che phủ 70% và 80% có tốc độ sinh trưởng cao hơn và khác biệt có ý nghĩa so với nghiệm thức che 90% và nghiệm thức không che sáng ($p < 0,05$).

Sau 30 ngày thí nghiệm, rong của nghiệm thức che sáng 70% và 80% đạt sinh khối lần lượt là 5.669,7 ± 127,5 g/m^2 và 5.453,0 ± 73,9 g/m^2, cao hơn so với nghiệm thức che 90% (5.110,7 ± 119,9 g/m^2) và không che (3.657,7 ± 86,6 g/m^2) ($p < 0,05$) (Bảng 2).

Bảng 2. Tăng trưởng của rong nho

Nghiệm thức	Khối lượng ban đầu (g/m^2)	Khối lượng cuối (g/m^2)	Tốc độ tăng trưởng (G, %/ngày)
Không che sáng	1.000	3.657,7 ± 86,6^c	1,88 ± 0,04^c
Che 70%	1.000	5.669,7 ± 127,5^a	2,51 ± 0,03^a
Che 80%	1.000	5.453,0 ± 73,9^a	2,45 ± 0,02^a
Che 90%	1.000	5.110,7 ± 119,9^b	2,36 ± 0,03^b

Ghi chú: Các ký tự khác nhau trong cùng một cột thể hiện sự sai khác ý nghĩa về mặt thống kê ($p < 0,05$).

3.1.3. Các chỉ tiêu về thân đứng

Năng suất thân đứng thương phẩm (chiều cao >5 cm) ở nghiệm thức không che sáng chỉ đạt 382,5 ± 28,2 g/m^2, thấp hơn nhiều so với 3 nghiệm thức có che sáng ($p < 0,05$). Năng suất thân đứng thương phẩm đạt cao nhất ở nghiệm thức che 70% (1.963,1 ± 118,2 g/m^2), tiếp theo là nghiệm thức che 80% (1.786,2 ± 141,9 g/m^2) và che 90% (1.644,1 ± 127,7 g/m^2) (Bảng 3).

Bảng 3. Năng suất thân đứng thương phẩm và tỉ lệ khối lượng thân đứng/tổng khối lượng rong

Nghiệm thức	Năng suất thân đứng (g/m^2)	Tỉ lệ khối lượng thân đứng/tổng khối lượng rong (C) (%)	Năng suất thân đứng thương phẩm (g/m^2)
Không che sáng	1.986,4 ± 185,7^c	54,25 ± 3,96^b	382,5 ± 28,2^c
Che 70%	3.653,7 ± 109,7^a	64,44 ± 0,57^a	1.963,1 ± 118,2^a
Che 80%	3.168,5 ± 71,3^b	58,10 ± 0,64^{ab}	1.786,2 ± 141,9^{ab}
Che 90%	2.856,2 ± 224,3^b	55,84 ± 3,17^b	1.644,1 ± 127,7^b

Ghi chú: Các ký tự khác nhau trong cùng một cột thể hiện sự sai khác ý nghĩa về mặt thống kê ($p < 0,05$).

Tỉ lệ khối lượng thân đứng/tổng khối lượng rong (C) khi kết thúc thí nghiệm dao động từ 54,25 - 64,44%, trong đó nghiệm thức có độ che phủ 70% có tỉ lệ cao nhất và khác biệt có ý nghĩa so với nghiệm thức có mức che 90% và nghiệm thức không che sáng ($p < 0,05$), nhưng không sai khác so với nghiệm thức có che 80% ($p > 0,05$).

Nguyễn Hữu Đại và cs (2009) cho rằng phần thân đứng của rong nho khi thu hoạch là phần có giá trị sử dụng cao nhất của cây rong nho [17]. Vì vậy, đây là một chỉ số quan trọng về năng suất rong nho. Tỉ lệ khối lượng thân đứng càng cao thì năng suất thu hoạch cao.

Kết quả này tương tự nghiên cứu ảnh hưởng của cường độ ánh sáng đến sinh trưởng của rong nho của Nguyễn Hữu Đại và cs (2006) [8]. Rong sinh trưởng và phát triển tốt trong khoảng cường độ ánh sáng từ 50 - 250 μmol.s^{-1}.m^{-2}. Trong đó, tốc độ sinh trưởng và năng suất của rong nho tăng khi trồng ở cường độ ánh sáng từ 50 μmol.s^{-1}.m^{-2} (bể trồng rong ngoài trời có mái che bằng lưới đen) đến 80 μmol.s^{-1}.m^{-2} (bể đặt trong hành lang, ánh sáng khuyếch tán) và giảm ở cường độ ánh sáng từ 250 μmol.s^{-1}.m^{-2} trở lên (bể đặt trong mái hiên, có ánh sáng trực tiếp vào buổi sáng). Ở cường độ ánh

sáng quá mạnh (500 μmol.s^{-1}.m^{-2}, bể ngoài trời, ánh sáng trực tiếp) năng suất rong thấp [8].

3.1.4. Thành phần kim loại nặng và sinh hóa của rong nho

Kết quả phân tích các mẫu rong ở 4 nghiệm thức thí nghiệm đều không phát hiện As, Hg, Cd và Pb (LOD=0,5) (Bảng 4).

Kết quả này tương tự nghiên cứu của Nguyễn Thị Ngọc Anh và cs (2017), rong nho thí nghiệm không tích lũy kim loại nặng [2]. Rong nho có khả năng tích lũy kim loại nặng và các chất ô nhiễm khác từ môi trường nước. Nghiên cứu trên mẫu rong nho thu từ các vùng khác nhau cho thấy, rong nho thu từ các ao gần khu công nghiệp có thể nhiễm các kim loại nặng ở mức đáng kể [18].

Bảng 4. Thành phần kim loại nặng và thành phần hóa học của rong nho (tính theo % khối lượng khô)

Nghiệm thức	Kim loại nặng				Hóa học	
	Asen (As)	Thủy ngân (Hg)	Cadmium (Cd)	Chì (Pb)	Protein (%)	Iodine (mg/kg)
Không che sáng	LOD=0,5*	LOD=0,5	LOD=0,5	LOD=0,5	14,68 ± 0,10	17,2 ± 1,8
Che 70%	LOD=0,5	LOD=0,5	LOD=0,5	LOD=0,5	15,11 ± 0,09	16,8 ± 1,7
Che 80%	LOD=0,5	LOD=0,5	LOD=0,5	LOD=0,5	14,68 ± 0,12	17,5 ± 2,5
Che 90%	LOD=0,5	LOD=0,5	LOD=0,5	LOD=0,5	14,47 ± 0,11	16,9 ± 2,2

*Ghi chú: *LOD = 0,5 là giới hạn không phát hiện được trong tất cả các mẫu rong phân tích*

Giá trị các chỉ tiêu trong thành phần hóa học (protein và iodine) của thân đứng rong nho thương phẩm tương tự giữa các nghiệm thức, hàm lượng protein trung bình dao động trong khoảng 14,47 - 15,11% (tính theo khối lượng khô – DW), Iodine dao động trong khoảng 16,8 - 17,5 mg/kg (DW). Đều này cho thấy độ che sáng không ảnh hưởng đến thành phần sinh hóa cơ bản của rong nho.

Trong các thông số đánh giá chất lượng rong nho thì hàm lượng protein, iodine và mức độ tích lũy kim loại nặng trong rong thương phẩm là các thông số quan trọng cần ưu tiên phân tích.

Mặc dù hàm lượng protein trong rong nho không cao (0,43 - 19,38% theo khối lượng khô, tùy theo vùng thu mẫu), tuy nhiên trong rong nho có chứa khoảng 20 axit amin, trong đó có 10 loại axit amin cần thiết cho con người. Ngoài ra, rong nho rất giàu Iodine (4,78 - 24,06 μg/g theo khối lượng khô, tùy theo vùng thu mẫu) [19], nguyên tố vi lượng quan trọng đối với con người. Do đó hàm lượng protein, Iodine là những chỉ tiêu quan trọng để đánh giá chất lượng rong nho.

Giới hạn hàm lượng các kim loại nặng gồm As, Pb, Hg và Cd trong rong biển đã được quy định trong TCVN 10371: 2014 [20]. Rong nho khả năng tích lũy kim loại nặng từ môi trường, rong bị nhiễm kim loại nặng có thể gây ảnh hưởng xấu đến sự phát triển trí tuệ, sức khỏe của người sử dụng. Do đó cần thiết phân tích hàm lượng các kim loại nặng này để đánh giá chất lượng của rong nho sau thí nghiệm.

3.2. Xác định liều lượng bón phân thích hợp trồng rong nho

3.2.1. Kết quả theo dõi yếu tố môi trường trong các ô thí nghiệm

Bảng 5. Hàm lượng TAN, NO_3^-, PO_4^{3-} trung bình trong các ô thí nghiệm

Nghiệm thức	TAN (mg/L)	NO_3^- (mg/L)	PO_4^{3-} (mg/L)
Không bón phân	0,11 ± 0,02	0,14 ± 0,07	0,14 ± 0,06
Bón phân 2,0 g/m^3	0,25 ± 0,03	1,66 ± 0,69	0,21 ± 0,08
Bón phân 2,5 g/m^3	0,32 ± 0,05	2,19 ± 0,61	0,27 ± 0,05
Bón phân 3,0 g/m^3	0,38 ± 0,07	3,01 ± 0,92	0,36 ± 0,07

Ở các nghiệm thức thí nghiệm, nhiệt độ, pH và độ mặn trung bình dao động lần lượt trong khoảng 26,4 - 30,1°C, 8,1 - 8,5 và 30 - 34‰, không có sự sai khác đáng kể giữa các nghiệm thức do các ô thí nghiệm được che sáng như nhau (70%), đồng thời định kỳ được cấp bổ sung nước biển sạch để duy trì mực mước 1,5 m.

Trong quá trình thí nghiệm, hàm lượng TAN, NO_3^- và PO_4^{3-} trung bình ở nghiệm thức bón phân với liều lượng 3,0 g/m^3 đạt cao nhất, lần lượt là 0,38; 3,01 và 0,36 mg/L. Ở nghiệm thức không bón phân, hàm lượng TAN, NO_3^- và PO_4^{3-}chỉ đạt lần lượt là 0,11; 0,14; 0,14 mg/L (Bảng 5).

3.2.2. Tốc độ sinh trưởng của rong nho

Bảng 6. Tăng trưởng của rong thí nghiệm

Nghiệm thức	Khối lượng đầu (g/m^2)	Khối lượng cuối (g/m^2)	Tốc độ tăng trưởng (%/ngày)
Không bón phân	1.000	3.846,3 ± 306,8^c	1,95 ± 0,12^c
Bón phân 2,0 g/m^3	1.000	6.640,4 ± 137,9^b	2,74 ± 0,3^b
Bón phân 2,5 g/m^3	1.000	8.228,7 ± 711,9^a	3,05 ± 0,13^a
Bón phân 3,0 g/m^3	1.000	8.326,6 ± 597,7^a	3,07 ± 0,11^a

Ghi chú: Các ký tự khác nhau trong cùng một cột thể hiện sự sai khác ý nghĩa về mặt thống kê (p < 0,05).

Sau 30 ngày nuôi trồng, khối lượng rong thu được trung bình ở các nghiệm thức có bón phân dao động từ 6.640,4 – 8.326,6 g/m^2, cao hơn nhiều so với không bón phân (3.846,3 g/m^2) (p<0,05). Bón phân với lượng từ 2,5 - 3,0 g/m^3, khối lượng rong thu được cao hơn so với nghiệm thức bón phân 2,0 g/m^3 (p < 0,05).

Ở các nghiệm thức có bón phân, tốc độ tăng trưởng của rong dao động từ 2,74 ± 0,3 đến 3,07 ± 0,11%/ngày, cao hơn nhiều so với nghiệm thức không bón phân (1,95 ± 0,12%/ngày) (p < 0,05). Ngoài ra, khi bón phân với lượng từ 2,5 - 3,0 g/m^3 (3 ngày/lần) rong tăng trưởng nhanh hơn so với bón phân 2,0 g/m^3 (tần suất bón phân tương tự) (p < 0,05) (Bảng 6).

3.2.3. Các chỉ tiêu về thân đứng

Năng suất thân đứng đạt cao nhất ở nghiệm thức bón phân 3,0 g/m^3 (6.444,3 ± 402,7 g/m^2), tiếp theo là nghiệm thức bón phân 2,5 g/m^3 (6.304,2 ± 894,3 g/m^2). Tuy nhiên không có sự sai khác thống kê về năng suất thân đứng giữa 2 nghiệm thức này, nhưng có sự sai khác ý nghĩa thống kê (p < 0,05) so với nghiệm thức bón phân 2,0 g/m^3 (4.539,1 ± 266,8 g/m^2) và nghiệm thức không bón phân (2.257,5 ± 294,5 g/m^2).

Kết thúc thí nghiệm, tỉ lệ khối lượng thân đứng/tổng khối lượng rong (C) dao động từ 58,54 - 77,43%. Nghiệm thức bón phân 3,0 g/m^3 có tỉ lệ khối lượng (C) cao nhất và khác biệt so với nghiệm thức bón phân 2,0 g/m^3 và nghiệm thức không bón phân (p < 0,05).

Năng suất thân đứng thương phẩm ở nghiệm thức không bón phân chỉ đạt trung bình 1.121,4 ± 137,1 g/m^2, thấp hơn nhiều so với năng suất thân đứng thương phẩm ở các nghiệm thức có bón phân (3.258,2 - 4.198,6 g/m^2) (p < 0,05) (Bảng 7).

Bảng 7. Năng suất thân đứng và tỉ lệ khối lượng thân đứng/tổng khối lượng rong

Nghiệm thức	Năng suất thân đứng (g/m^2)	Tỉ lệ khối lượng thân đứng/ tổng khối lượng rong (C) (%)	Năng suất thân đứng thương phẩm (g/m^2)
Không bón phân	2.257,5 ± 294,5^c	58,54 ± 3,13^c	1.121,4 ± 137,1^c
Bón phân 2,0 g/m^3	4.539,1 ± 266,8^b	68,32 ± 2,61^b	3.258,2 ± 86,9^b
Bón phân 2,5 g/m^3	6.304,2 ± 894,3^a	76,38 ± 4,7^{ab}	4.198,6 ± 435,5^a
Bón phân 3,0 g/m^3	6.444,3 ± 402,7^a	77,43 ± 0,86^a	3.934,5 ± 473,3^{ab}

Ghi chú: Các ký tự khác nhau trong cùng một cột thể hiện sự sai khác ý nghĩa về mặt thống kê (p < 0,05).

Nghiên cứu của Huang (2012) đánh giá ảnh hưởng hàm lượng nitơ và phốt pho khác nhau đến sinh trưởng của rong nho cho thấy, rong nho sinh trưởng tốt và đạt sinh khối cao nhất với hàm lượng nitơ 15 mg/kg và phốt pho là 4 mg/kg rong [21]. Nguyễn Thị Ngọc Anh và cs (2016) cho rằng, bột cá có thể được sử dụng là nguồn dinh dưỡng thích hợp cho trồng rong nho trong bể. Tốc độ tăng trưởng của rong nho tăng theo lượng bột cá bổ sung vào bể thí nghiệm từ 15 - 35 g/m^3 (2,98 -

4,36%/ngày) và có khuynh hướng giảm ở liều bón cao hơn. Tỉ lệ khối lượng thân đứng/tổng khối lượng dao động từ 40,81 - 57,28%, trong đó thấp nhất là nghiệm thức không bổ sung bột cá [22].

Mặc dù tốc độ tăng trưởng của rong thí nghiệm ở các nghiệm thức có bón phân của nghiên cứu này chỉ đạt từ 2,74 - 3,07%/ngày, thấp hơn so với kết quả nghiên cứu của Nguyễn Thị Ngọc Anh và cs (2016) (2,98 - 4,36%/ngày) – sử dụng bột cá bón cho rong. Tuy nhiên, tỉ lệ khối lượng thân đứng/tổng khối lượng rong ở nghiên cứu này dao động từ 68,32 - 77,43%, cao hơn nhiều so với nghiên cứu của Nguyễn Thị Ngọc Anh và cs (2016) (40,81 - 57,28%) [22]. Theo Nguyễn Hữu Đại và cs (2009), tỉ lệ khối lượng thân đứng càng cao thì sản phẩm rong nho càng có chất lượng cao [16].

3.2.4. Thành phần kim loại nặng và sinh hóa của rong nho

Bảng 8. Thành phần kim loại nặng và thành phần hóa học của rong nho (tính theo % khối lượng khô)

Nghiệm thức	Kim loại nặng				Hóa học	
	Asen (As)	Thủy ngân (Hg)	Cadmium (Cd)	Chì (Pb)	Protein (%)	Iodine (mg/kg)
Không bón phân	LOD=0,5	LOD=0,5	LOD=0,5	LOD=0,5	14,47 ± 0,11	17,1 ± 1,6
Bón phân 2,0 g/m^3	LOD=0,5*	LOD=0,5	LOD=0,5	LOD=0,5	15,32 ± 0,08	16,5 ± 1,3
Bón phân 2,5 g/m^3	LOD=0,5	LOD=0,5	LOD=0,5	LOD=0,5	14,47 ± 0,1	17,3 ± 2,1
Bón phân 3,0 g/m^3	LOD=0,5	LOD=0,5	LOD=0,5	LOD=0,5	14,68 ± 0,11	16,9 ± 2,2

*Ghi chú: *LOD = 0,5 là giới hạn không phát hiện được trong tất cả các mẫu rong phân tích*

Kết quả phân tích không phát hiện các kim loại nặng As, Hg, Cd và Pb (LOD = 0,5) ở tất cả các mẫu rong thí nghiệm (Bảng 8). Giá trị các chỉ tiêu trong thành phần hóa học của thân đứng rong thương phẩm tương tự giữa các nghiệm thức và tương tự thí nghiệm che sáng. Đều này cho thấy liều lượng bón phân thí nghiệm không ảnh hưởng đến thành phần sinh hóa cơ bản của rong nho.

4. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ XUẤT

4.1. Kết luận

Rong nho trồng trong ao với mật độ ban đầu 1.000 g/m^2 và che sáng 70 - 80% cho tốc độ tăng trưởng, tỉ lệ khối lượng thân đứng/tổng khối lượng rong và năng suất thân đứng thương phẩm đều cao hơn so với khi trồng ở mức che sáng 90% hoặc không che ($p < 0,05$).

Rong nho trồng trong ao với độ che sáng 70% và bón phân hữu cơ khoáng HVP301.B liều lượng từ 2,5 3,0 g/m^3, tần suất 3 ngày/lần có tốc độ tăng trưởng, tỉ lệ thân đứng/tổng khối lượng và năng suất thân đứng thương phẩm cao hơn khi bón phân với liều lượng 2,0 g/m^3 hoặc không bón phân.

4.2. Đề xuất

Áp dụng kết quả của nghiên cứu này để triển khai trồng rong nho với quy mô lớn hơn để phân tích, đánh giá tốc độ sinh trưởng, năng suất thu hoạch, tiến tới hoàn thiện quy trình công nghệ nuôi trồng rong nho thương phẩm ở Việt Nam.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được tài trợ kinh phí từ Đề tài cấp Bộ "Nghiên cứu hoàn thiện quy trình công nghệ nuôi trồng thương phẩm và chế biến một số loài rong biển kinh tế ở Việt Nam". Nhóm tác giả xin gửi lời cảm ơn đến Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn, Viện Nghiên cứu Hải sản, Trung tâm Quốc gia Giống hải sản miền Trung – Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản III và Công ty Rong nho Phúc Vinh đã tạo điều kiện để hoàn thành nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Paul NA, Neveux N, Magnusson M, De Nys R. (2014). Comparative production and nutritional value of "sea grapes"-the tropical green seaweeds *Caulerpa lentillifera* and *C. racemosa*. *Journal of Applied Phycology.* 26:1833 - 1844.

2. Nguyễn Thị Ngọc Anh, Dương Thị Thanh Mai và Trần Ngọc Hải (2017). Thử nghiệm nuôi trồng rong nho (*Caulerpa lentillifera* J. Agardh, 1837) trong bể với các mật độ và phương thức nuôi trồng khác nhau. *Tạp chí Khoa học, Trường Đại học Cần Thơ*: 52b: 113 - 121.

3. Pimolrat, P., Kanchana, T., Suksai, N., & Savangarrom, Y. (2019). Effects of commercial salt on growth of Seagrape (*Caulerpa lentillifera* J. Agardh). Paper presented at the 11th Walailak Research National Conference 2019, Walailak University, Nakorn Sri Thammarat, 1-6.

4. Udomluk Sompong, Jirayu Mingkaew, Doungporn Amornlerdpison, Kriangsak Mengumphan (2020). Sea grape (*Caulerpa lentillifera*) cultivation in artificial seawater closed system. *Maejo International Journal of Energy and Enviromental Communication* 2 - 1,17 - 22.

5. Lê Thị Tưởng, Vũ Ngọc Bội (2021). Nghiên cứu nuôi trồng lại rong nho (*Caulerpa lentillifera* J. Agardh, 1837) sau thu hoạch. *Tạp chí Khoa học – Công nghệ Thủy sản, Đại học Nha Trang*: Số 4: 041 - 050.

6. Fakhrulddin I. M., Z. Muta Harah, R. D. Shiamala and A. M. Azrie (2021). Effect of salinity, light and fertilizer on *Caulerpa lentillifera* under culture conditions Effect of Salinity, Light and Fertilizer on Caulerpa lentillifera Under Culture Conditions. AIP Conference Proceedings 2347, 020074 (2021); https://doi.org/10.1063/5.0051569.

7. FAO (2003). A guide to the seaweed industry. Fisheries Technical paper 441, 95 pp.

8. Nguyễn Hữu Đại, Nguyễn Xuân Hòa, Nguyễn Xuân Vy, Phạm Hữu Trí, Nguyễn Thị Lĩnh (2006). *Nghiên cứu ảnh hưởng của một số yếu tố môi trường đối với sự phát triển của rong nho biển (Caulerpa lentillifera).* Tuyển tập nghiên cứu biển XV, 146 - 155.

9. Shokita, S., Kakazu, K., Tomori, A., and T. Toma. (1991). Mariculture of seaweeds. Aquaculture in tropical Area. Midori shobo Co., Ltd. Japan. pp: 31 - 90.

10. Tiêu chuẩn Quốc gia TCVN 7993: 2009. Thực phẩm – Xác định các nguyên tố vết – Xác định thủy ngân.

11. Tiêu chuẩn Quốc gia TCVN 8126: 2009. Thực phẩm - Xác định hàm lượng chì, cadimi, kẽm, đồng và sắt - Phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử sau khi đã phân hủy bằng vi sóng.

12. Tiêu chuẩn Quốc gia TCVN 8427: 2010 về thực phẩm - Xác định các nguyên tố vết - Xác định asen tổng số bằng phương pháp đo phổ.

13. Tiêu chuẩn Quốc gia TCVN 10643: 2014. Thực phẩm - Xác định hàm lượng chì, cadimi, đồng, sắt và kẽm – Phổ hấp thụ nguyên tử.

14. Tiêu chuẩn Quốc gia TCVN 9517: 2012. Thực phẩm - Xác định các nguyên tố vết – Xác định iot.

15. FAO (1986). Manuals of food quality control: 7. Food analysis: general techniques, additives, contaminants, and composition. p. 221-223.

16. Nguyễn Xuân Hòa, Nguyễn Hữu Đại, Nguyễn Thị Lĩnh và Phạm Hữu Trí (2004). Nghiên cứu các đặc trưng sinh lý, sinh thái của loài rong Nho biển (*Caulerpa lentillifera* J. Ag.) nhập nội có nguồn gốc từ Nhật Bản làm cơ sở cho kỹ thuật nuôi trồng. Báo cáo đề tài cơ sở năm 2004. Phòng Thực vật biển. Viện Hải dương học, 28 trang.

17. Nguyễn Hữu Đại, Nguyễn Xuân Vy, Nguyễn Xuân Hòa, Phạm Hữu Trí (2009). Di nhập và trồng rong nho biển (*Caulerpa lentillifera*) ở Khánh Hòa. Báo cáo khoa học về sinh thái và tài nguyên sinh vật. Hội nghị Khoa học toàn quốc lần thứ ba. Hà Nội, 22/10/2009, 942 - 949.

18. Gloria G. Delan, Julieto A. Legados, Ador R. Pepito, Venerando D. Cunado, Rachel Luz Rica, Hector C. Abdon and Anthony S. Ilano (2015). The Influence of Habitat on the Quality Characteristics of the Green Macro Alga *Caulerpa lentillifera* Agardh (Caulerpaceae, Chlorophyta). *Tropical Technology Journal,* volume 19, issue 1, Article 10.

19. Zhang, M., Ma, Y., Che, X., Huang, Z., Chen, P., Xia, G., Zhao, M. (2020). Comparative analysis of nutrient composition of *Caulerpa lentillifera* from different regions. *J. Ocean Univ. China*, *19*, 439 - 445.

20. Tiêu chuẩn Quốc gia TCVN 10371: 2014 về rong sụn (*Kappaphycus alvarezii*) khô - Yêu cầu kỹ thuật.

21. Huang, J. H. (2012). Effects of concentrations of nitrogen and phosphorus and different culture methods on the growth of

Caulerpa lentillifera. *Journal of Fujian Fisheries,* 34 (5), 416 – 419. (English abstract).

22. Nguyễn Thị Ngọc Anh, Đoàn Hồng Vân, Nguyễn Anh Thư, Đoàn Quốc Khoa, Trần Ngọc Hải (2016). Đánh giá khả năng sử dụng bột cá làm nguồn dinh dưỡng trồng rong nho (*Caulerpa lentillifera*) trong bể. *Tạp chí Khoa học, Trường Đại học Cần Thơ*, 19: 102 - 111.

RESEARCH ON LIGHT SHADING RATE AND APPROPRIATE FERTILIZER DOSAGE FOR FARMING GRAPE SEAWEED (*Caulerpa lentillifera*)

Mai Thai Ngoc[1], Nguyen Dinh Quang Duy[1], Ta Thi Quyen[1]

[1] Research Institute for Aquaculture No.3

Summary

The study aimed to determine the appropriate light shading rate and fertilizer dosage for growing grape seaweed (*Caulerpa lentillifera*) in ponds. The light shading experiment included 4 treatments with different light shading rates: (i) no light shading; (ii) 70% light shading; (iii) 80% light shading and (iv) 90% light shading. The experiment on fertilizer dosage consisted of 4 treatments with fertilizer doses respectively: (i) 0 g/m^3; (ii) 2.0 g/m^3; (iii) 2.5 g/m^3 and (iv) 3.0 g/m^3, the frequency of fertilizing is every 3 days. The experiment was arranged in net plots (shading experiment) or tarpaulin lots (fertilization experiment) with an area of 100 m^2 enclosed in a pond, with a stocking density of 1.000 g/m^2. Each treatment was repeated 3 times. Research results showed that grape seaweed in 70% and 80% light shading had higher growth rates, higher ratio of stem weight to total weight of seaweed and higher commercial stem weight than that cultured in 90% light shading or no shading ($p < 0,05$). The growth rate of cultivated grape seaweeds fertilized with 2.5 – 3.0 g/m^3 (3.05%/day and 3.07%/day) was higher than that of fertilized 2.0 g/m^3 or no fertilizer ($p < 0.05$).

Keywords: *Seaweed, fertilize, shading rate.*

Người phản biện: TS. Nguyễn Văn Nguyên

Ngày nhận bài: 21/7/2023

Ngày thông qua phản biện: 15/9/2023

Ngày duyệt đăng: 28/9/2023

ẢNH HƯỞNG CỦA CÁC YẾU TỐ MÔI TRƯỜNG NƯỚC ĐẾN SỰ XUẤT HIỆN CỦA TÁC NHÂN GÂY BỆNH HOẠI TỬ GAN TUỴ CẤP Ở TÔM NUÔI NƯỚC LỢ

Võ Văn Nha[1,*], Võ Thị Ngọc Trâm[1], Nguyễn Thị Chi[1], Hà Thị Thanh Huyền[1], Nguyễn Thị Tú Anh[2]

TÓM TẮT

Sử dụng phương pháp phân tích hồi quy đa biến giữa 12 yếu tố môi trường nước (yếu tố vô sinh: Nhiệt độ, pH, DO, độ mặn, độ kiềm, NH_3, $N\text{-}NO_2^-$, $N\text{-}NH_4^+$, H_2S, TSS, COD và yếu tố hữu sinh: *Vibrio* spp.) với tác nhân gây bệnh hoại tử gan tuỵ cấp (*V. parahaemolyticus* mang gen *pir*A/*pir*B) nhằm xác định các yếu tố chính và giá trị của chúng tác động đến nguy cơ xuất hiện bệnh hoại tử gan tuỵ cấp (Acute Hepatopancreatic Necrosis Disease-AHPND) ở tôm nước lợ. Với 652 dữ liệu đầu vào là những yếu tố vô sinh và hữu sinh thu thập từ kết quả quan trắc, giám sát môi trường vùng nuôi tôm thẻ chân trắng ở các tỉnh Bắc bộ và Trung bộ giai đoạn 2012 - 2019 từ Viện Nghiên cứu Nuôi trồng thủy sản I, III được đưa vào phân tích. Kết quả đã chỉ ra rằng có 7 yếu tố môi trường nước ao nuôi có quan hệ chặt chẽ (có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$), tác động đến sự xuất hiện *V. parahaemolyticus* gây AHPND trên tôm nuôi nước lợ, bao gồm: Nhiệt độ, độ mặn, pH, NH_3, $N\text{-}NO_2^-$, TSS và *Vibrio* spp.. Theo đó, khi các yếu tố này tăng thì nguy cơ xuất hiện *V. parahaemolyticus* gây AHPND trên tôm nuôi nước lợ tăng cao. Bên cạnh đó, phương trình hồi quy nhị phân đa biến giữa các yếu tố môi trường với tác nhân *V. parahaemolyticus* gây AHPND được thể hiện ở dạng: $P= e^z/(1+ e^z)$, trong đó z= -21,402+ 0,202*[giá trị nhiệt độ] +1,045*[giá trị pH] + 0,081*[giá trị độ mặn] + 2,927*[giá trị NH_3] + 1,802*[giá trị NO_2^-] + 0,011*[giá trị TSS] + 0,001*[giá trị *Vibrio* spp.]. Ngoài ra, ứng dụng kết quả mô hình hồi quy nhị phân đa biến để dự báo sự xuất hiện bệnh hoại tử gan tuỵ cấp ở tôm nước lợ trong ao nuôi cũng đã được đề cập.

Từ khóa: *AHPND, hoại tử gan tụy cấp, tôm nước lợ, yếu tố vô sinh, yếu tố hữu sinh.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Tôm nuôi nước lợ là một trong những mặt hàng thủy sản chủ lực của Việt Nam, trở thành sản phẩm xuất khẩu có giá trị cao và mang lại hiệu quả kinh tế đáng kể. Trong năm 2022, diện tích tôm nước lợ thả nuôi đạt 747 nghìn ha, tổng sản lượng tôm nuôi thu hoạch đạt 1.080,6 nghìn tấn, trong đó sản lượng tôm sú đạt 271,4 nghìn tấn, tôm thẻ chân trắng đạt 743,5 nghìn tấn. Cùng với sự gia tăng diện tích và sản lượng, dịch bệnh trên tôm nuôi cũng tăng cao, với 7.027 ha bị thiệt hại trong năm 2022 (chiếm 30,7% trong tổng diện tích tôm nuôi nước lợ bị thiệt hại) [1].

Kết quả khảo sát của Trần Văn Hiếu và cs (2021) [2] cho thấy, từ năm 2014 - 2018 ở bốn tỉnh Bến Tre, Long An, Bạc Liêu và Kiên Giang có diện tích thiệt hại của bệnh hoại tử gan tụy cấp (AHPND) dao động trong khoảng 2,0 - 57,2% tổng diện tích nuôi tôm. Hiện nay, theo công bố các bệnh nguy hiểm gây thiệt hại trên tôm nuôi nước lợ tại Việt Nam gồm: Bệnh hoại tử gan tụy cấp, đốm trắng, hoại tử cơ quan tạo máu và cơ quan biểu mô, chậm lớn do còi và vi bào tử trùng. Trong đó, AHPND xảy ra tại 148 xã của 46 huyện/thị xã thuộc 18 tỉnh, thành phố với tổng diện tích tôm bị bệnh là trên 1.919 ha [3]. Tôm nuôi khi nhiễm AHPND có thể gây ra tỷ lệ tử vong hàng loạt, đột ngột lên đến 100%, đặc biệt ở giai đoạn 30 - 35 ngày sau khi thả giống [4]. AHPND cũng cho thấy, mức độ nhạy cảm cao hơn ở tôm sú (*Penaeus monodon*) và tôm thẻ chân trắng (*Litopenaeus vannamei*) [5], [6].

Nguy cơ dịch AHPND tiếp tục lưu hành, lây lan và gây thiệt hại cho người nuôi tôm trong thời gian tới là rất cao nếu không áp dụng các biện pháp chủ động để kiểm soát dịch bệnh, đặc biệt là con giống và khâu chuẩn bị ao nuôi. Bệnh có liên quan đến việc quản lý môi trường ao nuôi tôm, trong đó tác nhân gây bệnh đã được xác định là một chủng *Vibrio parahaemolyticus* mang plasmid

[1] Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản III
[2] Trường Cao đẳng Cộng đồng Đắk Nông
[*] Email: vovannha@ria3.vn

pVA1 chứa gen sản sinh ra 2 loại protein PirAvp và PirBv, là độc tố phá hủy tuyến gan tụy của tôm bị bệnh [5], [7].

Môi trường ao nuôi tôm nước lợ là một hệ sinh thái phức tạp, bao gồm nhiều yếu tố vô sinh và hữu sinh đóng vai trò quan trọng trong sự phát triển, tăng trưởng và đề kháng tác nhân gây bệnh của tôm nuôi. Tuy nhiên, các yếu tố này cũng có thể gây ra tác động tiêu cực khi chúng không được kiểm soát một cách đúng đắn, đòi hỏi người nuôi chú trọng đến quản lý môi trường nước ao và chăm sóc kỹ lưỡng nhằm đảm bảo tôm phát triển khỏe mạnh và đạt được chất lượng cao. Do vậy, việc xác định các yếu tố môi trường và giá trị của chúng tác động làm xuất hiện tác nhân *V. parahaemolyticus* gây AHPND ở tôm nuôi nước lợ là cần thiết, từ đó làm cơ sở đưa ra các giải pháp kỹ thuật nhằm hạn chế được sự xuất hiện và bùng phát AHPND trên tôm nuôi nước lợ ở nước ta.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

- Các yếu tố vô sinh (nhiệt độ, pH, DO, độ mặn, độ kiềm, NH_3, $N\text{-}NO_2^-$, $N\text{-}NH_4^+$, H_2S, TSS và COD) và yếu tố hữu sinh (*Vibrio* spp.) môi trường nước nuôi tôm nước lợ được thu thập từ 901 mẫu nước trong dữ liệu quan trắc của Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thuỷ sản I và III từ năm 2012 - 2019.

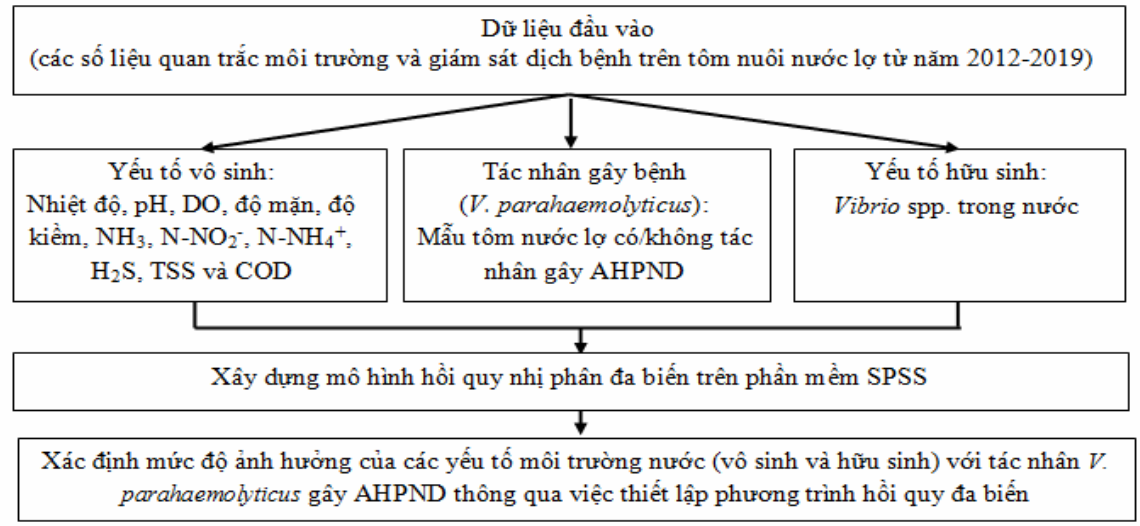
- *V. parahaemolyticus* gây AHPND trên tôm nước lợ được thu từ 652 mẫu tôm thẻ chân trắng ở vùng thu mẫu nước trong dữ liệu quan trắc của Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thuỷ sản I và III từ năm 2016 - 2019.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp thu thập số liệu, xây dựng phương trình hồi quy đa biến giữa các yếu tố môi trường và tác nhân gây AHPND (V. parahaemolyticus) trên tôm nuôi nước lợ

Số liệu sử dụng trong phân tích được thu thập từ Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản I và III là kết quả của nhiệm vụ quan trắc môi trường, giám sát dịch bệnh trên tôm nuôi nước lợ giai đoạn 2012 - 2019 tại các tỉnh có quan trắc và giám sát AHPND trên tôm nuôi nước lợ gồm các tỉnh: Nam Định, Hà Tĩnh, Quảng Nam, Quảng Ngãi, Bình Định, Phú Yên, Khánh Hòa, Ninh Thuận và Bình Thuận.

Xây dựng phương trình hồi quy nhị phân đa biến (Binary logistic) giữa các yếu tố môi trường (vô sinh, hữu sinh) và tác nhân *V. parahaemolyticus* gây AHPND trên tôm nuôi nước lợ được thể hiện ở hình 1, trong đó:



Hình 1. Sơ đồ nghiên cứu các yếu tố môi trường nước và tác nhân gây AHPND

- Các yếu tố đầu vào mô hình hồi quy đa biến:

+ Các biến độc lập (12 biến): Là các yếu tố đo lường ảnh hưởng đến tác nhân *V. parahaemolyticus* gây AHPND trên tôm nước lợ, gồm các yếu tố vô sinh và yếu tố hữu sinh.

+ Biến phụ thuộc (01 biến, tác nhân *V. parahaemolyticus* gây AHPND): Là mô tả đo lường tình trạng (có/không) tác nhân gây AHPND ở tôm nước lợ, được giả định là sẽ thay đổi theo các biến độc lập (yếu tố vô sinh, hữu sinh). Đây là số liệu phân tích tác nhân gây AHPND có (dương tính) hay không (âm tính) trên tôm nuôi nước lợ thu ở vùng quan trắc tại các tỉnh: Nam Định, Hà Tĩnh, Quảng Nam, Quảng Ngãi, Bình Định, Phú Yên,

Khánh Hòa, Ninh Thuận và Bình Thuận từ năm 2016 - 2019.

Mẫu nước phân tích các yếu tố vô sinh, hữu sinh (biến độc lập) và mẫu tôm nuôi nước lợ phân tích tác nhân gây AHPND là tương ứng về thời gian, địa điểm thu mẫu.

- Đầu ra của mô hình hồi quy đa biến: Mô hình các yếu tố môi trường nước (vô sinh, hữu sinh) và giá trị chúng ảnh hưởng đến tác nhân *V. parahaemolyticus* gây AHPND trên tôm nước lợ.

2.2.2. Phương pháp xử lý số liệu

Các số liệu thu thập được thống kê mô tả và phân tích hồi quy nhị phân đa biến (Binary logisstic) giữa các yếu tố vô sinh, hữu sinh với tác nhân *V. parahaemolytius* gây AHPND trên phần mềm thống kê chuyên dụng SPSS 20.0. Cụ thể, sử dụng phương pháp hồi quy nhị phân đa biến để dự đoán cường độ tác động của các yếu tố vô sinh và hữu sinh đến nguy cơ xuất hiện tác nhân *V. parahaemolytius* gây AHPND trên tôm nuôi nước lợ thông qua phương trình hồi quy có dạng: $P = e^z/(1 + e^{-z})$. Trong đó: $z = \beta_0 + \beta_1X_1 + \beta_2X_2 + \beta_3X_3 + \ldots \beta_kX_{ki}$, X_{ki} là các biến độc lập (thông số môi trường) thứ k tại quan sát thứ i; β_0 là hằng số; β_k là các hệ số hồi quy.

Ngoài ra, mô hình hồi quy nhị phân đa biến cũng đánh giá được mức độ chính xác của dự báo có sự xuất hiện bệnh hay không xuất hiện bệnh thông qua bảng Classsification khi chạy mô hình hồi quy nhị phân đa biến trên phần mềm SPSS.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả thống kê mô tả mẫu nghiên cứu

Kết quả thống kê mô tả các yếu tố vô sinh và hữu sinh môi trường nước trên SPSS sử dụng trong mô hình hồi quy thể hiện ở bảng 1.

Bảng 1. Thống kê mô tả mẫu nghiên cứu

Thông số	N (Mẫu)	Mean (Trung bình)	Std.Deviation (Độ lệch chuẩn)	Skewness (Độ lệch)	Kurtosiss (Độ nhọn)	Minimum (Nhỏ nhất)	Maximum (Lớn nhất)
Nhiệt độ (°C)	652	29,80	1,60	-0,494	1,593	23,00	34,90
pH	652	7,80	0,30	0,252	0,358	7,00	8,90
DO (mg/l)	652	5,76	0,70	0,012	1,405	3,00	8,79
Độ mặn (mg/l)	652	16,00	8,00	0,098	-0,683	2,00	35,00
Độ kiềm (mg/l)	652	111,00	25,00	0,185	0,013	52,00	190,00
NH_3 (mg/l)	652	0,081	0,104	1,274	0,416	0,00	0,399
$N\text{-}NO_2^-$ (mg/l)	652	0,065	0,174	2,489	2,307	0,00	1,636
$N\text{-}NH_4^+$ (mg/l)	652	0,182	0,233	1,983	2,992	0,00	0,986
H_2S (mg/l)	652	0.017	0,020	2,022	2,428	0,00	0,110
TSS (mg/l)	652	40,00	34,30	1,527	2,165	2,00	188,57
COD (mg/l)	652	7,99	4,796	1,829	2,681	0,80	37,60
Vibrio spp. (cfu/ml)	652	2.700	5.500	2,877	2,272	<10	54.000

Kết quả ở bảng 1 cho thấy, dữ liệu đầu vào, bao gồm các yếu tố vô sinh và yếu tố hữu sinh dùng để phân tích hồi quy nhị phân đa biến, với giá trị trung bình (Mean) và độ lệch chuẩn (Std. Deviation) là phù hợp đối với môi trường nước trong vùng nuôi tôm nước lợ. Ngoài ra, đại lượng Skewness từ - 0,494 đến 2,877 và Kurtosiss từ - 0,683 đến 2,992 (Bảng 1), đều nằm trong khoảng ± 3. Điều này chứng tỏ rằng, các biến số đều có phân phối xấp xỉ phân phối chuẩn, đảm bảo các điều kiện cần và đủ để tiến hành phân tích tương quan và hồi quy giữa các biến độc lập (các yếu tố vô sinh và hữu sinh môi trường nước) với biến phụ thuộc (tác nhân *V. parahaemolyticus* gây AHPND trên tôm nuôi nước lợ).

3.2. Kết quả phân tích hồi quy nhị phân đa biến (Binary Logistic) giữa các yếu tố vô sinh, hữu sinh với tác nhân nhân *V. parahaemolyticus* gây AHPND trên tôm nuôi nước lợ

Kết quả kiểm định về độ phù hợp tổng quát của mô hình hồi quy nhị phân đa biến (thông qua hệ số omnibus và giá trị của -2 Log likelihood) trên phần mềm SPSS cho thấy, cả 2 giá trị thu được đều cho mức độ phù hợp của mô hình. Kết quả phân tích hồi quy nhị phân đa biến trên phần mềm SPSS được thể hiện ở bảng 2.

Bảng 2. Kết quả phân tích mô hình hồi quy nhị phân đa biến

Biến độc lập	Biến phụ thuộc: AHPND				
	B	S.E	Wald	Sig.	Exp (B)
Nhiệt độ (°C)	0,202	0,098	4,296	0,038	1,224
pH	1,045	0,487	4,600	0,032	2,842
DO (mg/l)	0,324	0,229	2,004	0,157	1,383
Độ mặn (mg/l)	0,081	0,025	10,798	0,001	1,084
Độ kiềm (mg/l)	0,009	0,007	1,764	0,184	1,009
NH_3 (mg/l)	2,927	1,474	3,943	0,047	18,681
$N\text{-}NO_2^-$ (mg/l)	1,802	0,705	6,527	0,011	6,059
$N\text{-}NH_4^+$ (mg/l)	-1,401	0,738	3,609	0,057	0,246
H_2S (mg/l)	-16,194	8,999	3,239	0,072	0,000
TSS (mg/l)	0,011	0,005	4,088	0,043	1,011
COD (mg/l)	-0,104	0,054	3,680	0,055	0,901
Vibrio spp. (cfu/ml)	0,001	0,000	75,756	0,000	1,001
Constant (Hằng số)	-21,402	4,866	19,344	0,000	0,000

Đối với tác nhân *V. parahaemolyticus* gây AHPND trên tôm nuôi nước lợ, kết quả ở bảng 2 cho thấy, kiểm định Wald về ý nghĩa của các hệ số hồi quy tổng thể của 7 biến độc lập (nhiệt độ, pH, độ mặn, NH_3, $N\text{-}NO_2^-$, TSS và *Vibrio* spp.) đều có mức ý nghĩa (Sig.) nhỏ hơn 0,05. Điều này chứng tỏ, các hệ số hồi quy tìm được ở các biến độc lập này là có ý nghĩa và mô hình hồi quy sử dụng tốt.

Phương trình hồi quy nhị phân đa biến giữa các yếu tố môi trường (vô sinh, hữu sinh) với tác nhân *V. parahaemolyticus* gây AHPND được thể hiện như sau:

$P= e^z/(1+ e^z)$, trong đó z= -21,402+ 0,202*[giá trị nhiệt độ] +1,045*[giá trị pH] + 0,081*[giá trị độ mặn] + 2,927*[giá trị NH_3^+] + 1,802*[giá trị NO_2^-] + 0,011*[giá trị TSS] + 0,001*[giá trị *Vibrio* spp.].

Như vậy, trong 12 yếu tố môi trường nước ao nuôi phân tích (gồm các yếu tố vô sinh và hữu sinh) thì có 7 yếu tố có quan hệ chặt chẽ, tác động đến sự xuất hiện *V. parahaemolyticus* gây AHPND trên tôm nuôi nước lợ, bao gồm: Nhiệt độ, độ mặn, pH, NH_3, $N\text{-}NO_2^-$, TSS và *Vibrio* spp. (Bảng 2). Cụ thể, trong khoảng số liệu khảo sát thể hiện ở bảng 1, khi nhiệt độ tăng 0,1°C, pH tăng 0,1, độ mặn tăng 1‰, TSS tăng 1,0 mg/l và *Vibrio* spp. tăng 10 cfu/ml, thì nguy cơ xuất hiện tác nhân *V. parahaemolyticus* gây AHPND sẽ tăng lần lượt là: 1,224 lần (Exp (B)= 1,224); 2,842 lần (Exp (B) = 2,842); 1,084 lần (Exp (B) = 1,084); 1,011 lần (Exp (B)= 1,011) và 1,001 lần (Exp (B)= 1,001) (Bảng 2). Đặc biệt, hai yếu tố NH_3 và $N\text{-}NO_2^-$ tăng 0,001 mg/l, thì nguy cơ xuất hiện *V. parahaemolyticus* gây AHPND trên tôm nước lợ cũng tăng cao, tương ứng 18,681 lần (Exp (B) = 18,681) và 6,059 lần (Exp (B)= 6,059) (Bảng 2).

Theo nghiên cứu của Bondad - Reantato (2016) [8], điều kiện môi trường ao nuôi tôm là yếu tố quan trọng ảnh hưởng đến tác nhân gây bệnh và tôm nuôi, quyết định đến sự bùng phát dịch bệnh trong ao nuôi tôm. Các yếu tố môi trường được cho là thúc đẩy bùng phát AHPND trong ao nuôi tôm bao gồm: Nhiệt độ nước cao, độ mặn cao, pH cao, hàm lượng các chất dinh dưỡng trong nước cao; oxy hoà tan thấp và sự tích tụ nhiều của lớp bùn đáy ao. Tôm nuôi dễ bị bệnh hơn khi có sự xuất hiện của tác nhân gây bệnh kết hợp với stress bởi các điều kiện môi trường nước ao nuôi dưới mức tối ưu.

Theo Trương Thị Mỹ Hạnh và cs (2020) [9], tôm thẻ chân trắng, nhiệt độ thích hợp nhất cho tôm phát triển là từ 27 - 30°C, nhiệt độ lớn hơn 33°C hay thấp hơn 25°C thì khả năng bắt mồi của tôm giảm 30 - 50%, tốc độ sinh trưởng chậm, hệ số chuyển đổi thức ăn cao và sức ăn sẽ giảm, tôm giảm hoạt động tạo điều kiện cho mầm bệnh tấn công. Tôm thẻ chân trắng có thể sống trong khoảng độ mặn dao động lớn từ 0 - 36‰, tối ưu ở 10 - 19‰;

Nghiên cứu của López - Hernández và cs (2015) [10] cho rằng, nhiệt độ có mối tương quan thuận với tổng mật độ *V. parahaemolyticus* và *V. parahaemolyticus* có khả năng gây bệnh. Nghiên

cứu của Trần Lưu Khoang và cs (2020) [11] đã nhận định, tôm thẻ chân trắng rất nhạy cảm với vi khuẩn *V. parahaemolyticus* và nhiệt độ nước càng cao thì tình trạng này càng nghiêm trọng. Mật độ vi khuẩn *V. parahaemolyticus* tăng theo nhiệt độ nước từ hơn 30°C, gây ra AHNPD và làm tăng tỷ lệ tôm chết [6].

Một trong những rủi ro lớn nhất đối với việc nuôi tôm đó là tôm bị nhiễm các bệnh truyền nhiễm, trong đó khi tôm nhiễm AHPND thường có tỷ lệ cao xảy ra ở các trại nuôi tôm có độ mặn cao và trong mùa khô khi nhiệt độ tăng [12]. Ngoài ra, sự phát triển của tác nhân vi khuẩn gây bệnh hoại tử gan tuỵ cấp trên tôm thẻ bị ảnh hưởng bởi sự biến động của pH trong nước, đặc biệt là khi giảm xuống (pH 6,3 và 7,3) đã gây suy giảm hệ miễn dịch trên tôm, bao gồm tổng số tế bào máu và hoạt tính gốc oxy hóa tự do từ đó ảnh hưởng rất lớn đến khả năng nhạy cảm với bệnh hoại tử gan tụy cấp [13].

Như vậy, có thể thấy rằng, kết quả nghiên cứu này cũng đã xác định được 7 yếu tố môi trường có ảnh hưởng đến sự xuất hiện AHPND ở tôm nuôi nước lợ, trong đó có 3 yếu tố (nhiệt độ, độ mặn và pH) giống với nhận định của các nghiên cứu trước đây.

3.3. Ứng dụng kết quả mô hình hồi quy nhị phân đa biến để dự báo sự xuất hiện AHPND trên tôm nước lợ

3.3.1. Mức độ chính xác của dự báo từ mô hình

Mức độ chính xác của dự báo từ mô hình hồi qui nhị phân đa biến phân tích bằng phần mềm SPSS được thể hiện ở bảng 3.

Bảng 3. Dự báo mức độ chính xác của các mô hình

Step 1 (Mô hình 1) Biến phụ thuộc: *V. parahaemolyticus*	Observed (Quan sát được)	Predicted (dự báo)		
		V. parahaemolyticus		Percentage Correct (% đúng)
		Âm tính	Dương tính	
	Âm tính	531	12	97,8
	Dương tính	37	72	66,1
	Overall Percentage (% tổng thể)			92,5

Kết quả ở bảng 3 cho thấy, đối với tác nhân *V. parahaemolyticus* gây AHPND trên tôm nuôi nước lợ, có 109 trường hợp thực tế quan sát là có bệnh thì 72 trường hợp mô hình tiên lượng/dự báo đúng (chiếm 66,1%) và 37 trường hợp sai. Còn 543 trường hợp thực tế quan sát không bệnh thì dự báo bị sai 12 trường hợp, tỷ lệ tiên lượng/dự báo đúng là 97,8%. Như vậy, tỷ lệ tiên lượng đoán đúng chung của mô hình hồi quy nhị phân đa biến là 92,5%.

3.3.2. Ứng dụng mô hình hồi quy nhị phân đa biến để dự báo sự xuất hiện V. parahaemolyticus gây AHPND trên tôm nuôi nước lợ

Giả sử khi có các thông số về nhiệt độ, pH, độ mặn, NH_3, $N\text{-}NO_2^-$, TSS và *Vibrio* spp. trong môi trường nước vùng nuôi tôm nước lợ, dựa vào mô hình của hàm hồi quy nhị phân đa biến vừa xây dựng cho tác nhân *V. parahaemolyticus* gây AHPND trên tôm nuôi nước lợ, thay thế các giá trị này vào mô hình của hàm hồi quy nhị phân đa biến để tính xác suất xuất hiện *V. parahaemolyticus* gây AHPND. Ví dụ: Với nhiệt độ 34,0°C, pH = 8,9, độ mặn 35‰, NH_3^+ = 0,30 mg/l, NO_2^- = 0,30 mg/l, TSS = 160,0 mg/l và *Vibrio* spp. = 1.000 cfu/ml thì:

Xác suất xuất hiện tác nhân *V. parahaemolyticus* gây AHPND trên tôm nuôi nước lợ sẽ là:

P (*V. parahaemolyticus* =1) $=e^z/[1+e^z]$, trong đó Z= -21,402+ 0,202*[giá trị nhiệt độ] +1,045*[giá trị pH] + 0,081*[giá trị độ mặn] + 2,927*[giá trị NH_3^+] + 1,802*[giá trị NO_2^-] + 0,011*[giá trị TSS] + 0,001*[giá trị *Vibrio* spp.]. Suy ra,

$$P = \frac{e^{(-21,402+0,202*34,0+1,045*8,9+0,081*35+2,927*0,300+1,802*0,300+0,011*160,0+0,001*1000)}}{[1+e^{(-21,402+0,202*34,0+1,045*8,9+0,081*35+2,927*0,300+1,802*0,300+0,011*160,0+0,001*1000)}]} = 5,92/[1+5,92]=85,5$$

Nghĩa là ứng với các thông số môi trường như đã đề cập, mô hình hồi quy nhị phân đa biến cho biết khả năng xuất hiện tác nhân *V. parahaemolyticus* gây AHPND trên tôm nước lợ khoảng 85,5%.

Như vậy, cho thấy việc ứng dụng mô hình hồi quy nhị phân đa biến để dự báo sự xuất hiện tác nhân *V. parahaemolyticus* gây AHPND trên tôm nước lợ là khả thi.

4. KẾT LUẬN

Trong 12 yếu tố môi trường nước (yếu tố vô sinh và hữu sinh) tại các vùng nuôi tôm nước lợ thì 7 yếu tố: Nhiệt độ, pH, độ mặn, N-NH_3^+, N-NO_2^-, TSS và *Vibrio* spp.) có ảnh hưởng chính và tác động có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) đến nguy cơ xuất hiện *V. parahaemolyticus* gây AHPND trên tôm nước lợ. Theo đó, khi các yếu tố này tăng thì nguy cơ xuất hiện AHPND trên tôm nước lợ tăng cao.

Phương trình hồi quy nhị phân đa biến giữa các yếu tố môi trường (vô sinh, hữu sinh) với tác nhân *V. parahaemolyticus* gây AHPND được thể hiện như sau:

$P= e^z/(1+ e^z)$, trong đó z= -21,402+ 0,202*[giá trị nhiệt độ] +1,045*[giá trị pH] + 0,081*[giá trị độ mặn] + 2,927*[giá trị NH_3^+] + 1,802*[giá trị NO_2^-] + 0,011*[giá trị TSS] + 0,001*[giá trị *Vibrio* spp.].

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được thực hiện dựa trên kết quả của đề tài cấp Bộ: "Nghiên cứu xây dựng quy trình kiểm soát bệnh do vi khuẩn gây ra trên một số đối tượng thủy sản quan trọng" do Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản III chủ trì thực hiện từ năm 2020 - 2022.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Hải Đăng (2023). *Phát triển ngành tôm theo hướng nâng cao giá trị bền vững*. https://tongcucthuysan.gov.vn/vi-vn/tin/phat-trien-nganh-tom-theo-huong nang-cao-gia-tri-va-ben-vung, truy cập ngày 10/7/2023.

2. Trần Văn Hiếu, Mai Hoàng Thùy Dung, Huỳnh Tuấn Bình, Nguyễn Thị Minh Hòa, Nguyễn Phước Khải Hoàn, Nguyễn Thanh Toàn, Trần Thị Hương Liên, Tiền Hải Lý, Nguyễn Đình Xuyên và Trần Linh Thước (2021). Thực trạng bệnh hoại tử gan tụy cấp tính (AHPND) trên tôm nuôi và kết quả phân lập chủng vi khuẩn gây bệnh ở một số tỉnh Tây Nam bộ. *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển* - Trường Đại học Nông Lâm thành phố Hồ Chí Minh. Tập 20 - số 2 (2021), 36 - 43.

3. Phạm Huệ (2022). Năm 2022: 22.894 ha diện tích nuôi tôm nước lợ bị thiệt hại. https://aquaculture.vn/thuy-san-viet-nam/nam-2022-22-894ha-dien-tich-nuoi-tom-nuoc-lo-bi-thiet-hai, truy cập ngày 10/7/2023.

4. De la Peña L D, Cabillon N A, Catedral D D, Amar E C, Usero R C, Monotilla W D, Calpe A. T., Fernandez D. D. & Saloma C. P (2015). Acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND) outbreaks in *Penaeus vannamei* and *P. monodon* cultured in the Philippines. *Diseases of aquatic organisms*, 116 (3), 251 - 254.

5. Tran L., Nunan L., Redman R. M., Mohney L. L., Pantoja C.R., Lightner D.V. (2013). Determination of the infectious nature of the agent of acute hepatopancreatic necrosis syndrome affecting penaeid shrimp. *Dis. Aquat. Organ,* 105, 45–55.

6. Zorriehzahra M, Banaederakhshan R. (2015). Early mortality syndrome (EMS) as new emerging threat in shrimp industry. *Advances in Animal and Veterinary Sciences*, 3 (2s), 64 - 72.

7. Tran L., Nunan L., Redman R. M., Mohney L. L., Pantoja C. R., Fitzsimmons K. & Lightner D. V. (2013). Determination of the infectious nature of the agent of acute hepatopancreatic necrosis syndrome affecting penaeid shrimp. *Diseases of aquatic organisms*, 105 (1), 45–55.

8. Bondad-Reantaso, M. (2016). Acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND) of penaeid shrimps: Global perspective. In R. V. Pakingking Jr., E. G. T. de JesusAyson, & B. O. Acosta (Eds.), Addressing Acute Hepatopancreatic Necrosis Disease (AHPND) & Other Transboundary Diseases for Improved Aquatic Animal Health in Southeast Asia: Proceedings of the ASEAN Regional Technical Consultation on EMS/AHPND & Other Transboundary Diseases for Improved Aquatic Animal Health in Southeast Asia, 22-24 February 2016, Makati City, Philippines (pp. 16-23). Tigbauan, Iloilo, Philippines: Aquaculture Department, Southeast Asian Fisheries Development Center.

9. Trương Thị Mỹ Hạnh, Nguyễn Thị Nguyện, Trương Thị Thành Vinh, Nguyễn Thị Là, Nguyễn Thị Minh Nguyệt, Nguyễn Thị Hạnh, Lê Thị Mây, Chu Chí Thiết, Nguyễn Hữu Nghĩa (2020). Thực trạng môi trường và dịch bệnh tại vùng nuôi tôm trên cát ở Thạch Hà, Cẩm Xuyên và Nghi Xuân, Hà

Tĩnh. *Tạp chí Khoa học - Công nghệ Thủy sản*, Số 4/2020, 36 - 44.

10. López-Hernández, K. M., Pardío-Sedas, V. T., Lizárraga-Partida, L., Williams, J. D. J., Martínez- Herrera, D., Flores-Primo, A., Uscanga-Serrano, R. and Rendón-Castro, K. (2015). Environmental parameters influence on the dynamics of total and pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* densities in Crassostrea virginica harvested from Mexico's Gulf coast. Marrine Pollutant Bulletin. 91: 317 - 329.

11. Trần Lưu Khoang, Ngô Chí Nguyện, Trương Quốc Phú và Đặng Thị Hoàng Oanh (2020). Ảnh hưởng của nhiệt độ lên sự mẫn cảm của tôm thẻ chân trắng (*Litopenaeus vannamei*) với vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus*. *Tạp chí Khoa học, Trường Đại học Cần Thơ.* Tập 56, số chuyên đề: Thủy sản (1): 38 - 44.

12. Oanh D. T .H., Nguyen T. N., Tran V. T. and Bondad-Reantaso M. G. (2018). Identification and characterization of vibrio bacteria isolated from shrimp infected with early mortality syndrome/acute hepatopancreatic necrosis syndrome (EMS/AHPNS) in Vietnam. Asian Fisheries Science. 31S: 283 292.

13. Võ Văn Tuấn, Phan Thị Thanh Khuyên, Huỳnh Mỹ Huyền, Nguyễn Thị Ngọc Kiều và Nguyễn Trí Dũng (2019). Ảnh hưởng của pH nước lên khả năng nhạy cảm đối với vi khuẩn gây bệnh hoại tử gan tụy cấp *Vibrio parahaemolyticus* trên tôm thẻ (*Litopenaeus vannamei*). *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn,* tập 18 (2), 88 - 96.

THE EFFECT OF WATER ENVIRONMENTAL PARAMETRS ON PRESENCE OF *Vibrio parahaemolyticus* CAUSED ACUTE HEPATOPANCREATIC NECROSIS DISEASE OF BRACKISH WATER SHRIMP

Vo Van Nha[1], Vo Thi Ngoc Tram[1], Nguyen Thi Chi[1], Ha Thi Thanh Huyen[1], Nguyen Thi Tu Anh[2]

[1] Research Institute for Aquaculture No. 3

[2] Dak Nong Community College

Summary

The binary logistic regression between 12 water environmental factors (abiotics: temperature, pH, DO, salinity, alkalinity, NH_3, $N\text{-}NO_2^-$, $N\text{-}NH_4^+$, H_2S, TSS, COD; biotics: *Vibrio* spp.) and pathogens of AHPND (*Vibrio parahaemolyticus* carries the pirA/pirB gene) of brackish water shrimp were analyzed using SPSS software airms to test the close correlation between environmental factors and the pathogens of AHPND of brackish water shrimp. With 652 input data collected from monitoring aquaculture environment and diseases resulting in the period 2012-2019 in the northern and southcentral provinces from the Research Institute for Aquaculture No.1, No.3 analaysed. It was found that, 07 water quality parameters in pond water show statistically significant effect onon the occurrence of *V. parahaemolyticus* causing AHPND in brackish water shrimp, include temperature, salinity, pH, NH_3, $N\text{-}NO_2^-$, TSS, and *Vibrio* spp. ($p < 0.05$). Increasing value of water quality parameters resulted in increasing the risk of the appearance of *V. parahaemolyticus* causing AHPND of brackish water shrimp. Besides, the multivariable binary logistic equation between environmental factors with *V. parahaemolyticus* causing AHPND was also determined to have the form: $P= e^z/[1+ e^z]$, where for lactation *V. parahaemolyticus* agent z = -21,402+ 0.202*[temperature value] +1.045*[pH value] + 0.081*[salinity value] + 2.927*[NH_3 value] + 1.802*[$N\text{-}NO_2^-$ value] + 0.011*[TSS value] + 0.001*[*Vibrio* spp.]. In addition, the application of multivariable binary logistic equation results to predict the occurrence of pathogens of AHPND (*V. parahaemolyticus* carries the pirA/pirB gene) was also mentioned.

Keywords: *Acute Hepatopancreatic Necrosis Disease (AHPND), brackish shrimp, abiotics factors, biotic factors.*

Người phản biện: TS. Lê Hồng Phước

Ngày nhận bài: 20/7/2023

Ngày thông qua phản biện: 11/8/2023

Ngày duyệt đăng: 20/9/2023

NGHIÊN CỨU HIỆU QUẢ DIỆT KHUẨN *Aeromonas hydrophila* GÂY BỆNH Ở CÁ RÔ PHI (*Oreochromis* sp.) CỦA DỊCH TỎI LÊN MEN

Nguyễn Thị Hạnh[1,*], Đặng Thị Lụa[2], Nguyễn Hữu Nghĩa[1],
Phạm Thị Yến[1], Trương Thị Mỹ Hạnh[1]

TÓM TẮT

Nghiên cứu được tiến hành từ tháng 1 đến tháng 12 năm 2020. Mục đích của nghiên cứu nhằm đánh giá khả năng diệt khuẩn của dịch tỏi lên men (*Allium sativum* L.) đối với chủng vi khuẩn *A. hydrophila* CED17.19 gây bệnh cho cá rô phi nuôi trong điều kiện *in vitro* ở 6 nồng độ 5, 10, 15, 20, 25 và 30 µl. Đồng thời, nghiên cứu cũng đánh giá khả năng phòng bệnh do vi khuẩn *A . hydrophila* đối với cá rô phi trong điều kiện phòng thí nghiệm. Kết quả cho thấy, sản phẩm tỏi lên men có khả năng diệt khuẩn cao đối với chủng vi khuẩn *A. hydrophila* CED17.19 khi thử nghiệm ở nồng độ 25 và 30 µl với đường kính vòng vô khuẩn trung bình dao động từ 18 ± 1,9 mm (25 µl) đến 21,6 ± 2,1 mm (30 µl). Bổ sung dịch tỏi lên men với liều lượng 15 ml/kg thức ăn/ngày vào thức ăn để cho cá rô phi ăn trong 10 ngày liên tục, có khả năng nâng tỷ lệ sống của cá lên từ 53 - 56% so với lô đối chứng là 28% khi công cường độc vi khuẩn *A. hydrophila* ở mật độ 10^6 cfu/mL.

Từ khóa: *A. hydrophila, phòng bệnh, rô phi, tỏi lên men, vòng vô khuẩn.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cá rô phi (*Oreochromis* sp.) là đối tượng nuôi thủy sản có nhiều ưu điểm như sinh trưởng nhanh, dễ nhân giống, có thể sinh trưởng và phát triển ở biên độ dao động môi trường lớn (nhiệt độ, độ mặn), dễ chuyển đổi thức ăn bổ sung [1]. Tuy sản lượng và giá trị xuất khẩu của cá rô phi không cao bằng cá tra, nhưng đây là đối tượng nuôi có tiềm năng và ưu thế. Cá rô phi hiện được nuôi phổ biến với nhiều mô hình như nuôi đơn, nuôi ghép và nuôi thâm canh trong môi trường nuôi nước lợ và nước ngọt ở khắp cả nước. Tuy nhiên, cùng với sự phát triển của các hình thức nuôi mới với mật độ cao như nuôi công nghiệp và nuôi thâm canh thì cá rô phi cũng dễ bị nhiễm một số tác nhân gây bệnh như vi rút, vi khuẩn, ký sinh trùng và nấm, đặc biệt là bệnh truyền nhiễm do vi khuẩn [2].

Sử dụng kháng sinh để trị bệnh do vi khuẩn trong nuôi trồng thủy sản không đúng cách không chỉ ảnh hưởng xấu tới môi trường sinh thái mà còn tạo ra những chủng vi khuẩn kháng thuốc kháng sinh [3], [4]. Ở Việt Nam, hiện tượng kháng kháng sinh ở một số vi khuẩn gây bệnh trong môi trường nuôi tôm và nuôi cá đã được ghi nhận [5], [6], [7], [8]. Chính vì vậy, việc sử dụng các hoạt chất/chất có nguồn gốc tự nhiên là một nguồn lợi tiềm năng để nghiên cứu và sản xuất thuốc thảo dược thay thế các chất hóa học tổng hợp [9], [10].

Tỏi với thành phần có chứa chất alixin, một hoạt chất có tác dụng diệt khuẩn mạnh, phổ diệt khuẩn rộng với nhiều loại vi khuẩn gây bệnh. Một số nghiên cứu về hiệu quả của dịch chiết tỏi, tỏi tươi ép, tỏi bột đối với phòng trị bệnh nhiễm khuẩn ở động vật thủy sản đã được thực hiện [11], [12], [13], [14]. Tuy nhiên, mỗi phương pháp đều có hạn chế, cụ thể phương pháp tách chiết đòi hỏi trang thiết bị và hóa chất chuyên dùng, người thực hiện cần được đào tạo bài bản, chi phí thực hiện cao, dẫn đến giá thành sản phẩm cao, ngoài ra còn không thuận tiện trong cách bảo quản lẫn sử dụng tại các nông hộ. Phương pháp lên men tỏi thực hiện không quá cầu kỳ, giá thành rẻ, thuận lợi cho bà con nông dân khi sử dụng cho động vật thủy sản nuôi. Đây là một hướng nghiên cứu đầy hứa hẹn, có giá trị ứng dụng cao.

Mục tiêu của nghiên cứu này là đánh giá hiệu quả diệt khuẩn của dịch tỏi lên men đối với chủng

[1] Trung tâm Quan trắc Môi trường và Bệnh thủy sản miền Bắc
[2] Viện Nghiên cứu Nuôi trồng thủy sản 1
[*] Email: nthanh@ria1.org

vi khuẩn *A. hydrophila* CED17.19 gây bệnh cho cá rô phi trong điều kiện phòng thí nghiệm. Kết quả là cơ sở khoa học để phát triển sản phẩm thuốc thảo dược có hiệu quả phòng trị bệnh cho động vật thủy sản theo hướng an toàn sinh học và thân thiện với môi trường.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Củ tỏi (*Allium sativum* L.), mật ong hoa vải thu mua tại tỉnh Hải Dương và rượu trắng 40 độ.

Chủng vi khuẩn thử nghiệm: *A. hydrophila* CED17.19 thu từ cá rô phi bị bệnh hiện đang được lưu giữ -80°C tại Trung tâm Quan trắc Môi trường và Bệnh thủy sản miền Bắc (CEDMA), Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản I.

Một số các hóa chất khác bao gồm: Môi trường Rimler shotts agar (RS), Nutrient Broth (NB), Mueller Hinton Agar (MHA), khoanh giấy vô trùng, khoanh giấy tẩm kháng sinh Doxycylin 30 µg (Dx), bộ kít API 20E.

Cá rô phi có khối lượng 8 - 10 g/con, 30 con/bể, phản xạ nhanh, có kết quả âm tính với vi rút TiLV và âm tính với vi khuẩn *A. hydrophila*. Bể composit có thể tích 300 lít/bể.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Chuẩn bị vi khuẩn thử nghiệm: Chủng vi khuẩn *A. hydrophila* CED17.19 từ tủ -80^{0}C được cấy lại lên đĩa môi trường RS, chọn 1 khuẩn lạc đơn đem nuôi tăng sinh trong môi trường NB để thu dịch vi khuẩn. Mật độ vi khuẩn được xác định bằng phương pháp đo mật độ quang (OD) ở bước sóng 600 nm.

Tác dụng diệt khuẩn của dịch tỏi lên men được kiểm tra bằng phương pháp kháng sinh đồ khuyếch tán trên đĩa thạch của Kirby-Bauer [15]. Dịch tỏi lên men được phối trộn theo tỷ lệ tỏi khô: Rượu trắng: Mật ong = 20 kg: 18 L: 2 L, ủ từ 25 - 30 ngày trong điều kiện 25 - 30°C. Sử dụng dịch tỏi đã lên men để tiến hành thử nghiệm: Nhỏ sản phẩm tỏi lên men lên các khoanh giấy vô trùng với 6 thể tích để tiến hành thử nghiệm bao gồm 5, 10, 15, 20, 25 và 30 µL cùng với đối chứng dương là Doxycycline 30 µg (Dx) và khoanh giấy nhỏ nước cất làm đối chứng âm (ĐC). Đặt các đĩa giấy lên đĩa môi trường MHA đã được trang vi khuẩn *A. hydrophila CED 17.19* (mật độ vi khuẩn 10^6 cfu/ml), ủ trong tủ ấm ở 28 - 30°C. Sau 24 giờ, đĩa thạch được lấy ra để đo đường kính vòng vô khuẩn.

Đo đường kính vòng vô khuẩn (mm): Dựa vào đường kính của vòng vô khuẩn theo tài liệu Clinical and Laboratory Standards Institure - CLSI (2012) để đánh giá hoạt tính kháng khuẩn của sản phẩm tỏi lên men.

Thí nghiệm đánh giá hiệu quả phòng bệnh đối với cá rô phi:

Thí nghiệm được bố trí trên cá rô phi có khối lượng 8 - 10 g/con, 30 con/bể, bao gồm 5 nghiệm thức (NT), mỗi NT bố trí 3 bể tổng cộng có 15 bể thí nghiệm (theo sơ đồ bố trí thí nghiệm). Cá trước thí nghiệm được kiểm tra âm tính với các chỉ tiêu vi rút TiLV, ký sinh trùng và vi khuẩn *A. hydrophila*. Tất cả các bể được nuôi trong điều kiện như nhau, nhiệt độ nước thời điểm thí nghiệm dao động từ 26 - 28°C, pH dao động từ 7,5 - 7,9, DO dao động từ 4,8 - 5,1 mg/l và sục khí liên tục 24/24 giờ.

Thức ăn sử dụng cho cá ăn trong thí nghiệm là thức ăn Cargill loại 30% đạm, viên 3 mm, mỗi ngày cho cá ăn 5% khối lượng thân. Cá ở các NT thí nghiệm sẽ được ăn thức ăn có phối trộn hoặc không phối trộn với dịch tỏi lên men với liều lượng 15 ml/kg thức ăn/ngày như sau: NT1: Thức ăn bổ sung tỏi lên men rồi dùng dầu gan mực bao ngoài; NT2: Thức ăn bổ sung tỏi lên rồi dùng bột nếp đã nấu chín để bao ngoài; NT3: Thức ăn bổ sung tỏi lên men và không sử dụng chất bao ngoài; NT4: Đối chứng dương (cho cá ăn thức ăn không bổ sung tỏi lên men và công cường độc vi khuẩn giống như: NT1, NT2, NT3); NT5: đối chứng âm (cho cá ăn thức ăn không bổ sung tỏi lên men và không công cường độc vi khuẩn).

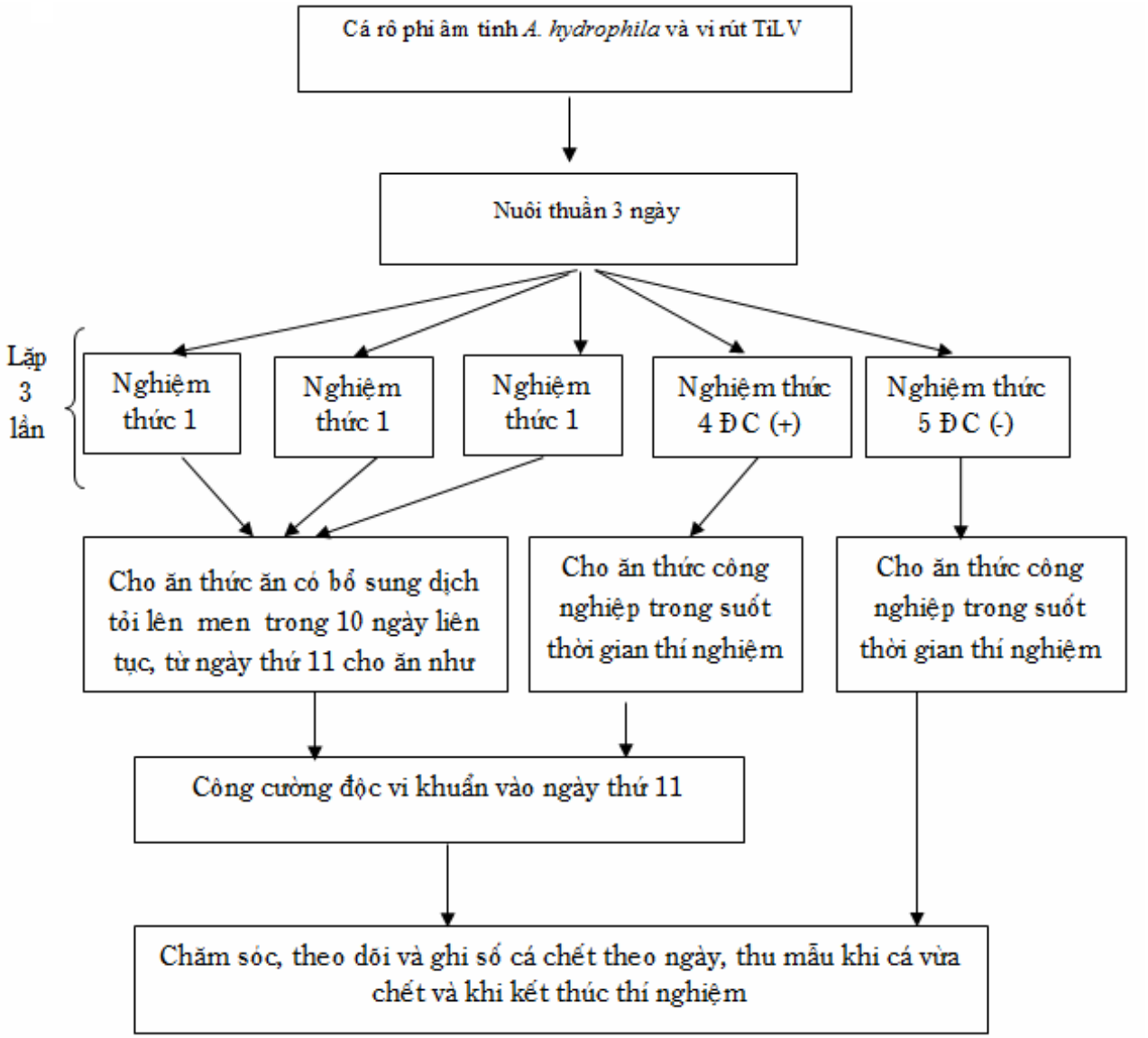
Cho cá rô phi ăn ngày 3 lần và thay nước 2 ngày/lần, mỗi lần thay 70% nước.

Công cường độc vi khuẩn vào ngày thứ 11 của thí nghiệm sau khi đã cho cá rô phi ăn thức ăn có bổ sung dịch tỏi lên men 10 ngày liên tiếp (từ ngày thứ 11 của thí nghiệm, tất cả các NT đều ăn thức ăn công nghiệp không bổ sung tỏi lên men). Mật độ vi khuẩn gây nhiễm là 10^6 cfu/ml. Hình thức

gây nhiễm là tiêm xoang bụng 0,1 mL/cá rô phi, NT đối chứng âm tiêm xoang bụng 0,1 mL nước muối sinh lý.

Khi cá vừa mới chết sẽ được thu mẫu để tái phân lập tác nhân vi khuẩn gây nhiễm từ gan cá. Sử dụng bộ kít API 20 E để định danh các chủng vi khuẩn tái phân lập được.

Sơ đồ bố trí thí nghiệm:



2.3. Phương pháp xử lý số liệu

Các thí nghiệm được bố trí lặp lại 3 lần/nghiệm thức. Số liệu được xử lý bằng phần mềm Excel 2010 và được xử lý thống kê sinh học bằng Paired t-test với sự sai khác có ý nghĩa $P < 0,05$.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

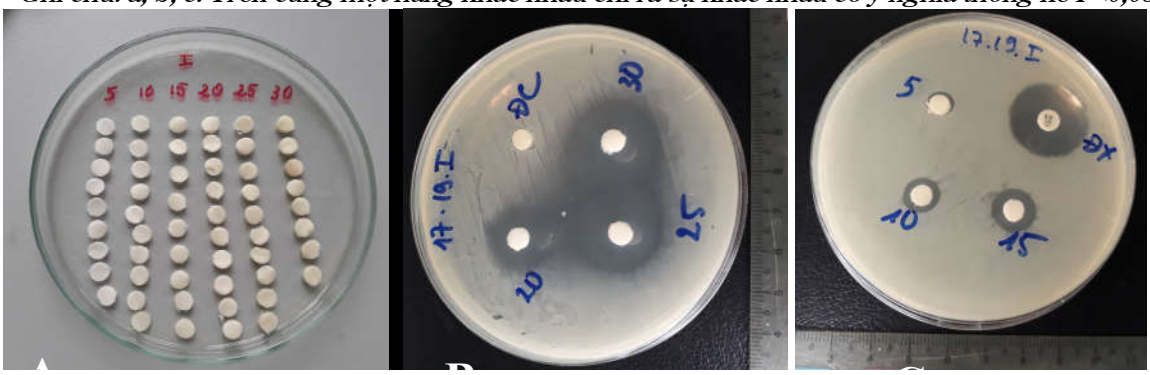
3.1. Khả năng kháng khuẩn của tỏi lên men đối với chủng vi khuẩn *A. hydrophila* CED17.19 thu được từ cá rô phi bị bệnh xuất huyết

Kết quả thử nghiệm cho thấy, khi thử nghiệm ở các nồng độ 5, 10, 15 và 20 µL, dịch tỏi lên men tạo ra vòng vô khuẩn với đường kính trung bình dao động từ 6,6 ± 0,5 mm đến 14,6 ± 1,1 mm. Khi nâng nồng độ thử nghiệm cao hơn là 25 và 30 µL, tỏi lên men lại có hiệu quả diệt khuẩn ở mức mẫn cảm cao đối với chủng vi khuẩn *A. hydrophila* CED17.19, với đường kính vòng vô khuẩn trung bình dao động từ 18 ± 1,9 mm đến 21,6 ± 2,2 mm. Trong khi đó đối chứng âm (ĐC) không có vòng vô khuẩn, đối chứng dương (Dx) có đường kính vòng vô khuẩn là 24,2 ± 1,3 mm (Bảng 1, hình 1).

Bảng 1. Đường kính vòng kháng khuẩn của tỏi lên men đối với chủng *A. hydrophila CED17.19*

	Nồng độ dịch tỏi lên men (µl/khoanh)						ĐC (-)	Dx
	5	10	15	20	25	30		
Đường kính (mm)	$6,6^{a}$±0,5	$10,2^{b}$±0,5	$12,2^{bc}$±0,8	$14,6^{c}$±1,1	$18,8^{d}$±1,9	$21,6^{e}$±2,2	0 ±0,0	$23,2^{e}$ ±1,3

Ghi chú: a, b, c: Trên cùng một hàng khác nhau chỉ ra sự khác nhau có ý nghĩa thống kê P<0,05.



Hình 1. Khả năng diệt khuẩn của dịch chiết tỏi đối với vi khuẩn *A. hydrophila*

Ghi chú: (A): Đĩa giấy tẩm dịch tỏi lên men; (B, C): Khả năng kháng khuẩn của tỏi lên men ở các nồng độ khác nhau; (ĐC): Nước cất; (Đx): Doxycyclin (30 µg).

Khi so sánh đường kính vòng kháng khuẩn giữa các nồng độ thử nghiệm, có sự sai khác có ý nghĩa thống kê khi nâng thể tích thử nghiệm từ 5 µL lên 10 µL, từ 20 µL lên 25 µL và từ 25 µL lên 30 µL, còn khi nâng thể tích thử nghiệm từ 10 µL lên 15 µL và từ 15 µL lên 20 µL thì không có sự sai khác có ý nghĩa thống kê (p>0,05).

Kết quả thử nghiệm này cũng tương đồng với kết quả nghiên cứu của Nguyễn Thị Hạnh và Đặng Thị Lụa (2016) khi công bố về khả năng kháng khuẩn của cao khô tỏi đối với các chủng vi khuẩn *A. hydrophila*. Cụ thể, cao khô tỏi có khả năng diệt khuẩn cao với 2 chủng vi khuẩn *A. hydrophila* gây bệnh trên cá trắm cỏ khi thử nghiệm ở nồng độ là 30 µg/µL với đường kính vòng vô khuẩn trung bình lần lượt là 18,33 ± 1,57 mm và 18,33 ± 1,53 mm [13].

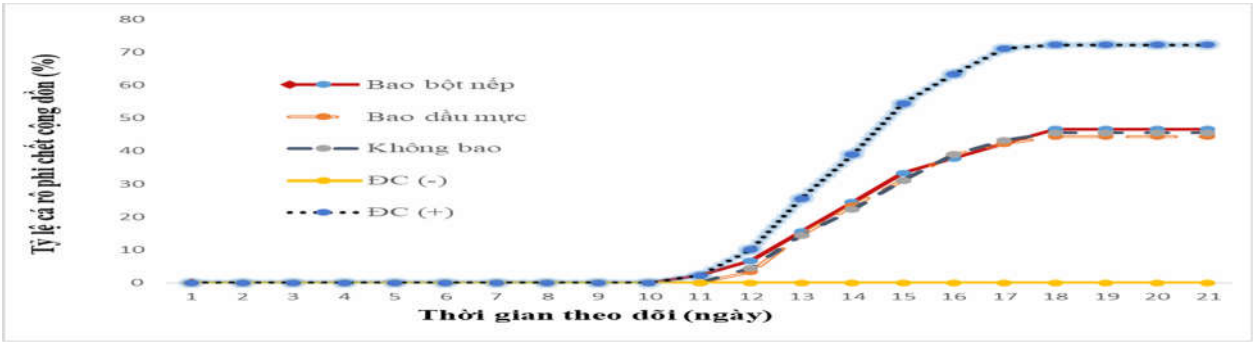
3.2. Khả năng phòng bệnh *A. hydrophila* ở cá rô phi của dịch tỏi lên men

Thí nghiệm được tiến hành trên cá rô phi, 10 ngày đầu của thí nghiệm, cá ở tất cả các nghiệm thức thí nghiệm được ăn thức ăn có bổ sung dịch tỏi lên men để phòng bệnh do vi khuẩn *A. hydrophila* gây ra. Các bể ở NT4 đối chứng âm và NT5 đối chứng dương cá được ăn thức ăn công nghiệp không bổ sung dịch tỏi lên men.

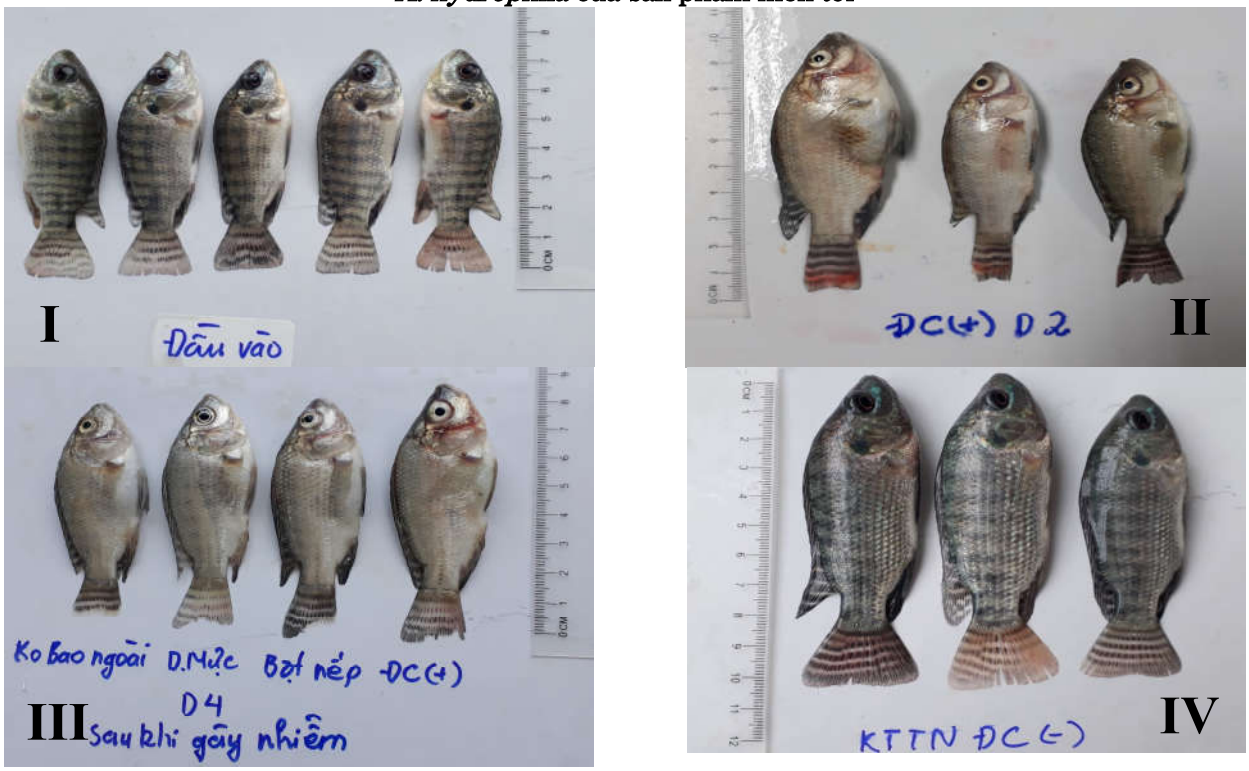
Ngay ở ngày đầu tiên gây nhiễm vi khuẩn (ngày thứ 11 của thí nghiệm), cá ở NT cho ăn thức ăn bổ sung dịch tỏi lên men rồi bao ngoài bằng bột nếp và cá ở NT đối chứng dương bắt đầu chết với tỷ lệ chết là 2,2%. Vào ngày thứ 12 của thí nghiệm, cá ở tất cả các nghiệm thức gây nhiễm vi khuẩn đều chết. Cá chết kéo dài từ ngày thứ 12 đến ngày thứ 18 của thí nghiệm. Sau 21 ngày thí nghiệm, tỷ lệ cá chết trung bình ở NT4 đối chứng dương là cao nhất và bằng 72%. Tiếp đến là NT bổ sung dịch tỏi lên men vào thức ăn rồi bao ngoài bằng bột nếp với tỷ lệ chết là 47%. Nghiệm thức bổ sung dịch tỏi lên men vào thức ăn nhưng không sử dụng chất bao ngoài có tỷ lệ chết là 46%. Nghiệm thức có tỷ lệ chết thấp nhất là NT cho cá ăn thức ăn bổ sung dịch tỏi lên men rồi bao ngoài bằng dầu gan mực có tỷ lệ chết là 44%. Trong khi đó, cá ở NT4 đối chứng âm không có hiện tượng chết. Điều đó chứng tỏ sản phẩm men tỏi có hiệu quả trong việc kiểm soát độc lực của chủng vi khuẩn *A. hydrophila* CED17.19 thu được từ cá rô phi bị bệnh xuất huyết (Hình 2). Tuy nhiên, tỷ lệ sống của cá ở 3 NT bổ sung dịch tỏi lên men đều không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê mà chỉ có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi so sánh với NT4 đối chứng âm và NT5 đối chứng dương.

Kết quả thí nghiệm đã chỉ rõ, khi bổ sung sản phẩm tỏi lên men vào thức ăn cho cá ăn với liều lượng 15 ml/kg thức ăn/ngày, bổ sung vào bữa sáng trong ngày và cho cá ăn liên tục trong 10 ngày, có tác dụng nâng cao tỷ lệ sống của cá rô phi khi công cường độc vi khuẩn *A. hydrophila* ở mật độ 1 x 10^6 cfu/ml bằng hình thức tiêm 0,1 ml/cá rô phi.

Cụ thể, khi sử dụng dầu gan mực để bao ngoài viên thức ăn sau khi bổ sung tỏi lên men, có hiệu quả cao nhất khi nâng tỷ lệ sống trung bình của cá rô phi ở NT này lên 56%, cá ở NT không sử dụng chất bao ngoài và NT sử dụng bột nếp để bao ngoài có tỷ lệ sống lần lượt là 54% và 53% so với cá ở NT5 đối chứng dương có tỷ lệ sống là 28% và cá ở NT4 đối chứng âm có tỷ lệ sống là 100%. Kết quả này cho thấy dịch tỏi lên men có hiệu quả trong phòng bệnh do nhiễm vi khuẩn *A. hydrophila* khi gây nhiễm với mật độ cao (1 x 10^6 cfu/ml). Tuy nhiên, tỷ lệ sống của cá rô phi ở các hình thức bổ sung tỏi lên men: Sử dụng bột nếp và dầu gan mực để bao ngoài viên thức ăn sau khi bổ sung dịch tỏi lên men và chỉ bổ sung dịch tỏi lên men vào thức ăn mà không sử dụng chất bao ngoài là không có sự khác nhau có ý nghĩa thống kê.



Hình 2. Tỷ lệ chết cộng dồn của cá rô phi trong thí nghiệm đánh giá khả năng phòng bệnh do vi khuẩn *A. hydrophila* của sản phẩm men tỏi



Hình 3. Cá rô phi trong thí nghiệm đánh giá khả năng phòng bệnh do vi khuẩn *A. hydrophila* của sản phẩm tỏi lên men

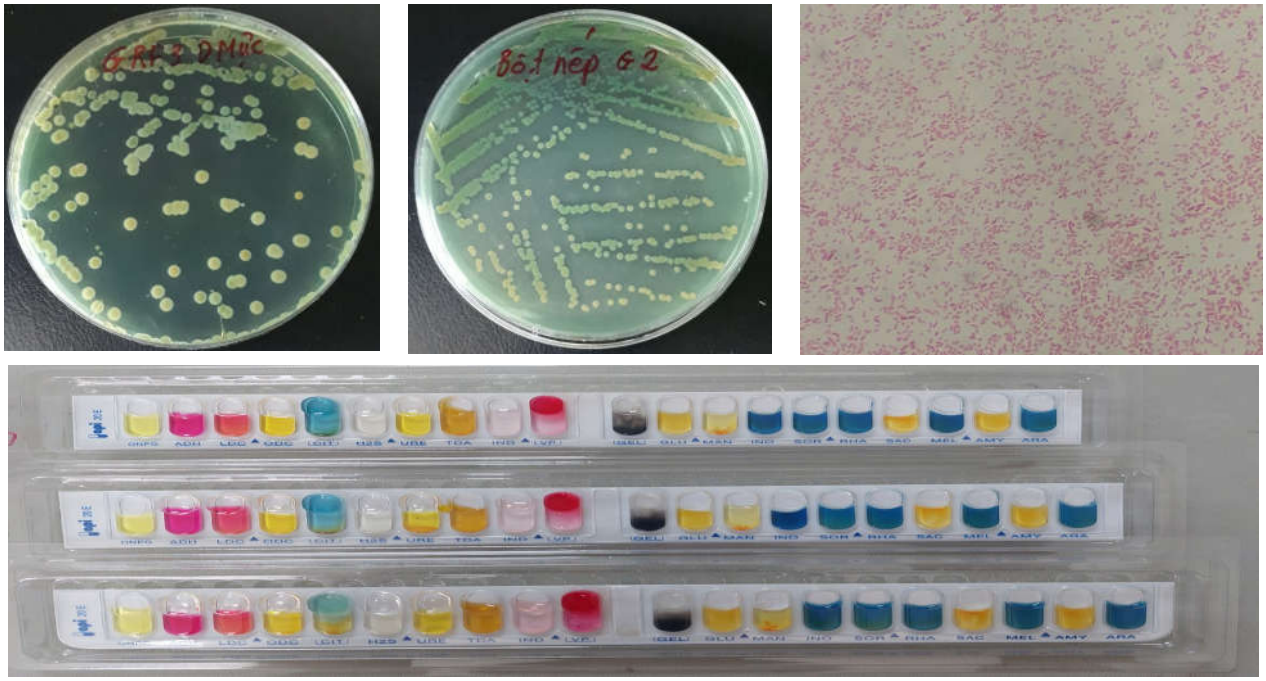
Ghi chú: (I): Cá trước khi thí nghiệm; (II): Cá chết ở nghiệm thức đối chứng dương; (III): Cá chết ở các nghiệm thức gây nhiễm vi khuẩn; (IV): Cá ở nghiệm thức đối chứng âm khi kết thúc thí nghiệm.

Cá chết trong các NT công cường độc vi khuẩn có các biểu hiện như bụng tích nhiều dịch, ruột không có thức ăn, xuất huyết nắp mang, gốc vây và hậu môn (Hình 3). Theo Đoàn Thị Nhinh và cs (2022), cá rô phi ở các lô thí nghiệm xuất hiện dấu hiệu lâm sàng và bệnh tích tương đồng với cá nhiễm bệnh ngoài tự nhiên như xuất huyết gốc vây, xương nắp mang, xuất huyết cục bộ trên da. Nhiều mẫu cá nhiễm bệnh có dấu hiệu sưng, chướng bụng do tăng sinh dịch trong ổ bụng. Bệnh tích đại thể như xuất huyết nội tạng đặc biệt ở gan, ruột hay hiện tượng sưng, tăng kích cỡ nội tạng như gan, mật là các đặc điểm hoàn toàn tương đồng với cá bị nhiễm bệnh *A. hydrophila* thu từ ao/lồng nuôi [17].

3.3. Kết quả tái phân lập vi khuẩn trong thí nghiệm

Trong suốt thời gian thí nghiệm cá chết ở các NT được thu để nuôi cấy và tái phân lập lại vi khuẩn gây nhiễm.

Kết quả nuôi cấy và định danh vi khuẩn cho thấy, ở ngày thứ 2 sau khi gây nhiễm vi khuẩn 100% mẫu thu ở tất cả các nghiệm thức có gây nhiễm vi khuẩn đều tái phân lập lại được vi khuẩn gây nhiễm là chủng *A. hydrophila* ở ngày thứ 3 và ngày thứ 6 sau khi gây nhiễm tức là ngày thứ 12 và ngày thứ 15 của thí nghiệm. Ngày cuối của thí nghiệm, các mẫu cá thu ở NT4 đối chứng âm và NT sử dụng bột nếp để bao ngoài viên thức ăn sau khi bổ sung dịch tỏi lên men đã không tái phân lập được vi khuẩn trong khi đó cá thu ở NT sử dụng dầu gan mực để bao ngoài và NT không sử dụng chất bao ngoài vẫn phân lập được vi khuẩn *A. hydrophila* từ gan cá (Hình 4, bảng 2).



Hình 4. Hình thái khuẩn lạc, nhuộm Gram và đặc điểm sinh hóa của vi khuẩn *A. hydrophila* tái phân lập lại từ cá rô phi chết ở các nghiệm thức

Bảng 2. Kết quả tái phân lập vi khuẩn *A. hydrophila* trong quá trình thí nghiệm

STT	Ngày thí nghiệm	Tần xuất tái phân lập vi khuẩn *A. hydrophila* ở các NT				
		ĐC (-)	ĐC (+)	Không bao ngoài	Bao ngoài dầu gan mực	Bao ngoài bột nếp
1	12	KT	2/2	2/2	2/2	2/2
2	15	KT	2/2	2/2	2/2	2/2
3	21	0/5	1/1	1/1	1/1	0/1

Ghi chú: (KT): Không thu mẫu.

Kết quả nghiên cứu này cũng tương đồng với nghiên cứu của Đoàn Thị Nhinh và cs (2022) khi kết quả nuôi cấy và giám định các chủng vi khuẩn tái phân lập từ mẫu cá chết trong quá trình cảm nhiễm đều cho kết quả là vi khuẩn *A. hydophila* [17].

Nghiên cứu của Nya và Austin (2009) đã chỉ ra rằng, dùng tỏi để phòng bệnh cho cá hồi vân bằng hình thức cho cá hồi vân ăn thức ăn trộn với tỏi trong 14 ngày liên tục để phòng bệnh do vi khuẩn *A. hydrophila* đã cho tỷ lệ sống của lô thí nghiệm cao nhất là 88% trong khi tỷ lệ sống ở NT đối chứng dương là 16% [18].

4. KẾT LUẬN

Sản phẩm tỏi lên men có khả năng kháng khuẩn ở mức mẫn cảm cao đối với chủng vi khuẩn *A. hydrophila* CED17.19 khi thử nghiệm ở nồng độ 25 và 30 µL.

Trong điều kiện phòng thí nghiệm, bổ sung sản phẩm tỏi lên men vào thức ăn cho cá rô phi ăn với liều lượng là 15 mL/kg thức ăn/ngày có hiệu quả phòng bệnh cá rô phi khi công cường độc vi khuẩn *A. hydrophila* ở mật độ 1 x 10^6 cfu/mL bằng hình thức tiêm 0,1 mL vào xoang bụng.

Bổ sung men tỏi vào thức ăn cho cá rô phi mà không sử dụng chất bao ngoài có hiệu quả không có sự sai khác có ý nghĩa so với hình thức sử dụng chất bao ngoài.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Z. G. Huicab Pech, *et al.* (2016). Current state of Bacteria pathogenicity and their relationship with host and environment in Tilapia Oreochromis niloticus. *Aquac. Res. Development.*, 7(5), pp. 1-10.

2. Shoemaker, C. A., Xu, D., Klesius, P. H., Evans J. J. (2008). Concurrent infections (parasitism and bacterial disease) in tilapia, The 8th International Symposium on Tilapia in *Aquaculture, Cairo, Egypt*, pp. 1365-1375.

3. Brown, J (1989). Antibiotics: their use and abuse in aquaculture. *World Aquac,* 20(2): 34-43.

4. Depaola, A, Peeler, J. T and Rodrick, G. E (1995). Effect of Oxytetraxycline-medicated feed on antibiotic resistance of gram-negative bacteria in catfish ponds. *Applied and Environmental Microbiology*: 2335-2340.

5. Dung, T. T., Galina, Z., Oanh, D. T. H., Jeney, Z. and Tuan, N. A. (1997). Results of the baseline survey on fish health management in freshwater aquaculture of the Mekong Delta Vietnam. *WEST-EAST-SOUTH (WES) Newsletter* No. 6.

6. Van, P. T. (2005). Current status of aquaculture veterinary drugs usage for aquaculture in Vietnam. *In proceedings of the international workshop on antibiotic resistance in Asian aquaculture invironments. Chiang Mai, Thai land*. ISBN 88-901344-3-7.

7. Le, T. X., Munekage Y. and Kato S. (2005). Antibiotic resistance in bacteria from shrimp farming in mangrove areas. *Science of the Total Environment,* 349 (2005) 95-105.

8. Sarter, S., Kha, N. H. N., Hung, L. T., Lazard, J. and Didier, M. (2007). Antibiotic Resistace in Gram-negative bacteria isolated from farmed catfish. *Food Control* 18: 1391-1396.

9. Cos, P., Vlietinck A. J., Berghe D. V., and Maes L. (2006). Anti-infective potential of natural products: How to develop a stronger *in vitro* 'proof of concept'. *J. Ethnopharmacol.* 106 (3): 290-302.

10. Solanki, R. (2010). Some medicinal plants with antibacterial activity. *Pharmacies Globate (IJCP)*, 4(10). ISSN 0976-8157.

11. L. P. Rees, *et al.* (1993). Aquantitative assessment of the antimicrobial activity of garlic (*Allium sativum*). *World J. Microbiol Biotechnol.*, 9(3), pp. 303-307.

12. M. Corzo-Martinez, N. Corzo, M. Villamiel (2007). Biological properties of onions and garlic". *Trends in Food Science & Technology*, 18, pp. 609-625.

13. Nguyễn Thị Hạnh, Đặng Thị Lụa (2016). Đánh giá khả năng kháng khuẩn của dịch chiết tỏi (*Allium sativum* L.) đối với một số vi khuẩn gây

bệnh trên cá nuôi nước ngọt. *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn*, 22, tr. 100-104.

14. Phạm Thị Thanh, Trương Thị Mỹ Hạnh và Võ Văn Nha (2022). Hiệu quả của Iodine, bột tỏi, vitamin C trong phòng trị bệnh Streptococcusis ở cá rô phi quy mô phòng thí nghiệm. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Đại học Thái Nguyên*, 227(10): tr. 142 - 148

15. Bauer, A. W, Kirby, W. M. M, Sherris, J. C, and Truck, M (1966). Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method. *Am J Clin Pathol* 45: 493 - 496.

16. Clinical and Laboratory Standards Institure – CLSI (2012). *Performance standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; twenty-Second Infomational Supplement*. CLSI document M100-S22, Vol. 32 No. 3. Clinical and Laboratory Standards Institure, 950 West Valley Road, Suite 2500, Wayne, Pennsylvaania 19087 USA.

17. Đoàn Thị Nhinh, Vũ Đức Mạnh, Nguyễn Thị Hương Giang, Đặng Thị Lụa và Trương Đình Hoài (2022). Độc lực và ảnh hưởng của một số yếu tố môi trường lên sự phát triển của *Aeromonas hydrophila* gây bệnh trên cá rô phi và biến đổi mô bệnh học trên cá nhiễm bệnh. *Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam,* 64(5): tr 51-57.

18. Nya, E. J. and B. Austin. (2009). Use of garlic, Allium sativum, to control Aeromonas hydrophila infection in rainbow trout, Oncorhynchus mykiss (Walbaum). *Journal of Fish Diseases,* 1986: 32: 963-970.

EFFICACY ANTI-BACTERIA *Aeromonas hydrophila* OF THE FERMENTED GARLIC IN TILAPIA (*Oreochromis* sp.)

Nguyen Thi Hanh[1], Dang Thi Lua[2], Nguyen Huu Nghia[1], Pham Thi Yen[1], Truong Thi My Hanh[1]

[1]Center for Environment and Disease Minitiring in Aquaculture

[2] Research Institute for Aquaculture No. 1

Summary

The study was carried out from January to December 2020. The purpose of the study was to screen the antibacterial activity of fermented garlic (*Allium sativum* L.) against *A. hydrophila* CED17.19 causing disease in tilapia cultured under conditions *in vitro* at 6 concentrations of 5, 10, 15, 20, 25 and 30 µl. The study also evaluated the ability to protect against disease caused by *A. hydrophila* bacteria for tilapia laboratory conditions. The results showed that the fermented garlic had a high sensitivity to strain *A. hydrophila* CED17.19 at concentrations of 25 and 30 µl, with inhibition zone diameters betel extracts were 18 ± 1.9 mm (25 µl) to 21.6 ± 2.1 mm (30 µl). Experiment of feeding tilapia with fermented garlic at a dose of 15 ml/kg food/day for 10 consecutive days, showed that the survival rate of tilapia were about 53 - 56% compared to the batch control was 28% when the virulence of *A. hydrophila* was 10^6 cfu/mL.

Keywords: *A. hydrophila, disease prevention, tilapia, fermented garlic, inhibition zone.*

Người phản biện: PGS.TS. Kim Văn Vạn

Ngày nhận bài: 20/7/2023

Ngày thông qua phản biện: 12/8/2023

Ngày duyệt đăng: 28/9/2023

VI KHUẨN BỘI NHIỄM TRONG BỆNH ĐỐM TRẮNG NỘI TẠNG CÁ NHEO MỸ (*Ictalurus punctatus*) VÀ THỬ NGHIỆM ĐIỀU TRỊ

Kim Văn Vạn[1,*], Kim Minh Anh[1], Vũ Đức Mạnh[1], Đặng Thị Hóa[1], Trần Thị Trinh[1], Đoàn Thị Nhinh[1], Trương Đình Hoài[1]

TÓM TẮT

Nghiên cứu này được thực hiện trên cơ sở xác định tác nhân cơ hội trên 87 mẫu cá Nheo mỹ nuôi lồng bị bệnh đốm trắng nội tạng do ấu trùng sán gây ra nhằm đưa ra phác đồ xử lý bệnh hiệu quả. Các mẫu cá Nheo mỹ bị bệnh đóm trắng được thu về phòng thí nghiệm xác định tác nhân vi khuẩn bội nhiễm thông qua các phương pháp nuôi cấy, xác định hình thái, định danh bằng phương pháp thử phản ứng sinh hóa và giám định tác nhân bằng kỹ thuật PCR, thử kháng sinh đồ và lựa chọn kháng sinh cho quá trình điều trị. Kết quả nghiên cứu cho thấy, cá Nheo mỹ nuôi lồng bị bệnh đốm trắng nội tạng do ấu trùng sán có bội nhiễm 2 loài vi khuẩn *A. hydrophila* và *E. ictaluri* với tỷ lệ 13,8 và 19,5%, kết quả thử kháng sinh đồ cho thấy, 2 loài vi khuẩn bội nhiễm nhạy với kháng sinh Florphenicol, phác đồ điều trị sử dụng Praziquantel hoặc Ivermectin trong 3 ngày kết hợp với kháng sinh Florphenicol liều 15 - 20 mg/kg cá/ngày trộn thức ăn cho cá ăn 5 ngày liên tục đã điều trị thành công bệnh đốm trắng nội tạng cá Nheo mỹ nuôi lồng.

Từ khóa: *Bệnh đốm trắng nội tạng, cá Nheo mỹ, điều trị, vi khuẩn bội nhiễm.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cá Nheo mỹ là đối tượng thủy sản có giá trị kinh tế cao [1], được nuôi nhiều trong lồng ở khu vực phía Bắc [2] [3], khi nuôi cá Nheo mỹ thường bị nhiễm ấu trùng sán *Dollfustrema bagarii* gây bệnh đốm trắng nội tạng làm thiệt hại nhiều cho người nuôi cá [4]. Cá Nheo mỹ nuôi lồng nhiễm ấu trùng sán lên đến 59,7%, trong đó cá nuôi trên sông nhiễm nhiều hơn trên hồ, đốm trắng xuất hiện trên gan đến 82,8% số mẫu nhiễm [5].

Bệnh đốm trắng nội tạng cá Nheo mỹ rất dễ nhầm lẫn với bệnh gan thận mủ trên cá da trơn nhưng các đốm trắng này được Vũ Đức Mạnh và cs (2022) phân biệt [5]. Nhưng khi nuôi cá bị nhiễm ký sinh trùng thường gây tổn thương rất dễ bội nhiễm vi khuẩn cơ hội chính vậy liệu trình điều trị không để ý đến tác nhân cơ hội nhiều khi điều trị chưa mang lại hiệu quả. Vì vậy, trong khuôn khổ nghiên cứu chỉ đề cập đến nhóm vi khuẩn bội nhiễm trong bệnh đốm trắng nội tạng do ấu trùng sán từ đó đưa ra liệu trình điều trị phù hợp.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Thu mẫu, phân lập tác nhân gây bệnh

Mẫu cá Nheo mỹ bị bệnh đốm trắng nội tạng (n = 87) có dấu hiệu lở loét, bám thành lồng, bỏ ăn có khối lượng từ 0,3 - 3,5 kg/con được thu từ các lồng nuôi trên sông Cầu, sông Đuống, sông Hồng, sông Kinh Thầy khu vực các tỉnh: Hải Dương, Hà Nam, Hưng Yên, Bắc Ninh trong 2 năm 2021 - 2022. Với các dấu hiệu nghi mắc bệnh đốm trắng nội tạng do ấu trùng sán gây ra được thu mẫu từ thận trước của cá bệnh để tìm vi khuẩn bội nhiễm thông qua kiểm tra nhanh bằng phương pháp nhuộm tươi, phân lập vi khuẩn từ thận và nuôi cấy trên môi trường BHIA (Brain Heart Infusion Agar), kiểm tra, nuôi cấy thuần các chủng vi khuẩn theo phương pháp của Hoai và cs (2019) [6] sau đó thử các phản ứng sinh hóa sử dụng kit API 20E theo hướng dẫn của nhà sản xuất để sơ bộ định danh loài.

[1] Khoa Thủy sản, Học viện Nông nghiệp Việt Nam
* Email: kvvan@vnua.edu.vn

2.2. Giám định tác nhân gây bệnh

Sau khi kiểm tra hình thái khuẩn lạc, hình thái vi khuẩn và kết quả từ phản ứng sinh hóa sơ bộ nhận định vi khuẩn bội nhiễm. ADN của vi khuẩn gây bệnh được tách chiết sử dụng phương pháp tách chiết ADN bằng kit của QIAgen theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Cặp mồi dùng để hiện gen cfb đặc trưng, được sử dụng trong chẩn đoán và giám định vi khuẩn *A. hydrophila* và *E. ictaluri*. Hai cặp mồi dùng trong chẩn đoán vi khuẩn *A. hydrophila* (AeroH-F: GAAAGGTTGATGCCTAATACGTA;

AeroH-R: CGTGCTGGCAACAAAGGACAG)

và *E. ictaluri* (Ed-ictaluri-F: GTAGCAGGGAGAAAGCTTGC,

Ed-ictaluri-R: GAACGCTATTAACGCTCACACC) được sử dụng để giám định 2 loại vi khuẩn với sản phẩm PCR lần lượt là 625 và 470 bp. với sản phẩm PCR là 625 và 470 bp. Sản phẩm PCR được trộn với loading dye rồi chuyển vào các giếng của bản thạch kèm thang chuẩn ADN. Sử dụng nguồn điện di ở hiệu điện thế 100 V cường độ 100 mA, thời gian chạy điện di trong 40 phút và đọc kết quả [7].

2.3. Thử kháng sinh đồ

Các bước nghiên cứu kháng sinh đồ để lựa chọn kháng sinh phù hợp cho điều trị được thực hiện theo phương pháp mô tả bởi Hoai và cs (2019) [6]. Thử nghiệm được tiến hành trên 12 mẫu vi khuẩn *A. hydrophila* và 17 mẫu vi khuẩn *E. ictaluri* đại diện phân lập được cá Nheo mỹ bị bệnh đốm trắng do ấu trùng sán với 6 loại kháng sinh Florphenicol, Doxycycline, Amoxicilline, Sulfadiazine/Trimethoprime, Erythromycine. Các đĩa vi khuẩn sau khi đặt kháng sinh đồ được nuôi ở nhiệt độ 28^0C, kết quả được đo sau 36 giờ nuôi cấy. Việc xác định mức độ nhạy của kháng sinh với các chủng vi khuẩn gây bệnh được thực hiện dựa trên tiêu chuẩn CLSI 2017 [8].

2.4. Thử nghiệm liệu trình điều trị bệnh đốm trắng nội tạng cá Nheo mỹ trên các lồng nuôi bị bệnh

Bảng 1. Tóm tắt phác đồ xử lý bệnh cá Nheo mỹ bị bệnh đốm trắng nội tạng do ấu trùng sán

Phác đồ	Thuốc điều trị	Liều sử dụng (mg/kg cá)	Số ngày sử dụng thuốc	Số lồng theo dõi điều trị
1	Ivermectin Florfenicol	0,3 - 0,4 15 - 20	3 5	3
2	Praziquantel Florfenicol	40 - 50 15 - 20	3 5	3
ĐC1	Ivermectin	0,3 - 0,4	3	3
ĐC2	Praziquantel	40 - 50	3	3

Ghi chú: ĐC: Đối chứng

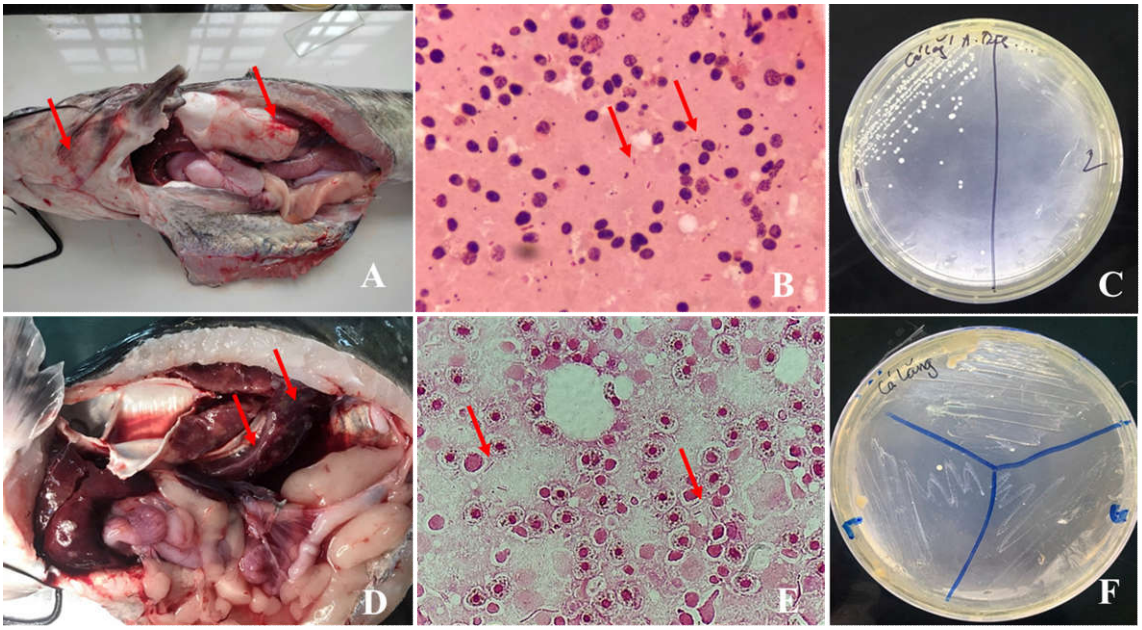
Trong số 12 lồng nuôi cá Nheo mỹ bị bệnh đốm trắng nội tạng từ các hộ dân nuôi cá lồng trên sông tại các tỉnh: Bắc Ninh (sông Đuống), Hưng Yên, Hà Nam (sông Hồng) được thu mẫu, xác định tác nhân gây bệnh chính và phân lập vi khuẩn, thử kháng sinh đồ được theo dõi các biện pháp xử lý bệnh và diễn biến của bệnh với 2 phác đồ cho 12 lồng thử nghiệm điều trị, sử dụng kháng sinh theo 2 liệu pháp được lặp lại cho 3 lồng bằng cách trộn đều kháng sinh vào thức ăn viên để ấm sau 10 phút cho cá ăn liên tục trong 5 ngày (Phác đồ 1 sử dụng thuốc diệt sán Praziquantel với liều 40 - 50 mg/kg cá/ngày dùng trong 3 ngày kết hợp kháng sinh Florphenicol với liều 15 - 20 mg/kg cá/ngày [9]; phác đồ 2 sử dụng thuốc diệt ký sinh trùng Ivermectin trong 3 ngày với liều 0,3 - 0,4 mg/kg cá/ngày kết hợp kháng sinh Florphenicol như phác đồ 1 và đối chứng không dùng kháng sinh). Các phác đồ sử dụng kháng sinh được thực hiện dựa trên các kết quả nghiên cứu về việc dùng kháng sinh điều trị bệnh nhiễm khuẩn ở cá bằng đường cho ăn của Lim và cs (2017) [10], sử dụng thuốc ký sinh trùng theo Kim Van Van và cs (2012) [11]. Các lồng điều trị thử nghiệm sau khi dừng thuốc kháng sinh 2 ngày đều dùng chế phẩm vi sinh và bổ sinh vitamin hỗn hợp nhằm nâng cao

sức đề kháng. Tỷ lệ cá chết trong quá trình điều trị là số cá Nheo mỹ chết nổi lên trong tổng đàn mà nghiên cứu quan sát được trong các ngày điều trị, tỷ lệ cá khỏi bệnh là tỷ lệ còn lại được tính trên cơ sở tỷ lệ cá thả còn đến thời điểm xảy ra dịch bệnh trừ đi tỷ lệ cá đã chết trong điều trị. Tỷ lệ, cường độ nhiễm trước và sau điều trị được tính dựa trên cơ sở thu mẫu ngẫu nhiên mỗi lồng 10 con cá Nheo mỹ, cường độ nhiễm được tính dựa trên số ấu trùng sán/gram gan cá Nheo mỹ bị bệnh đốm trắng nội tạng. Cá kiểm tra sau điều trị được thu từ các lồng sau ngày đầu dùng thuốc 7 ngày. Tóm tắt thử nghiệm điều trị được thể hiện ở bảng 1.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả phân lập, định danh và giám định tác nhân vi khuẩn bội nhiễm trên cá Nheo mỹ bị bệnh đốm trắng nội tạng

Trong số 87 mẫu cá bệnh (Hình 1) được thu từ 9 tỉnh thành có nuôi cá Nheo mỹ trong lồng trong thời gian từ năm 2021 - 2022, khi phân lập và nhận dạng vi khuẩn bằng phương pháp nhuộm tươi mô thận và thu mẫu nuôi cấy vi khuẩn gây bệnh từ thận trước đã bắt gặp vi khuẩn bội nhiễm. Kết quả nhuộm, soi tươi mô thận cá bệnh được thể hiện ở hình 1.

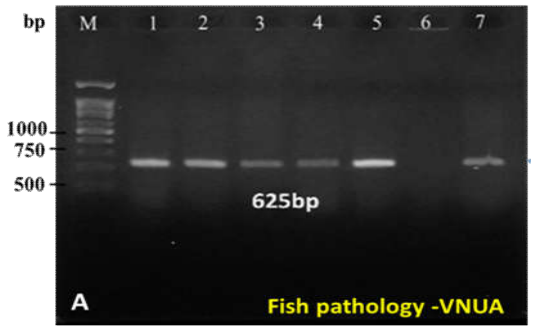


Hình 1. Cá Nheo mỹ bị bệnh đốm trắng nội tạng có bội nhiễm vi khuẩn (A - C: Nghi bội nhiễm vi khuẩn *Aeromonas* sp.; D - F: Nghi bội nhiễm vi khuẩn *Edwarsiella* sp.)

Bảng 2. Kết quả kiểm tra bội nhiễm vi khuẩn từ mẫu cá Nheo mỹ bị bệnh

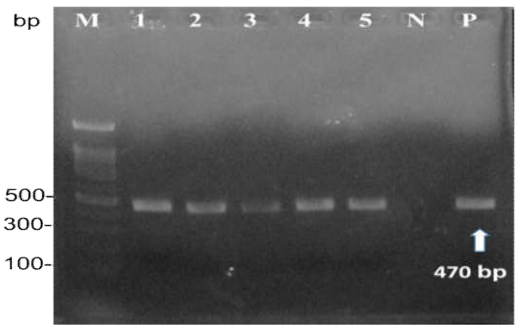
Nguồn mẫu	Số lượng mẫu có ấu trùng sán	Số lượng mẫu bội nhiễm vi khuẩn	
		Aeromonas sp.	*Edwrardsiella* sp.
Sơn La	2	1	1
Hòa Bình	8	1	2
Yên Bái	7	1	2
Tuyên Quang	1	0	1
Phú Thọ	12	3	2
Bắc Ninh	14	2	2
Hải Dương	15	2	3
Hà Nội	13	1	2
Hà Nam	15	1	2
Tổng	87	12	17
Tỉ lệ % mẫu nhiễm vi khuẩn		13,8	19,5

Kết quả phân lập vi khuẩn từ mẫu cá bệnh, kiểm tra hình thái khuẩn lạc, thực hiện các phản ứng sinh hóa sử dụng bộ test API 20E cho kết quả tác nhân gây bệnh là *A. hydrophila* và *E. ictaluri*. Kết quả giám định vi khuẩn gây bệnh bằng kỹ thuật PCR một lần nữa khẳng định cá Nheo mỹ bị bội nhiễm 2 loài vi khuẩn nói trên (Hình 2).



A. hydrophila

M: Marker; giếng 1-5: 5 Chủng vi khuẩn đại diện ngẫu nhiên phân lập từ cá bệnh; giếng 6: Đối chứng âm; giếng 7: Đối chứng dương.



E. ictaluri

M: Marker; giếng 1-5: Mẫu vi khuẩn *E. ictaluri*; giếng N: Đối chứng âm; giếng P: Đối chứng dương

Hình 2. Kết quả giám định vi khuẩn gây bệnh trên cá Nheo mỹ bằng kỹ thuật PCR

3.2. Kết quả thử kháng sinh đồ

Sau khi giám định vi khuẩn, các mẫu vi khuẩn thu được, được tiến hành thử kháng sinh đồ để lựa chọn kháng sinh phù hợp phục vụ phác đồ điều trị. Kết quả thử kháng sinh đồ với 6 loại kháng sinh được thể hiện ở bảng 3, 4 và hình 3, 4.

Bảng 3. Kết quả thử kháng sinh đồ của vi khuẩn *A. hydrophila* bội nhiễm trong bệnh đốm trắng nội tạng cá Nheo mỹ do ấu trùng sán gây ra (n = 12)

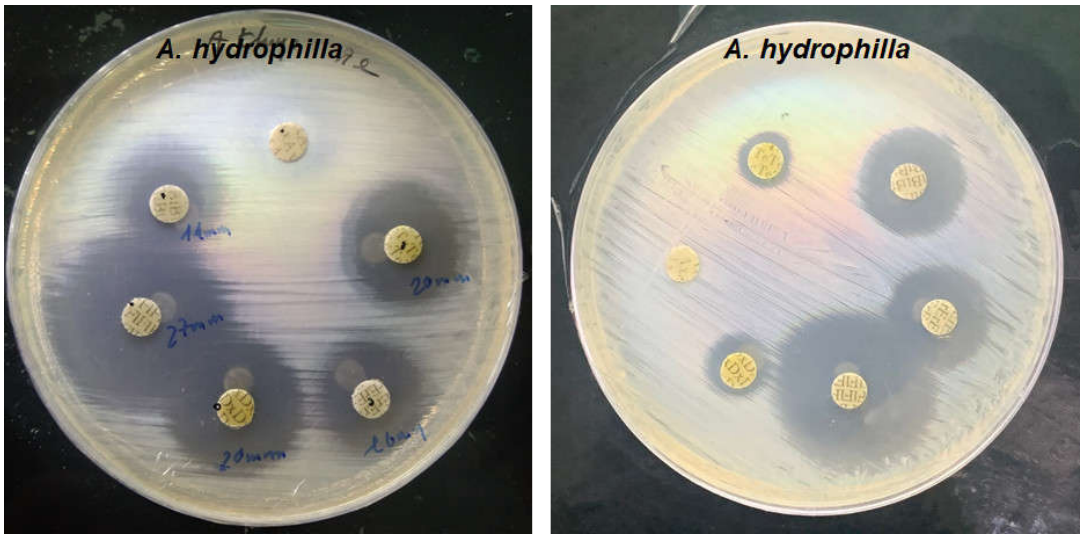
STT	Kháng sinh (µg/đĩa)	Các mức kháng/nhạy - Số chủng (Tỉ lệ %)		
		Kháng	Nhạy trung bình	Nhạy
1	Amoxicillin (Ax: 25)	75,0	25,0	0,0
2	Erythromycin (Er: 15)	25,0	33,3	41,7
3	Sulfamethoxazole /Trimethoprim(BT: 23,75/1,25)	25,0	50,0	25,0
4	Doxycycline (Dx: 30)	16,7	16,7	66,7
5	Oxytetracycline (OTC: 30)	16,7	33,3	50,0
6	Florfenicol (Fl: 30)	8,3	16,7	75,0

Ghi chú: n là số chủng vi khuẩn A. hydrophila phân lập từ các mẫu cá Nheo mỹ bệnh.

Bảng 4. Kết quả thử kháng sinh đồ của vi khuẩn *E. ictaluri* bội nhiễm trong bệnh đốm trắng nội tạng cá Nheo mỹ do ấu trùng sán gây ra (n = 17)

STT	Kháng sinh (µg/đĩa)	Các mức kháng/nhạy - Số chủng (Tỉ lệ %)		
		Kháng	Nhạy trung bình	Nhạy
1	Amoxicillin (Ax: 25)	70,6	29,4	0,0
2	Erythromycin (Er: 15)	47,1	35,3	17,6
3	Sulfamethoxazole/Trimethoprim (BT: 23,75/1,25)	64,7	35,3	0,0
4	Doxycycline (Dx: 30)	0,0	29,4	70,6
5	Oxytetracycline (OTC: 30)	17,6	41,2	41,2
6	Florfenicol (Fl: 30)	5,9	29,4	64,7

Ghi chú: n là số chủng vi khuẩn E. ictaluri phân lập từ các mẫu cá Nheo mỹ bệnh.



Hình 3. Kết quả thử kháng sinh đồ vi khuẩn *A. hydrophila*



Hình 4. Kết quả thử kháng sinh đồ vi khuẩn *E. ictaluri*

3.3. Kết quả thử nghiệm điều trị bệnh đốm trắng nội tạng cá Nheo mỹ nuôi lồng

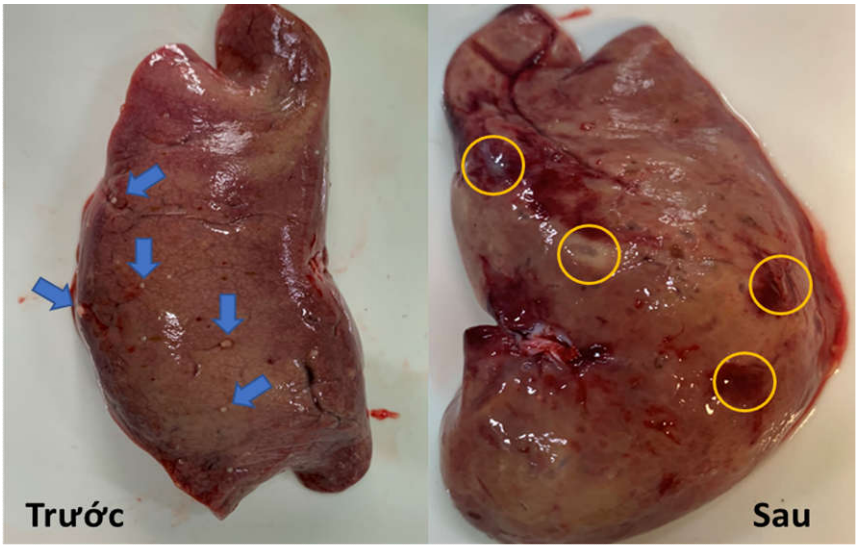
Trong số lồng nuôi cá Nheo mỹ bị bệnh trên các sông: Sông Hồng, sông Đuống thuộc các tỉnh: Hưng Yên, Hà Nam, Bắc Ninh đã được tiến hành điều trị theo phác đồ sử dụng thuốc ký sinh trùng cho ăn trong 3 ngày đầu cùng với dùng kháng sinh điều trị bội nhiễm trên cơ sở các kháng sinh đã được thử kết quả kháng sinh đồ và tiến hành theo dõi trong và sau dùng thuốc về tỷ lệ nhiễm, cường độ nhiễm, mức độ bệnh và khỏi bệnh. Kết quả theo dõi điều trị thể hiện ở bảng 5, 6 và hình 5.

Bảng 5. Tỷ lệ và cường độ nhiễm bệnh đốm trắng nội tạng cá Nheo mỹ nuôi lồng trước và sau điều trị

Tên nghiệm thức	Tỷ lễ nhiễm trước điều trị (%)	Cường độ nhiễm trước điều trị	Tỷ lệ nhiễm sau điều trị (%)	Cường độ nhiễm sau điều trị
NT1	86,7	$4,66^{ab} \pm 0,85$	46,7	$1,39^{b} \pm 0,85$
NT2	100	$5,26^{a} \pm 3,69$	50,0	$1,48^{a} \pm 0,96$
ĐC1	86,7	$4,22^{b} \pm 0,98$	40,0	$1,32^{b} \pm 0,34$
ĐC2	90,0	$3,96^{b} \pm 1,68$	46,7	$1,44^{a} \pm 0,49$

Bảng 6. Kết quả theo dõi điều trị bệnh đốm trắng nội tạng cá Nheo mỹ nuôi lồng

Tên nghiệm thức	Tỉ lệ chết trung bình/ngày trước điều trị (%)	Tỉ lệ chết trong khi sử dụng thuốc (%)	Tỉ lệ chết trung bình/ngày sau điều trị (%)	Tỉ lệ sống sau điều trị (%)
NT1	$5,7^{a} \pm 1,5$	$0,4^{b} \pm 0,1$	$0,2^{a} \pm 0,1$	$97,8^{a} \pm 0,9$
NT2	$6,1^{a} \pm 1,2$	$0,5^{b} \pm 0,2$	$0,3^{a} \pm 0,1$	$96,8^{a} \pm 1,2$
ĐC1	$5,0^{ab} \pm 0,3$	$0,7^{a} \pm 0,2$	$0,5^{b} \pm 0,2$	$90,2^{b} \pm 2,3$
ĐC2	$4,3^{b} \pm 0,3$	$0,6^{ab} \pm 0,1$	$0,4^{ab} \pm 0,2$	$91,3^{b} \pm 2,5$



Hình 5. Gan cá Nheo mỹ bị bệnh đốm trắng nội tạng trước và sau điều trị

Cả 2 lô thí nghiệm (kết hợp thuốc ký sinh trùng với thuốc kháng sinh chống bội nhiễm vi khuẩn) và 2 lô đối chứng (chỉ dùng thuốc ký sinh trùng không dùng kháng sinh) khi điều trị đều cho kết quả khỏi bệnh lên đến trên 90% số cá trong các lồng nhiễm bệnh đốm trắng nội tạng. Qua kết quả thử nghiệm điều trị cho thấy phác đồ điều trị bệnh đốm trắng nội tạng do ấu trùng sán có bội nhiễm vi khuẩn bằng 1 trong 2 loại thuốc ký sinh trùng kết hợp với kháng sinh Florphenicol với hàm lượng 15 - 20 mg/kg khối lượng cá, liệu trình cho ăn 5 ngày liên tục trên cơ sở thử kháng sinh đồ có độ nhạy cao chung cho cả hai loại vi khuẩn bội nhiễm đã mang lại hiệu quả điều trị tốt hơn 2 lô đối chứng chỉ dùng thuốc ký sinh trùng và không bổ sung kháng sinh mặc dù các lô đối chứng có tỷ lệ nhiễm và cường độ nhiễm thấp hơn các lô thí nghiệm trước điều trị. Kết quả điều trị ở thí nghiệm này cao hơn kết quả điều trị bệnh nhiễm khuẩn của cá Nheo mỹ [12] điều này có thể do vi khuẩn bội nhiễm ở đây có tỷ lệ nhiễm thấp hơn, hơn nữa cá bệnh được để yên trong các lồng nuôi ít bị stress hơn cá ăn được thức ăn trộn thuốc tốt hơn. Sau điều trị 7 ngày thu mẫu kiểm tra vẫn thấy còn tỷ lệ nhiễm cao, cường độ nhiễm còn tuy không thấy cá chết nhưng theo nhóm nghiên cứu có thể khi bị bệnh cá ăn ít chưa đủ liều điều trị triệt để, hoặc cũng có thể vừa mới kết thúc đợt điều trị đã thu mẫu kiểm tra ngay nên cũng có một số ấu trùng sán nằm bất động, hoặc mới chết chưa phân giải hết,

Đối với bệnh này phác đồ điều trị tổng hợp khuyến cáo cần sự hỗ trợ của các thiết bị cung cấp ô xy như máy bơm, máy tạo dòng nước nhằm tăng lượng ô xy hòa tan, nên cho cá ăn thức ăn trộn thuốc khi cá mới nhiễm bệnh còn ăn, cần tính toán khối lượng cá để đảm bảo đủ liều, sau dừng thuốc ký sinh trùng, kháng sinh cần sử dụng chế phẩm vi sinh để bổ sung vi sinh vật có lợi và thuốc giải

độc, bổ gan nhằm hạn chế tác hại của độc tố do ấu trùng sán, độc tố của vi khuẩn bội nhiễm.

4. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ XUẤT

Cá Nheo mỹ bị bệnh đốm trắng nội tạng do ấu trùng sán *D. bagarii* có bội nhiễm 2 loại vi khuẩn *A. hydrophila* và *E. ictaluri*, với tỷ lệ 13,8 và 19,5% số mẫu cá bệnh. Các loài vi khuẩn này có tính nhạy cao với kháng sinh Florphenicol.

Thuốc Praziquantel hoặc Ivermectin kết hợp với kháng sinh Florphenicol với liều 15 - 20 mg/kg cá/ngày trong 5 ngày đã mang lại hiệu quả trong điều trị bệnh. Kết quả nghiên cứu có ý nghĩa thực tiễn giúp cho nghề nuôi cá Nheo mỹ trong lồng giảm thiểu dịch bệnh và phát triển bền vững trong tương lai.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Kim Văn Vạn (2017). Xây dựng mô hình nuôi cá Nheo mỹ trong ao tại Hưng Yên. *Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam*, 15 (6): 738-745.

2. Kim Văn Vạn, Nguyễn Thành Trung (2018). Hiện trạng và giải pháp phát triển nuôi cá lồng trên địa bàn tỉnh Bắc Ninh. *Tạp chí Nông nghiệp và PTNT*, số 9, trang 93-100.

3. Vũ Đức Mạnh, Chu Đức Quý, Trương Đình Hoài và Kim Văn Vạn (2022). Hiện trạng nuôi cá Nheo mỹ (*Ictalurus punctatus*) trong lồng tại một số vùng nuôi trọng điểm miền Bắc. *Tạp chí Nông nghiệp và PTNT*, 18: 101-109.

4. Kim, V. V., Nguyen, H. M., Greiman,S. E., Nguyen, H. V., Nguyen, C. N., Vu, M. D., Hoai, T. D., & Madsen, H. (2022). Molecular and morphologicalcharacterization of *Dollfustrema bagarii* (Digenea: Bucephalidae) metacercariae from aquaculture channel catfish (*Ictalurus punctatus*) in northern Vietnam. *Journal of Fish Diseases*, *00*, 1-7. https://doi.org/10.1111/jfd.13651.

5. Vũ Đức Mạnh, Kim Minh Anh, Nguyễn Mạnh Hùng, Đỗ Đình Hùng, Trương Đình Hoài, Đặng Thị Lụa, Kim Văn Vạn (2022). Bệnh đốm trắng nội tạng cá Nheo mỹ (*Ictalurus punctatus*) nuôi lồng khu vực phía Bắc do ấu trùng sán lá *Dollfustrema bagarii* gây ra. *Tạp chí Khoa học Kỹ thuật Thú y,* 29 (6): 62-69.

6. Hoai, T. D., Trang, T. T., Van Tuyen, N., Giang, N. T. H., & Van Van, K. (2019). *Aeromonas veronii* caused disease and mortality in channel catfish in Vietnam. *Aquaculture*, 513, 734425.

7. Trương Đình Hoài, Kim Văn Vạn, Đào Lê Anh, Nguyễn Thị Huyên, Nguyễn Văn Tuyến, Vũ Đức Mạnh, Nguyễn Thị Hương Giang, Trương Quang Lâm, Nguyễn Thị Lan (2020). Đặc điểm bệnh lý và ứng dụng phương pháp PCR chẩn đoán bệnh gan thận mủ trên cá Nheo mỹ (*Ictalurus punctatus*). *Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam*, 18 (2): 94 -104.

8. Clinical and Laboratory Standards Institute. (2017). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. CLSI supplement M100.

9. Kim Văn Vạn, Trương Đình Hoài (2021). Tác nhân gây bệnh đỏ mắt ở cá Trắm đen (*Mylopharyngodon piceus*) và kết quả điều trị. *Tạp chí Khoa học và Kỹ thuật Thú y*. Tập XXVIII số 6, trang 52 - 58.

10. Lim, J. W., Jung, M. H., Jung, S. J., Kim, D. H., Park, H. K. & Kang, S. Y. (2017). The efficacy of amoxicillin sodium against streptococcosis in cultured olive flounder *Paralichthys olivaceus* and its pharmacokinetics. *Jour. Vet. Phar. and Therapeutics*. Vol. 40 (1): 77-87.

11. Kim Van Van, Truong Dinh Hoai, Kurt Buchmann, Ander Dalgaard & Nguyen Van Tho. (2012). Efficacy of Praziquantel against *Centrocestus formosanus* metacercariae infections in common carp (*Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758). *Journal of Southern Agriculture*. ISSN 2095-1191. Vol 43 (4): 520-523.

12. Nguyễn Thị Dung, Lê Việt Dũng, Kim Văn Vạn, Trương Đình Hoài (2022). Thử nghiệm kết hợp nano bạc với Florphenicol trong điều trị bệnh do vi khuẩn *Aeromonas veronii* trên cá Nheo mỹ (*Ictalurus punctatus*). *Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam*, 20 (4): 475 - 483.

DETERMINATION OF SECONDARY BACTERIAL PATHOGEN IN INTERNAL ORGANS WHITE SPOT DISEASE OF CHANNEL CATFISH (*Ictalurus punctatus*) AND TREATMENT

Kim Van Van[1], Kim Minh Anh[1], Vu Duc Manh[1],

Doan Thi Nhinh[1], Truong Dinh Hoai[1]

[1] Faculty of Fiseries, Vietnam National University of Agriculture

Summary

This study aimed to determine the causative agents of Internal Organs White Spot Disease in farmed Channel catfish (*Ictalurus punctatus*) and develop an effective treatment. 87 channel catfish diseased samples were collected from a fish farm and subjected to laboratory analysis to identify the secondary bacterial pathogens. Bacterial isolates were cultured, morphologically characterized, and identified using biochemical reactions and PCR techniques. Antibiotic susceptibility testing was performed, followed by antibiotic selection for the treatment process. The results revealed that channel catfish affected by Internal Organ White Spot Disease exhibited a prevalence of bacterial coinfection, with *A. hydrophila* and *E. ictaluri* accounting for 13.8% and 19.5% of the cases, respectively. Antibiotic susceptibility testing demonstrated that the two bacterial species were sensitive to Florphenicol. Based on the findings, a treatment protocol consisting of Praziquantel or Ivermectin administered for three consecutive days, in combination with Florphenicol at a dosage of 15 - 20 mg/kg fish/day, mixed with feed for five consecutive days, successfully treated Internal Organ White Spot Disease in farmed channel catfish.

Keywords: *Internal Organ White Spot Disease, Ictalurus punctatus, treatment, second bacterial pathogen.*

Người phản biện: TS. Lê Hồng Phước

Ngày nhận bài: 21/7/2023

Ngày thông qua phản biện: 11/8/2023

Ngày duyệt đăng: 22/9/2023

XÁC ĐỊNH NGƯỠNG GÂY BỆNH SỮA TÔM HÙM XANH (*Panulirus homarus*) NUÔI LỒNG Ở CÁC TỈNH NAM TRUNG BỘ VÀ ĐỀ XUẤT GIẢI PHÁP PHÒNG NGỪA

Võ Thị Ngọc Trâm[1,*], Võ Văn Nha[1],
Nguyễn Thị Chi[1], Hà Thị Thanh Huyền[1], Nguyễn Thị Tú Anh[2]

TÓM TẮT

Nghiên cứu này được tiến hành từ tháng 6/2020 đến tháng 4/2023, đã thu, phân tích mẫu tôm hùm xanh, mẫu nước ở 54 lồng nuôi nghi ngờ bị bệnh sữa, 72 lồng nuôi không nghi ngờ bệnh sữa tại hai tỉnh: Phú Yên, Khánh Hòa và thử nghiệm hiệu quả phòng ngừa bệnh bằng việc sử dụng các chế phẩm/hoạt chất sinh học trộn vào thức ăn cho tôm hùm ăn. Sử dụng phần mềm thống kê sinh học chuyên dùng SPSS, với phương pháp đường cong ROC (Receiver Operating Charactetistic) nhằm so sánh, xác định ngưỡng (điểm cắt) của tác nhân gây bệnh sữa và phương pháp One way Anova, với kiểm định Duncan nhằm so sánh sự khác biệt trung bình giữa các nhóm thực nghiệm với nhau để xử lý các số liệu thu được. Kết quả nghiên cứu cho thấy, ở ngưỡng mật độ rickettsia - like bacterium (RLB) 1,0 x 10^3 RLB/ml máu tôm, bệnh sữa xuất hiện là rõ ràng nhất. Ngoài ra, mật độ *Vibrio* spp. và *V. alginolyticus* trong gan tuỵ tôm lần lượt ≥ 8,4 x 10^5 cfu/g và 6,8 x 10^5 cfu/g cũng có mối quan hệ chặt chẽ ($p < 0,05$) với tôm hùm xanh bị bệnh sữa. Mặt khác, kết quả cũng đã chỉ ra việc sử dụng chế phẩm sinh học (thành phần chính là *Bacillus* spp., *Lactobacillus* spp., hàm lượng 10^8 cfu/g) kết hợp với vitamin và khoáng chất tổng hợp (thành phần chính là vitamin C, B2, B9, A, biotin, các muối của Ca, P, Zn, Mg), trộn 5 g/kg thức ăn, cho ăn liên tục 5 ngày, cách 5 - 10 ngày cho ăn 1 đợt, đã kiểm soát được RLB dưới ngưỡng gây bệnh sữa ở tôm hùm xanh.

Từ khóa: *Bệnh sữa, đường cong ROC, RLB, tôm hùm xanh.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh sữa trên tôm hùm đã xuất hiện tại Việt Nam vào đầu năm 2006 và lan rộng thành dịch làm chết hàng loạt tôm hùm nuôi lồng ở các tỉnh miền Trung và gây ra thiệt hại kinh tế lớn cho người dân ven biển [1]. Lightner và cs (2008) [2] cho thấy, đã xác định tác nhân gây bệnh sữa ở tôm hùm (MHD) nuôi lồng ở Việt Nam là vi khuẩn ký sinh nội bào trong tế bào mô liên kết của nhiều cơ quan khác nhau, tựa rickettsia (rickettsia like bacteria - RLB). RLB cảm nhiễm toàn thân tôm hùm, xâm nhập và tồn tại trong hemolymph của máu tôm bệnh, làm máu đục như sữa, mô cơ ở phần bụng chuyển sang màu trắng đục hay vàng đục, tôm bỏ ăn và chết, thường xảy ra ở giai đoạn tôm 50 - 500 g/con và có thể lây lan nhanh giữa các vùng nuôi [3].

RLB có đặc điểm dạng que, cong như vành trăng khuyết, Gram âm, chiều dài 1,5 - 2,0 µm, không có tiên mao hay tiêm mao, có một lớp vỏ. Không thể nuôi cấy vi khuẩn này trên các môi trường dinh dưỡng tổng hợp thông thường [2]. Theo Prescott và cs (2013) [4], RLB là loài bắt buộc ký sinh trong nội bào, nên sự tồn tại của RLB phụ thuộc vào sự tồn tại, phát triển và nhân rộng trong tế bào chất hoặc trong nhân tế bào chủ. Phương pháp phát hiện RLB bao gồm việc quan sát sự biến đổi mô tế bào học nhuộm H&E (phương pháp mô học) và phương pháp PCR [2]. Nunan và cs (2010) [5], Isti Koesharyani và cs (2016) [6] đã sử dụng phương pháp PCR để chẩn

[1] Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản III
[2] Trường Cao đẳng Cộng đồng Đắk Nông
[*] Email: ngoctram@ria3.vn

đoán tác nhân RLB gây bệnh sữa tôm hùm. Tất cả những chẩn đoán trên là cơ sở quan trọng trong việc xác định chính xác tác nhân gây bệnh sữa ở tôm hùm.

Đã có những phát đồ điều trị bệnh sữa trên tôm hùm bằng cách tiêm hay trộn kháng sinh vào thức ăn, treo túi thuốc khử trùng quanh lồng nuôi, cũng như một số biện pháp khác đã được đề nghị sử dụng như: Quản lý chất lượng nguồn nước; lựa chọn địa điểm nuôi; thiết kế hệ thống nuôi; loại bỏ những cá thể nhiễm bệnh ra khỏi vùng nuôi; cung cấp đầy đủ chất dinh dưỡng; sử dụng thức ăn có nguồn gốc nước ngọt; thức ăn không phải là giáp xác,… Tuy nhiên, bệnh sữa ở tôm hùm vẫn xuất hiện, gây thiệt hại lớn cho người nuôi trong vài năm gần đây. Đồng thời chưa có nghiên cứu nào trong nước về việc sử dụng các chế phẩm hay hoạt chất sinh học để kiểm soát RLB gây bệnh sữa trên tôm hùm. Một vài nghiên cứu trong phòng thí nghiệm ở Úc đã sử dụng chế phẩm/hoạt chất sinh học MOS bổ sung 0,4% vào thức ăn tôm hùm, đã cho kết quả khả quan, cải thiện được tăng trưởng và tỷ lệ sống của tôm hùm [7].

Tuy nhiên, cho đến nay chưa có nghiên cứu nào đề cập đến quy trình kiểm soát tác nhân RLB gây bệnh sữa trên tôm hùm, cũng như việc xác định giá trị ngưỡng của RLB gây bệnh sữa dựa vào việc thu và phân tích mẫu tôm hùm xanh nghi ngờ và không nghi ngờ bệnh ở các lồng nuôi ngoài thực địa để so sánh xác định giá trị ngưỡng (điểm cắt) bằng phần mềm thống kê chuyên dùng SPSS.

Nhằm làm cơ sở để đề xuất các giải pháp kiểm soát bệnh sữa dựa trên việc tìm ra ngưỡng gây bệnh của tác nhân trong điều kiện cụ thể tại các lồng nuôi tôm hùm xanh, việc thực hiện nghiên cứu xác định ngưỡng RLB gây bệnh sữa trên tôm hùm xanh nuôi lồng tại các tỉnh Nam Trung bộ và đề xuất giải pháp phòng ngừa là cần thiết.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Thu thập, phân tích mẫu để xác định giá trị điểm cắt (ngưỡng)

Thu thập mẫu tôm hùm xanh và mẫu nước cùng một thời điểm tại các lồng nuôi ở tỉnh Phú Yên (vùng biển thôn Phú Mỹ, xã Xuân Phương; vùng biển thôn Phước Lý, phường Xuân Yên, thị xã Sông Cầu) và tỉnh Khánh Hòa (vùng biển thôn Xuân Tự, xã Vạn Hưng; vùng biển Đầm Môn, xã Vạn Thạnh, huyện Vạn Ninh; vùng biển thôn Bình Ba, xã Cam Bình, thành phố Cam Ranh). Số lượng mẫu thu được thể hiện ở bảng 1.

Bảng 1. Số lượng mẫu (tôm hùm và nước lồng nuôi tương ứng) tại hai tỉnh Phú Yên và Khánh Hòa

Số lượng mẫu tôm hùm xanh tại các lồng nuôi	Tỉnh Phú Yên (n=62)		Tỉnh Khánh Hoà (n=64)			Tổng
	Thôn Phước Lý	Thôn Phú Mỹ	Vùng Đầm Môn	Thôn Xuân Tự	Thôn Bình Ba	
Lồng nghi ngờ bị bệnh sữa (lồng)	13	14	10	9	8	54
Lồng không nghi ngờ bị bệnh sữa (lồng)	20	15	13	14	10	72
Tổng (lồng)	33	29	23	23	18	126

Ghi chú: n là tổng số mẫu thu (lồng).

Lồng nuôi nghi ngờ bị bệnh sữa là lồng có tôm hùm xanh biểu hiện dấu hiệu bệnh lý đặc trưng của bệnh sữa (hoạt động không bình thường như bỏ ăn, nằm riêng ở góc lồng, có đường chỉ trắng ở bụng, sau đó có một số vùng đục màu trắng sữa nằm rải rác đến trắng đục toàn phần cơ thịt bụng, nhìn từ giữa giáp đầu ngực cũng phát hiện màu trắng sữa). Lồng nuôi không nghi ngờ bị bệnh sữa là những lồng không thuộc lồng nghi ngờ bệnh sữa. Tôm hùm xanh tại các lồng được kiểm tra khẳng định nhiễm RLB bằng kỹ thuật soi tươi máu tôm hùm trên kính hiển vi quang học Olympus CX23.

Mẫu thu được vận chuyển về Phòng thí nghiệm, Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thuỷ sản III bằng thùng lạnh để phân tích, phương pháp phân tích các thông số N- NH_4^+, H_2S, COD tương ứng là Salicylate Method (Method 8155 Hach), Method

8131 Hach và TCVN 6186: 1996 [8]. Riêng nhiệt độ, pH, độ mặn, DO nước tại lồng nuôi được đo chỗ bằng máy đo đa chỉ tiêu Horiba, có độ chính xác 0,01 đơn vị đo.

Tôm hùm xanh thu ở các lồng được phân tích các chỉ tiêu: RLB, *V. alginolyticus* và *Vibrio* spp.

Phương pháp định lượng RLB, *Vibrio* spp., *V. alginolyticus* trong các mẫu tôm và mẫu nước theo các bước như sau:

+ Định lượng RLB (RLB/ml máu) trong dịch máu tôm hùm xanh bằng buồng đếm hồng cầu (Hemocytometer) trên kính hiển vi quang học Olympus CX23 có gắn camera quan sát và kết nối với máy vi tính, được đọc bởi phần mềm Motic Images Plus Ver. 2.0.

+ Định lượng *Vibrio* spp. tổng số (cfu/mL hoặc cfu/g gan tuỵ tôm) bằng phương pháp đếm khuẩn lạc trên môi trường chọn lọc Thiosulfate Citrate Bile Salts Sucrose (TCBS).

+ Định lượng *V. alginolyticus* được thực hiện bằng phương pháp đếm khuẩn lạc trên môi trường Chrom agar (CA), khuẩn lạc có màu trắng trên môi trường CA đó chính là *V. alginolyticus*.

2.2. Bố trí thí nghiệm, phân tích mẫu để so sánh hiệu quả phòng trị bệnh sữa do RLB của các hoạt chất/chế phẩm sinh học quy mô phòng thí nghiệm

- Thí nghiệm được bố trí 30 tôm hùm xanh/bể composit 1.000 lít (khối lượng 220,3 ± 15,1 g/con, bơi nhanh nhẹn, khoẻ, vỏ sáng và đủ phần phụ, được kiểm tra ngẫu nhiên 3 mẫu không bị nhiễm RLB). Thí nghiệm được lặp lại 3 lần, với các nghiệm thức:

+ Nghiệm thức 1: Dùng hoạt chất sinh học A + thảo dược B, sau khi cảm nhiễm;

+ Nghiệm thức 2: Dùng thảo dược B + vitamin - khoáng chất D, sau khi cảm nhiễm;

+ Nghiệm thức 3: Dùng chế phẩm sinh học C + vitamin - khoáng chất D, trước khi cảm nhiễm;

+ Nghiệm thức 4 (ĐC +): Đối chứng dương, cảm nhiễm vi khuẩn, cho ăn bình thường;

+ Nghiệm thức 5 (ĐC -): Đối chứng âm, không cảm nhiễm vi khuẩn, cho ăn bình thường;

Mỗi một nghiệm thức thí nghiệm được bố trí 2 nhịp cho ăn:

- Nhịp 5 ngày: Trộn 5 g sản phẩm/kg thức ăn, cho ăn 5 ngày mỗi đợt, 3 đợt/tháng;

- Nhịp 10 ngày: Trộn 5 g sản phẩm/kg thức ăn, cho ăn 5 ngày mỗi đợt, 2 đợt/tháng.

- Thức ăn sử dụng trong thí nghiệm là cá liệt tươi cắt nhỏ, phù hợp cỡ miệng tôm hùm xanh, được ngâm thuốc tím 5 ppm trong 20 phút sau đó để ráo, kiểm tra không nhiễm V. *alginolyticus*, RLB ngẫu nhiên 3 mẫu, trước khi cho tôm ăn. Thức ăn dùng cho thí nghiệm đã được chuẩn bị có thể bảo quản trong tủ đông - 20oC.

- Các sản phẩm dùng trong thử nghiệm: Hoạt chất sinh học A: Có thành phần chính là *Bacillus subtilis*, protein từ xác nấm men, Betaglucan; thảo dược B: Có thành phần chính chiết xuất từ tỏi; chế phẩm sinh học C: Có thành phần chính là *Bacillus* spp., *Lactobacillus* spp., *Saccharomyces* sp., hàm lượng 10^8 cfu/g; vitamin - khoáng chất D: Có thành phần chính là vitamin C, B2, B9, A, biotin, các muối của Ca, P, Zn, Mg. Chế phẩm sinh học, hoạt chất sinh học hay thảo dược đã được nhiều nghiên cứu chứng minh có tác dụng kích thích hệ miễn dịch, ức chế vi khuẩn gây bệnh và thân thiện với môi trường [9], [10], [11]; vitamin - khoáng chất giúp tăng cường sức đề kháng của tôm hùm đối với vi khuẩn gây bệnh [12]. Do vậy việc kết hợp các chất/chế phẩm làm tăng hiệu quả trong phòng trị bệnh vi khuẩn trên tôm hùm nuôi là khả thi.

- Chuẩn bị dịch RLB thuần: Cho mẫu máu tôm bệnh sữa (mẫu được thu từ tôm hùm xanh bị bệnh sữa ở các lồng nuôi tại vịnh Xuân Đài, tỉnh Phú Yên) với các dấu hiệu như tôm hoạt động kém, giảm ăn, các đốt và cơ thịt ở phần bụng trắng đục, dịch tiết cơ thể bao gồm cả máu có màu trắng đục như sữa và khó đông) vào ống Eppendorf 1,5 ml. Cho kháng sinh kanamycine với nồng độ 50 µg/ml vào ống có chứa máu tôm bệnh sữa. Để trong vòng 4 giờ, thu được dịch RLB thuần (sạch) pha loãng để đạt mật độ 1,0 x 10^3 RLB/ml máu dùng gây nhiễm trong các nghiệm thức thí nghiệm.

- Cảm nhiễm tôm hùm xanh bằng phương pháp tiêm 0,1 ml dịch RLB thuần tạo được vào đốt bụng thứ 2 của tôm thí nghiệm, liều dùng 1,0 x10^3 RLB/ml dịch máu thuần. Nghiệm thức đối chứng âm tiêm 0,1 ml nước muối sinh lý cho tôm thí nghiệm.

2.3. Phương pháp xử lý số liệu

2.3.1. Phương pháp xác định ngưỡng

- Sử dụng phép kiểm định Independent-Samples T-Test trên SPSS ver 20.0 của Hoàng Trọng và Chu Nguyễn Mộng Ngọc (2005) [13] cho các số liệu thu được để so sánh sự khác biệt trung bình giữa các biến định lượng với các giá trị khác nhau của một biến định tính.

- Xác định điểm cắt (ngưỡng) bằng phương pháp đường cong ROC trên SPSS, cụ thể:

Xác định điểm cắt (ngưỡng) dựa trên số liệu đo, phân tích được (các biến độc lập định lượng) gồm: RLB, *Vibrio* spp., *V. alginolyticus* trong mẫu tôm hùm xanh và mẫu nước với bệnh trạng tôm hùm xanh bị bệnh sữa (biến phụ thuộc), có 2 trạng thái phân biệt: Có/không bị bệnh sữa. Nghĩa là tìm điểm cắt (ngưỡng) có độ nhạy và độ đặc hiệu cao nhất khi phân tích các số liệu thu được bằng phương pháp đường cong ROC trên SPSS.

Điểm cắt (ngưỡng) là điểm có chỉ số J (Youden index) cao nhất. Chỉ số J là trị số cao nhất của tổng độ nhạy (Se) và độ đặc hiệu (Sp) trừ đi 1, nghĩa là J= max (Se + Sp - 1). Sử dụng bảng toạ độ của đường cong ROC trong kết quả phân tích bằng SPSS để xác định giá trị J.

Mỗi điểm trên đường cong ROC là tọa độ tương ứng với tần suất dương tính thật (độ nhạy) trên trục tung và tần suất dương tính giả (1- độ đặc hiệu) trên trục hoành. Đường biểu diễn càng lệch về phía trên, bên trái thì sự phân biệt giữa 2 trạng thái (có/không bệnh sữa) càng rõ. Độ chính xác được đo lường bằng vùng dưới đường cong ROC (AUC-Area Under the Curve), là tích phân của hàm y (độ nhạy) theo x (1- độ đặc hiệu). Phương pháp đánh giá dựa vào thang giá trị AUC ở bảng 2.

Bảng 2. Diễn giải ý nghĩa của diện tích dưới đường biểu diễn ROC (AUC)

Giá trị AUC	Ý nghĩa
> 0,9	Rất tốt
0,8 - 0,9	Tốt
0,7 - 0,8	Trung bình
0,6 - 0,7	Không tốt
0,5 - 0,6	Vô dụng

Nguồn: Nguyễn Văn Tuấn (2022) [14].

Độ nhạy (Sensitivity - Se) của một thử nghiệm là tỷ lệ những trường hợp thực sự có bệnh sữa và có kết quả xét nghiệm dương tính với tác nhân gây bệnh (dương tính thật) trong toàn bộ các trường hợp có kết quả dương tính (dương tính thật và âm tính giả).

Độ đặc hiệu (Specificity - Sp) của một thử nghiệm là tỷ lệ những trường hợp thực sự không có bệnh sữa và có kết quả xét nghiệm âm tính với tác nhân gây bệnh (âm tính thật) trong toàn bộ các trường hợp có kết quả âm tính (âm tính thật và dương tính giả).

Giá trị tiên đoán dương (Positive Predictive Value - PPV) là tỷ lệ giữa các kết quả xét nghiệm dương tính với tác nhân gây bệnh (dương tính thật) so với tổng số các kết quả xét nghiệm dương tính, hay chính là xác suất bị bệnh của đàn tôm có kết quả dương tính qua thử nghiệm.

Giá trị tiên đoán âm (Negative Predictive Value - NPV) là tỷ lệ giữa các kết quả xét nghiệm âm tính với tác nhân gây bệnh (âm tính thật) so với tổng số các kết quả xét nghiệm âm tính, hay chính là xác suất không bị bệnh của đàn tôm có kết quả âm tính qua thử nghiệm.

Sử dụng phân tích hồi quy nhị phân đa biến (binary logistic) trên SPSS [13] để xác định giá trị tiên đoán kết quả tôm hùm nuôi lồng bị bệnh sữa (giá trị tiên đoán dương - PPV) hay không bị bệnh bệnh sữa (giá trị tiên đoán âm - NPV).

2.3.2. Phương pháp so sánh hiệu quả kiểm soát RLB gây bệnh sữa tôm hùm xanh

- Sử dụng phương pháp One way Anova và kiểm định Duncan so sánh sự khác biệt trung bình với nhau về mật độ RLB tại các mốc thời gian trước và sau khi sử dụng sản phẩm, tăng trưởng và tỷ lệ sống của tôm hùm nuôi giữa các nhóm nghiệm thức thí nghiệm.

- Tỷ lệ sống (%) của tôm = (Số tôm còn lại ở nghiệm thức thí nghiệm (con)/Tổng số tôm đưa vào nghiệm thức thí nghiệm (con)) x 100.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả thống kê mô tả mẫu nghiên cứu

Kết quả thống kê mô tả các yếu tố vô sinh, hữu sinh trong môi trường nước và tôm hùm xanh ở các lồng nghi ngờ/không nghi ngờ có tôm bị bệnh sữa được trình bày ở bảng 3.

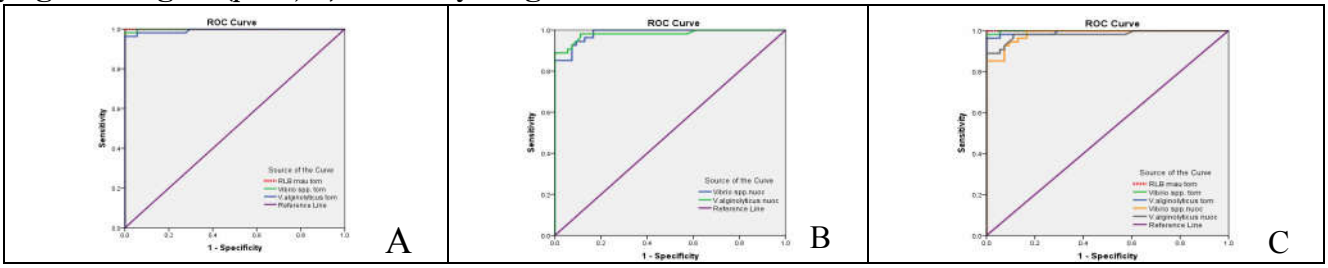
Bảng 3. Thống kê mô tả các yếu tố vô sinh, hữu sinh ở lồng có và không bệnh sữa

Các yếu tố	Lồng có tôm không bị bệnh sữa		Lồng có tôm bị bệnh sữa		p
	N	Trung bình (Nhỏ nhất - Lớn nhất)	N	Trung bình (Nhỏ nhất - Lớn nhất)	
Trong gan tụy, máu tôm hùm xanh					
RLB (RLB/ml máu)	54	0	54	$4,7x\ 10^4$ ($2,0\ x10^3$ - $1,4\ x\ 10^5$)	0,000
Vibrio spp. (cfu/g)	54	$9,5\ x10^4$ ($2,1\ x\ 10^3$-$6,8\ x10^5$)	54	$9,0\ x10^6$ ($4,8x10^5$-$9,4\ x10^7$)	0,000
V. alginolyticus (cfu/g)	54	$7,4x10^4$ ($1,9\ x\ 10^3$-$4,3x10^5$)	54	$5,3\ x10^6$ ($8,1x10^4$-$2,6x10^7$)	0,000
Trong môi trường nước					
Vibrio spp. (cfu/mL)	54	$1,4\ x10^3$ (<10-$8,8x10^3$)	54	$2,0\ x10^4$ ($1,0x10^3$-$1,3x10^5$)	0,000
V. alginolyticus (cfu/mL)	54	$7,3\ x10^2$ (<10-$3,8x10^3$)	54	$1,3\ x10^4$ ($6,0x10^2$-$2,8x10^4$)	0,000
Nhiệt độ (°C)	72	29,4 (26,0-31,0)	54	29,7 (27,0-32,0)	0,213
Độ mặn (‰)	72	32,0(31,0-33,0)	54	32,1(31,0-34,0)	0,196
Ph	72	7,9 (7,5-8,4)	54	7,9 (7,6-8,5)	0,071
DO (mg/L)	72	5,18 (4,08-6,40)	54	5,00 (4,12 -6,34)	0,064
$N\text{-}NH_4^+$ (mg/L)	54	0,054 (0,012-0,092)	54	0,063 (0,010-0,110)	0,075
H_2S (µg/l)	54	6,0 (4-13)	54	6,8 (5 – 21)	0,101
COD (mg/L)	54	5,74 (2,00-9,11)	54	6,53(3,00- 11,00)	0,053

Ghi chú: N là số lượng lồng; p là mức ý nghĩa.

Kết quả ở bảng 3 cho thấy, trung bình của mật độ vi khuẩn RLB trong dịch máu tôm, *Vibrio* spp. và *V. alginolyticus* trong gan tuỵ tôm hùm xanh và mẫu nước trong các lồng nuôi bị bệnh sữa lần lượt theo thứ tự là: 4,7 x 10^4 RLB/ml máu, 9,0 x 10^6 cfu/g và 5,3 x 10^6 cfu/g (ở tôm); 2,0 x 10^4 cfu/mL và 1,3 x 10^4 cfu/mL (nước trong lồng), tăng mạnh so lồng không bị bệnh sữa và sự khác nhau này có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Tuy nhiên, trung bình các thông số: Nhiệt độ, độ mặn, pH, DO, $N\text{-}NH_4^+$, H_2S, COD trong mẫu nước ở các lồng tôm hùm bị bệnh sữa lần lượt là: 29,7°C; 32,1‰, 7,9; 5,0 mg/L, 0,063 mg/L, 6,8 µg/l và 6,53 mg/L, tăng so với lồng không bị bệnh sữa, nhưng sai khác không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Điều này cũng dễ hiểu vì tôm hùm nuôi lồng là nuôi trong một hệ thống hở, môi trường nước ở các lồng nuôi có tôm bệnh sữa và không bệnh sữa là khá tương tự nhau, chỉ khác nhau khi trong lồng nuôi không được vệ sinh tốt, sự trao đổi nước trong và ngoài lồng kém, số lượng vi sinh vật trong nước lồng bệnh và không bệnh có sự khác nhau có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Mặc khác, khi tôm hùm nuôi bị bệnh sữa, sức đề kháng yếu là cơ hội để các loại vi khuẩn sẵn có trong môi trường nước hay trong tôm nuôi phát triển tăng mật độ gây bệnh, đặc biệt là *Vibrio* spp. và *V. alginolyticus*.

3.2. Kết quả xác định giá trị điểm cắt (ngưỡng) bằng phương pháp đường cong ROC



Hình 1. Đồ thị biểu diễn vùng dưới đường cong ROC (AUC) của các biến độc lập định lượng: RLB, *Vibrio* spp. và *V. alginolyticus* trong mẫu tôm hùm xanh (A), mẫu nước (B), trong tôm và nước (C) thu ở các lồng nuôi có/không có bệnh sữa

Bảng 4. Giá trị điểm cắt (ngưỡng) của các yếu tố hữu sinh trong môi trường nước lồng nuôi và tôm hùm xanh nuôi có tác động đến bệnh sữa

Các yếu tố	Điểm cắt (ngưỡng)	AUC (vùng dưới đường cong ROC)	Sensitivity (Độ nhạy) (Se)	1-Specificity (1-Độ đặc hiệu) (Sp)	J	P
Trong tôm hùm xanh nuôi						
RLB (RLB/mL máu)	$1,0 \times 10^3$	1,000	1,000	0,000	1,000	0,000
Vibrio spp. (cfu/g)	$8,4 \times 10^5$	0,999	0,981	0,000	0,981	0,000
V. alginolyticus (cfu/g)	$6,8 \times 10^5$	0,994	0,963	0,000	0,963	0,000
Trong môi trường nước lồng nuôi tương ứng						
Vibrio spp. (cfu/mL)	$8,8 \times 10^3$	0,984	0,852	0,000	0,852	0,000
V. alginolyticus (cfu/mL)	$4,6 \times 10^3$	0,981	0,889	0,000	0,889	0,000

Từ các số liệu phân tích các yếu tố RLB trong máu, *Vibrio* spp. và *V. alginolyticus* trong gan tuỵ tôm hùm xanh và nước lồng nuôi (các biến độc lập định lượng), cùng thời điểm với bệnh trạng tôm hùm xanh tại lúc thu mẫu (biến phụ thuộc: có/không bệnh sữa), được đưa vào phân tích bằng phương pháp đường cong ROC trên SPSS. Kết quả được thể hiện hình 1 và bảng 4.

Giá trị J = max (Se + Sp - 1) của RLB (tác nhân gây bệnh sữa) trong 108 mẫu tôm hùm nuôi lồng tương ứng được xác định trong kết quả phân tích bảng toạ độ của đường cong ROC bởi SPSS bằng 1,000, ứng với giá trị điểm cắt (ngưỡng) là $1,0 \times 10^3$ RLB/ml máu, với độ nhạy (Se) là 1,000 và độ đặc hiệu (Sp) bằng 1 - 0,000 = 1,000 (Bảng 5). Điều này chứng tỏ, sự phân biệt giữa hai trạng thái: Bị và không bị bệnh sữa ở tôm hùm nuôi lồng là tuyệt đối. Đồng nghĩa với việc RLB chính là tác nhân gây bệnh sữa ở tôm hùm nuôi lồng ở các vùng nghiên cứu của tỉnh Phú Yên và Khánh Hòa; đồng thời ngưỡng xuất hiện bệnh sữa của RLB là $1,0 \times 10^3$ RLB/ml máu.

Đỗ Thị Hòa và cs (2009) [15] đã cho rằng, RLB là tác nhân gây nên bệnh sữa ở tôm hùm nuôi lồng tại các tỉnh miền Trung. Nguyễn Chí Thuận (2012) [16] cũng đã thông báo khi khảo sát thành phần vi khuẩn ở tôm hùm sữa bằng phương pháp PCR - DGGE cho thấy, RLB có mặt ở hầu hết (9/12 mẫu PCR dương tính với đoạn gen 16Sr RNA, chiếm 75,0%; 6/8 mẫu dương tính với RLB khi điện di DGGE sản phẩm PCR, chiếm 75,0%) các mẫu tôm hùm bị bệnh sữa. Nguyễn Thị Thu Thủy và cs (2012) [17] đã sử dụng kỹ thuật PCR khuếch đại đoạn gen 16S rRNA của RLB trong máu tôm hùm bông thu ở hai tỉnh Phú Yên và Khánh Hòa cho thấy, có 19/20, chiếm 95,0% mẫu máu tôm hùm bông bị bệnh sữa dương tính với RLB. Isti Koesharyani và cs (2016) [6] cũng đã cho rằng tất cả (100%) các mẫu tôm hùm xanh (*P. homarus*) và tôm hùm bông (*P. ornatus*) nuôi lồng bị nhiễm bệnh sữa (MHD) ở Vịnh Gerupuk (Indonesia) đều dương tính với RLB khi chẩn đoán bằng kĩ thuật PCR. Như vậy, có thể thấy kết quả nghiên cứu này là tương đồng với các nghiên cứu trước đây về tác nhân RLB gây bệnh sữa trên tôm hùm nuôi lồng ở Việt Nam và một số khu vực trên thế giới.

Ngoài ra, kết quả từ bảng 4 cũng cho thấy, ngưỡng mật độ *Vibrio* spp. và *V. alginolyticus* trong gan tuỵ tôm hùm xanh bị bệnh sữa tương ứng là $8,4 \times 10^5$ cfu/g và $6,8 \times 10^5$ cfu/g; trong mẫu nước lồng nuôi tôm hùm xanh bị bệnh sữa tương ứng là $8,8 \times 10^3$ cfu/mL và $4,6 \times 10^3$ cfu/mL.

Kết quả nghiên cứu của Võ Văn Nha (2015) [18] và Đỗ Thị Hòa (2006) [19] cho thấy, *Vibrio* là nhóm vi khuẩn có tần số bắt gặp từ 16,7 - 65,3% mẫu tôm hùm bị bệnh sữa và luôn tồn tại trong vùng nước nuôi tôm hùm ở tỉnh Phú Yên và Khánh Hòa. Đặc biệt là loài *V. alginolyticus*, tỷ lệ bắt gặp trung bình trong các mẫu thu ở 5 vùng nghiên cứu thuộc các tỉnh Bình Định, Phú Yên và Khánh Hòa là 65,3% [1]. Tuy nhiên, tất cả các mẫu tôm bắt gặp vi khuẩn *V. alginolyticus* với mật số cao là mẫu tôm có dấu hiệu sữa đỏ. Theo Võ Văn Nha và Đỗ Thị Hòa (2006) [19], vi khuẩn *Vibrio alginolyticus* là một trong những tác nhân gây bệnh đỏ thân ở

tôm hùm. Nguyễn Chí Thuận (2012) [16] cũng cho rằng, gần như 100% các mẫu tôm sữa có dịch sữa màu hồng đều phát hiện được *V. alginolyticus* và vi khuẩn này có liên quan trực tiếp với hiện tượng tôm hùm bị bệnh sữa có máu chuyển màu hồng. Do vậy, việc tìm thấy vi khuẩn *V. alginolyticus* với mật số lớn ở các mẫu tôm hùm bị bệnh sữa là điều tất yếu.

Bảng 5. Giá trị tiên đoán dương, giá trị tiên đoán âm tại điểm cắt (ngưỡng) của các yếu tố hữu sinh trong môi trường nước và tôm hùm xanh nuôi lồng

Các yếu tố	Giá trị tiên đoán dương PPV (%)	Giá trị tiên đoán âm NPV (%)
Trong tôm hùm xanh nuôi		
RLB (RLB/ml máu)	100	100
Vibrio spp. tôm (cfu/g)	98,1	100
V. alginolyticus tôm (cfu/g)	96,3	100
Trong môi trường nước lồng nuôi tương ứng		
Vibrio spp. nước (cfu/mL)	92,6	90,7
V. alginolyticus nước (cfu/mL)	88,9	98,1

Để xác định rõ hơn giá trị tiên đoán kết quả tôm hùm nuôi lồng bị bệnh sữa (PPV) hay không bị bệnh sữa (NPV) khi giá trị RLB trong máu tôm nhỏ hơn, lớn hơn/bằng giá trị điểm cắt, sử dụng phân tích hồi quy nhị phân đa biến trên phần mềm SPSS, kết quả được thể hiện ở bảng 5.

Kết quả ở bảng 5 cho thấy, giá trị tiên đoán dương tính (PPV) và âm (NPV) tại điểm cắt (ngưỡng) của yếu tố RLB gây bệnh sữa trong tôm bằng 100%. Điều này có nghĩa là, xác suất có xuất hiện bệnh sữa khi mật độ RLB gây bệnh sữa trong tôm lớn hơn hay bằng giá trị điểm cắt/ngưỡng ($\geq 1,0 \times 10^3$ RLB/ml máu) là 100% và ngược lại xác suất không xuất hiện bệnh sữa bằng 100% khi mật độ RLB $< 1,0 \times 10^3$ RLB/ml máu. Nói cách khác, ngưỡng mật độ RLB gây bệnh sữa trong tôm hùm xanh nuôi lồng ở tỉnh Phú Yên, Khánh Hoà là $1,0 \times 10^3$ RLB/ml máu.

Như vậy, kết quả xác định ngưỡng gây bệnh sữa ở tôm hùm xanh nuôi lồng thu tại các vùng nuôi tập trung ở 2 tỉnh Phú Yên, Khánh Hoà đã chỉ ra rằng, ở mức mật độ vi khuẩn RLB $\geq 1,0 \times 10^3$ RLB/ml máu được xem là giá trị ngưỡng gây bệnh sữa. Còn đối với vi khuẩn *Vibrio* spp. và *V. alginolyticus* khi đạt số lượng lớn hơn hay bằng $8,4 \times 10^5$ cfu/g, $6,8 \times 10^5$ cfu/g (trong gan tụy tôm) được xem là có mối quan hệ chặt chẽ với tôm hùm nuôi lồng bị bệnh sữa ở các vùng nghiên cứu.

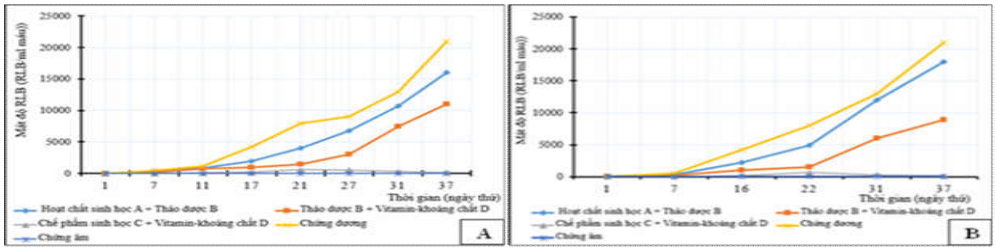
3.3. Hiệu quả phòng trị của các hoạt chất đã được sàng lọc trong phòng trị bệnh sữa quy mô phòng thí nghiệm

Bảng 6. Mật độ RLB (RLB/ml máu) ở các nghiệm thức trong quá trình thí nghiệm

Lần thu mẫu	Nghiệm thức 1		Nghiệm thức 2		Nghiệm thức 3		Nghiệm thức 4 (ĐC+)	Nghiệm thức 5 (ĐC-)
	Nhịp 5 ngày	Nhịp 10 ngày	Nhịp 5 ngày	Nhịp 10 ngày	Nhịp 5 ngày	Nhịp 10 ngày		
Lần 1	KPH	KPH	KPH	KPH	KPH	KPH	KPH	KPH
Lần 2	$2,5x10^2$ $\pm 1,0x10^{1c}$	$3,0x10^2$ $\pm 1,0x10^{1d}$	$2,0x10^2$ $\pm 2,5x10^{1b}$	$1,8x10^2$ $\pm 3,5x10^{1b}$	$0,7x10^2$ $\pm 0,3x10^{1a}$	$0,7x10^2$ $\pm 0,6x10^{1a}$	$5,0x10^2$ $\pm 3,0x10^{1e}$	KPH
Lần 3	$9,0x10^2$ $\pm 5,0x10^{1d}$	$2,2x10^3$ $\pm 7,6x\ 10^{1g}$	$7,5x10^2$ $\pm 1,0x10^{1c}$	$1,0x10^3$ $\pm 1,5x10^{2e}$	$1,0x10^2$ $\pm 1,5x10^{1ab}$	$2,0x10^2$ $\pm 2,0x10^{1b}$	$1,2x10^3$ $\pm 5,0x10^{1f}$	KPH
Lần 4	$1,9x10^3$ $\pm 1,0x10^{2f}$	$4,9x10^3$ $\pm 1,0x10^{2h}$	$1,0x10^3$ $\pm 2,0x10^{2d}$	$1,5x10^3$ $\pm 1,1x10^{e}$	$2,0x10^2$ $\pm 1,1x10^{1b}$	$6,5x10^2$ $\pm 2,5x10^{1c}$	$4,2x10^3$ $\pm 7,6x10^{1g}$	KPH
Lần 5	$4,0x10^3$ $\pm 5,7x10^{1c}$	$1,2x10^4\pm$ $5,7x10^{2f}$	$1,5x10^3$ $\pm 2,0x10^{2b}$	$6,0x10^3$ $\pm 9,7x10^{2d}$	$6,1x10^2$ $\pm 1,7x10^{1a}$	$3,1x10^2$ $\pm 1,0x10^{1a}$	$8,0x10^3$ $\pm 2,2x10^{2e}$	KPH
Lần 6	$6,8x10^3$ $\pm 1,0x10^{2d}$	$1,8x10^4$ $\pm 3,6x10^{1f}$	$3,0x10^3$ $\pm 2,8x10^{2c}$	$8,9x10^3$ $\pm 5,7x10^{1e}$	$5,2x10^2$ $\pm 2,5x10^{1b}$	$1,4x10^2$ $\pm 1,0x10^{1a}$	$9,0x10^3$ $\pm 1,5x10^{2e}$	KPH

Lần 7	$1,0x10^4$ $\pm1,5x10^{2c}$	-	$7,5x10^3$ $\pm8,5x10^{1b}$	-	$3,0x10^2$ $\pm7,0x10^{1a}$	-	$1,3x10^4$ $\pm5,2x10^{2d}$	KPH
Lần 8	$1,6x10^4$ $\pm5,2x10^{2c}$	-	$1,1x10^3$ $\pm6,3x10^{2b}$	-	$1,5x10^2$ $\pm4,0x10^{1a}$	-	$2,1x10^4$ $\pm7,6x10^{2d}$	KPH

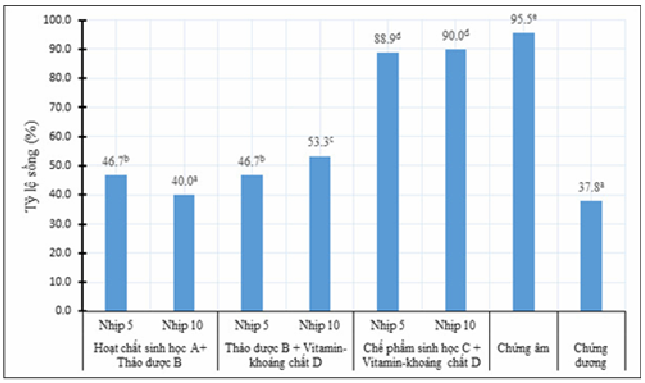
Ghi chú: Số liệu biểu diễn là giá trị trung bình ± độ lệch chuẩn (giá trị trung bình của 3 lần lặp lại ở một nghiệm thức thí nghiệm). Các giá trị trên cùng một hàng có chữ cái khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa thống kê (p<0,05). - : không phân tích.



Hình 2. Mật độ RLB trong tôm ở các nghiệm thức thí nghiệm nhịp 5 (A) và 10 (B) ngày

Bảng 7. Kết quả theo dõi tăng trưởng và tỷ lệ sống của tôm hùm xanh ở các nghiệm thức

Nghiệm thức	Nhịp (ngày)	$W_{bắt đầu}$ (g)	$W_{cuối}$ (g)	SGR (%/ngày)	Tỷ lệ sống (%)
Nghiệm thức 1	Nhịp 5	220,3 ± 15,1	$245,2 \pm 1,9^a$	$0,29 \pm 0.02^a$	$46,7^b$
	Nhịp 10	220,3 ± 15,1	$244,6 \pm 2,0^a$	$0,28 \pm 0,02^a$	$40,0^a$
Nghiệm thức 2	Nhịp 5	220,3 ± 15,1	$247,2 \pm 2,9^a$	$0,31 \pm 0,03^a$	$46,7^b$
	Nhịp 10	220,3 ± 15,1	$246,7 \pm 2,5^a$	$0,30 \pm 0,02^a$	$53,3^c$
Nghiệm thức 3	Nhịp 5	220,3 ± 15,1	$266,2 \pm 4,4^b$	$0,51 \pm 0,04^b$	$88,9^d$
	Nhịp 10	220,3 ± 15,1	$263,0 \pm 5,4^b$	$0,48 \pm 0,06^b$	$90,0^d$
Nghiệm thức 4 (ĐC +)		220,3 ± 15,1	$240,8 \pm 2,6^a$	$0,24 \pm 0.03^a$	$37,8^a$
Nghiệm thức 5 (ĐC -)		220,3 ± 15,1	$278,1 \pm 3,8^c$	$0,63 \pm 0,03^c$	$95,5^e$



Hình 3. Tỷ lệ sống (%) của tôm hùm xanh ở các nghiệm thức khi kết thúc thí nghiệm

Dựa trên kết quả điều tra, đánh giá hiện trạng và hiệu quả sử dụng các sản phẩm thông dụng trên thị trường để kiểm soát bệnh sữa do vi khuẩn gây ra trên tôm hùm, chọn các nhóm sản phẩm đưa vào thí nghiệm gồm hoạt chất sinh học A, thảo dược B, chế phẩm sinh học C và vitamin - khoáng chất D. Hiệu quả sử dụng hoạt chất chính trong các sản phẩm đã sàng lọc trong phòng trị bệnh sữa trên tôm hùm xanh được đánh giá thông qua việc theo dõi mật số RLB (RLB/ml máu) tôm hùm ở các nghiệm thức trong quá trình thí nghiệm, tăng trưởng và tỷ lệ sống của tôm hùm xanh khi kết thúc thí nghiệm. Yếu tố môi trường các bể nuôi trong quá trình thí nghiệm dao động trong khoảng thích hợp cho tôm hùm nuôi lồng sinh trưởng và phát triển. Cụ thể, nhiệt độ dao động trong khoảng 26,9 - 30,1°C, độ mặn dao động trong khoảng 27 - 29‰, pH dao động trong khoảng 7,0 - 8,4. Do đó các yếu tố môi trường nuôi không ảnh hưởng đến tỷ lệ chết của tôm trong quá trình thí nghiệm. Kết quả thí nghiệm được thể hiện cụ thể ở bảng 6, 7, hình 2 và 3.

Kết quả từ bảng 6, 7, hình 2 và 3 cho thấy:

- Ở nghiệm thức 1 (Hoạt chất sinh học A + thảo dược B) và nghiệm thức 2 (Thảo dược B + vitamin - khoáng chất D): Mật độ RLB (RLB/ml máu) có xu hướng tăng dần qua các lần thu mẫu đến lần thứ 8; tốc độ tăng trưởng đặc trưng (SGR)

của tôm thí nghiệm đạt 0,28 - 0,31%/ngày, sai khác không có ý nghĩa thống kê với nghiệm thức 4 (ĐC +); tỷ lệ sống của tôm hùm xanh khi kết thúc thí nghiệm ở nghiệm thức 1 đạt 46,7% (ở nhịp 5 ngày) và 40,0% (ở nhịp 10 ngày); ở nghiệm thức 2 đạt 46,7% (ở nhịp 5 ngày) và 53,3% (ở nhịp 10 ngày), sai khác có ý nghĩa thống kê với nghiệm thức 4 (ĐC +) ở nhịp sử dụng 5 ngày. Điều này chứng tỏ khi sử dụng hoạt chất sinh học + thảo dược (nghiệm thức 1) hay thảo dược + vitamin - khoáng chất (nghiệm thức 2), cũng có tác dụng kiểm soát được mật số RLB nhưng ít có tác dụng phòng trị bệnh sữa trên tôm hùm xanh sau khi gây nhiễm (chưa kiểm soát RLB dưới ngưỡng gây bệnh), cho dù khi so sánh với nghiệm thức 4 (ĐC +) thì giá trị này có sai khác có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

- Ở nghiệm thức 3 sử dụng cho tôm hùm xanh ăn chế phẩm sinh học C + Vitamin-khoáng chất D trước khi gây nhiễm, kết quả theo dõi mật độ RLB theo thời gian thí nghiệm cho thấy mật số RLB dưới ngưỡng gây bệnh sữa ở tôm hùm xanh sau 37 ngày thí nghiệm. Tốc độ tăng trưởng đặc trưng (SGR) của tôm đạt 0,48 - 0,51%/ngày, sai khác có ý nghĩa thống kê với nghiệm thức 4 (ĐC +) và nghiệm thức 5 (ĐC -). Tỷ lệ sống của tôm sau khi kết thúc thí nghiệm đạt 88,9% (nhịp 5 ngày), 90,0% (nhịp 10 ngày), khác nhau không có ý thống kê ($p > 0,05$) với nhau, nhưng lại khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) so với nghiệm thức 4 (ĐC +) và các nghiệm thức còn lại.

- Ở nghiệm thức 5 (ĐC -), không cảm nhiễm RLB, cho tôm thí nghiệm ăn thức ăn tươi đã sát trùng bằng thuốc tím), không phát hiện RLB qua các lần thu mẫu máu tôm hùm kiểm tra; SGR của tôm thí nghiệm đạt 0,62%/ngày; tỷ lệ sống tôm nuôi đạt 95,5%, sai khác có ý nghĩa thống kê với các nghiệm thức còn lại. Ở nghiệm thức 4 (ĐC +), cảm nhiễm RLB, cho tôm ăn thức ăn tươi đã sát trùng bằng thuốc tím), mật độ RLB tăng dần qua các lần thu mẫu, tăng vượt ngưỡng ($1,0 \times 10^3$ RLB/ml máu) vào lần thu thứ 3 (ngày thứ 11 sau cảm nhiễm) và có sai khác có ý nghĩa thống kê so với các nghiệm thức còn lại; SGR của tôm thí nghiệm đạt 0,24 %/ngày; tỷ lệ sống ở nghiệm thức này là 37,8% và sai khác có ý nghĩa thống kê với các nghiệm thức còn lại. Kết quả nghiên cứu của Sudewi và cs (2018) [20] cũng cho thấy, khi gây nhiễm RLB bằng phương pháp tiêm 0,2 ml máu không pha loãng cho tỷ lệ tử vong tích lũy là 100% sau 15 ngày gây nhiễm; tiêm 0,2 ml máu pha loãng cho tỷ lệ tử vong tích lũy là 75% sau 16 ngày gây nhiễm.

Như vậy, có thể trộn chế phẩm sinh học (với thành phần chính là *Bacillus* spp., *Lactobacillus* spp., *Saccharomyces* sp., hàm lượng 10^8 cfu/g) kết hợp với Vitamin-khoáng chất (với thành phần chính là vitamin B2, B9, A, C, biotin, các muối của Ca, P, Zn, Mg), liều 5 g sản phẩm mỗi loại/kg thức ăn, cho ăn 5 ngày mỗi đợt, cách 5 - 10 ngày cho ăn 1 đợt, đặc biệt vào giai đoạn tôm hùm nuôi đạt khối lượng 200 - 300 g để kiểm soát bệnh sữa cho tôm hùm xanh nuôi lồng.

Sang và cs (2010) [11] đã chứng minh vai trò cải thiện tăng trưởng và tỷ lệ sống của tôm hùm xanh thông qua việc bổ sung sản phẩm thu được từ các vách tế bào nấm men *Saccharomyces cerevisiae* (hoạt chất sinh học mannan oligosaccharides - MOS). Sang và Fotedar (2010) [21] đã cho thấy, sự thay đổi số lượng vi sinh vật có lợi ở ruột tôm hùm xanh khi bổ sung 0,4% MOS trong chế độ ăn với tỷ lệ vi khuẩn có ích/vibrio tăng gấp 10 lần. Phạm Thu Thuỷ (2013) [22] đã sản xuất và thử nghiệm chế phẩm probiotic với nồng độ vi khuẩn *Bacillus* đạt 10^8 CFU/g và chất mang là maltodextrin 10% cho tôm hùm. Như vậy, những kết quả trong nghiên cứu này có tính tương đồng với những nghiên cứu trước đây. Nghĩa là, việc kết hợp các thành phần chính là những chủng vi khuẩn *Bacillus* spp., *Lactobacillus* spp., *Saccharomyces* sp., (hàm lượng 10^8 cfu/g) và Vitamin B2, B9, A, C, biotin, các muối của Ca, P, Zn, Mg, đã giúp tôm hùm xanh kiểm soát được tác nhân gây bệnh sữa ở tôm hùm xanh.

4. KẾT LUẬN

Khi mật độ vi khuẩn RLB ở mức $\geq 1,0 \times 10^3$ RLB/ml máu thì xác suất có xuất hiện bệnh sữa ở tôm hùm xanh nuôi lồng tại các vùng nuôi chính ở hai tỉnh Phú Yên, Khánh Hoà là 100% và ngược lại, xác suất không xuất hiện bệnh sữa bằng 100% khi mật độ vi khuẩn RLB nhỏ hơn $1,0 \times 10^3$ RLB/ml máu. Nghĩa là, ngưỡng mật độ RLB gây bệnh sữa trong tôm hùm xanh (có khối lượng trung bình $220,3 \pm 15,1$ g/con) nuôi lồng ở 2 tỉnh Phú Yên,

Khánh Hoà là 1,0 x 10^3 RLB/ml máu. Ngoài ra, mật độ *Vibrio* spp. và *V. alginolyticus* trong gan tuỵ tôm hùm xanh ≥ 8,4 x 10^5 cfu/g, ≥ 6,8 x 10^5 cfu/g; trong nước lồng nuôi ≥ 8,4 x 10^3 cfu/ml và 4,6 x 10^3 cfu/ml cũng có mối quan hệ chặt chẽ với tôm hùm xanh bị bệnh sữa thu tại các vùng nuôi tôm hùm lồng tập trung hai tỉnh: Phú Yên và Khánh Hòa.

Sử dụng chế phẩm sinh học (thành phần chính là *Bacillus* spp., *Lactobacillus* spp., *Saccharomyces* sp., hàm lượng 10^8 cfu/g) kết hợp với vitamin và khoáng chất tổng hợp (thành phần chính là Vitamin C, B2, B9, A, biotin, các muối của Ca, P, Zn, Mg), trộn 5 g/kg thức ăn, cho ăn 5 ngày mỗi đợt, 2 - 3 đợt/tháng, đã kiểm soát được RLB dưới ngưỡng gây bệnh sữa tôm hùm xanh.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này là một phần kết quả của đề tài cấp Bộ: "Nghiên cứu xây dựng quy trình kiểm soát bệnh do vi khuẩn gây ra trên một số đối tượng thủy sản quan trọng" do Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản III chủ trì thực hiện từ năm 2020 - 2023.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Võ Văn Nha (2017). Nghiên cứu giải pháp kỹ thuật và quản lý phòng trị hiệu quả bệnh sữa trên tôm hùm nuôi lồng. Báo cáo tổng kết đề tài cấp Bộ. Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản III, Nha Trang.

2. Lightner D. V., Pantoja C. P., Redman R. M., Poulos B. T., Nguyen H. D., Do T. H. & Nguyen T. C. (2008). Collaboration on milky disease of net-pen-reared spiny lobsters in Vietnam. *OIE Bulletin*, (2), pp. 46 - 47.

3. OIE (2008). Milky haemolymph disease of spiny lobsters (*Panulirus* spp.). OIE Aquatic alnimal disease cards, pp. 1 - 3.

4. Prescott, Harley and Klein (2013). *Microbiology*. 8th edition by Mc Graw Hill, Higher Education.

5. Nunan L. M., Bonnie T. Poulos, Solangel Navarro, Rita M. Redman, Donald V. Lightner. (2010). Milky hemolymph syndrome (MHS) in spiny lobsters, penaeid shrimp and crabs, *Diseases of Aquatic Organisms*, 91, pp. 105 - 112.

6. Isti Koesharyani, Lila Gardenia, and Ni Luh Anggra Lasmika (2016). Molecular detection and cloning for rickettsia-like bacteria of milky haemolymph disease of spiny lobster Panulirus spp.. *Indonesian Aquaculture Journal*, 11 (2), pp. 81-86.

7. Sang H. and Fotedar R. (2011). The Mannan Oligosaccharides in Aquaculture. In Oligosaccharides: Sources, Properties and Applications, ed. Nicole S. Gordon, 245 - 267.

8. Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 6186: 1996. Chất lượng nước - xác định chỉ số pemanganat.

9. Hồng Mộng Huyền, Võ Tấn Huy và Trần Thị Tuyết Hoa (2018). Hoạt tính kháng khuẩn của một số cao chiết thảo dược kháng vi khuẩn gây bệnh ở tôm nuôi. *Tạp chí Khoa học, Trường Đại học Cần Thơ*, tập 54, số chuyên đề: Thủy sản (2): 143 - 150.

10. Ringo, E., Olsen, R. E., Gifstar, T. O., Dalmo, R. A., Amlund, H., Hemre, G. I. & Bakke, A. M. (2010). Prebiotic in Aquaculture: A review, Aquaculture Nutrition, 16, pp. 117 - 136.

11. Sang H. M., Fotedar R. & Filer K. (2010). Effects of dietary mannan oligosaccharide on the survival, growth, immunity and digestive enzyme activity of freshwater crayfish, Cherax destructor Clark (1936). Aquaculture Nutrition, In press.

12. Võ Văn Nha (2016). *Cơ sở và ứng dụng quản lý sức khỏe tôm hùm nuôi lồng*. Nxb Nông nghiệp, Hà Nội.

13. Hoàng Trọng và Chu Nguyễn Mộng Ngọc (2005). *Phân tích dữ liệu nghiên cứu với SPSS*. Nxb Thống kê, 349 trang.

14. Nguyễn Văn Tuấn (2022). *Cẩm nang nghiên cứu khoa học - Từ ý tưởng đến công bố.* Nxb tổng hợp thành phố Hồ Chí Minh, tr. 154 - 159.

15. Đỗ Thị Hòa, Nguyễn Tử Cương, Nguyễn Hữu Dũng, Nguyễn Thị Thùy Giang, Phan Văn Út, Nguyễn Thị Nguyệt Huệ và Đồng Thanh Hà (2009). Tác nhân gây bệnh sữa ở tôm hùm nuôi tại miền Trung Việt Nam. *Tạp chí Khoa học Công nghệ Thủy sản*, ISSN 1859 - 2252. Số đặc biệt - 2009, kỷ niệm 50 năm thành lập Trường Đại học Nha Trang, tr. 9 - 13.

16. Nguyễn Chí Thuận (2012). *Nghiên cứu bệnh sữa ở tôm hùm bông (Panulirus ornatus) và biện pháp phòng trị*. Báo cáo tổng hợp kết quả khoa học công nghệ đề tài. Viện Khoa học Công nghệ Việt Nam, Hà Nội.

17. Nguyễn Thị Thu Thủy, Nguyễn Chí Thuận, Nguyễn Hoàng Uyên, Phạm Ngọc Long

(2012). Khảo sát sự phân bố của rickettsia like bacteria trên tôm hùm bông (*Panulirus ornatus* Fabricius, 1798) và một số loại cá tạp làm thức ăn cho tôm hùm. *Tạp chí Khoa học - Công nghệ Thủy sản*, số 02/2012, Trường Đại học Nha Trang, tr. 123 - 128.

18. Võ Văn Nha (2015). *Đánh giá thực trạng sử dụng kháng sinh, hiện tượng kháng thuốc của vi khuẩn và đề xuất giải pháp phòng trị bệnh tôm hùm nuôi lồng bè hiệu quả tại vùng biển tỉnh Phú Yên*. Báo cáo tổng hợp kết quả khoa học công nghệ đề tài cấp Bộ. Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản III, Nha Trang.

19. Võ Văn Nha và Đỗ Thị Hòa (2006). Nghiên cứu tác nhân vi khuẩn gây bệnh đỏ thân ở tôm hùm bông (*Panulirus ornatus*) nuôi lồng tại Phú Yên, Khánh Hòa. *Tạp chí Khoa học - Công nghệ Thủy sản*, số 03-04/2006, Trường Đại học Nha Trang, tr. 18 - 23.

20. Sudewi, Zeny Widiastuti, Bejo Slamet, and Ketut Mahardika (2018). Experimental infections of milky hemolymph disease in spiny lobster Panulirus homarus. *Indonesian Aquaculture Journal*, 13 (1), 31- 40. 10.15578/iaj.13.1.2018.31-40.

21. Sang H. M. and Ravi Fotedar (2010). The mannan oligosaccharides in Aquacuture. In: *Oligosaccharides: Sources, Properties and Applications*. Editor: Nicole S. Gordon.

22. Phạm Thu Thủy (2013). *Nghiên cứu một số chủng vi khuẩn mới dùng để sản xuất probiotics phòng trừ dịch bệnh trong sản xuất tôm hùm ở Việt Nam*. Báo cáo kết quả thực hiện đề tài cấp Bộ, Trường Đại học Nha Trang.

DETERMINATION OF THE CAUSES OF MILKY HAEMOLYMPH DISEASE IN SPINY LOBSTER (*Panulirus homarus*) IN CAGE-CULTURE IN THE SOUTH CENTRAL PROVINCES AND PREVENTION SOLUTION PROPOSAL

Vo Thi Ngoc Tram[1], Vo Van Nha[1],
Nguyen Thi Chi[1], Ha Thi Thanh Huyen[1], Nguyen Thi Tu Anh[2]
[1] Research Institute for Aquaculture No.3
[2] Dak Nong Community College

Summary

This study was conducted from June 2020 to April 2023, *Panulirus homarus* samples, water samples from 54 cultured - cages with suspectedmilky haemolymph disease, water samples from 72 cultured - cages without suspected milky haemolymph disease in Phu Yen and Khanh Hoa provinces were collected for determining the causes of milky haemolymph disease in spiny lobster and testing the effectiveness of disease prevention by using active probiotics/prebiotics mixed into lobster feed. Using specialized biological statistical software SPSS, with the method of ROC curve (Receiver Operating Charactetistic) to compare and determine the threshold (cut - off point) of the causative agent of milky disease and One way Anova method, with control Duncan's test to compare the mean difference between experimental groups to process the obtained data. The studied results showed that, the rickettsia - like bacteria density threshold of 1.0 x 10^3 RLB/ml of shrimp bloodcausing RLB was the most obvious. In addition, the *Vibrio* spp. and *V. Alginolyticus* density in lobster liver and pancreas ≥ 8.4 x 10^6 CFU/gand 6.8 x 10^5 CFU/galso had a clear and statistically significant relationship ($p < 0.05$) with spiny lobster has milk haemolymph disease. On the other hand, the studied results also showed that, using probiotics (main ingredients were *Bacillus* spp., *Lactobacillus* spp., with the density of 10^8 CFU/g) in combination with synthetic vitamins and minerals (the main ingredients were Vitamins B2, B9, A, C, biotin, salts of Ca, P, Zn, Mg), mixed with feed, feeding continuously for 5 days and fed once every 10 days, RLB was controlled below the RLB pathogenic threshold in *Panulirus homarus*.

Keywords: *Milk disease, ROC curve, RLB, Panulirus homarus.*
Người phản biện: TS. Lê Văn Khoa
Ngày nhận bài: 2/8/2023
Ngày thông qua phản biện: 22/8/2023
Ngày duyệt đăng: 27/9/2023

PHÂN LẬP VÀ TUYỂN CHỌN CÁC CHỦNG VI KHUẨN CÓ KHẢ NĂNG KHỬ NITRIT TỪ MẪU NƯỚC AO NUÔI TÔM THẺ CHÂN TRẮNG (*Penaeus vannamei*) TẠI HUYỆN NGHĨA HƯNG, TỈNH NAM ĐỊNH

Đinh Thị Tuyết Vân[1,*], Lê Kiều Trinh[1],
Nguyễn Thái Dương[1], Nguyễn Thị Mến[1], Trần Văn Khánh[1]

TÓM TẮT

Nitrit là một loại khí độc phát sinh trong quá trình nuôi tôm, đặc biệt tại các ao nuôi tôm mật độ cao, loại khí độc này thường xuất hiện từ giai đoạn thứ 2 trong quá trình nuôi. Nitrit sẽ ngấm vào máu tôm và liên kết với hemocyanin trong máu tôm làm mất khả năng chuyển hóa oxy trong máu, dẫn đến tôm chết ngạt. Kiểm soát khí độc trong ao nuôi tôm, đặc biệt nitrit là mối quan tâm hàng đầu của các nhà nuôi trồng thủy sản. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm phân lập các chủng vi khuẩn có khả năng chuyển hóa nitrit trong mẫu nước ao nuôi tôm, với mục tiêu ứng dụng cho các sản phẩm chế phẩm vi sinh xử lý khí độc ao nuôi tôm. Để tiến hành phân lập được các chủng vi khuẩn có khả năng khử nitrit, đã tiến hành thu thập 14 mẫu nước ao nuôi tôm mật độ cao, từ giai đoạn 2, có chất lượng tốt tại huyện Nghĩa Hưng, tỉnh Nam Định. Sử dụng phương pháp Most probable number (MPN) trên môi trường Winograsky, 44 chủng vi khuẩn đã được phân lập, trong đó, 18 chủng vi khuẩn có khả năng khử nitrit tốt. Dựa trên kết quả phân loại bằng giải trình tự đoạn gen 16S rRNA, 12 chủng vi khuẩn thuộc 7 nhóm loài được lựa chọn tiềm năng ứng dụng cho các sản phẩm chế phẩm vi sinh xử lý nitrit trong nước ao nuôi tôm thuộc các nhóm loài *Pseudomonas stutzeri*, *Denitromonas indolicum*, *Pseudomonas denitrificans*, *Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus subtilis*.

Từ khóa: *Chế phẩm vi sinh, MPN, nitrit, vi khuẩn khử nitrit.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Tôm thẻ chân trắng là một trong số các đối tượng nuôi chủ lực, góp phần lớn vào sự phát triển của ngành nuôi trồng thủy sản và giá trị nền kinh tế của nhiều quốc gia trên thế giới. Báo cáo của Tổng cục Thủy sản, Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn cho thấy, trong năm 2022, diện tích tôm nước lợ thả nuôi đạt 747.000 ha. Trong đó, diện tích nuôi tôm thẻ chân trắng hơn 117.000 ha với sản lượng đạt hơn 743.000 tấn, tăng hơn 11% so cùng kỳ năm 2021 [1]. Khi gia tăng diện tích và sản lượng nuôi tôm thâm canh thì vấn đề ô nhiễm môi trường nước, đặc biệt là sự tích tụ các khí độc, trong đó có nitrit trong ao nuôi sẽ ảnh hưởng đến các chức năng sinh lý, sinh hóa và tăng trưởng của tôm.

Nitrit là một sản phẩm trung gian của quá trình nitrat hóa, trong đó vi khuẩn hiếu khí tự chuyển đổi ammonia thành nitrit và hợp chất này được xem là có độc tính cao đối với tôm thẻ nuôi trong nước có độ mặn thấp [2], loại khí độc này thường xuất hiện từ giai đoạn thứ 2 trong quá trình nuôi tôm, đặc biệt tại các ao nuôi tôm mật độ cao. Tiếp xúc với hàm lượng cao của các hợp chất nitơ có thể làm giảm tốc độ tăng trưởng, tôm ăn kém và gây thiệt hại ở cấp độ tế bào nặng hơn sẽ làm cho tôm chết hàng loạt. Nitrit kết hợp với hemocyanin trong máu tôm làm mất khả năng vận chuyển ôxy trong máu từ đó khiến tôm nuôi bị ngạt. Khi tôm bị ngạt mãn tính sẽ yếu, dễ mắc bệnh hoặc chết khi sốc môi trường [3]. Một tác hại phổ biến khác là gây rối loạn cân bằng áp suất thẩm thấu (ở những ao nuôi có độ mặn thấp) do nitrit cạnh tranh với ion Cl^-. Tôm bị nhiễm nitrit sẽ lột xác không cứng vỏ, tôm chậm lớn, bị tổn thương mang

[1] Công ty TNHH Dược Hanvet
[*] Email: tuyetvan.qt2@gmail.com

và phù thủng cơ. Hàm lượng nitrit phát sinh do trong quá trình nuôi, tôm chỉ hấp thu được khoảng 30% lượng đạm có trong thức ăn, phần còn lại sẽ thải ra ngoài hòa tan vào nước ao và tích lũy ở lớp bùn đáy tạo nên lượng ô nhiễm cực kỳ lớn. Do đó, vấn đề kiểm soát khí độc trong ao nuôi tôm, đặc biệt nitrit là mối quan tâm hàng đầu của các nhà nuôi trồng thủy sản.

Hiện nay, biện pháp sinh học sử dụng các chế phẩm vi sinh giúp chuyển hóa nitrit đã được Huang và cs (2017) [4], Song và cs (2011) [5] chứng minh là có hiệu quả tốt trong việc kiểm soát nitrit và mang lại hiệu quả kinh tế. Nghiên cứu của nhóm Ji và cs (2015) chỉ ra rằng, có khoảng 130 loài vi khuẩn trong đó có 50 chi đã được báo cáo có khả năng chuyển hóa nitrat [6]. Các nghiên cứu Song và cs (2011) [5], Ma và cs (2005) [7] chỉ ra rằng, nhóm vi khuẩn khử nitrat hiếu khí, dị dưỡng như nhóm vi khuẩn *Pseudomonas* và nhóm vi khuẩn *Bacillus* có ưu thế hơn so với nhóm vi khuẩn hóa năng tự dưỡng (*Nitrosomonas*, *Nitrobacter*,…) do chúng có khả năng sinh trưởng nhanh và thích nghi với điều kiện hiếu khí trong nuôi trồng thủy sản [4], [6].

Nhận thức được tầm quan trọng của nhóm vi khuẩn dị dưỡng có khả năng chuyển hóa nitrit trong ngành nuôi trồng thủy sản, vì vậy nghiên cứu này đã được tiến hành nhằm mục tiêu phân lập các chủng giống có khả năng khử nitrit trong mẫu nước ao nuôi tôm thẻ chân trắng tại khu vực Nghĩa Hưng - Nam Định nhằm ứng dụng cho các sản phẩm chế phẩm vi sinh xử lý khí độc ao nuôi tôm.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

Mười bốn mẫu nước ao được thu thập từ 14 ao nuôi tôm thẻ chân trắng tại huyện Nghĩa Hưng, tỉnh Nam Định. Các ao nuôi nước lợ có độ mặn giao động từ 18 - 27‰ và có mật độ nuôi cao từ 200 - 450 con/m^2, đang ở giai đoạn nuôi từ 40 - 120 ngày, có chất lượng nước tốt nồng độ nitrit ≤ 2 mg/l (đo bằng Nitrit-test Sera).

2.2. Phương pháp phân lập vi khuẩn chuyển hóa nitrit

Bổ sung 1 ml mẫu nước ao vào các ống nghiệm có chứa sẵn 9 ml môi trường Winograsky ($NaNO_2$ 0,006 g; $MgSO_4.7H_2O$ 0,5 g; $FeSO_4.7H_2O$ 0,03 g; NaCl 0,3 g; Na_2CO_3 1 g; K_2HPO_4 1 g; nước cất vừa đủ 1 lít, pH = 7,5) mỗi mẫu nước cấy vào 15 ống môi trường [8]. Các mẫu được nuôi cấy trong tủ ấm 30^0C, trong 21 ngày, định kỳ 7 ngày kiểm tra sự phát triển của vi khuẩn khử nitrite trong các mẫu nước ao sử dụng thuốc thử Griess, kết hợp với phương pháp MPN để xác định sự có mặt của vi khuẩn khử nitrit trong mẫu nước ao. Tại thời điểm xác nhận sự có mặt của vi khuẩn khử nitrit, tiến hành trải mẫu trên môi trường thạch đĩa Winograsky agar, các đĩa thạch ủ ở 30^0C trong 72 giờ. Khi vi khuẩn phát triển thành khuẩn lạc, chọn các khuẩn lạc rời rạc có đặc điểm hình thái khác nhau và cấy chuyển nhiều lần sang môi trường cùng loại cho đến khi chọn được các khuẩn lạc đồng nhất về hình thái và đều nhau trên đường cấy. Sau đó, cấy chuyển khuẩn lạc sang môi trường Tryptic soy agar (TSA) (105458, Merck) và ủ ở 30^0C trong 48 giờ để kiểm tra độ thuần của vi khuẩn phân lập.

2.3. Đánh giá khả năng chuyển hóa nitrit

Các chủng giống phân lập giữ ở điều kiện - 80^0C được hoạt hóa trên môi trường TSA, ủ ấm 30^0C, trong 24 - 48 giờ. Sau đó, tiến hành cấy chuyển các chủng vi khuẩn đã được hoạt hóa vào môi trường TSB bổ sung 30 mg/l $NaNO_2$ [9]. Mẫu được lắc trên máy lắc ngang với tốc độ 150 vòng/phút ở điều kiện 30^0C, xác định nồng độ nitrite ở thời điểm 0 giờ, 48 giờ. Mỗi nghiệm thức được lặp lại 3 lần. Nồng độ nitrit được định lượng bằng phương pháp Griess dựa vào phản ứng giữa nitrite với sulfanilamide và napthylendiamine tạo phức màu hồng. Phức màu của hỗn hợp từ hồng nhạt đến hồng đậm tương ứng với nồng độ nitrit trong mẫu từ thấp tới cao. Độ hấp thụ quang của hỗn hợp được xác định ở bước sóng 540 nm [9] bằng máy đo quang phổ V-550 UV/VIS Spectrophotometer Specifications.2.4. Giải trình tự gene 16S rRNA

ADN của các chủng vi khuẩn được tách chiết sử dụng kit WizprepTM Viral DNA/RNA mini kit (V2) (W73052-100). Phản ứng PCR khuếch đại đoạn 16S rRNA được thực hiện với cặp mồi 27F (AGAGTTTGATCCTGGCTCAG) và 1525R (AAAGGAGGTGATCCAGCC). Sản phẩm PCR có

kích thước 1.499 bp được điện di và kiểm tra trên gel agarose 1% có bổ sung với chất phát huỳnh quang Redsafe (Intron Biotechnology, Hàn Quốc). Sản phẩm PCR được tinh sạch và giải trình tự tại Africal Scientific Sdn Bhd. Sắc đồ trình tự được kiểm tra và xử lý trên phần mềm Chromas lite 2.1. Mức độ tương đồng về trình tự gen mã hóa riboxôm 16S của chủng nghiên cứu so với các chủng đã công bố trên ngân hàng gen được so sánh sử dụng công cụ tra cứu BLAST (http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi).

2.4. Phương pháp xử lý số liệu

Các số liệu được xử lý bằng phần mềm Microsoft excel 2016.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả phân lập các chủng vi khuẩn khử nitrit

Kết quả ghi nhận, 14 mẫu nước ao đều có hàm lượng nitrit giảm sau 21 ngày nuôi cấy tăng sinh vi khuẩn chuyển hóa nitrit trong môi trường Winograsky thể hiện tại bảng 1.

Bảng 1. Kết quả xác định sự có mặt của vi khuẩn khử nitrite trong mẫu nước ao

STT	Tên mẫu	Thông số ao nuôi	Hàm lượng nitrit (mg/l)			Hiệu suất chuyển hóa nitrit tuần 3 (%)
			7 ngày	14 ngày	21 ngày	
1	Đối chứng	Môi trường Winograsky	4,324±0,09	4,346±0,084	4,36±0,091	/
2	Ao 1	Ao nuôi 60 ngày, mật độ 200 con/m^2, độ mặn 19‰, nitrit = 0,5 mg/l	4,479±0,013	3,509±0,035	1,66±0,036	61,61
3	Ao 2	Ao nuôi 90 ngày, mật độ 400 con/m^2, độ mặn 18‰, nitrit < 2 mg/l	6,399±0,063	3,093±0,011	1,83±0,028	57,68
4	Ao 3	Ao nuôi 75 ngày, mật độ 250 con/m^2, độ mặn 19‰, nitrit = 2 mg/l	7,778±0,16	4,394±0,012	1,84±0,011	57,45
5	Ao 4	Ao nuôi 56 ngày, mật độ 230 con/m^2, độ mặn 20‰, nitrit < 2 mg/l	5,524±0,084	4,531±0,024	2,53±0,024	41,49
6	Ao 5	Ao nuôi 50 ngày, mật độ 200 con/m^2, độ mặn 25‰, nitrit = 0 mg/l	5,124±0,043	2,879±0,020	2,2±0,056	49,12
7	Ao 6	Ao nuôi 45 ngày, mật độ 200 con/m^2, độ mặn 25‰, nitrit < 2 mg/l	7,501±0,011	2,97±0,011	0,137±0,003	96,83
8	Ao 7	Ao nuôi 80 ngày, mật độ 200 con/m^2, độ mặn 25‰, nitrit = 0 mg/l	1,0382±0,062	0,292±0,011	0,025±0,004	99,42
9	Ao 8	Ao nuôi 90 ngày, mật độ 400 con/m^2, độ mặn 25‰, nitrit = 0 mg/l	4,098±0,071	2,784±0,009	0,029±0,001	99,33
10	Ao 9	Ao nuôi 50 ngày, mật độ 200 con/m^2, độ mặn 27‰, nitrit = 0 mg/l	3,344±0,037	0,04±0,001	0,032±0,001	99,26
11	Ao 10	Ao nuôi 75 ngày, mật độ 200 con/m^2, độ mặn 27‰, nitrit < 2 mg/l	1,072±0,016	0,384±0,009	0,28±0,028	93,52
12	Ao 11	Ao nuôi 75 ngày, mật độ 200	2,446±0,034	0,271±0,011	0,003±0,001	99,93

		con/m^2, độ mặn 27‰, nitrit = 0 mg/l				
13	Ao 12	Ao nuôi 40 ngày, mật độ 450 con/m^2, độ mặn 25‰, nitrit < 2 mg/l	3,821±0,045	0,665±0,008	0,378±0,01	91,26
14	Ao 13	Ao nuôi 75 ngày, mật độ 200 con/m^2, độ mặn 24‰, nitrit = 0 mg/l	4,069±0,029	3,204±0,068	1,82±0,028	57,91
15	Ao 14	Ao nuôi 120 ngày, mật độ 200 con/m^2, độ mặn 19‰, nitrit = 2 mg/l	1,356±0,057	2,813±0,029	1,13±0,058	73,87

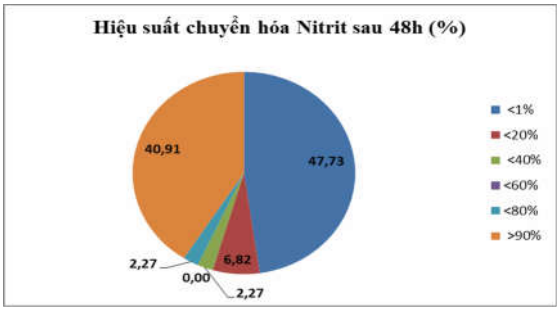
Mức độ chuyển hóa nitrit ở các mẫu nước ao là khác nhau, nồng độ nitrit được chuyển hóa ở các mẫu nước ao dao động từ 41,49 - 99,93%. Trong đó, 4 mẫu nước ao có hiệu suất chuyển hóa nitrit cao nhất là mẫu nước ao số 11 đạt 99,93%, mẫu nước ao số 7 đạt 99,42%, mẫu nước ao số 8 đạt 99,33% và mẫu nước ao số 9 đạt 99,26%. Các mẫu nước ao tăng sinh 21 ngày được trải trên đĩa môi trường thạch Winograsky agar, sau đó tiếp tục được làm thuần trên môi trường thạch Winograsky agar và môi trường TSA, 44 chủng vi khuẩn được phân lập từ 14 mẫu nước ao có khả năng hoạt hóa trên môi trường Winograsky agar và môi trường TSA. Về đặc điểm hình thái các chủng vi khuẩn phân lập có hình tròn hoặc không đều; bìa nguyên, nhám hoặc xẻ thùy; màu trắng đục, trắng ngà, vàng hoặc vàng cam; bề mặt bóng, mềm hoặc nhăn, không nhầy; đường kính khuẩn lạc dao động từ 0,1 - 3 mm sau 24 - 48 giờ nuôi cấy trên môi trường TSA.

Quan sát tiêu bản nhuộm Gram dưới kính hiển vi quang học với độ phóng đại 100X thu được kết quả như sau: Trong 44 chủng vi khuẩn được phân lập, có 3 chủng vi khuẩn thuộc nhóm vi khuẩn Gram (+) (chiếm 6,82%), 41 chủng vi khuẩn thuộc nhóm vi khuẩn Gram (-) (chiếm 93,18%). Trong đó, 34/44 chủng Gram (-) có hình thái tế bào dạng trực khuẩn ngắn (chiếm 77,27%), 7/44 chủng có hình thái tế bào dạng cầu trực khuẩn (chiếm 15,9%) (Bảng 2). Kết quả này cũng tương đồng với kết quả nghiên cứu của Phạm Thị Tuyết Ngân và cs (2020) phân lập các chủng chuyển hóa đạm từ các mẫu bùn ao ghi nhận trong các chủng vi khuẩn được phân lập có 98,4% là các chủng vi khuẩn Gram (-), trong đó các chủng có tế bào hình que ngắn chiếm tỷ lệ cao nhất 46% [10].

Bảng 2. Hình thái tế bào các chủng vi khuẩn phân lập

STT	Chỉ tiêu hình thái tế bào	Số lượng chủng giống
1	Gram (+)	3/44
2	Gram (-)	41/44
3	Trực khuẩn ngắn	34/44
4	Trực khuẩn	3/44
5	Cầu trực khuẩn	7/44

3.2. Kết quả đánh giá khả năng chuyển hóa nitrit



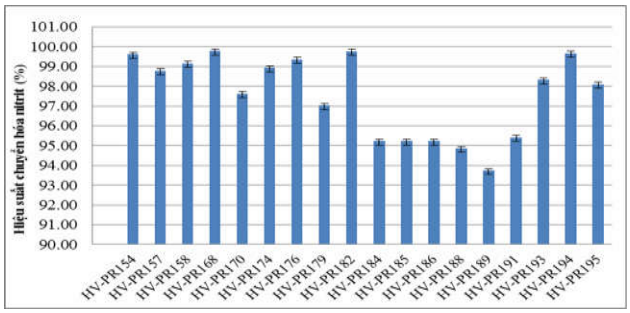
Hình 1. Kết quả đánh giá khả năng khử nitrit của 44 chủng giống phân lập

Bốn mươi bốn chủng vi khuẩn phân lập được đánh giá khả năng chuyển hóa nitrit trong phòng thí nghiệm sử dụng thuốc thử Griess. Sau 48 giờ, hiệu suất chuyển hóa nitrit của các chủng vi khuẩn phân lập được ghi nhận tại hình 1.

Trong 44 chủng vi khuẩn phân lập từ các mẫu nước ao, 18 chủng vi khuẩn có hiệu suất chuyển hóa nitrit >90% (chiếm 40,91%), 1 chủng vi khuẩn có hiệu suất chuyển hóa nitrit <80% (chiếm 2,27%), 1 chủng vi khuẩn có hiệu suất chuyển hóa nitrit <40% (chiếm 2,27%), 3 chủng vi khuẩn có hiệu suất chuyển hóa nitrit <20% (chiếm 6,82%) và 21 chủng vi khuẩn có hiệu suất chuyển hóa nitrit <1%. Kết

quả đánh giá khả năng chuyển hóa nitrit 18 chủng vi khuẩn có hiệu suất chuyển hóa nitrit >90% được thể hiện trong hình 2.

18 chủng vi khuẩn HV-PR154, HV-PR157, HV-PR158, HV-PR168, HV-PR170, HV-PR174, HV-PR176, HV-PR179, HV-PR182, HV-PR184, HV-PR185, HV-PR186, HV-PR188, HV-PR189, HV-PR191, HV-PR193, HV-PR194, HV-PR195 có khả năng chuyển hóa nitrit tốt sau 48 giờ đánh giá, hiệu suất chuyển hóa nitrit của 18 chủng vi khuẩn sau 48 giờ lần lượt là 99,61; 98,77; 99,15; 99,78; 97,62; 98,93; 99,36; 97,03; 99,76; 95,23; 95,23; 95,22; 94,86; 93,74; 95,42; 98,32; 99,66; 98,1%. Kết quả tương tự cũng được tìm thấy ở nghiên cứu của Nguyễn Thị Phi Oanh và Nguyễn Thị Trúc Mai (2019) cho rằng, nhóm vi khuẩn chuyển hóa nitrit được phân lập tại ao tôm thẻ chân trắng ở tỉnh Bạc Liêu cho hiệu suất xử lý nitrit là 97,2% trong thời gian 3 ngày [11].



Hình 2. Hiệu suất chuyển hóa nitrit của 18 chủng vi khuẩn

3.3. Kết quả định danh giải trình tự đoạn gen 16S rRNA các chủng vi khuẩn khử nitrit

Mười tám chủng vi khuẩn có khả năng chuyển hóa nitrit được lựa chọn tiến hành định danh giải trình tự đoạn gen 16S rRNA, kết quả thể hiện tại bảng 3.

Bảng 3. Kết quả giải trình tự đoạn gen 16S rRNA của 18 chủng vi khuẩn có khả năng khử nitrit

STT	Tên chủng	Loài tương đồng	Mức độ tương đồng (%)	Số hiệu đoạn 16S rRNA tham chiếu
1	HV-PR154	*Pseudomonas stutzeri*	99,93	CP025149
2	HV-PR157	*Denitromonas indolicum*	99,59	AY972852
3	HV-PR158	*Pseudomonas denitrificans*	99,17	HQ113222
4	HV-PR168	*Thermomonas brevis*	99,73	CP060711
5	HV-PR170	*Pseudomonas stutzeri*	99,86	CP071899
6	HV-PR174	*Klebsiella pneumoniae*	99,79	CP052278
7	HV-PR176	*Pseudomonas stutzeri*	99,59	CP025149
8	HV-PR179	*Pseudomonas fluorescens*	99,66	KY867527
9	HV-PR182	*Pararhodobacter aggregans*	99,42	MH332384
10	HV-PR184	*Pseudomonas fluorescens*	99,93	KY867527
11	HV-PR185	*Pseudomonas fluorescens*	100	KY867527
12	HV-PR186	*Pseudomonas fluorescens*	99,93	CP032618
13	HV-PR188	*Pseudomonas fluorescens*	99,93	KY867527
14	HV-PR189	*Pantoea dispersa*	100	JN391535
15	HV-PR191	*Pantoea dispersa*	99,93	KY292463
16	HV-PR193	*Bacillus licheniformis*	100	MK618601
17	HV-PR194	*Bacillus megaterium*	100	CP045272
18	HV-PR195	*Bacillus subtilis*	100	CP026662

Dựa trên kỹ thuật phân tích trình tự đoạn gen 16S rRNA, 18 chủng vi khuẩn có khả năng chuyển hóa nitrit được phân loại vào các chi *Denitromonas* (1 chủng thuộc 1 loài), *Pseudomonas* (9 chủng thuộc 3 loài), *Thermomonas* (1 chủng thuộc 1 loài), *Klebsiella* (1 chủng thuộc 1 loài),

Parahodobacter (1 chủng thuộc 1 loài), *Pantoea* (2 chủng thuộc 1 loài), *Bacillus* (3 chủng thuộc 3 loài). Trong đó, chi *Pseudomonas* được xuất hiện nhiều nhất với 9 chủng thuộc 3 loài *Pseudomonas denitrificans* (1 chủng), *Pseudomonas stutzeri* (3 chủng), *Pseudomonas fluorescens* (5 chủng) chiếm 47,06% trong tổng số các chủng vi khuẩn chuyển hóa nitrit được phân lập. Kết quả này cũng tương đồng với kết quả nghiên cứu của nhóm nghiên cứu Huang và cs (2015, 2017) đưa ra kết luận nhóm vi khuẩn *Pseudomonas* và *Bacillus* có khả năng chuyển hóa nitrit [12], [13]. Đặc biệt, của Hongxia và cs (2020) nghiên cứu chỉ ra nhóm vi khuẩn *Pseudomonas* có chứa các gen NorK, NorS và NosZ tham gia vào quá trình khử nitrit ($NO_3^- \rightarrow NO_2^- \rightarrow NO \rightarrow N_2O \rightarrow N_2$) [14]. Nghiên cứu của Beni Lew và cs (2012) chỉ ra các đặc điểm của nhóm vi khuẩn khử nitrat trong mẫu bùn, kết quả giải trình tự ghi nhận nhóm vi khuẩn khử nitrat đưa ra trong nghiên cứu gần gũi với loài *D. indolicum* [14]. Kế thừa những nghiên cứu trong và ngoài nước về nhóm vi khuẩn chuyển hóa nitrit, 12 chủng vi khuẩn: HV-PR154, HV-PR157, HV-PR158, HV-PR170, HV-PR176, HV-PR179, HV-PR185, HV-PR186, HV-PR188, HV-PR193, HV-PR194, HV-PR195 thuộc 7 nhóm loài *P. stutzeri*, *D. indolicum*, *P. denitrificans*, *P. fluorescens*, *B. licheniformis*, *B. megaterium*, *B. subtilis* được lựa chọn tiềm năng có khả năng ứng dụng cho các sản phẩm chế phẩm vi sinh xử lý nitrit trong nước ao nuôi tôm.

4. KẾT LUẬN

Từ 44 chủng vi khuẩn được phân lập trong 14 mẫu nước ao nuôi tôm thẻ chân trắng có mật độ nuôi cao từ 200 - 450 con/m^2, giai đoạn nuôi từ 40 đến 120 ngày, có chất lượng nước tốt với nồng độ nitrit ≤ 2 mg/l tại huyện Nghĩa Hưng, tỉnh Nam Định, 18 chủng vi khuẩn có khả năng chuyển hóa nitrit đã được tuyển chọn. Dựa vào kết quả giải trình tự đoạn gen 16S rRNA, 12 chủng vi khuẩn HV-PR154, HV-PR157, HV-PR158, HV-PR170, HV-PR176, HV-PR179, HV-PR185, HV-PR186, HV-PR188, HV-PR193, HV-PR194, HV-PR195 thuộc 7 nhóm loài *P. stutzeri*, *D. indolicum*, *P. denitrificans*, *P. fluorescens*, *B. licheniformis*, *B. megaterium*, *B. subtilis* được lựa chọn có tiềm năng cho nghiên cứu chế phẩm vi sinh xử lý nitrit trong nước ao nuôi tôm.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được thực hiện bởi quỹ nghiên cứu đề tài thuộc Công ty TNHH Dược Hanvet.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Thạch Hồng (2023). https://vov.gov.vn/phan-dau-kim-ngach-xuat-khau-tom-tren-43-ty-usd, truy cập ngày 3/3/2023.

2. Gross, A., Abutbul, S., Zilberg, D. (2004). Acute and chronic effects of nitrite on white shrimp, Litopenaeus vannamei, cultured in low-salinity brackish water. *Journal of the world aquaculture society,* 35(3): 315 - 321.

3. Boyd, C. E. (1998). Water quality for pond aquaculture. *International Center for Aquaculture and Aquatic Environments Alabama Agriculture Experiment Station Auburn University, Auburn, Alabama*. 37p.

4. Huang, F., Pan, L., Lv, N., and Tang, X. (2017). Characterization of novel *Bacillus* strain N31 from mariculture water capable of halophilic heterotrophic nitrification-aerobic denitrification. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 124 (5): 564 - 571.

5. Song, Z. F., An, J., Fu, G. H., and Yang, X. L. (2011). Isolation and characterization of an aerobic *denitrifying Bacillus* sp. YX-6 from shrimp culture ponds. *Aquaculture*, 319 (1): 188 - 193.

6. Ji, B., Yang, K., Zhu, L., Jiang, Y., Wang, H., Zhou, J., and Zhang, H. (2015). Aerobic denitrification: A review of important advances of the last 30 years. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 20 (4): 643-651.

7. Ma, F., Wang, H. Y., Zhou, D. D., and Zuo, W. (2005). Denitrification characteristics of an aerobic denitrifying bacterium *Pseudomonas chloritidismutans* strain X31. *Journal of South China University of Technology*, 33 (7): 42 - 46.

8. G.G. Ehrlich (1975). Water quality: analytical methods - nitrifying bacteria (most probable number, MPN, method). *R. J. Pickering*, 75, p.13.

9. APHA, American Public Health Association, (2001). Standard methods for the examination of

water and wastewater. 20th ed. *American Public Health Association*, Washington DC.

10. Phạm Thị Tuyết Ngân, Vũ Hùng Hải, Huỳnh Trường Giang và Vũ Ngọc Út (2020). Phân lập và tuyển chọn vi khuẩn chuyển hóa đạm từ bùn đáy ao nuôi tôm thẻ chân trắng (*Litopenaeus vannamei*). *Tạp chí Khoa học, Trường Đại học Cần Thơ*. Tập 56, số 4B: 154 - 160

11. Nguyễn Thị Phi Oanh và Nguyễn Thị Trúc Mai (2019). Phân lập vi khuẩn có khả năng chuyển hóa nitrite trong một số ao nuôi tôm ở Bạc Liêu. *Tạp chí Khoa học, Trường Đại học Cần Thơ*. 55(6B): 75-81.

12. Huang, T., Guo, L., Zhang, H., Su, J., Wen, G., Zhang, K. (2015). Nitrogen-removal efficiency of a novel aerobic denitrifying bacterium, *Pseudomonas stutzeri* strain ZF31, isolated from a drinking-water reservoir. *Bioresour. Technol.* 196, 209 - 216.

13. Huang, F., Pan, L., Lv, N., Tang, X. (2017). Characterization of novel *Bacillus* strain N31 from mariculture water capable of halophilic heterotrophic nitrification-aerobic denitrification. *J. Biosci. Bioeng*. 124 (5), 564–571.

14. Hongxia Ming , Jingfeng Fan , Quanrui Chen , Jie Su , Jixue Song , Jin Yuan , Tingting Shi & Bochao Li. (2020). Diversity and abundance of denitrifying bacteria in the sediment of a eutrophic estuary. *Geomicrobiology Journal*.

15. Beni Lew, Peter Stief, Michael Beliavski, Aviad Ashkenazi, Olivera Svitlica, Abid Khan, Sheldon Tarre, Dirk de Beer, Michal Green (2012). Characterization of denitrifying granular sludge with and without the addition of external carbon source. *Bioresource technology*, volume 124, November 2012, pages 413 - 420.

ISOLATION AND SELECTION OF REDUCING - NITRITE BACTERIA FROM WHITE SHRIMP (*Penaeus vannamei*) PONDS IN NGHIA HUNG DISTRICT, NAM DINH PROVINCE

Dinh Thi Tuyet Van[1], Le Kieu Trinh[1],

Nguyen Thai Duong[1], Nguyen Thi Men[1], Tran Van Khanh[1]

[1]Hanvet Pharmaneutical Company Limited

Summary

Nitrite is a toxic gas arising during shrimp farming, especially in intensive shrimp ponds, this toxic gas usually appears from the second stage in the culture process. Nitrite will penetrate into the blood of shrimp and bind with hemocyanin, which making it unable to metabolize oxygen in the blood and leading to shrimp suffocation. Controlling toxic gases in shrimp ponds, especially nitrite, is mostly concerned by aquaculture producers. This study was carried out to isolate bacterial strains capable of reducing nitrite in shrimp pond water, to apply for microbial products to treat toxic gases in shrimp ponds. In order to isolate bacterial strains capable of reducing nitrite, we collected 14 samples of good water quality from intensive shrimp ponds, in stage 2, at Nghia Hung district, Nam Dinh province. Using the Most probable number (MPN) method on Winograsky medium, 44 bacterial strains were isolated, of which found out 18 strains were able to reduce nitrite. Based on the results of classification by 16S rRNA gene sequencing, 12 bacterial strains belonging to 7 groups of species were selected with potential to be applicable for microbial products to treat nitrite in shrimp ponds, which belonged to species groups of *Pseudomonas stutzeri*, *Denitromonas indolicum*, *Pseudomonas denitrificans*, *Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus subtilis*.

Keywords: *Microbial product, MPN, nitrite, reducing-nitrite bacteria.*

Người phản biện: PGS.TS. Kim Văn Vạn

Ngày nhận bài: 21/7/2023

Ngày thông qua phản biện: 12/8/2023

Ngày duyệt đăng: 29/9/2023

KHẢO SÁT MẦM BỆNH CÓ LIÊN QUAN ĐẾN BỆNH PHÂN TRẮNG (WHITE FECES DISEASE - WFD) TRÊN TÔM THẺ CHÂN TRẮNG (*Penaeus vannamei*) NUÔI TẠI TỈNH THỪA THIÊN HUẾ

Trương Thị Hoa[1,*], Trần Nam Hà[1], Hồ Thị Tùng[1]

TÓM TẮT

Nghiên cứu nhằm xác định các yếu tố liên quan đến bệnh phân trắng (White Feces Disease - WFD) ở tôm thẻ chân trắng (*Penaeus vannamei*) nuôi tại tỉnh Thừa Thiên Huế. Nghiên cứu đã tiến hành theo dõi các ao nuôi tôm ở tỉnh Thừa Thiên Huế để phân biệt ao bị bệnh WFD và ao không bị bệnh. Các mẫu tôm và nước từ cả hai loại ao đã được thu thập định kỳ. Kết quả nghiên cứu cho thấy sự hiện diện của Gregarine, vi khuẩn *Vibrio*, tảo lam và tảo giáp trong ao nuôi tôm thẻ chân trắng bị bệnh WFD, trong khi không phát hiện Gregarine ở tôm thẻ chân trắng không bị bệnh. Cường độ nhiễm Gregarine ở tôm thẻ chân trắng từ ao bị bệnh WFD biến đổi qua ba đợt thu mẫu với các giá trị lần lượt là 15,6 Gregarine/tôm, 20 Gregarine/tôm và 25,9 Gregarine/tôm. Tỷ lệ nhiễm Gregarine ở tôm thẻ chân trắng từ ao bị bệnh WFD là 100%. Mật độ vi khuẩn *Vibrio* trên tôm thẻ chân trắng và trong nước ao nuôi ở ao tôm bị bệnh cao hơn ao không bị bệnh phân trắng. Ở đợt thu mẫu thứ 03, mật độ vi khuẩn *Vibrio* trên tôm thẻ chân trắng ở ao bị bệnh và ao không bị bệnh lần lượt là 2,1 x 10^5 CFU/mL và 2,9 x 10^4 CFU/mL. Ngoài ra, mật độ tảo lam và tảo giáp trong ao nuôi tôm bị bệnh WFD cao hơn so với ao không bị bệnh. Kết quả kiểm tra vi bào tử trùng *Enterocytozoon hepatopenaei* (EHP) trên tôm thẻ chân trắng bị bệnh WFD cho thấy, tỷ lệ nhiễm EHP là 83%. Tóm lại, kết quả nghiên cứu cung cấp các đánh giá liên quan tới các yếu tố ảnh hưởng đến WFD như sự hiện diện của Gregarine, mật độ vi khuẩn *Vibrio*, tảo lam và tảo giáp trong môi trường ao nuôi tôm thẻ chân trắng.

Từ khóa: *Bệnh phân trắng, Enterocytozoon hepatopenaei, Gregarine, tảo, Vibrio.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Tôm thẻ chân trắng (*Penaeus vannamei*) là một trong những đối tượng được nuôi thâm canh tại nhiều địa phương trong cả nước. Việc phát triển nuôi thâm canh tôm thẻ chân trắng gây ô nhiễm nguồn nước, làm giảm chất lượng nước nuôi, ảnh hưởng đến sức khỏe tôm và làm cho tôm dễ bị nhiễm mầm bệnh [1].

Bệnh phân trắng (White Feces Disease - WFD) là một trong những bệnh phổ biến trên tôm, bệnh đã xuất hiện ở các trang trại nuôi tôm thẻ chân trắng gây thiệt hại kinh tế nghiêm trọng. Bệnh phân trắng thường xuất hiện sau 50 - 70 ngày thả giống. Tôm bị bệnh có dấu hiệu tăng trưởng chậm, có tỷ lệ chuyển hoá thức ăn cao và tỷ lệ sống thấp [2]. Tôm bệnh WFD thường được chẩn đoán bằng cách dựa vào sự xuất hiện của các sợi phân màu trắng nổi trên mặt nước ao, các dấu hiệu bên ngoài của tôm bị bệnh WFD bao gồm ruột trắng và vỏ giáp đầu ngực mềm [3]. Tuy nhiên, chưa có nghiên cứu nào liên quan đến nguyên nhân chính gây ra WFD, nhưng nhóm vi khuẩn *Vibrio* và sự xuất hiện vi sợi trong tế bào biểu mô bị biến dạng giống như trùng 2 tế bào (Gregarine) và thực vật phù du ở trong ao đã được xem là có liên quan đến WFD [4]; [5]. Ngoài ra, một số nghiên cứu đã xác định mối quan hệ giữa WFD và nhiễm *Enterocytozoon hepatopenaei* (EHP), Gregarine và vi khuẩn *Vibrio* trên tôm gây ảnh hưởng đến sinh trưởng của tôm [6].

Do đó, nghiên cứu được thực hiện nhằm xác định một số tác nhân có liên quan đến bệnh phân trắng (White Feces Disease - WFD) trên tôm thẻ

[1] Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Huế
[*] Email: truongthihoa@huaf.edu.vn

chân trắng (*Penaeus vannamei)* nuôi tại tỉnh Thừa Thiên Huế.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Sử dụng môi trường Thiosulfate Citrate Bile Salts Sucrose (TCBS, Merck) để nuôi cấy vi khuẩn. Xác định mật độ tảo lam và tảo giáp trong nước bằng buồng đếm Sedgewick Rafter. Các loại hóa chất phục vụ các phản ứng chiết suất AND, bộ KIT GeneJET Genomic DNA Purification Kit, cặp mồi EHP (EHP-510F 5'- GCCTGAGAGATGGCTC CCACGT -3' và EHP-510R 5' GCGTACTATCCCC AGAGCCCGA -3').

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Thu mẫu

Tiến hành thu mẫu tôm và mẫu nước ở 6 ao tôm thẻ chân trắng nuôi thâm canh tại xã Vinh Mỹ, huyện Phú Lộc, tỉnh Thừa Thiên Huế. Thu mẫu từ khi bắt đầu thả giống cho đến khi thu hoạch. Khi bắt đầu thả nuôi các ao tôm đều bình thường. Sau khi có ao xuất hiện dấu hiệu của bệnh phân trắng được chia thành 2 nhóm: Ao bị bệnh và ao không bị bệnh phân trắng. Mẫu tôm và mẫu nước được thu ở thời điểm 30 ngày nuôi, 41 ngày nuôi (do có ao tôm bị bệnh phân trắng ở thời điểm này) và sau đó định kỳ 15 ngày thu mẫu (tương ứng với thời điểm 56 và 71 ngày nuôi). Thu ngẫu nhiên 10 con tôm/ao, tôm được đóng trong túi ni lông, có sục khí và vận chuyển về phòng thí nghiệm để phân tích ngay. Mẫu nước được thu trong ao nuôi tại các vị trí cấp vào và thoát ra và mỗi vị trí thu 1 L và trộn chung lại.

2.2.2. Kiểm tra Gregarine trên tôm thẻ chân trắng

Kiểm tra Gregarine trên tôm thẻ chân trắng theo phương pháp của Madhuri và cs (2021) [7]. Lấy mẫu tôm và phết mẫu gan tụy, ruột lên lam kính để soi tươi và kiểm tra Gregarine dưới kính hiển vi, xác định tỷ lệ nhiễm và cường độ nhiễm Gregarine theo công thức:

Cường độ nhiễm trung bình (CĐNTB) (Gregarine/tôm) = (Tổng số *Gregarine* trên các mẫu tôm kiểm tra/ Số mẫu tôm kiểm tra).

Tỷ lệ nhiễm Gregarine (%) = (Số mẫu tôm nhiễm Gregarine/Số mẫu tôm kiểm tra) x 100.

2.2.3. Phương pháp xác định mật độ vi khuẩn Vibrio trên tôm và trong nước ao nuôi

Phương pháp xác định mật độ vi khuẩn *Vibrio* trên tôm và trong nước ao nuôi được tiến hành theo phương pháp của Buller (2004) [8]. Tiến hành pha loãng mẫu nước và mẫu gan tụy tôm. Lấy 1 mL mẫu nước (hoặc 1 g mẫu gan tụy) cần nghiên cứu, đưa sang ống nghiệm thứ nhất, làm đồng đều được độ pha loãng 10 lần (10^{-1}). Lấy 1 mL mẫu nước (hoặc mẫu gan tụy) ở ống nghiệm 10^{-1}, đưa sang ống nghiệm thứ hai, làm đồng đều, được độ pha loãng 100 lần (10^{-2}). Cứ làm như vậy, được các độ pha loãng tiếp theo: 10^{-3}, 10^{-4}, 10^{-5} … Lấy 0,1 mL nước (hoặc mẫu gan tụy) cấy trên môi trường TCBS, ủ ở nhiệt độ 28^0C, sau 24 giờ đếm số khuẩn lạc mọc trên đĩa thạch, lấy giá trị trung bình của các đĩa có cùng nồng độ pha loãng. Mật độ vi khuẩn được tính theo công thức sau đây:

$$X = \frac{A}{V} * K$$

Trong đó: X là số lượng vi khuẩn (CFU/mL); A là số khuẩn lạc trung bình đếm được; V là thể tích đưa vào nuôi cấy (mL); K là hệ số pha loãng.

2.2.4. Phương pháp định lượng tảo lam và tảo giáp

Thu mẫu nước và xác định mật độ tảo lam và tảo giáp theo phương pháp của Tomas (1997) [9]. Sử dụng buồng đếm Sedgewick Rafter và soi mẫu dưới kính hiển vi có độ phóng đại X10. Nước ao sau khi được thu và cố định bằng formalin (40%) với nồng độ 1 ml/L tại hiện trường, để lắng sau 24 giờ, loại bỏ nước mặt và giữ lại còn 50 mL, đếm 3 lần bằng buồng đếm Sedgewick Rafter. Mật độ tế bào tảo được xác định theo công thức:

Số tế bào/mL = Lượng tế bào trung bình đếm được trong 1 ô x 1.000.

2.2.5. Phương pháp kiểm tra EHP trên tôm

Mỗi con tôm bị bệnh phân trắng của các đợt thu mẫu được kiểm tra EHP. Các mẫu gan tụy tôm bị bệnh phân trắng được sử dụng để tách chiết ADN theo phương pháp của Tang và cs (2016) [10]. ADN tổng số được tách chiết bằng bộ KIT

GeneJET Genomic DNA Purification Kit. Phản ứng khuếch đại đoạn gen được thực hiện với cặp mồi đặc hiệu: EHP-510F 5'- GCCTGAGAGA TGGCTCCCACGT -3'; EHP-510R 5' GCGTACT ATCCCCAGAGCCCGA -3'. Khếch đại PCR được thực hiện trên máy (MJ - MiníTM Persanol Thermal Cycle, Bio - Rad) theo chu trình luân nhiệt như sau: 95°C/5 phút; tiếp đến là 30 chu kỳ: 95°C/45 giây, 57°C/30 giây và 72°C/1 phút; cuối cùng là 72°C/7 phút. Sản phẩm PCR được điện di kiểm tra trên gel agarose 2% và nhuộm màu bằng chất nhuộm màu huỳnh quang ethidium bromide (EtBr 0,5 µg/L). Kết quả PCR được điện di kiểm tra trên gel agarose 2% ở 100 V trong đệm TBE 0.5X. Nhuộm agarose gel 30 phút trong dung dịch Ethydium bromide (EtBr 0,5 µg/L) và quan sát hình ảnh điện di dưới ánh sáng tử ngoại bằng hệ thống Gel Documentation (BioRad).

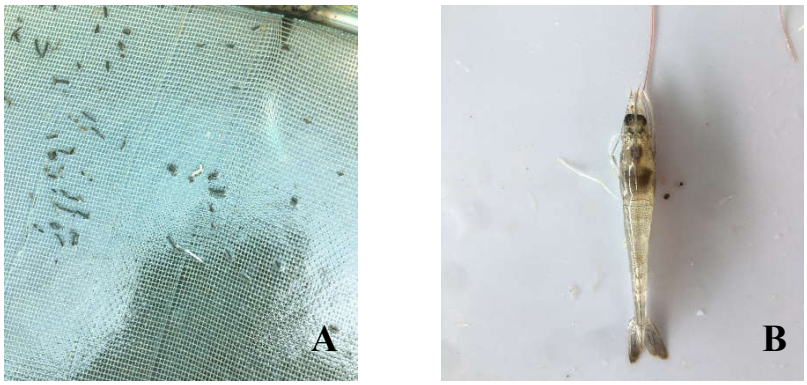
2.2.6. Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu được nhập và xử lý trên phần mềm Microsoft Excel và SPSS version 20. So sánh sự khác biệt của các yếu tố ở ao bị bệnh phân trắng và ao không bị bệnh phân trắng được thực hiện theo phương pháp phân tích phương sai 01 nhân tố ANOVA theo tiêu chuẩn Turkey với độ tin cậy 95%.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả kiểm tra *Gregarine* trên tôm

Kết quả theo dõi các ao nuôi tôm tại xã Vinh Mỹ, huyện Phú Lộc, tỉnh Thừa Thiên Huế cho thấy ở thời điểm 41 ngày nuôi, ao tôm có dấu hiệu bệnh phân trắng. Khi kiểm tra ao tôm bị bệnh có sự xuất hiện của các dãi phân trắng trong sàng ăn (Hình 1A), tôm có hiện tượng mềm vỏ và gan tụy nhạt màu (Hình 1B).



Hình 1. Mẫu phân trắng và tôm có dấu hiệu bệnh phân trắng thu trong ao nuôi

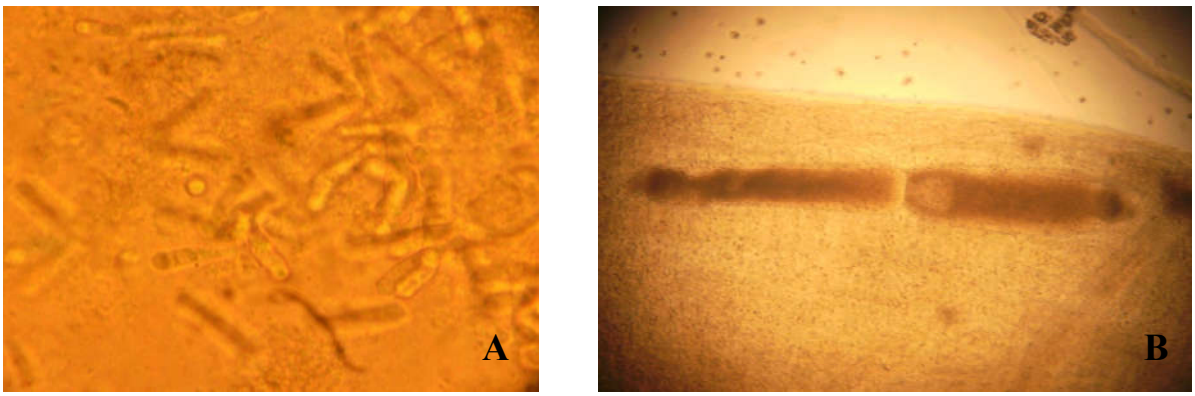
Ghi chú: A- Những đoạn phân trắng trong sàng ăn; B- Tôm bị mềm vỏ, đường ruột có màu vàng và gan tụy nhạt màu.

Kết quả kiểm tra Gregarine trong ruột tôm thẻ chân trắng cho thấy, tỷ lệ nhiễm Gregarine trong ruột tôm thẻ chân trắng ở ao nuôi bị bệnh phân trắng là 100% và cường độ nhiễm trung bình tăng lên qua các đợt thu mẫu. Cường độ nhiễm Gregarine ở tôm thẻ chân trắng bị bệnh WFD biến đổi qua ba đợt thu mẫu với các giá trị lần lượt là 15,6 Gregarine/tôm, 20 Gregarine/tôm và 25,9 Gregarine/tôm. Trong khi đó ở ao không bị bệnh phân trắng không ghi nhận sự xuất hiện của Gregarine trên tôm (Bảng 1). Limsuwan (2012) [11] cho rằng, tôm bệnh phân trắng là do Gregarine làm tổn thương thành ruột và dạ dày kết hợp với mật độ vi khuẩn *Vibrio* gây hoại tử đường ruột. Theo Sriurairatana và cs (2014) [4], có sự xuất hiện của trùng hai tế bào dạng giun (Vermiform) trong gan và ruột của tôm bị bệnh phân trắng, làm cho tôm giảm ăn và chậm lớn. Theo nghiên cứu của Madhuri và cs (2021) [7], bệnh phân trắng thường xuất hiện sau 50 – 60 ngày nuôi, khi kiểm tra các mẫu tôm bị bệnh đều ghi nhận Gregarine trong ruột tôm và số lượng Gregarine trong ruột tôm cao thì nguy cơ tổn thương và nhiễm trùng ở tôm càng lớn. Từ kết quả này cho thấy, Gregarine là một trong những tác nhân gây bệnh phân trắng trên tôm và cường độ nhiễm Gregarine trên tôm tăng lên theo thời gian nuôi.

Bảng 1. Cường độ nhiễm và tỷ lệ nhiễm Gregarine trong ruột tôm thẻ chân trắng

Thời gian nuôi (ngày)	Cường độ nhiễm trung bình (Gregarine/tôm) (TB±SD)		Tỷ lệ nhiễm (%)	
	AB	AKB	AB	AKB
41	15,6 ± 1,42[a]	-	100	-
56	20 ± 1,15[b]	-	100	-
71	25,9 ± 0,87[c]	-	100	-

Ghi chú: Ký hiệu AB: Ao tôm có dấu hiệu phân trắng; AKB: Ao tôm không có dấu hiệu phân trắng; "-": Không có Gregarine trong ruột tôm; các giá trị trong cùng cột có các chữ cái (a, b, c) khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa thống kê (p<0,05).



Hình 2. Hình dạng Gregarine trong ruột tôm (A-X10; B-X40)

3.2. Kết quả xác định mật độ vi khuẩn *Vibrio* trên tôm và trong nước ao nuôi

Kết quả xác định mật độ vi khuẩn *Vibrio* trên tôm và trong nước ao nuôi cho thấy, ở ao tôm có dấu hiệu phân trắng có mật độ vi khuẩn *Vibrio* cao hơn ở ao không bị bệnh. Ở đợt thu mẫu thứ 3 (thời điểm 71 ngày nuôi), mật độ vi khuẩn *Vibrio* trên tôm thẻ chân trắng ở ao bị bệnh là $2,9x10^4$ CFU/mL, cao hơn và khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p<0,05$) so với ao không bị bệnh ($2,1x10^5$ CFU/mL) (Bảng 2). Limsuwan (2012) [11] cho rằng, các loài vi khuẩn *Vibrio* như *V. alginolyticus, V. fluvialis, V. mimicus* và *V. parahaemolyticus* và Gregarine có liên quan đến bệnh phân trắng trên tôm nuôi ở Thái Lan. Theo Kumara và Hettiarachchi (2017) [12], bệnh phân trắng xảy ra trên tôm có liên quan đến mật độ vi khuẩn *Vibrio* trong ao nuôi và mật độ của vi khuẩn *Vibrio* trên tôm và trong nước ao bị bệnh phân trắng cao hơn ao không bị bệnh. Bệnh phân trắng xảy ra trên tôm có liên quan đến vi khuẩn *V. alginolyticus và V. fluvialis*. *Vibrio* là một trong những tác nhân gây bệnh phổ biến trên tôm và gây thiệt hại cho nghề nuôi tôm trên thế giới. Bệnh do *Vibrio* thường xảy ra khi mật độ vi khuẩn này trong môi trường nuôi và trên tôm cao. Theo nghiên cứu của Qang và cs (2020) [13], *Vibrio* là tác nhân chính gây ra WFD và gây chết cho tôm he dựa theo quá trình phát sinh bệnh trên cơ sở kiểm tra mô bệnh học và cho rằng có sự đồng nhiễm của các loài *Vibrio* sp. (*V. sinaloensis* và *V. parahaemolyticus*). Ngoài ra, WFD thường xảy ra khi có sự kết hợp của vi khuẩn *Vibrio* và Gregarine [7]. Tuy nhiên, theo nghiên cứu này, các mẫu tôm bị bệnh phân trắng đều ghi nhận sự xuất hiện của Gregarine trong ruột tôm. Do vậy, ngoài *Vibrio*, Gregarine cũng là một trong những tác nhân có liên quan đến bệnh phân trắng trên tôm.

Bảng 2. Mật độ vi khuẩn *Vibrio* trên tôm và trong nước ao nuôi

Thời gian nuôi (ngày)	Mật độ *Vibrio* trung bình trên tôm (CFU/mL)		Mật độ *Vibrio* trong nước (CFU/mL)	
	AB	AKB	AB	AKB
41	$0,7 \times 10^{5a}$	$1,9 \times 10^{4b}$	4×10^{3a}	$1,3 \times 10^{3b}$
56	$1,6 \times 10^{5a}$	$2,4 \times 10^{4b}$	9×10^{3a}	$1,7 \times 10^{3b}$
71	$2,1 \times 10^{5a}$	$2,9 \times 10^{4b}$	11×10^{3a}	$2,2 \times 10^{3b}$

Ghi chú: Các giá trị trong cùng hàng (của mỗi nội dung) có các chữ cái (a, b) khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa thống kê (p<0,05).

3.3. Kết quả kiểm tra tảo lam và tảo giáp trong nước ao nuôi

Kết quả kiểm tra, xác định mật độ tảo lam và tảo giáp trong nước ao nuôi cho thấy, mật độ tảo lam và tảo giáp trong ao nuôi tôm bị bệnh phân trắng cao hơn ao không bị bệnh phân trắng. Kết quả kiểm tra tảo lam trong ao tôm khi bắt đầu có dấu hiệu WFD (41 ngày nuôi) cho thấy, mật độ tảo lam ở ao bị bệnh là $14,3 \times 10^3$ tb/L cao hơn và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với ao không bị bệnh ($2,3 \times 10^3$ tb/mL); tương tự mật độ tảo giáp là $14,5 \times 10^3$ tb/L (ao bị bệnh) và $1,8 \times 10^3$ tb/mL ao không bị bệnh. Mật độ tảo lam và tảo giáp tăng lên theo thời gian nuôi ở cả ao WFD và ao không bị bệnh (Bảng 3). Tảo lam và tảo giáp là 2 loài tảo độc thường xuất hiện nhiều trong ao nuôi tôm thẻ chân trắng. Nếu tôm ăn phải 2 loài tảo này sẽ ảnh hưởng đến hệ tiêu hóa của tôm và độc tố của tảo lam, tảo giáp góp phần gây bệnh WFD trên tôm. Mật độ thực vật phù du trong các ao bị bệnh phân trắng cao hơn, thành phần loài phong phú hơn các ao không bị bệnh [5].

Bảng 3. Mật độ tảo lam và tảo giáp trong nước ao nuôi

Thời gian nuôi (ngày)	Tảo lam (tb/L)		Tảo giáp (tb/L)	
	AB	AKB	AB	AKB
41	$14,3 \times 10^{3a}$	$2,3 \times 10^{3b}$	$14,5 \times 10^{3a}$	$1,8 \times 10^{3b}$
56	20×10^{3a}	$3,9 \times 10^{3b}$	$19,9 \times 10^{3a}$	$2,8 \times 10^{3b}$
71	$26,7 \times 10^{3a}$	$4,3 \times 10^{3b}$	$27,7 \times 10^{3a}$	$3,3 \times 10^{3b}$

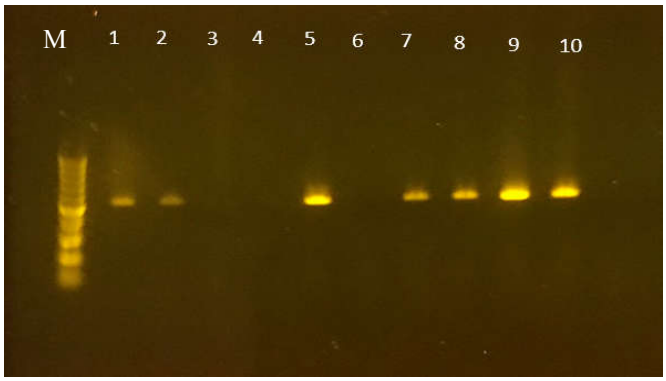
Ghi chú: Các giá trị trong cùng hàng (của mỗi nội dung) có các chữ cái (a, b) khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa thống kê (p<0,05).

3.4. Kết quả kiểm tra EHP trên tôm thẻ chân trắng

Kết quả kiểm tra gan tụy tôm có dấu hiệu bệnh phân trắng cho thấy, một số mẫu ghi nhận sự xuất hiện của EHP trên tôm (Hình 4). Trong các đợt kiểm tra EHP trên tôm xác định tỷ lệ nhiễm EHP trên tôm thẻ chân trắng có dấu hiệu bệnh phân trắng là 83%. Theo Tang và cs (2016) [3], EHP đã được báo cáo có liên quan đến bệnh phân trắng ở tôm sú (*Penaeus monodon)* và tôm chân trắng tại Thái Lan và Ấn Độ. Tuy nhiên, kết quả nghiên cứu của Tangprasittipap và cs (2013) [14] cho thấy, EHP không phải là nguyên nhân chính gây bệnh phân trắng trên tôm. Tương tự như nghiên cứu của Limsuwan (2012) [11] cho rằng, EHP là một trong những tác nhân gây bệnh phân trắng trên tôm he, chúng làm tôm chậm lớn.

Một số nghiên cứu đã xác định mối quan hệ giữa WFD và nhiễm EHP, Gregarine và vi khuẩn *Vibrio* thông qua việc xác định *Vibrio* trong nước và trên tôm, quan sát tôm bị ảnh hưởng bởi WFD, các mẫu tôm bị bệnh phân trắng đều ghi nhận có Gregarine. Ngoài ra, bệnh phân trắng cũng xác định là do độc tố tảo lam và tảo giáp [6, 10]. Như vậy, trên tôm thẻ chân trắng bị bệnh phân trắng ghi nhận nhiều tác nhân như: Gregarine, *Vibrio,*

EHP và tảo lam, tảo giáp trong ao nuôi và các yếu tố này gây bùng phát WFD trên tôm.



Hình 3. Ảnh điện di kiểm tra sản phẩm PCR trên gel agarose 2%

Ghi chú: Ký hiệu M: Khối lượng ADN chuẩn 100 - 10.000 bp (GeneRulerTM DNA Ladder); (1), (2): Mẫu đối chứng (+); (3), (4): Đối chứng (-); (5) đến (10) các mẫu tôm có biểu hiện bệnh phân trắng.

4. KẾT LUẬN

Trong ao nuôi tôm thẻ chân trắng bị bệnh phân trắng có sự hiện diện của Gregarine, vi khuẩn *Vibrio*, tảo lam và tảo giáp, trong khi không phát hiện Gregarine ở tôm thẻ chân trắng không bị bệnh. Cường độ nhiễm Gregarine ở tôm thẻ chân trắng ở ao WFD qua ba đợt thu mẫu với các giá trị lần lượt là 15,6 Gregarine/tôm, 20 Gregarine/tôm và 25,9 Gregarine/tôm. Tỷ lệ nhiễm Gregarine ở tôm thẻ chân trắng ở ao WFD là 100%. Mật độ vi khuẩn *Vibrio* trên tôm thẻ chân trắng và nước ao ở các ao WFD cao hơn so với ao không bị bệnh. Ngoài ra, mật độ tảo lam và tảo giáp trong ao nuôi tôm bị bệnh WFD cao hơn so với ao không bị bệnh. Kết quả kiểm tra EHP trên tôm thẻ chân trắng WFD cho thấy tỷ lệ nhiễm EHP là 83%. Kết quả nghiên cứu cung cấp các đánh giá liên quan tới các yếu tố ảnh hưởng đến WFD như sự hiện diện của Gregarine, mật độ vi khuẩn *Vibrio*, tảo lam và tảo giáp trong môi trường ao nuôi tôm thẻ chân trắng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Kilawati, Y., & Maimunah, Y. (2015). Kualitas lingkungan tambak intensif *Litopenaeus vannamei* dalam kaitannya dengan prevalensi penyakit white spot syndrome virus. *Journal of Live Science*, 2 (1), 50 - 59.

2. Somboon, M., Purivirojkul, W., Chalor, L., & Chuchrid, N. (2012). Effect of *Vibrio* spp. in white feces disease infected shrimp in Chanthaburi, Thailand. *Kasetsart University Fisheries Research Bulletine*, 36(1), 7–14.

3. Tang, K. F. J., Han, J. E., Brenda, A. L. F., White-Nobile, M. M., Schmidt, P. P., Risdiana, E., & Hanggono, B. (2016). Densa populations of the microsporidian *Enterocytozoon hepatopanei* (EHP) in feces of *Penaeus vannamei* exhibiting white feces syndrome an pathways of their transmission to healthy shrimp. *Journal of Invertebrate Pathology*, 140, 1–7.

4. Sriurairatana, S., Boonyawiwat, V., Gangnonngiw, W., Laosutthipong, C., Hiranchan, J., & Flegel, T. W. (2014). White feces syndrome of shrimp arises from transformation, sloughing and aggregation of hepatopancreatic microvilli into vermiform bodies superficially resembling gregarines. *Public Library of Science*, 9(6), e99170.

5. Kurniawinata M. I., Sukenda S., Dinamella W., Widanarni W. & Dendi H. (2021). White faeces disease and abundance of bacteria and phytoplankton in intensive pacific white shrimp farming. *Aquaculture Research*, 52: 5730-5738.

6. Supono, Wardiyanto, Harpeni, E., Khotimah, A. H. & Ningtyas, A. (2019). Identification of *Vibrio* sp. as cause of white feces diseases in white shrimp *Penaeus vannamei* and handling with herbal ingredients in East Lampung Regency, Indonesia. AACL Bioflux 12, 417–425.

7. Madhuri A. V., Rao D. S., Verma M. K., Jithendra K. N. & Raghavendra R. (2021). Treatment of gregarines sporozoites in shrimp with allicin an herbal preparation and control intermediate hosts with copper sulphate. *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies*, 9(4): 37-40.

8. Buller, N. B. (2004). Bacteria from Fish and Other Aquatic Animals: A Practical Identification Manual. CABI Publishing, Wallingford, Oxfordshire.

9. Tomas, C. R. (1997). Identifying marine phytoplankton. Academic Press.

10. Tang, K., Han, J., Aranguren, L., White-Noble, B., Schmidt, M., Piamsomboon, P., Risdiana, E., Hanggono, B. (2016). Dense populations of the microsporidian *Enterocytozoon hepatopenaei* (EHP) in feces of *Penaeus vannamei* exhibiting white feces syndrome and pathways of their transmission to healthy shrimp. *The Journal of Invertebrate Pathology*, 140, 1-7.

11. Limsuwan, C. (2012). White feces disease in Thailand. *Boletines nicovita magazine*, 318: 2-4.

12. Kumara, K. R. P. S. & Hettiarachchi, M. (2017). White faeces syndrome caused by *Vibrio alginolyticus* and *Vibrio fluvialis* in shrimp, *Penaeus monodon* (Fabricius 1798) - multimodal strategy to control the syndrome in Sri Lankan grow-out ponds. *Asian Fisheries Science*, 30: 245–261.

13. Qang, H., Wan, X., Xie, G., Xuan Dong, Wang, X. & Huang, J. (2020). Insights into the histopathology and microbiome of Pacific white shrimp, Penaeus vannamei, suffering from white feces syndrome. *Aquaculture,* 527: 735-447.

14. Tangprasittipap, A., Srisala, J., Chouwdee, S., Somboon, M., Chuchird, N., Limsuwan, C., Srisuvan, T., Flegel, T.W. & Sritunyalucksana, K. (2013). The microsporidian *Enterocytozoon hepatopenaei* is not the cause of white feces syndrome in whiteleg shrimp *Penaeus (Litopenaeus) vannamei*. *BMC Veterinary Research*, 9, 139.

INVESTIGATING FACTORS ASSOCIATED WITH WHITE FECES DISEASE (WFD) IN WHITELEG SHRIMP (*Penaeus vannamei*) CULTIVATED IN THUA THIEN HUE PROVINCE

Truong Thi Hoa[1], Tran Nam Ha[1], Ho Thi Tung[1]

[1]*University of Agriculture and Forestry, Hue University*

Summary

This study aimed to identify factors related to White Feces Disease (WFD) in whiteleg shrimp (*Penaeus vannamei*) cultured in Thua Thien Hue province. The research involved monitoring shrimp ponds in the province to distinguish between WFD - affected and unaffected ponds. Regular sampling of shrimp and water samples was conducted from both types of ponds. The results revealed the presence of Gregarine, *Vibrio*, blue-green algae and fire algae in ponds affected by WFD, while Gregarine was absent in unaffected whiteleg shrimp. The intensity of Gregarine infection in whiteleg shrimp collected from WFD-affected ponds fluctuated across three sampling periods, with values of 15.6 Gregarine/shrimp, 20 Gregarine/shrimp, and 25.9 Gregarine/shrimp, respectively. The infection rate of Gregarine in whiteleg shrimp from WFD-affected ponds was 100%. The density of Vibrio bacteria on whiteleg shrimp and in the water of the affected ponds was higher than that of the unaffected ponds. In the third sample collection, the density of Vibrio bacteria on whiteleg shrimp in the affected and unaffected ponds was $2.1x10^5$ CFU/mL and $2,9x10^4$ CFU/mL, respectively. Additionally, blue-green algae, and fire algae densities were elevated in ponds with WFD. Examination of *Enterocytozoon hepatopenaei* (EHP) infection in whiteleg shrimp with WFD symptoms indicated an infection rate of 83%. In summary, this study provides assessments related to various factors influencing WFD, including the presence of Gregarine, *Vibrio* density, and changes in blue-green algae, and fire algae in shrimp ponds, particularly in whiteleg shrimp.

Keywords: *Algae, Enterocytozoon hepatopenaei, Gregarine, Vibrio, White Feces Disease.*

Người phản biện: PGS.TS. Từ Thanh Dung

Ngày nhận bài: 12/7/2023

Ngày thông qua phản biện: 18/9/2023

Ngày duyệt đăng: 28/9/2023

ẢNH HƯỞNG CỦA VIỆC BỔ SUNG CHẤT CHIẾT LÁ MAI DƯƠNG (*Mimosa pirga*) LÊN CHỈ SỐ HUYẾT HỌC VÀ KHẢ NĂNG KHÁNG BỆNH HOẠI TỬ GAN TUỴ CẤP TÍNH TRÊN TÔM THẺ CHÂN TRẮNG (*Penaeus vannamei*)

Nguyễn Thị Trúc Linh[1,*], Lưu Thị Thuý Hải[1]

TÓM TẮT

Nghiên cứu được thực hiện nhằm đánh giá việc bổ sung chất chiết từ lá mai dương lên chỉ số huyết học của tôm thẻ chân trắng, đồng thời xác định khả năng kháng bệnh hoại tử gan tụy cấp tính trên tôm thẻ chân trắng (AHPND). Trong nghiên cứu này, chiết xuất từ lá cây mai dương được bổ sung vào thức ăn ở nồng độ 1%, 1,5% và 2% cho tôm thẻ chân trắng trong 30 ngày và đánh giá tác động của chúng lên khả năng đáp ứng miễn dịch của tôm. Sau đó, tôm thí nghiệm sẽ tiếp tục được cảm nhiễm với *Vibrio parahaemolyticus* kết hợp với bổ sung thảo dược (1%, 1,5% và 2%) trong 14 ngày để đánh giá khả năng đề kháng của tôm với vi khuẩn *V. parahaemolyticus*, gây bệnh hoại tử gan tụy cấp tính trên tôm thẻ chân trắng. Kết quả ghi nhận thông số huyết học tổng tế bào máu - THC, bạch cầu có hạt - GC và bạch cầu không hạt - HC có sự tăng cường và khác biệt ở mức có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức đối chứng. Ở nghiệm thức bổ sung chất chiết mai dương, tỷ lệ chết của tôm thẻ chân trắng giảm đáng kể và khác biệt ở mức có ý nghĩa so với nghiệm thức đối chứng dương nhưng khác biệt không có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức đối chứng âm. Sau 3 ngày cảm nhiễm *V. parahaemolyticus* và bổ sung chất chiết mai dương, kết quả mô bệnh học cho thấy, mức độ ảnh hưởng do vi khuẩn gây bệnh nhẹ hơn, ống gan tụy chỉ thiếu sự hiện diện của một số loại tế bào B, R, nhưng vẫn giữ được cấu trúc của tế bào. Ở nghiệm thức đối chứng dương, cấu trúc tế bào bị phá vỡ nghiêm trọng, mất hết các tế bào E, B và R. Sau 14 ngày cảm nhiễm, tôm thẻ chân trắng có dấu hiệu phục hồi ở các nghiệm thức bổ sung chất chiết mai dương với cấu trúc mô gan gần như bình thường. Tuy nhiên, ở nghiệm thức đối chứng dương, sự phục hồi của cấu trúc mô gan so với các nghiệm thức bổ sung chất chiết đạt tỷ lệ thấp hơn.

Từ khóa: *Chất chiết lá mai dương, chỉ số huyết học, tỷ lệ chết, mô bệnh học, Penaeus vannamei, Vibrio parahaemolyticus.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Nghề nuôi tôm ở đồng bằng sông Cửu Long trong những năm trước đây đã đem lại lợi nhuận đáng kể và góp phần vào việc phát triển nền kinh tế cho cả nước. Nhưng trong khoảng thời gian gần đây, nghề nuôi tôm đang đối mặt với rất nhiều thách thức, dịch bệnh, môi trường ô nhiễm và hiện tượng tôm chết hàng loạt. Trong đó đáng quan tâm nhất là bệnh hoại tử gan tụy cấp tính (Acute hepatopancreatic necrosis disease - AHPND [1]). Bệnh đã gây thất thoát lớn sản lượng tôm nuôi hàng năm, dẫn đến gia tăng lượng kháng sinh dùng trong hệ thống nuôi tôm [2]. Do đó, để giải quyết vấn đề cấp bách trong việc phòng trị bệnh hoại tử gan tụy cấp tính (AHPND) cũng như góp phần giảm thiểu ô nhiễm môi trường và nâng cao chất lượng tôm biển trên thị trường thế giới thì việc sử dụng thảo dược là việc làm đã và đang được quan tâm.

Trong thảo dược có nhiều hợp chất có hoạt tính sinh học, phổ kháng khuẩn rộng đối với nhiều tác nhân gây bệnh và không gây ra hiện tượng

[1] Trường Đại học Trà Vinh
[*] Email: truclinh@tvu.edu.vn

kháng khuẩn. Các hợp chất được tìm thấy trong thực vật có khả năng kháng khuẩn bao gồm alkaloids, glycosides, polyphenols và terpenes [3]. Hiện nay, nhiều nghiên cứu đã xác định hiệu quả của việc sử dụng chiết xuất thảo dược trong việc tăng cường hệ miễn dịch và ức chế vi khuẩn gây bệnh trên tôm [4]. Chiết xuất thảo dược được ghi nhận có hoạt tính kháng khuẩn cao, hỗ trợ tăng cường hệ miễn dịch cho vật nuôi, ít ảnh hưởng đến môi trường và không gây hại cho con người [5]. Thêm vào đó, vi khuẩn được ghi nhận không có khả năng đề kháng với các nhóm hóa chất hóa học (phytochemical) có trong chiết xuất từ các loài thực vật [6].

Mai dương được xem là một trong 100 loài cỏ dại có tính xâm thực và phát triển nhanh nhất [7]. Tuy nhiên, chúng lại có rất nhiều công dụng trong y học như hỗ trợ điều trị các bệnh nhiễm khuẩn đường hô hấp và tiêu hóa trên người [8]. Ngoài tác dụng kháng khuẩn, chất chiết của lá mai dương còn có tác dụng kháng nấm, kháng viêm và có hàm lượng chất chống oxy hoá cao [9]. Nghiên cứu của Genest và cs (2008) cũng cho thấy chất chiết từ mai dương có chất chống oxy hoá và hoạt tính kháng khuẩn từ flavonoid [10]. Kết quả của các nghiên cứu trên cho thấy, chất chiết của lá mai dương có tác dụng kháng khuẩn trên người và động vật. Vì vậy, nghiên cứu này được thực hiện nhằm đánh giá hiệu quả của chiết xuất từ lá mai dương ở các nồng độ khác nhau lên khả năng đáp ứng miễn dịch và kháng bệnh hoại tử gan tụy cấp tính trên tôm thẻ chân trắng.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Ảnh hưởng của chất chiết lá mai dương lên chỉ số huyết học của tôm thẻ chân trắng

2.1.1. Chuẩn bị thí nghiệm

Tôm thẻ chân trắng: Kích cỡ khoảng 8 g/con, âm tính với bệnh đốm trắng, bệnh vi bào tử trùng và AHPND trước khi thí nghiệm được thực hiện theo phương pháp của Brückner (2009) [11] và quy trình của Sirikharin và cs (2015) [12] với các đoạn mồi đặc hiệu cho từng loại bệnh. Sau khi bố trí vào các bể thí nghiệm, tôm được thuần dưỡng 3 ngày cho quen với điều kiện môi trường trong bể rồi mới bắt đầu thí nghiệm.

Nguồn nước: Nước dùng trong thí nghiệm là nước ót có độ mặn khoảng 85‰ đặt từ Vĩnh Châu (Sóc Trăng), sau đó được lọc qua túi lọc để loại bỏ chất cặn. Nước được khử trùng bằng chlorin với nồng độ 20 - 30 mg/L, sục khí mạnh và liên tục (24 giờ) rồi tiến hành kiểm tra và trung hòa hàm lượng Cl tự do bằng $Na_2S_2O_3$ theo tỉ lệ 7 : 1 ($Na_2S_2O_3$: Cl). Nước ót sau khi xử lý xong sẽ được pha loãng với nước ngọt để đạt độ mặn 15‰.

Lá cây mai dương được thu hái tại ấp Long Bình, phường 4 thành phố Trà Vinh, sau đó đem rửa sạch, phơi khô và nghiền thành bột. Bột từ lá được ngâm trong dung môi methanol với tỉ lệ 1 : 10 trong 4 ngày. Sau đó hỗn hợp được lọc thô qua vải và tiếp tục được lọc qua giấy lọc Whatman No.1. Dung dịch qua lọc được cô quay chân không với tốc độ quay 150 vòng/phút ở nhiệt độ 50°C, để loại bỏ dung môi [13]. Sản phẩm sau cô quay được sấy ở 50°C đến khi khối lượng không đổi. Chất chiết sau cùng được lưu trữ ở 4°C và tiến hành thí nghiệm.

Chuẩn bị thức ăn: Chất chiết thảo dược từ lá mai dương ở hàm lượng 1%, 1,5% và 2% được áo ngoài viên thức ăn (CP, 40% đạm) và để khô tự nhiên ở nhiệt độ phòng, sau đó tiếp tục áo ngoài viên thức ăn bằng dầu mực 2% (Vemedim, Việt Nam). Thức ăn không bổ sung thảo dược thì chỉ được áo ngoài bằng dầu mực và sử dụng cho tôm của các nghiệm thức đối chứng. Các loại thức ăn được bảo quản ở 4°C.

2.1.2. Bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm được bố trí với 3 lần lặp lại trong 12 bể gồm 4 nghiệm thức (NT) thí nghiệm. NT1: Nghiệm thức đối chứng (không bổ sung chất chiết lá mai dương); NT2: Bổ sung 1% chất chiết lá mai dương; NT 3: Bổ sung 1,5% chất chiết lá mai dương và NT 4: Bổ sung 2% chất chiết lá mai dương. Thí nghiệm được bố trí trong bể composite 500 L với mật độ 60 con/bể, khối lượng tôm trung bình khoảng 8 g/con, độ mặn thí nghiệm là 15‰ và có sục khí. Tôm thí nghiệm được cho ăn thức ăn CP (40% đạm) có bổ sung chất chiết mai dương (đối với NT có bổ sung) và thức ăn không bổ sung chất chất chiết (đối với NT đối chứng), ngày ăn 4 lần sáng 7 giờ, trưa 11 giờ, 15 giờ, tối 21 giờ và cho

tôm ăn theo nhu cầu (7 - 10% khối lượng thân). Thí nghiệm được thực hiện và theo dõi trong 30 ngày.

2.1.3. Các chỉ tiêu theo dõi

Các yếu tố môi trường: pH, TAN, KH, NO_2 được theo dõi mỗi ngày 1 lần bằng bộ test kit Sera. Đối với chỉ tiêu nhiệt độ cũng được đo mỗi ngày một lần bằng nhiệt kế.

Khả năng đáp ứng miễn dịch trên tôm: Thu mẫu máu để tiến hành xác định tổng số bạch cầu theo phương pháp của Le Moullac và cs (1997) [14] và định loại bạch cầu (tổng tế bào máu - THC, bạch cầu có hạt - GC, bạch cầu không hạt - HC) theo phương pháp của Cornick và Stewart (1978) [15], thu ngẫu nhiên 3 con/bể với 3 lần trong suốt thời gian thí nghiệm: Lần 1 trước khi bố trí thí nghiệm, lần 2 thu mẫu vào ngày bố trí thứ 15, lần 3 thu mẫu vào ngày kết thúc thí nghiệm.

2.2. Ảnh hưởng của chất chiết lá mai dương lên khả năng đề kháng bệnh hoại tử gan tụy cấp tính (AHPND) của tôm thẻ chân trắng

Bố trí thí nghiệm:

Nguồn vi khuẩn *V. parahaemolyticus* [16] đã được xác định độc lực tại Trường Đại học Trà Vinh và kết quả xác định LD50 của chủng vi khuẩn này là $2x10^6$ CFU/mL.

Sau 30 ngày thực hiện cho tôm ăn thức ăn có bổ sung chất chiết mai dương thì tiến hành thí nghiệm gây cảm nhiễm với vi khuẩn *V. parahaemolyticus* trong xô nhựa 150 L chứa 120 L nước có độ mặn 15 ppt và có sục khí. Tôm thí nghiệm được cho ăn thức ăn CP (40% đạm) có bổ sung chất chiết thảo dược, ngày ăn 3 lần sáng 7 giờ, trưa 11 giờ, 17 giờ và cho tôm ăn theo nhu cầu (5 - 7% khối lượng thân), bao gồm 5 nghiệm thức, các nghiệm thức được lặp lại 3 lần, mỗi lần lặp lại là một xô nhựa (20 con/xô nhựa).

Phương pháp cảm nhiễm được thực hiện theo phương pháp của Tran và cs (2013) [17]. Tôm của các nghiệm thức cho ăn thức ăn chứa thảo dược và tôm của nghiệm thức đối chứng dương (ĐCD) được ngâm trong dung dịch vi khuẩn *V. parahaemolyticus* mật độ 2×10^7 CFU/mL trong 15 phút sau đó vớt và bố trí vào bể thí nghiệm đã được bổ sung vi khuẩn *V. parahaemolyticus* với mật độ vi khuẩn của nước trong bể ở 10^6 CFU/mL. Đối với nghiệm thức đối chứng âm (ĐCA) tiến hành ngâm tôm trong môi trường TSB (bổ sung 1,5% NaCl) tiệt trùng và cho vào bể không bổ sung vi khuẩn. NT1 (ĐCA): Cho ăn thức ăn bình thường, không cảm nhiễm *V. parahaemolyticus*; NT2 (ĐCD): Cho ăn thức ăn bình thường + cảm nhiễm *V. parahaemolyticus*; NT3: Bổ sung chất chiết mai dương 1% + cảm nhiễm *V. parahaemolyticus*; NT4: Bổ sung chất chiết mai dương 1,5% + cảm nhiễm *V. parahaemolyticus*; NT5: Bổ sung chất chiết mai dương 2% + cảm nhiễm *V. parahaemolyticus*.

Các chỉ tiêu theo dõi:

Các yếu tố môi trường: pH, TAN, KH, NO_2 được theo dõi mỗi ngày 1 lần bằng bộ test kit Sera. Đối với chỉ tiêu nhiệt độ cũng được đo mỗi ngày một lần bằng nhiệt kế.

Theo dõi và ghi nhận dấu hiệu bệnh lý và khả năng kháng bệnh ở tôm bằng cách tiến hành thu mẫu và phân tích mô bệnh học sau khi cảm nhiễm. Mẫu được thu định kỳ 3 ngày sau cảm nhiễm và khi kết thúc thí nghiệm bằng cách thu ngẫu nhiên 3 con tôm mỗi bể để tiến hành phân tích mô bệnh học. Đồng thời, theo dõi và ghi nhận các dấu hiệu bệnh lý, thời gian tôm chết. Ngoài ra, trong thời gian thí nghiệm, phát hiện tôm có dấu hiệu bệnh lý như lờ đờ, bỏ ăn, màu sắc nhợt nhạt, tiến hành thu mẫu, cố định và phân tích mô bệnh học, đồng thời tái phân lập vi khuẩn gây bệnh.

Theo dõi tỷ lệ chết của tôm sau 14 ngày cảm nhiễm vi khuẩn *V. parahaemolyticus*. Sau khi kết thúc thí nghiệm, thu toàn bộ tôm trong mỗi nghiệm thức và tính tỉ lệ chết theo công thức sau:

Tỷ lệ chết (%) = (Tổng số tôm thí nghiệm - Tổng số tôm thí nghiệm còn sống) × 100.

2.3. Phương pháp xử lý số liệu

Các số liệu được phân tích bằng phương sai một yếu tố (ANOVA) trên phần mềm SPSS 16.0 với phép hậu kiểm Duncan's Test được sử dụng để xác định sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa $p < 0,05$. Tất cả các số liệu trong thí nghiệm được trình bày dưới dạng trung bình (Mean) ± độ lệch chuẩn (SD).

2.4. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện từ tháng 3 - 11/2022 tại Bộ môn Thủy sản, Khoa Nông nghiệp, Trường Đại học Trà Vinh.

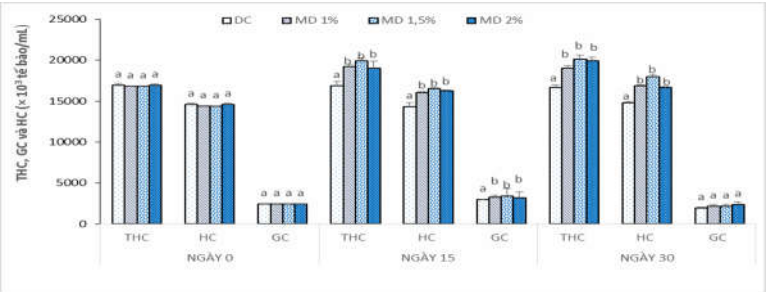
3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của chất chiết lá mai dương lên chỉ số huyết học của tôm thẻ chân trắng

Các yếu tố môi trường được quản lý tốt và không gây ảnh hưởng đến sự sinh trưởng và phát triển bình thường trên tôm trong suốt thời gian thí nghiệm.

Thông số huyết học của tôm thẻ chân trắng ở các nghiệm thức bổ sung chất chiết mai dương và đối chứng được xác định ở thời điểm 0 ngày, 15 ngày và 30 ngày. Trong nghiên cứu này sẽ đánh giá về mật số THC, GC, HC. Kết quả thể hiện ở hình 1 cho thấy, ở thời điểm bắt đầu thí nghiệm (0 ngày) mật số THC, GC, HC ở các nghiệm thức khác biệt không có ý nghĩa thống kê. Tuy nhiên, sau 15 ngày thí nghiệm, THC của tôm thẻ chân trắng ở các nghiệm thức cho ăn thức ăn bổ sung 1%, 1,5%, 2% chất chiết mai dương (1,91 x 10^7 tế bào/mL 1,99 x 10^7 tế bào/mL, và 1,91 x 10^7 tế bào/mL, tương ứng) tăng cao hơn ở mức có ý nghĩa ($p < 0,05$) so với nhóm tôm đối chứng (1,68 x 10^7 tế bào/mL). Kết quả tương tự cũng được ghi nhận ở chỉ số GC, tôm ở cả 3 nghiệm thức bổ sung chất chiết mai dương đều có chỉ số GC gia tăng và khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) so với nhóm đối chứng. Tuy nhiên, chỉ số HC lại không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$) giữa các nghiệm thức bổ sung chất chiết mai dương và nghiệm thức đối chứng.

Ở thời điểm 30 ngày, THC có sự tăng nhẹ hơn so với thời điểm 15 ngày và ghi nhận 3 nghiệm thức bổ sung chất chiết mai dương khác biệt không có ý nghĩa thống kê lẫn nhau ($p > 0,05$), tuy nhiên khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nhóm đối chứng (1,67 x 10^7 tế bào/mL) ($p < 0,05$). THC cao nhất ở nghiệm thức bổ sung chất chiết mai dương 1,5% (2,01 x 10^7 tế bào/mL), tiếp đến là nghiệm thức bổ sung chất chiết mai dương 2% (1,99 x 10^7 tế bào/mL) và nghiệm thức bổ sung chất chiết mai dương 1% (1,90 x 10^7 tế bào/mL). Thông số HC cũng cho kết quả tương tự, nghĩa là các nghiệm thức bổ sung chất chiết mai dương với 1%, 1,5% và 2% có sự tăng cường và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nhóm đối chứng ($p < 0,05$) (Hình 1). Tuy nhiên, GC ở các nghiệm thức khác biệt không có ý nghĩa thống kê. Như vậy, việc bổ sung chất chiết lá mai dương đã làm tăng chỉ số THC và HC trên tôm thí nghiệm.



Hình 1. Chỉ số huyết học ở tôm thí nghiệm

Ghi chú: a, b: Các số liệu có chữ cái khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê. THC: Tổng tế bào máu, GC: Bạch cầu có hạt, HC: Bạch cầu không hạt; DC: Đối chứng; MD: Chất chiết mai dương.

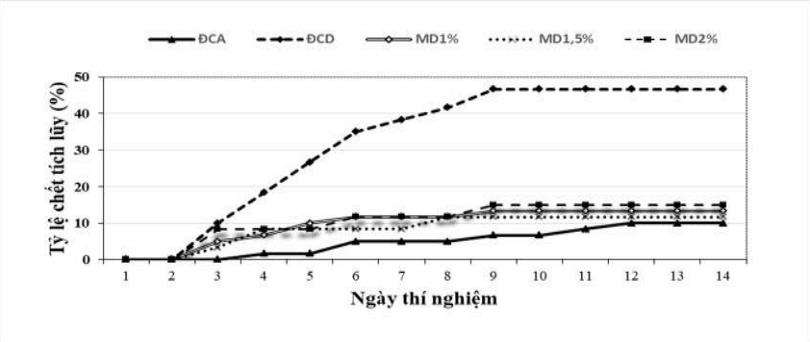
Kết quả thí nghiệm này cũng tương đồng với kết quả nghiên cứu của Reverter và cs [18]. Điều này cho thấy, quá trình tác dụng của chất chiết thảo dược đến phản ứng miễn dịch, tăng cường bảo vệ vật chủ chống lại tác nhân gây bệnh là phụ thuộc vào liều lượng chất chiết thảo dược và thời gian mà vật chủ tiếp xúc với chất chiết thảo dược đó. Nghiên cứu của Das và cs (2017) [19] cũng đã khẳng định việc bổ sung dịch chiết thảo dược vào thức ăn cho tôm đã làm tăng hệ thống miễn dịch trên tôm, thêm vào đó một số nghiên cứu đã xác định được hiệu quả của việc sử dụng chiết xuất thảo dược giúp động vật thuỷ sản tăng cường hệ miễn dịch và ức chế vi khuẩn gây bệnh [20]. Tế

bào máu có vai trò rất quan trọng trong quá trình đáp ứng miễn dịch của giáp xác, khi có vật thể lạ tấn công vào cơ thể thì tế bào máu thực hiện chức năng chống lại vật thể lạ như thực bào, tạo thể bao, thể hạch, melanin hóa, hoạt hóa hệ thống Pro-PO và kèm theo sự chết của tế bào [21]. Ngoài ra, trong thành phần của cây mai dương có chứa các chất chống oxy hoá mạnh như myricetin, quercetin và các dẫn xuất glycoside [22], các chất này có khả năng kích thích miễn dịch trên tôm thí nghiệm. Như vậy, việc bổ sung chất chiết lá mai dương ở hàm lượng 1%, 1,5% và 2% đều giúp tăng khả năng miễn dịch của tôm thí nghiệm.

3.2. Ảnh hưởng của chất chiết lá mai dương lên khả năng đề kháng bệnh hoại tử gan tụy cấp tính AHPND của tôm thẻ chân trắng

Kết quả cho thấy TAN trong suốt quá trình bố trí thí nghiệm dao động 0 - 2 mg/L; NO_2 từ 0 - 4 mg/L, nhiệt độ 27 - 28°C, độ kiềm 110 - 120 mg $CaCO_3$/L và pH 8 - 8,5. Các yếu tố môi trường được quản lý tốt và không gây ảnh hưởng đến sự sinh trưởng và phát triển bình thường trên tôm trong suốt thời gian thí nghiệm.

3.2.1. Tỷ lệ chết của tôm thí nghiệm



Hình 2. Tỷ lệ chết tích lũy của tôm thí nghiệm

Ghi chú: ĐCA: Đối chứng âm; ĐCD: Đối chứng dương; MD: Chất chiết mai dương.

Sau khi gây cảm nhiễm thì tôm bắt đầu chết vào ngày thứ 2 ở các nghiệm thức, tỷ lệ chết của tôm tăng dần ở các ngày tiếp theo sau đó cho đến ngày thứ 9 thì tôm tại các nghiệm thức không còn chết cho đến ngày thứ 14. Kết quả ghi nhận các nghiệm thức bổ sung chất chiết lá mai dương 1%, 1,5% và 2% vào thức ăn cho tôm thẻ chân trắng đã làm giảm đáng kể tỷ lệ chết của tôm khi cảm nhiễm với vi khuẩn *V. parahaemolyticus*. Cụ thể, khi bổ sung chất chiết lá mai dương với tỷ lệ 1%, 1,5% và 2% thì tỷ lệ chết của tôm khá thấp tương ứng 13,33%, 11,67% và 15%. Đồng thời, tỷ lệ tôm chết của các nghiệm thức bổ sung chất chiết ở các hàm lượng khác nhau khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) so với nghiệm thức đối âm (tỷ lệ chết 10%) nhưng lại khác biệt ở mức có ý nghĩa so với đối chứng dương (tỷ lệ chết lên tới 46,67%). Như vậy, việc bổ sung chất chiết mai dương ở hàm lượng 1%, 1,5% và 2% vào thức ăn giúp cải thiện tỷ lệ sống của tôm thẻ chân trắng trong điều kiện cảm nhiễm vi khuẩn gây bệnh. Kết quả này cho thấy, việc bổ sung dịch chiết lá mai dương với hàm lượng 1%, 1,5% và 2% giúp tôm thẻ chân trắng đề kháng lại với vi khuẩn *V. paraheamolyticus* gây bệnh hoại tử gan tuỵ cấp tính.

Một số nghiên cứu đã cho thấy, chiết xuất thảo dược làm tăng khả năng đề kháng và tỷ lệ sống của tôm khi bị nhiễm *Vibrio* spp. Cụ thể, tôm thẻ chân trắng được cho ăn thức ăn có chứa chiết xuất methanol *Punica granatum* có tỷ lệ chết thấp (44,5% ở nhóm bổ sung 2% chiết xuất) so với nhóm đối chứng (71,1%) khi những con tôm này cảm nhiễm với *V. parahaemolyticus* [1]. Kết quả nghiên cứu của Immanuel và cs (2004) [23] cũng đã xác định chất chiết thảo dược có khả kích thích tiêu hóa và gia tăng tỷ lệ sống của động vật thuỷ sản. Trong thành phần của cây mai dương có chứa các chất chống oxy hoá mạnh như myricetin, quercetin và các dẫn xuất glycoside [22]. Ngoài ra, trong thành hoạt tính kháng khuẩn từ flavonoid có thể kháng cả vi khuẩn gram âm và vi khuẩn gram dương [10]. Như vậy, việc bổ sung chất chiết lá mai dương đã làm giảm đáng kể tỷ lệ chết của tôm thẻ chân trắng trong điều kiện có cảm nhiễm vi

khuẩn *V. parahaemolyticus*.

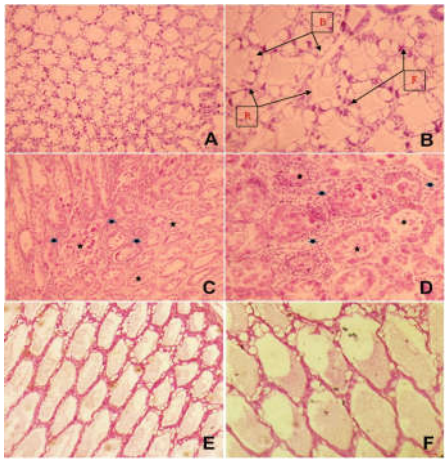
3.2.2. Kết quả mô bệnh học

Sau 14 ngày thí nghiệm, kết quả cho thấy, ở nghiệm thức đối chứng âm gan tụy tôm bình thường với cấu trúc hình sao và có sự hiện diện đầy đủ các tế bào E, B, F (Hình 3A, 3B), trong khi đó một số biến đổi cấu trúc đã được ghi nhận trên gan tụy ở các nghiệm thức cảm nhiễm vi khuẩn *V. parahaemolyticus* gây bệnh hoại tử gan tụy cấp tính với các dấu hiệu cùng mức độ biến đổi có sự khác biệt rõ rệt giữa nghiệm thức đối chứng dương (không bổ sung chất chiết mai dương) và các nghiệm thức có bổ sung chất chiết lá cây mai dương. Cụ thể, sau 3 ngày cảm nhiễm, nghiệm thức đối chứng dương thể hiện các dấu hiệu mô học đặc trưng của AHPND tương tự như mô tả của Tran và cs (2013) [17] như ống gan tụy teo, giảm số lượng tế bào biểu mô B, R, F; tế bào biểu mô thoái hóa rơi bòng lòng ống và hiện tượng viêm nhiễm thứ cấp với sự tập trung các tế bào máu xung quanh các ống gan tụy (Hình 3C, 3D), trong khi chỉ ghi nhận được dấu hiệu giảm số lượng tế bào B, R, F trên tôm ở các nghiệm thức bổ sung chất chiết mai dương (Hình 3E, 3F). Các tổn thương này được phục hồi sau 14 ngày thí nghiệm ở các nghiệm thức có bổ sung chất chiết mai dương và tương tự trên tôm ở nghiệm thức đối chứng dương ở mức độ và tỉ lệ phục hồi chậm hơn (Bảng 1).

Bảng 1. Đặc điểm mô bệnh học gan tụy tôm ở các nghiệm thức sau 3 và 14 ngày cảm nhiễm *V. parahaemolyticus*

Ngày thí nghiệm	Đặc điểm mô bệnh học	Nghiệm thức				
		Đối chứng (-)	Đối chứng (+)	1,0 % MD	1,5% MD	2,0% MD
03	Giảm số lượng tế bào B, R, F	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)
	Ống gan tụy hoại tử, tế bào biểu mô thoái hóa rơi vào lòng ống	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)
	Tế bào máu tập trung xung quanh ống gan tụy/melanin hóa	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)
14	Giảm số lượng tế bào B, R, F	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)

Ghi chú: (+) Có biểu hiện, (-) Không biểu hiện.



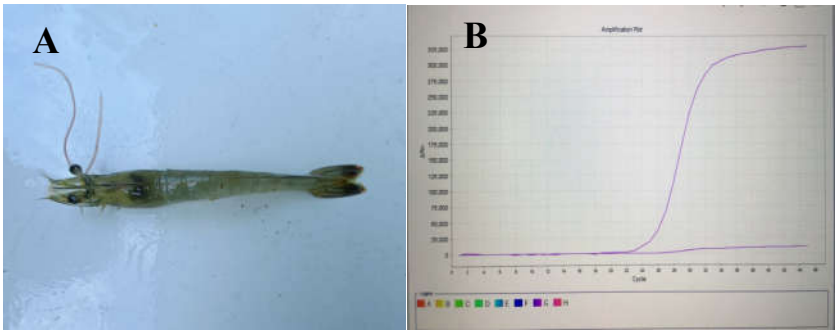
Hình 3. Mô bệnh học gan tụy tôm sau 3 ngày thí nghiệm

Hình A, B: Nghiệm thức đối chứng âm. Cấu trúc ống gan tụy bình thường, hiện diện đầy đủ tế bào B (B), tế bào R (R) và tế bào F (F); hình C, D: Nghiệm thức đối chứng dương. Hoại tử ống gan tụy, giảm số lượng tế bào B, R, F; tế bào thoái hóa rơi vào lòng ống và tế bào máu tập trung xung quanh các ống gan tụy (mũi tên); hình E, F: Nghiệm thức 1% chiết xuất mai dương. Ống gan tụy biến đổi cấu trúc, giảm số lượng tế bào B, R, F; A, C, E: 10X; B, D, F: 40X.

Kết quả thể hiện ở bảng 1 cho thấy, việc bổ sung chất chiết mai dương có khả năng làm giảm tác động của vi khuẩn *V. paraaemolyticus* và ảnh hưởng của bệnh hoại tử gan tụy cấp tính lên tôm thẻ chân trắng. Khả năng bảo hộ tương tự cũng được ghi nhận trong nghiên cứu của Nguyen và cs (2023) [24] trên chất chiết của các loại thảo giám và khuynh diệp. Tác dụng bảo vệ của các chất chiết trên tôm thông qua việc cải thiện sự tăng trưởng và hấp thu chất dinh dưỡng, cơ chế kháng khuẩn và tăng cường hệ thống miễn dịch không đặc hiệu [25].

3.2.3. Kết quả tái định danh chủng vi khuẩn

Sau 14 ngày gây cảm nhiễm tôm với vi khuẩn *V. parahaemolyticus* (Hình 4. A) cho thấy các dấu hiệu bệnh lý như sau: Tôm bơi lờ đờ ít hoạt động, bỏ ăn, trống ruột, màu sắc nhợt nhạt, vỏ mềm, khối gan tụy của tôm nhạt màu và teo nhỏ các dấu hiệu bệnh lý trên tương tự với mô tả của Lightner và cs (2013) [26].



Hình 4. Tái định danh vi khuẩn

Ghi chú: Hình A biểu hiện bên ngoài khi tôm nhiễm V. parahaemolyticus; hình B kết quả chạy PCR).

Tôm cảm nhiễm ở các nghiệm thức được kiểm tra PCR và kết quả (Hình 4. B) đã khẳng định tôm thí nghiệm dương tính với bệnh AHPND với chu kì 26,72.

4. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

4.1. Kết luận

Việc bổ sung 1%, 1,5% và 2% chất chiết lá mai dương vào thức ăn cho tôm thẻ chân trắng đã làm tăng hiệu quả đáp ứng miễn dịch của tôm, thể hiện qua sự gia tăng số lượng bạch cầu không hạt (HC) đồng thời làm giảm có ý nghĩa tỷ lệ chết của tôm trong điều kiện có cảm nhiễm vi khuẩn *V. parahaemolyticus* gây bệnh hoại tử gan tụy cấp tính trên tôm thẻ chân trắng.

Bổ sung chất chiết mai dương cho thấy mức độ ảnh hưởng của gan tụy do vi khuẩn gây bệnh nhẹ hơn so với đối chứng dương (cảm nhiễm *V. parahaemolyticus* nhưng không bổ sung chất chiết mai dương). Kết quả nghiên cứu này đã chứng minh tiềm năng của chất chiết lá mai dương trong việc kích thích khả năng miễn dịch và phòng bệnh AHPND trên tôm thẻ chân trắng.

4.2. Đề nghị

Thử nghiệm hoạt tính kháng khuẩn của chất chiết lá mai dương lên một số chủng vi khuẩn gây bệnh trên động vật thủy sản.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Flegel, T. W. (2012). Historic emergence, impact and current status of shrimp pathogens in Asia. *Journal of Invertebrate Pathology*. 110: 166 - 173.

2. Trần Thị Tuyết Hoa, Hồng Mộng Huyền, Lê Quốc Việt, và Nguyễn Trọng Tuân (2021). Sử dụng thức ăn bổ sung chất chiết lá lựu (*Punica granatum*) phòng bệnh hoại tử gan tụy cấp tính trên tôm thẻ chân trắng (*Litopenaeus vannamei*). *Tạp chí Khoa học, Trường Đại học cần Thơ*, *57* (CĐ Thủy sản): 160-168.

3. Ahn, K. (2017). The worldwide trend of using botanical drugs and strategies for developing global drugs. *BMB Reports*, 50(3): 111-116.

4. Citarasu, T. (2010). Herbal biomedicines: a new opportunity for aquaculture industry. *Aquaculture International*, 18(3), 403 - 414.

5. Abdul, K. M., Hanitta, K. P. and Hanitta, M. A. (2011). Evaluation of antibacterial activity of Medicinal plants on Fish Pathogen *Aeromonas hydrophila*. *Journal of Research Biology*, 1: 1 - 5.

6. Gupta, D., Dubey, J., Kumar, M. 2016. Phytochemical analysis and antimicrobial activity of some medicinal plants against selected common human pathogenic microorganisms. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 6 (1): 15-20.

7. Sonibare, M. A., and Gbile, Z. O. (2018). Ethnobotanical survey of anti-asthmatic plants in South Western Nigeria. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*. Med., 5(4): 340 - 345.

8. Ahmed, T., Iman, K. M. D., Sharif, U., Rahman., S., Mou, A. M., Choudhury, S. M. D., Mahal, M. J., Imam S. Jahan, S. M. D., Hossain, M. Rahmatullah

(2012). Antihyperglycemic and antinociceptive activity of Fabaceae family plants – an evaluation of *Mimosa pigra* L. stems. *Advances in Natural and Applied Sciences*, 6(8): 1490 -1495.

9. Gandhiraja, N., Sriram, S.; Meenaa, V., Srilakshmi, J. K., Sasikumar, C., and Rajeswari, R. (2009). Phytochemical Screening and Antimicrobial Activity of the Plant Extracts of *Mimosa pudica* L. Against Selected Microbes. *Ethnobotanical Leaflets*, 2009 (5): 618 - 624.

10. Genest, S., Ker, C., Shah, A., Rahmann, M. M., Saif-E-Naser, G. M. M., Nigam, P., Nahar, L., and Sarker (2008). Comparative bioactivity studies on two *Mimosa* species. *Jounal of Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas Bol.* 7 (1): 38 - 43.

11. Brückner, G. K. (2009). The role of the World Organisation for Animal Health (OIE) to facilitate the international trade in animals and animal products. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*, 76(1): 141 - 146.

12. Sirikharin, R., Taengchaiyaphum, S., Sanguanrut, P., Chi, T. D., Mavichak, R., Proespraiwong, P., Nuangsaeng, B., Thitamadee, S., Flegel, T. W., Sritunyalucksana, K. (2015). Characterization and PCR Detection Of Binary, Pir-Like Toxins from *Vibrio parahaemolyticus* Isolates that Cause Acute Hepatopancreatic Necrosis Disease (AHPND) in Shrimp. PLoS One,10 (5): e0126987. doi: 10.1371/*journal.pone*.0126987.

13. Bindhu, M. R., Vijaya Rekha, p., Umamaheswari, T. Umadevi, M. (2014) Antibacterial activities of Hibiscus cannabinus stem-assisted silver and gold nanoparticles. *Materials Letters*, 131. 194 - 197.

14. Le Moullac G., M. Le Groumellec, D. Ansquer, S. Froissard and P. L. Aquacop (1997). Haematological and phenoloxidase activity changes in the shrimp Penaeus stylirostris in relation with the moult cycle: protection against vibriosis. Fish & Shellfish Immunology 7, 227 - 234.

15. Cornick, J. W. and J. E. Stewart (1978). Lobster (*Homarus americanus*) hemocytes: classification, differential counts, and associated agglutinin activity. *Journal of Invertebrate Pathology*. 3: 194 - 203.

16. Nguyen, T. T. L., Trinh, N. A., Tran, T. H. T., Nguyen, T. T., Huynh, K. H., Pham, K. L., ... & Nguyen, T. N. T (2019). "Selection of lactic acid bacteria (LAB) antagonizing *Vibrio Parahaemolyticus*: The pathogen of acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND) in whiteleg shrimp (*Penaeus Vannamei*)". *Journal of Biology*, 8(4): 1-14 doi: 10.3390/biology8040091. PMID: 31805658; PMCID: PMC6955853.

17. Tran, L., Nunan, L., Redman, R.M., Lightner, D. V, Fitzsimmons, K. (2013). EMS/AHPNS: Infectious disease caused by bacteria. *Global Aquaculture Advocate*, 20: 18 - 20.

18. Reverter, M., Tapissier-Bontemps, N., Sasal, P., & Saulnier, D. (2017). Use of medicinal plants in aquaculture. *In*: Austin B. & Newaj-Fyzul A. (Ed), *Diagnosis and Control of Diseases of Fish and Shellfish:* 223 - 261.

19. Das, B., Dash, S. K., Mandal, D., Ghosh, T., Chattopadhyay, S., Tripathy, S., Das, S., Dey, S.K., Das, D., Roy, S. (2017). Green synthesized silver nanoparticles destroy multidrug resistant bacteria via reactive oxygen species mediated membrane damage. *Arabian Journal of Chemistry*, 10: 862 - 876.

20. Reverter, M., Bontemps, N., Lecchini, D., Banaigs, B., Sasal, P. (2014). Use of plant extracts in fish aquaculture as an alternative to chemotherapy: current status and future perspectives. *Aquaculture*, 433: 50 - 61.

21. Söderhäll, K., Cerenius, L (1998). Role of the prophenoloxidase-activating system in invertebrate immunity. *Current Opinion in Immunology*, 10: 23 - 28.

22. Chinedu, J., Okonkwo, Obioma, U., Njoku, Tochukwu, J. N., Okonkwo, Ozadheoghene, E., Afieroho, Peter Proksch. (2016). Two new acylated flavonol glycosides from *Mimosa pigra* L. leaves sub-family Mimosoideae. *Future Journal of Pharmaceutical*, 2 (2): 71-75.

23. Immanuel, G., Vincybai, V. C., Sivaram, V., Palavesam, A., & Marian, M. P. (2004). Effect of

butanolic extracts from terrestrial herbs and seaweeds on the survival, growth and pathogen (*Vibrio parahaemolyticus*) load on shrimp *Penaeus indicus* juveniles. *Aquaculture*, 236: 53 - 65.

24. Nguyen, T. T. L., Luu, T. T. H., Nguyen, T. T., Pham, V. Đ. & Nguyen, T.N., Truong, Q. P., & Hong, M. H. (2023). A comprehensive study in efficacy of Vietnamese herbal extracts on whiteleg shrimp (*Penaeus vannamei*) against *Vibrio parahaemolyticus* causing acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND). *Israeli Journal of Aquaculture - Bamidgeh*. 75: 1 - 22.

25. Effendi, I., Yoswaty, D., Syawal, H., Austin, B., Lyndon, A. R., Kurniawan, R., Wahyuni, S., & Al-Harbi, A. (2022). "The Use of Medicinal Herbs in Aquaculture Industry: A Review". *Current Aspects in Pharmaceutical Research and Development;* Vol. 7, pp. 7 - 20.

26. Lightner DV, Redman CR, Pantoja BL, Noble LM, Nunan L, Tran L. (2013). Documentation of an Emerging Disease (Early Mortality Syndrome) in SE Asia & Mexico. Published online.

EFFECT OF THE SUPPLEMENTING *Mimosa pigra* EXTRACT ON THE HEMATOLOGICAL PARAMETERS AND THE RESISTANCE TO ACUTE HEPATOPANCREATIC NECROSIS DISEASE ON WHITELEG SHRIMP (*Penaeus vannamei*)

Nguyen Thi Truc Linh[1], Luu Thi Thuy Hai[1]

[1]Tra Vinh University

Summary

The present study was conducted to evaluate the effect of supplementing *Mimosa pigra* extract on the hematological parameters of the whiteleg shrimp and to determine the resistance to acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND) on the whiteleg shrimp of the extract. In this study, leaf extract of *M. pigra* was added to the feed at concentrations of 1%, 1.5% and 2% for whiteleg shrimp for 30 days, and then the effects on the immune response of the experimental shrimp were evaluated. After that, the experimental shrimps will continue to be challenged with *Vibrio parahaemolyticus* combined with herbal supplements (1%, 1.5% and 2%) for 14 days to assess the resistance to *V. parahaemolyticus*, causing AHPND. The results showed that hematological parameters, including THC, GC and HC had an increase and statistically significant difference compared with the control treatment. In the treatment with the addition of *Mimosa pigra* extract, the shrimp mortality rate in whiteleg shrimp significantly decreased and differed statistically significantly with the positive control, but not significantly different from the negative control. After 3 days of infection with *V. parahaemolyticus* and the supplement of *Mimosa pigra* extract, histopathological results showed that the influence of pathogenic bacteria was less compared to the positive control. The hepatopancreatic duct only lacked the presence of B and R cells, but still maintained the structure of the cells. In the positive control treatment, the cell structure was severely disrupted, and the cells of E, B and R were lost. After 14 days of the bacterial infection, whiteleg shrimp showed signs of recovery in the liver tissue structure to a near-normal structure in the treatments supplemented with *Mimosa pigra* extract. However, in the positive control treatment, the recovery of liver tissue structure was lower compared with the treatments supplemented with extracts.

Keywords: *Mimosa pigra leaf extract, hematological parameters, mortality rate, histopathological results, Penaeus vannamei, Vibrio parahaemolyticus.*

Người phản biện: PGS.TS. Từ Thanh Dung

Ngày nhận bài: 12/7/2023

Ngày thông qua phản biện: 5/9/2023

Ngày duyệt đăng: 29/9/2023

ĐÁNH GIÁ HIỆU QUẢ CỦA CAO CHIẾT CÂY SÀI ĐẤT (*Wedelia chinensis*) LÊN KHẢ NĂNG PHÒNG BỆNH HOẠI TỬ GAN TỤY CẤP TRÊN TÔM THẺ CHÂN TRẮNG (*Penaeus vannamei*)

Trần Nguyên Ngọc[1,*], Nguyễn Thị Huế Linh[1], Nguyễn Quang Linh[1], Nguyễn Ngọc Phước[1]

TÓM TẮT

Nghiên cứu được thực hiện nhằm đánh giá hiệu quả của cao chiết Sài đất *(Wedelia chinensis)* lên khả năng phòng bệnh hoại tử gan tụy cấp (AHPND) trên tôm thẻ chân trắng. Thí nghiệm được tiến hành thông qua quá trình đánh giá ngưỡng an toàn của cao chiết Sài đất khi cho tôm thẻ chân trắng ăn thức ăn phối trộn với cao chiết Sài đất ở 4 nồng độ khác nhau lần lượt là: 1 x MBC (31,25 mg/L), 10x MBC (312,5 mg/L), 20 x MBC (625 mg/L) và đối chứng trong 14 ngày liên tục. Kết quả nghiên cứu cho thấy, cao chiết Sài đất là an toàn với tôm thí nghiệm khi tỷ lệ sống ở tất cả các nồng độ đều đạt 100%. Thí nghiệm đánh giá khả năng phòng bệnh hoại tử gan tụy cấp (AHPND) của cao chiết Sài đất *(Wedelia chinensis)* trên tôm thẻ chân trắng được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên trong 6 tuần với 4 nghiệm thức, bao gồm ba nghiệm thức bổ sung 31,25 mg/L, 312,5 mg/L, 625 mg/L cao chiết Sài đất với nhịp bổ sung 1 lần trong 7 ngày liên tục (thí nghiệm 1) và nhịp bổ sung 2 lần (mỗi lần bổ sung trong 7 ngày liên tục), cách tuần và nghiệm thức đối chứng không cho ăn cao chiết. Sau 7 ngày bổ sung cao chiết Sài đất (đối với nhịp bổ sung 1 lần) và ở ngày thứ 22 (đối với nhịp bổ sung 2 lần) tôm được cảm nhiễm với vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus*. Kết quả cho thấy, tôm ở các nghiệm thức bổ sung cao chiết Sài đất 2 lần theo nhịp cách 1 tuần cho tỷ lệ sống cao hơn các nghiệm thức bổ sung cao chiết 1 lần và cao hơn nghiệm thức đối chứng. Nghiệm thức bổ sung 312,5 mg/L cao chiết theo nhịp cách khoảng 1 tuần cho tỷ lệ chết thấp nhất và có khả năng bảo vệ tôm kháng lại vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus* khi gây cảm nhiễm.

Từ khóa: *Wedelia chinensis, cao chiết sài đất, bệnh hoại tử gan tụy cấp, Vibrio parahaemolyticus, tôm thẻ chân trắng.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Tôm thẻ chân trắng (*Penaeus vannamei*) được coi là sản phẩm chủ lực của ngành nông nghiệp Việt Nam. Tuy nhiên, ngành công nghiệp nuôi tôm đang đứng trước nhiều thách thức lớn và bị ảnh hưởng nặng nề từ các đợt dịch bệnh: Bệnh do virus đốm trắng (White Spot Syndrome Virus - WSSV) và đặc biệt bệnh do nhóm vi khuẩn *Vibrio* gây ra thiệt hại nặng lớn về hiệu quả kinh tế cho người nuôi. Trong đó, vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus* mang gen gây độc *pir*A/*pir*B được xem là tác nhân gây bệnh hoại tử gan tụy cấp (Acute hepatopancreatic Necrosis Disease - AHPND) hay còn gọi là hội chứng chết sớm (Early Mortality Syndrome - EMS) là thách thức lớn nhất cho nghề nuôi tôm trên thế giới và Việt Nam.

Bệnh hoại tử gan tụy cấp được xác định do nhóm *Vibrio* spp. (*Vibrio parahaemolyticus, V. harveyi, V. owensii, V. campbellii* và *V. punensis*) có plasmid mang gen độc tố *PirA* và *PirB* (Photorhabdus insect-related -Pir) gây ra [1]. Độc tố của các chủng vi khuẩn này phá huỷ hệ gan tụy và gây tỷ lệ chết lên đến 100%, trên tôm từ 30 - 35 ngày sau khi thả nuôi [2]. Tôm mắc bệnh có dấu hiệu lờ đờ, bỏ ăn, gan tụy teo, sưng to, màu sắc nhợt nhạt, ruột rỗng hoặc đứt đoạn. Ngoài ra, kèm

[1] Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Huế
[*] Email: trannguyenngoc@huaf.edu.vn

theo đó là những dấu hiệu khác như mềm vỏ, sẫm màu và có các đốm trên vỏ đầu ngực [1], [3].

Hiện nay, các loại hoá chất khử trùng, thuốc kháng sinh, chế phẩm sinh học được sử dụng để phòng trị AHPND [4], [5], [6]. Tuy nhiên, kháng sinh và chất khử trùng gây ra tác dụng không mong muốn đến môi trường, sức khỏe vật nuôi, chất lượng sản phẩm thủy sản cũng như hiệu quả trong quá trình điều trị [7]. Việc nghiên cứu các thảo dược chứa các hoạt chất sinh học kháng khuẩn có thể sử dụng trong phòng trị bệnh, thân thiện với môi trường và đảm bảo an toàn thực phẩm đang được chú trọng [8]. Theo Venketramalingam và cs (2007), các loại thảo dược giống như chất bổ sung hương liệu kích thích sự thèm ăn, giúp tôm tăng trưởng nhanh [9]. Nghiên cứu của Casstro và cs (2008) [10], Citarasa (2010) [11] cho thấy, tiềm năng của việc sử dụng chất chiết xuất thảo dược giúp tăng khả năng đề kháng với mầm bệnh ở động vật thủy sản. Bên cạnh đó, chất chiết xuất thảo dược còn có khả năng kích thích tăng trưởng ở động vật thủy sản, cụ thể giúp tăng cường khả năng hấp thu thức ăn, kích thích tiêu hóa, nâng cao hệ thống miễn dịch và tăng tỷ lệ sống [12], [13]. Điều này cho thấy, tiềm năng hóa chất thực vật có thể thay thế cho một số hóa chất hay kháng sinh sử dụng trong nuôi trồng thủy sản [14]. Những ứng dụng rộng rãi như: Bokashi trầu, cao Diệp hạ châu và một số thảo dược khác đã được nghiên cứu trong phòng và trị bệnh trên động vật thuỷ sản [15], [16], [17]. Tuy nhiên, vẫn còn rất nhiều thảo dược có hoạt tính kháng khuẩn cao chưa được nghiên cứu. Nhằm cung cấp cơ sở khoa học cho việc ứng dụng thêm loại thảo dược mới trong phòng và trị bệnh vi khuẩn trên tôm, nghiên cứu hiệu quả của cao chiết cây Sài đất (*Wedelia chinensis*) lên khả năng phòng bệnh hoại tử gan tụy cấp trên tôm thẻ chân trắng (*Penaeus vannamei*) là rất cần thiết.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

2.1.1. Nguồn vi khuẩn

Chủng vi khuẩn *V. parahaemolyticus* NNP 001 phân lập trên tôm thẻ chân trắng nuôi tại tỉnh Thừa Thiên Huế bị bệnh hoại tử gan tụy cấp năm 2019, được định danh, lưu giữ và cung cấp từ phòng thí nghiệm thuộc Bộ môn Bệnh Thuỷ sản, Khoa Thuỷ sản, trường Đại học Nông Lâm, Đại học Huế [18].

Chủng vi khuẩn *V. parahaemolyticus* NNP 001 được phục hồi trên môi trường Tryptone Soya Agar (TSA, Himedia, Ấn Độ) có bổ sung 2% NaCl. Vi khuẩn được nuôi cấy tăng sinh trở lại trong môi trường Tryptic Soy Broth (TSB, Himedia, Ấn Độ) có bổ sung 2% NaCl và được ủ trong tủ ấm GFL 3032, (GFL, Đức) ở 30°C với tốc độ lắc 180 vòng/phút trong 24 giờ. Mật độ vi khuẩn sau khi nuôi cấy được xác định theo phương pháp đo mật độ quang học (Optical density- OD) ở bước sóng 600 nm trên máy quang phổ UV-VIS (U2900, Hitachi, Nhật Bản) và được pha loãng về giá trị OD = 1 (tương đương mật độ vi khuẩn là 10^9 CFU/mL, giá trị tính được từ đếm trực tiếp khuẩn lạc khi xây dựng đường chuẩn cho chủng *V. parahaemolyticus*, Phòng thí nghiệm Bệnh thuỷ sản, Khoa Thuỷ sản, Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Huế), sau đó được pha loãng về 10^6 CFU/mL để thử khả năng kháng khuẩn của cao chiết Sài đất.

2.1.2. Nguồn tôm thí nghiệm

Tôm thí nghiệm có khối lượng trung bình đạt 1,5 - 2,0 g/con được cung cấp từ trại sản xuất tôm giống Phan Toàn, xã Phú Thuận, huyện Phú Vang, tỉnh Thừa Thiên Huế. Tôm đã được kiểm dịch không mang mầm bệnh đốm trắng do WSSV, bệnh Taura do TSV, bệnh còi do vi bào tử trùng EHP và không nhiễm vi khuẩn *V. parahaemolyticus* tại Trạm Chẩn đoán xét nghiệm và điều trị bệnh động vật Thừa Thiên Huế.

Tôm được nuôi thuần trong bể composite 2 m^3, độ mặn 20‰ trong 14 ngày để quen với môi trường thí nghiệm. Trước khi tiến hành các thí nghiệm, tôm được kiểm tra không mang mầm bệnh do nhóm *Vibrio* gây ra bằng cách lấy mẫu gan tụy từ 5 con tôm cấy trực tiếp trên môi trường TCBS agar, quan sát sự phát triển của vi khuẩn sau 24 giờ ở nhiệt độ 28°C.

2.1.3. Nguồn cao chiết Sài đất

Lá và thân cây Sài đất được thu tại thành phố Huế, tỉnh Thừa Thiên Huế. Lá và thân cây được

rửa sạch và sấy khô và xay nhỏ. Cân chính xác 100 g bột Sài đất ngâm với dung dịch methanol 99,8% theo tỷ lệ 1: 10 (tương đương 100 g thảo dược và 1.000 mL). Sau đó đem chưng cách thủy ở nhiệt độ 60 - 70°C trong vòng 120 phút, lọc loại bỏ phần bã thảo dược. Dịch chiết được cô quay để khử hoàn toàn methanol thu được cao chiết thí nghiệm và bảo quản ở nhiệt độ 4°C để sử dụng trong các thí nghiệm [19].

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp đánh giá ngưỡng an toàn của cao chiết toàn phần lên tôm thẻ chân trắng



Hình 1. Hệ thống thí nghiệm

Thí nghiệm được bố trí trong xô nhựa (120 L) được khử trùng bằng chlorine 100 ppm và phơi khô (Hình 1). Sau đó cấp nước mặn 20‰ vào khoảng 2/3 thể tích và sục khí liên tục. Tôm thẻ chân trắng được bố trí ở mật độ 25 con/xô. Thí nghiệm được bố trí trên 4 nghiệm thức (3 lần lặp lại/nghiệm thức) với 3 nồng độ cao chiết khác nhau được trộn vào thức ăn cho tôm ăn liên tục trong 14 ngày. Từ kết quả thí nghiệm của Trần Nguyên Ngọc và cs (2023) xác định được nồng độ tiêu diệt tối thiểu (MBC) của cao chiết Sài đất trong dung môi methanol là 31,25 mg/L và nồng độ này được sử dụng cho thí nghiệm thử độ an toàn của cao chiết Sài đất lên tôm [19].

Thí nghiệm xác định ngưỡng an toàn của cao chiết cây Sài đất trên tôm thẻ chân trắng bằng cách trộn cao chiết được pha trong nước cất với các nồng độ xác định rồi phủ lên bề mặt thức ăn INVE (Thái Lan) (Hình 2): Thức ăn sau khi được phối trộn với cao chiết Sài đất được bảo quản ở nhiệt độ 4°C tránh ẩm mốc.

Nghiệm thức 1 (NT1) sử dụng nồng độ 1 x MBC (31,25 mg/L).

Nghiệm thức 2 (NT2) sử dụng nồng độ 10 x MBC (312,5 mg/L).

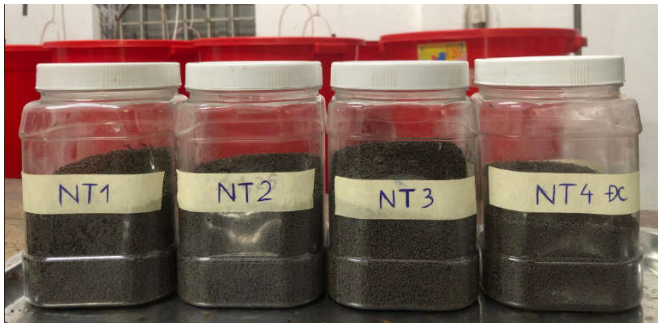
Nghiệm thức 3 (NT3) sử dụng nồng độ bằng 20 x MBC (625 mg/L).

Nghiệm thức đối chứng (NT4) sử dụng thức ăn không trộn với cao chiết

Tôm thí nghiệm được cho ăn thức ăn có hoặc không có cao chiết cây Sài đất 4 lần/ngày vào lúc 8 giờ, 11 giờ, 14 giờ và 18 giờ với lượng thức ăn bằng 2% khối lượng thân. Sục khí liên tục 24 giờ/ngày. Theo dõi và đánh giá tỷ lệ chết trong 14 ngày. Dựa vào tỷ lệ chết cộng dồn ở các nghiệm thức thí nghiệm để tính giá trị LD_{50} (Lethal concentration) của cao chiết theo công thức của Reed and Muench (1938) [20].

$LD_{50} = 10^{a-x}$

Trong đó: a là số luỹ thừa mà tại đó nồng độ cao chiết gây chết thấp nhất (trên 50 %). x được tính dựa vào công thức: x = (Pa – 50)/(Pa – Pu). Với: Pa là tỷ lệ chết cận trên và Pu là tỷ lệ chết cận dưới của liều gây chết 50%.



Hình 2. Thức ăn sau khi phối trộn với cao chiết Sài đất

2.2.2. Đánh giá vai trò của cao chiết cây Sài đất lên khả năng phòng bệnh hoại tử gan tụy cấp trên tôm thẻ chân trắng

Để đánh giá vai trò của cao chiết cây Sài đất lên khả năng phòng bệnh hoại tử gan tụy cấp trên tôm thẻ chân trắng được bố trí trên 2 thí nghiệm đồng thời:

Thí nghiệm 1: Tôm được cho thức ăn có chứa cao chiết Sài đất trong 7 ngày liên tục, sau đó tiến hành gây bệnh thực nghiệm vào ngày nuôi thứ 8 bằng phương pháp ngâm trực tiếp tôm trong dung dịch vi khuẩn *V. parahaemolyticus* ở nồng độ LD_{50} (10^6 cfu/mL; đã được xác định từ nghiên cứu của Nguyễn Ngọc Phước và cs (2020) [18] trong 30 phút và được thử nghiệm lại trước khi làm thí

nghiệm này. Thí nghiệm kết thúc sau khi cảm nhiễm 14 ngày.

Thí nghiệm 2: Tôm được cho thức ăn có chứa cao chiết Sài đất trong 2 đợt, mỗi đợt kéo dài 7 ngày liên tục. Thời gian giữa hai đợt cho ăn thảo dược là 7 ngày, sau đó tiến hành gây bệnh thực nghiệm vào ngày nuôi thứ 22 bằng phương pháp ngâm trực tiếp tôm trong dung dịch vi khuẩn *V. parahaemolyticus* ở nồng độ LD_{50} 10^6 cfu/mL trong 30 phút. Thí nghiệm kết thúc sau khi cảm nhiễm 14 ngày.

Mỗi thí nghiệm được bố trí trên 4 nghiệm thức (3 lần lặp lại/nghiệm thức), với số lượng tôm là 25 con/xô. Tôm được cho ăn thức ăn có hoặc không có cao chiết Sài đất với các nồng độ sau:

Nghiệm thức 1 (NT1) sử dụng nồng độ 1 x MBC (31,25 mg/L).

Nghiệm thức 2 (NT2) sử dụng nồng độ 10 x MBC (312,5 mg/L).

Nghiệm thức 3 (NT3) sử dụng nồng độ bằng 20 x MBC (625 mg/L).

Nghiệm thức đối chứng (NT4) sử dụng thức ăn không trộn với cao chiết.

Theo dõi tỷ lệ chết của tôm sau cảm nhiễm để xác định tỷ lệ bảo hộ của cao chiết Sài đất ở các thí nghiệm.

2.2.3. Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu thu được xử lý theo phương pháp thống kê sinh học dựa trên phần mềm Microsoft Excel 2016.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Đánh giá ngưỡng an toàn của cao chiết toàn phần trên tôm thẻ chân trắng

Trên cơ sở xác định giá trị MBC của cao chiết Sài đất của chủng vi khuẩn *V. parahaemolyticus* từ nghiên cứu của Trần Nguyên Ngọc và cs (2023) [19], tiếp tục thử ngưỡng an toàn của nồng độ cao chiết này lên tôm thẻ chân trắng. Với liều lượng được sử dụng bằng cấp số nhân (1 x MBC, 10 x MBC và 20 x MBC), nhằm xác định độc tính của cao chiết Sài đất đến tỷ lệ sống của tôm để xác định ngưỡng an toàn của dịch chiết Sài đất trong phòng trị bệnh hoại tử gan tụy cấp trên tôm. Kết quả được thể hiện ở bảng 1.

Bảng 1. Tỷ lệ sống của tôm thẻ chân trắng ở các nghiệm thức theo thời gian

Nghiệm thức (nồng độ cao chiết)	Tỷ lệ sống của tôm thí nghiệm theo thời gian (%)		
	3 ngày	7 ngày	14 ngày
Nghiệm thức 1 (31,25 mg/L)	100	100	100
Nghiệm thức 2 (312,5 mg/L)	100	100	100
Nghiệm thức 3 (625 mg/L)	100	100	100
Nghiệm thức 4 (đối chứng)	100	100	100

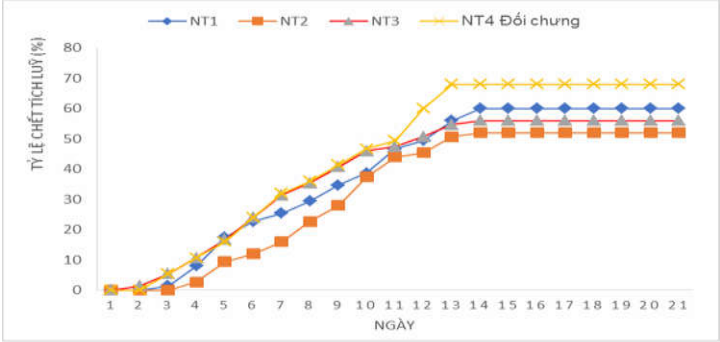
Bảng 1 cho thấy, sau 14 ngày thí nghiệm, không có hiện tượng chết hay các dấu hiệu bất thường trên tôm thẻ chân trắng khi bổ sung cao chiết cây Sài đất ở bất kỳ nồng độ cao chiết vào thức ăn trong tất cả các nghiệm thức thí nghiệm. Do đó, không xác định được giá trị LD_{50} của cao chiết Sài đất. Như vậy, tôm được cho ăn thức ăn bổ sung cao chiết Sài đất cho tốc độ tăng trưởng tốt và đạt tỷ lệ sống cao. Theo nghiên cứu của Lee và Gao (2012) [21] cho thấy, các loại thảo dược được ghi nhận có khả năng tạo hương vị, kích thích bắt mồi, tiết dịch tiêu hóa và giúp hấp thu thức ăn hiệu quả hơn. Qua đó, chiết xuất thảo dược giúp cải thiện khả năng tiêu hóa, gia tăng sự chuyển đổi thức ăn và dẫn đến việc tổng hợp protein cao hơn. Ngoài ra, theo Citarasu và cs (1998, 2003) cho rằng, một số sản phẩm thảo dược được chiết xuất từ cây xuyên tâm liên, cà gai ba thùy, cỏ mực, hương nhu, diệp hạ châu…đều giúp cho tôm nuôi có khả năng giảm stress, giúp tiêu hóa tốt và do vậy tăng trưởng tốt hơn dẫn đến tỷ lệ sống tốt hơn [22], [23]. Như vậy, kết quả thí nghiệm này cho thấy khi sử dụng cao chiết cây Sài đất bổ sung vào thức ăn là an toàn cho tôm thẻ chân trắng.

3.2. Kết quả đánh giá vai trò của cao chiết cây Sài đất lên khả năng phòng bệnh hoại tử gan tụy cấp trên tôm thẻ chân trắng

Khi cho tôm sử dụng cao chiết Sài đất 1 lần với tần suất cho ăn trong 7 ngày liên tiếp và gây bệnh thực nghiệm vào ngày thứ 8, tôm bắt đầu thể hiện dấu hiệu bệnh lý và chết vào ngày thứ 3 sau cảm

nhiễm ở tất cả các nghiệm thức thí nghiệm (Hình 3). Tỷ lệ chết tăng dần từ ngày thứ 3 đến ngày 14 sau khi cảm nhiễm và không còn chết vào ngày thứ 15 ở tất cả nghiệm thức thí nghiệm. Thí nghiệm kết thúc vào ngày thứ 21, khi không có tỷ lệ chết xuất hiện ở các nghiệm thức trong vòng 7 ngày. Tỷ lệ chết tích luỹ thấp nhất (52%) ở nghiệm thức 2 cho ăn cao chiết Sài đất với liều lượng 312,5 mg/L, tỷ lệ chết cao nhất ở nghiệm thức đối chứng (68%) khi sử dụng thức ăn không bổ sung cao chiết Sài đất.

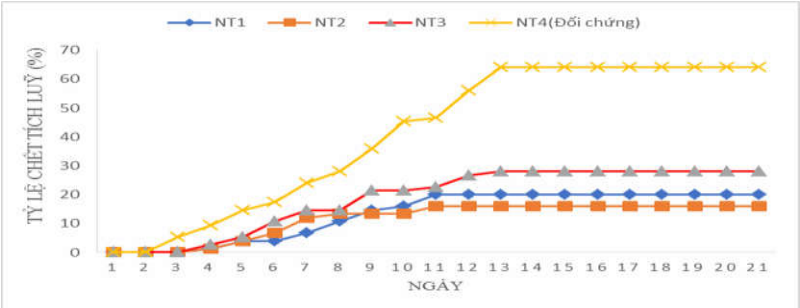
Trong khi đó, nghiệm thức 1 và nghiệm thức 3 khi cho tôm ăn thức ăn có bổ sung cao chiết Sài đất với nồng độ 31,25 mg/L và 625 mg/L, tỷ lệ chết tích luỹ lần lượt là 60% và 56% cho đến khi kết thúc thí nghiệm (Hình 3).



Hình 3. Tỷ lệ chết tích luỹ của tôm thẻ chân trắng sau 7 ngày cho ăn cao chiết Sài đất và cảm nhiễm vi khuẩn *V. parahaemolyticus* ở liều gây chết LD_{50}

Tỷ lệ chết của tôm thẻ chân trắng ở 4 nghiệm thức cho ăn và không cho ăn cao chiết Sài đất ở các nồng độ khác nhau đều trên 50% chứng tỏ việc cho ăn Sài đất 1 lần với tần suất liên tục trong 7 ngày cho hiệu quả phòng bệnh không cao.

Nhằm nâng cao hiệu quả phòng bệnh của cao chiết Sài đất, tiến hành tăng nhịp sử dụng cao chiết Sài đất lên 2 lần với tần suất sử dụng cao chiết Sài đất trong 7 ngày liên tục và khoảng cách giữa hai lần cho ăn là 7 ngày. Tỷ lệ chết của tôm khi gây bệnh thực nghiệm sau hai lần cho ăn được thể hiện ở hình 4.



Hình 4. Tỷ lệ chết của tôm thẻ chân trắng sau khi cho ăn cao chiết Sài đất với nhịp 2 lần và cách tuần và cảm nhiễm vi khuẩn *V. parahaemolyticus* ở liều gây chết LD_{50}

Tỷ lệ chết xuất hiện vào ngày thứ 2 sau cảm nhiễm ở nghiệm thức đối chứng (NT4) khi không bổ sung thảo dược và tỷ lệ chết cộng dồn tăng cao nhất vào ngày thứ 14 lên đến 64%. Ở các nghiệm thức thí nghiệm cho ăn cao chiết Sài đất, tôm xuất hiện dấu hiệu bệnh lý và tỷ lệ chết xảy ra ở ngày thứ 3 sau cảm nhiễm, chậm hơn so với nghiệm thức không ăn cao chiết Sài đất sau 1 ngày. Tỷ lệ chết ở tôm thí nghiệm khi cho ăn cao chiết Sài đất 2 lần đều giảm dưới 30%, tỷ lệ chết thấp nhất (16%) ghi nhận được ở nghiệm thức 2 (NT2) khi sử dụng thức ăn phối trộn với cao chiết Sài đất ở liều 312,5 mg/L và tăng lên 18% ở nghiệm thức bổ sung 31,25 mg/L cao chiết Sài đất (NT1) và 28% ở nghiệm thức bổ sung cao chiết Sài đất với liều lượng 625 mg/L (NT3). Kết quả này cho thấy, việc

cho ăn cao chiết Sài đất với nhịp 2 lần, cách tuần cho hiệu quả tốt trong phòng bệnh hoại tử gan tụy cấp. Tỷ lệ chết của tôm ở nghiệm thức sử dụng cao chiết ở nồng độ 625 mg/L cao hơn nồng độ 312, 5 mg/L cho thấy, ở nồng độ cao có thể không tốt cho tôm. Tỷ lệ chết ở nghiệm thức 1 (sử dụng cao chiết với liều 31,25 mg/L) tương đương với tỷ lệ chết ở nghiệm thức 3 (sử dụng cao chiết với liều 312, 5 mg/L) cho thấy, việc sử dụng cao chiết Sài đất ở liều 31,25 mg/L với nhịp 2 lần cách tuần là hiệu quả nhất trong phòng bệnh hoại tử gan tụy cấp trên tôm nuôi. Harikrishnan và cs (2011) nhận định liều lượng của thực vật bổ sung vào thức ăn từ 1 - 30% đối với thực vật thô và từ 0,01 - 5% đối với hoạt chất tinh khiết từ thực vật và với thời gian bổ sung dao động từ 7 ngày đến 70 ngày sẽ cải thiện sức khỏe cho tôm [24]. Đồng thời kích thích hệ thống miễn dịch không đặc hiệu trên tôm, bằng cách tăng cường các thông số huyết học (tổng tế bào máu, từng loại bạch cầu), cũng như các thông số miễn dịch như lysozyme, bổ thể, antiprotease, myeloperoxidase, phản ứng oxy hóa, phản ứng nitrogen, phagocytosis, hoạt tính respiratory burst, nitric oxide, phenoloxidase, glutathione peroxidase [24]. Kết quả thử nghiệm cho thấy rằng, cao chiết của Sài đất với nhịp bổ sung liên tục (trong 1 tuần) và nhịp bổ sung 2 lần cách tuần đã giúp cải thiện sức khỏe tôm thẻ chân trắng, gia tăng tỷ lệ sống khi cảm nhiễm với *V. parahaemolyticus.*

4. KẾT LUẬN

Cao chiết Sài đất ở 3 nồng độ: Nồng độ tiêu diệt tối thiểu (MBC = 31,25 mg/L), gấp 10 và 20 lần nồng độ tiêu diệt tối thiểu (10 x MBC = 312,5 mg/L), 20 x MBC = 625 mg/L) là an toàn với tôm thẻ chân trắng

Hiệu quả phòng bệnh hoại tử gan tụy cấp cao nhất khi sử dụng cao chiết Sài đất với liều lượng 31,25 mg/L với tần suất cho ăn 7 ngày liên tục và nhịp điệu cho ăn là 2 lần và cách tuần.

LỜI CẢM ƠN

Nhóm tác giả xin chân thành cảm ơn sự tài trợ của quỹ học bổng VINIF.2022.TS082 của Tập đoàn Vingroup, đề tài độc lập cấp nhà nước mã số ĐTĐL.CN-56/22 và nhóm nghiên cứu mạnh NCM.DHH.2022.005.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Tang, K. F. J., Bondad - Reantaso, M.G., Arthur, J.R., MacKinnon, B., Hao, B., Alday-Sanz, V., Liang, Y. and Dong, X. (2020). *Shrimp acute hepatopancreatic necrosis disease strategy manual.* FAO Fisheries and Aquaculture Circular No. 1190. Rome, FAO. https://doi.org/10.4060/cb2119en

2. OIE-World Organisation for Animal Health (2019). First report of acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND) occurring in the USA. Diseases of aquatic organisms, 132 (3), 241-247.

3. Lightner, D. V. Redman C.R., Pantoja B. L., Noble L. M. and Loc Tran (2013). Documentation of an Emerging Disease (Early Mortality Syndrome) in SE Asia and Mexico. OIE Reference Laboratory for Shrimp Diseases, Department of Veterinary Science and Microbiology, School of Animal and Comparative Biomedical Sciences.

4. FAO- Food and Agriculture Organization of the United Nations (2013). FAO/MARD Technical Workshop on Early Mortality Syndrome (EMS) or Acute Hepatopancreatic Necrosis Syndrome (AHPNS) of Cultured Shrimp, Ha Noi, Vietnam, 25-27 June 2013. FAO Fisheries and Aquaculture Report. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), Rome, Italy, 54 pp.

5. De Schryver, P., Defoirdt T., Sorgeloos P. (2014). Early mortality syndrome outbreaks: a microbial management issue in shrimp farming. Public Library of Science Pathogens, 10: 1003919. https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1003919.

6. Boonyawiwat, V., Patanasatienkul T., Kasornchandra J. *et al.* (2017). Impact of farm management on expression of early mortality syndrome/acute hepatopancreatic necrosis disease (EMS/AHPND) on penaeid shrimp farms in Thailand. *Journal of Fish Diseases*, 40(5): 649 - 659. https://doi.org/10.1111/jfd.12545

7. Miranda, C. D., Zemelman, R. (2002). Bacterial resistance to oxytetracycline in Chilean salmon farming. *Aquaculture* 212, 31 – 47

8. Cos P., Vlietinck A.J., Berghe D.V. and Maes L. (2006). Anti-infective potential of natural

products: How to develop a stronger in vitro "proof of concept". https://doi.org/10.1016/j.jep.2006.04.003.

9. Venketramalingam, K., Christopher, J. G and Citarasu, T. (2007). Zingiber officinalis anherbal appetizer in the tiger shrimp Penaeus monodon (Fabricius) larviculture. *Aquac Nutr*, 13(6), 439 - 443. https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2007.00495.x.

10. Castro, R., Lamas J., Morais P., Sanmartı´n M. L., Orallo F. and Leiro J. (2008). Resveratrol modulates innate and inflammatory responses in fish leucocytes. Veterinary Immunol Immunopathol, 126 (1-2): 9 - 19. https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2008.06.001.

11. Citarasu, T. (2010). Herbal biomedicines: a new opportunity for aquaculture industry. *Aquaculture International*, 18(3): 403-414. https://doi.org/ 10.1016/0959-8030(92)90067-8.

12. Immanuel, G., Vincybai V. C., Sivaram V., Palavesam A. and Marian M. P. (2004). Effect of butanolic extracts from terrestrial herbs and seaweeds on the survival, growth and pathogen (Vibrio parahaemolyticus) load on shrimp Penaeus indicus juveniles. *Aquaculture*, 236: 53 - 65. https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2003.11.033.

13. Kirubakaran, C. J. W., Alexander, C. P. and Michael, R. D., (2010). Enhancement of non-specific immune responses and disease resistance on oral administration of Nyctanthes arbortristis seed extract in Oreochromis mossambicus (Peters). *Aquaculture Research*, 41: 1630–1639. https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2010.02516.

14. Sivaram, V., Babu M. M., Immanuel G., Murugadass S., Citarasu T. and Marian M. P. (2004). Growth and immune response of juvenile greasy groupers (Epinephelus tauvina) fed with herbal antibacterial active principle supplemented diets against Vibrio harveyi infections. *Aquaculture*. 237: 9 - 20. https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2004.03.014.

15. Nguyễn Quang Linh (2010). *Ứng dụng chế phẩm sinh học Bokashi Trầu cho vùng nuôi tôm an toàn và vai trò của cộng đồng ở đầm phá Tam Giang - Cầu Hai, tỉnh Thừa Thiên Huế*. Nxb Đại học Huế, 119 trang.

16. Phạm Thị Hải Yến, Nguyễn Duy Quỳnh Trâm, Hoàng Ngọc Hân, Trần Vinh Phương (2019). Hoạt tính kháng vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus* gây bệnh hoại tử gan tụy cấp trên tôm chân trắng (*Litopenaeus vannamei*) của cây chó đẻ thân xanh (*phyllanthus amarus*) và chế phẩm EM_5. *Tạp chí Khoa học, Đại học Huế: Khoa học tự nhiên,* 107 - 114. http://doi: 10.26459/hueuni-jns.v128i1E.5440.

17. Hồng Mộng Huyền, Võ Tấn Huy, Trần Thị Tuyết Hoa (2018). Hoạt tính kháng khuẩn của một số cao chiết thảo dược kháng vi khuẩn gây bệnh ở tôm nuôi. *Tạp chí Khoa học, Trường Đại học Cần Thơ*, 54(2), 143 - 150. https://doi.org/10.22144/ctu.jsi.2018.047.

18. Nguyễn Ngọc Phước, Nguyễn Thị Xuân Hồng, Nguyễn Công Chung (2020). Nghiên cứu độc lực của một số chủng vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus* gây bệnh hoại tử gan tụy cấp (AHPND) trên tôm chân trắng (*Litopenaeus vannamei*) nuôi tại Thừa Thiên Huế. *Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam*, 18 (3), 202–211. http://tapchi.vnua.edu.vn/wp-content/uploads/2020/06/tap-chi-so-3.1.5-1.pdf

19. Trần Nguyên Ngọc, Ngô Lý Lai, Nguyễn Thị Huế Linh, Nguyễn Quang Linh, Nguyễn Ngọc Phước (2023). Khả năng kháng khuẩn của cao chiết Sài đất (*Wedelia chinensis*) lên vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus* phân lập từ tôm thẻ chân trắng (*Litopenaeus vannamei*) bị bệnh hoại tử gan tụy cấp. *Tạp chí Khoa học, Đại học Huế: Nông nghiệp và Phát triển nông thôn* 132(3B): 5-19. http://doi: 10.26459/hueunijard.v132i3B.7020.

20. Reed, L. J., and Muench, H. (1938). A simple method of estimating fifty per cent endpoints. *American Journal of Hygiene* 27(3), 493-497. https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aje.a118408

21. Lee, J. Y. and Gao, Y. (2012). Review of the application of garlic, *Allium sativum*, in aquaculture. *Journal of the World Aquaculture Society, 43*(4), 447-458. https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.2012.00581.x

22. Citarasu, T., Immanuel, G., and Marian, M. P. (1998). Effects of feeding Artemia enriched with stresstol and cod liver oil on growth and stress resistance in the Indian white shrimp *Penaeus indicus* post larvae. *Asian Fish Sciences, 12*, 65 - 75.

23. Citarasu, T., Venkatramalingam, K., Micheal Babu, M., Raja Jeya Sekar, R., and Petermarian, M. (2003). Influence of the antibacterial herbs, *Solanum trilobatum, Andrographis paniculata* and *Psoralea corylifolia* on the survival, growth and bacterial load of *Penaeus monodon* post larvae. *Aquaculture International, 11*, 581-595. https://link.springer.com/article/10.1023/B:AQUI.0000013322.53358.53

24. Harikrishnan, R., Balasundaram, C., and Heo, M.S. (2011). Impact of plant products on innate and adaptive immune system of cultured finfish and shellfish. *Aquaculture*, 317: 1 - 15. doi:10.1016/j.aquaculture.2011.03.039.

EVALUATION OF THE EFFECTIVENESS OF *Wedelia chinensis* EXTRACT ON THE PREVENTION OF ACUTE EPATOPANCREATIC NECROSIS DISEASE IN WHITE LEG SHRIMP (*Penaeus vannamei*)

Tran Nguyen Ngoc[1], Nguyen Thi Hue Linh[1], Nguyen Quang Linh[1], Nguyen Ngoc Phuoc[1]

[1]*University of Agriculture and Forestry, Hue University*

Summary

The study was conducted to evaluate the effectiveness of *Weedelia chinensis* extract on the prevention of acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND) in white leg shrimp. The toxicity test was conducted with supplemental of 4 concentration of *Wedelia chinensis* extract 1x MBC (31.25 mg/L), 10 x MBC (312.5 mg/L), 20 x MBC (625 mg/L) and control in shrimp feed and fed to white leg shrimp for 14 days at 2% body weight. *Wedelia chinensis* extract was safe for shrimp without any mortality observed in all concentration of the extraction used. The study was completely randomized design for 6 weeks to evaluate the effect of the interval of *Wedelia chinensis* extract on the prevention of white leg shrimp (*Penaeus vannamei*) toward *Vibrio parahaemolyticus* with 4 treatments including 3 supplemented treatments of 31.25 mg/L, 312.5 mg/L, 625 mg/L *Wedelia chinensis* extract with different interval supplementation: Once for 7 days and twice (7 days interval) and a control treatment (without herbal extract). After 7 days of *Wedelia chinensis* extract supplementation (the first day) and 22th day (the second times), shrimp were challenged with *Vibrio parahaemolyticus* pathogenic strain. Results showed that the survival of shrimp in the treatments of twice supplemented of *Wedelia chinensis* were higher than those of supplemented treatments and those of control. Treatment of 312.5 mg/L *Wedelia chinensis* extract supplementation with 7 days interval gave a lowest mortality than those in other treatments and showed the protection of white leg shrimp from *Vibrio parahaemolyticus* infection.

Keywords: *Wedelia chinensis, sai dat extract, acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND), Vibrio parahaemolyticus, white leg shrimp.*

Người phản biện: PGS.TS. Võ Văn Nha

Ngày nhận bài: 15/7/2023

Ngày thông qua phản biện: 20/8/2023

Ngày duyệt đăng: 20/9/2023

ẢNH HƯỞNG CỦA THỨC ĂN NUÔI VỖ ĐẾN SỨC SINH SẢN CỦA CÀ RA (*Eriocheir sinensis* H. Milne Edwards, 1853) MẸ VÀ CHẤT LƯỢNG ẤU TRÙNG

Trần Thế Mưu[1,*], Nguyễn Trung Thành[1], Phan Minh Quý[1]

TÓM TẮT

Cà ra (*Eriocheir sinensis* H. Milne Edwards, 1853) trưởng thành, thu thập tự nhiên từ khu vực hạ lưu sông Lạch Tray, đã được đưa vào thí nghiệm nuôi vỗ thành thục với ba loại thức ăn tươi khác nhau: Thịt rươi, thịt tôm, thịt cá và thức ăn đối chứng 50% thịt tôm và 50% thịt cá. Tất cả các nghiệm thức và thức ăn đối chứng đều có bổ sung thức ăn tinh bột là hạt ngô nấu chín. Trong thời gian từ tháng 10/2020 đến tháng 1/2023 đã thực hiện được 3 đợt nuôi vỗ. Thời gian từ khi bắt đầu nuôi vỗ đến khi Cà ra sinh sản kéo dài trong khoảng 85 - 116 ngày. Kết quả sinh sản cả 3 đợt đều cho thấy, sức sinh sản của nhóm Cà ra được nuôi vỗ bằng thức ăn rươi (288.483 - 356.273 Zoea 1/Cà ra mẹ) đều vượt trội hơn so với hai nghiệm thức còn lại (P<0,05); so với nhóm Cà ra đối chứng (278.040 - 325.900 Zoea 1/Cà ra mẹ) về giá trị trung bình có cao hơn, tuy nhiên sai khác không có ý nghĩa thống kê (P>0,05). Tỷ lệ chuyển giai đoạn từ Zoea 1 sang Zoea 2 ở nhóm Cà ra cho ăn rươi cao hơn có ý nghĩa so với hai nghiệm thức còn lại và thức ăn đối chứng. Nhìn chung, thức ăn rươi tươi sống có bổ sung hạt ngô nấu chín là thức ăn nuôi vỗ Cà ra cái cho sức sinh sản và chất lượng ấu trùng tốt hơn hai thức ăn còn lại.

Từ khóa: *Cà ra, sức sinh sản, thức ăn, Zoea 1.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cà ra (*Eriocheir sinensis* H. Milne Edwards, 1853), còn gọi là Cua lông hay Cua sông, nổi bật với đám lông rậm trên đôi càng có đầu màu trắng là một thủy đặc sản nổi tiếng thượng hạng ở một số nước và khu vực thuộc châu Á như: Trung Quốc, Việt Nam, Singapore, Thái Lan...

Trong hầu hết giai đoạn sinh trưởng, Cà ra sống ở vùng nước ngọt cách hàng trăm km về phía thượng nguồn các con sông [1]. Khi trưởng thành, chúng thường tập trung di cư từ vùng nước ngọt về vùng cửa sông, ven biển nơi có độ mặn cao hơn để thành thục, sinh sản cho ra ấu trùng Cà ra và kết thúc vòng đời [1], [2]. Ấu trùng Cà ra lớn lên ở vùng nước mặn, chúng thường phát triển qua 5 giai đoạn Zoea và 1 giai đoạn Megalopa, trước khi biến thái thành Cà ra bột. Cà ra bột tiếp tục di cư từ vùng nước mặn lên vùng nước ngọt để sinh trưởng và lớn lên [3].

Cà ra là một thủy đặc sản nổi tiếng thượng hạng và nguồn lợi Cà ra tự nhiên đã sụt giảm mạnh, điều đó đã thúc đẩy nghề nuôi Cà ra, bao gồm cả sản xuất giống nhân tạo và nuôi thương phẩm. Trung Quốc đã phát triển nghề nuôi Cà ra với quy mô lớn, trên diện rộng, nhất là ở lưu vực sông Trường Giang [4], [5]. Trước những năm 1980, nuôi thương phẩm Cà ra ở Trung Quốc chỉ dựa vào nguồn giống Megalopa tự nhiên và thả nuôi trong các hồ. Tuy nhiên, nguồn giống Megalopa tự nhiên đã trở nên cạn kiệt nghiêm trọng vào cuối những năm 1980. Sự sụt giảm nghiêm trọng nguồn giống tự nhiên đã kích thích sự phát triển sản xuất giống nhân tạo. Tổng sản lượng tại các trại giống Cà ra ở Trung Quốc đã tăng mạnh từ 3,2 tỷ Megalopa năm 2001 lên 9 tỷ Megalopa năm 2005. Sản lượng Cà ra thương phẩm hàng năm cũng tăng mạnh từ 17.500 tấn năm 1993 lên 570.000 tấn năm 2005 [6], [7], [8].

Trong sản xuất giống nhân tạo Cà ra, nuôi vỗ Cà ra trưởng thành đạt tới thành thục và sinh sản là bước đi tiên quyết. Do đó, việc tìm hiểu thức ăn

[1] Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản I
[*] Email: tranthemuu@ria1.org

nuôi vỗ Cà ra bố mẹ phù hợp là hết sức quan trọng để nâng cao chất lượng ấu trùng. Trong tự nhiên, Cà ra là loài ăn tạp, chúng ăn cả thực vật và động vật. Hạt ngô là thức ăn thực vật quen thuộc. Cá, tôm, rươi là những loại thức ăn động vật phổ biến trên thị trường và được sử dụng khá rộng rãi trong nuôi vỗ thành thục giáp xác ở Việt Nam. Do đó cá, tôm, rươi (đều có bổ sung hạt ngô) được đưa vào thí nghiệm nuôi vỗ Cà ra trong nghiên cứu này.

Chất lượng dinh dưỡng của ba loại thức ăn (cá, tôm, rươi) nuôi vỗ ảnh hưởng đến hiệu suất sinh sản và chất lượng ấu trùng được đánh giá dựa trên tỷ lệ Cà ra mẹ tham gia sinh sản, số lượng Zoea 1 nở ra từ mỗi Cà ra mẹ và tỷ lệ chuyển giai đoạn từ Zoea 1 sang Zoea 2. Bài báo này trình bày những kết quả thu được từ thí nghiệm thức ăn nuôi vỗ Cà ra thành thục làm cơ sở cho việc phát triển sản xuất giống nhân tạo, góp phần phục hồi nguồn lợi tự nhiên và thúc đẩy nghề nuôi thương phẩm Cà ra ở Việt Nam trong thời gian tới.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

- Thời gian nghiên cứu: Từ tháng 10/2020 - tháng 1/2023. Trong đó, thời gian thí nghiệm mỗi đợt được tính từ khi đưa Cà ra thu thập về, bố trí vào các bể nuôi vỗ đến thời điểm Cà ra mẹ thứ nhất trong mỗi đợt ấp nở và đến khi Cà ra mẹ cuối cùng trong đợt đó ấp nở hoàn thành. Cụ thể, thời gian thí nghiệm: Đợt 1 (10/2020 - 1/2021): 85 - 102 ngày; đợt 2 (10/2021 - 1/2022): 97 - 116 ngày; đợt 3 (10/2022 - 1/2023): 93 - 112 ngày.

- Địa điểm nghiên cứu: Nhà thí nghiệm ướt tại Trung tâm Quốc gia Giống Hải sản miền Bắc, phường Hải Thành, quận Dương Kinh, thành phố Hải Phòng.

2.2. Vật liệu nghiên cứu

Cà ra trưởng thành, thu thập tự nhiên từ hạ lưu sông Lạch Tray.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

Cà ra trưởng thành, thu thập tự nhiên đưa về địa điểm nghiên cứu, được tách riêng đực cái và bố trí vào các bể nuôi vỗ theo 4 chế độ cho ăn khác nhau, bao gồm: 3 nghiệm thức thức ăn và thức ăn đối chứng:

- Nghiệm thức 1 (TR): Rươi tươi sống, cắt miếng;

- Nghiệm thức 2 (TT): Tôm tươi, bóc vỏ, bỏ đầu, cắt miếng;

- Nghiệm thức 3 (TC): Cá tươi (rô phi là chính), lọc thịt, cắt miếng;

- Thức ăn đối chứng (ĐC): 50% thịt tôm tươi và 50% thịt cá tươi.

Khẩu phần thức ăn thí nghiệm và đối chứng hàng ngày như nhau, 3 - 5% khối lượng Cà ra nuôi (cho ăn đến no thì dừng). Đồng thời, ở tất cả các lô thí nghiệm đều bổ sung trực tiếp hạt ngô nấu chín với lượng như nhau, khoảng 5% khối lượng Cà ra nuôi. Cho ăn ngày 1 lần vào buổi tối 19 - 20 giờ. Thành phần dinh dưỡng chính của các loại thức ăn trong các nghiệm thức được kế thừa từ các nghiên cứu trước đây [9], [10]. Các loại thức ăn dùng trong thí nghiệm, được các nhà thầu cung cấp từ nguồn nguyên liệu thu thập tại thành phố Hải Phòng.

Cà ra cái được nuôi vỗ trong 4 bể xi măng, mỗi bể rộng đáy 4 m^2, thả 35 con mỗi bể, tương ứng với 4 chế độ cho ăn khác nhau. Đáy bể nuôi có bố trí một lớp cát mịn 5 cm, cho Cà ra vùi mình, và có các đoạn ống nhựa làm chỗ trú ẩn cho Cà ra. Cà ra đực được nuôi riêng trong 1 bể rộng đáy 16 m^2, thức ăn cho Cà ra đực tương tự như thức ăn đối chứng. Theo quan sát thực tế Cà ra đực trưởng thành tự nhiên đưa về đều khỏe mạnh và thành thục tốt, bởi vậy không thực hiện bố trí thí nghiệm thức ăn nuôi vỗ thành thục với Cà ra đực. Chỉ bố trí thí nghiệm thức ăn nuôi vỗ thành thục với Cà ra cái. Khi Cà ra cái tăng trưởng tốt, đã lột xác thành thục, yếm phần bụng căng tròn, có đầy đủ các lông cứng ở mặt bụng trong yếm, thì ghép Cà ra đực vào bể Cà ra cái để cho chúng giao phối. Trong các năm từ 2020 - 2023 có 3 đợt Cà ra tự nhiên được đưa về địa điểm nghiên cứu, theo đó đã bố trí 3 đợt thí nghiệm.

Ngoài yếu tố thí nghiệm là thức ăn có nguồn gốc động vật khác nhau, các yếu tố khác như thức ăn tinh bột bổ sung, thời điểm cho ăn, lượng cho ăn, chất lượng môi trường, chế độ chăm sóc, siphon, thay nước... cho tất cả các bể nuôi vỗ Cà ra cái và Cà ra đực đều được thực hiện giống nhau.

Độ mặn trong các bể nuôi vỗ được điều chỉnh phỏng theo quá trình di cư sinh sản trong tự nhiên

của Cà ra. Tháng nuôi vỗ thứ nhất điều chỉnh độ mặn nước nuôi từ 0 - 5 ppt. Tháng nuôi thứ hai nâng dần độ mặn lên 6 - 10 ppt. Từ tháng nuôi thứ ba, tiếp tục nâng dần độ mặn lên đến 11 - 17 ppt và khi nhiệt độ nước xuống dưới 22°C, tiến hành ghép Cà ra đực vào bể Cà ra cái để giao phối. Sau khi giao phối 2 - 3 ngày, Cà ra mẹ đẻ trứng, trứng được Cà ra mẹ ấp ở yếm. Chuyển Cà ra mẹ ấp trứng vào bể riêng, 200 lít/bể, đảm bảo Cà ra mang trứng không bị ảnh hưởng bởi những Cà ra khác và đếm được số ấu trùng Zoea 1 mỗi Cà ra mẹ ấp nở ra.

2.4. Thu thập và xử lý số liệu

Cà ra tự nhiên đưa về, đếm số lượng và cân khối lượng tại địa điểm nghiên cứu, tính được giá trị trung bình và biến động khối lượng Cà ra lúc ban đầu đưa vào mỗi bể thí nghiệm.

Trong quá trình nuôi vỗ, hàng ngày ghi lại số Cà ra cái chết của mỗi bể cho đến khi thả Cà ra đực vào để giao phối (coi đó là thời điểm kết thúc nuôi vỗ). Đếm tổng số Cà ra cái chết của mỗi bể để tính tỷ lệ sống của Cà ra cái trong thời gian nuôi vỗ. Sau khi ghép Cà ra đực vào bể, tiếp tục theo dõi số Cà ra cái chết hoặc không đẻ trứng để tính tỷ lệ tham gia sinh sản của Cà ra cái. Cân khối lượng Cà ra mẹ thành thục, ngay trước thời điểm cho Cà ra đực vào giao phối. Khi trứng nở ra ấu trùng, đếm số lượng ấu trùng Zoae 1 của từng Cà ra mẹ theo phương pháp thể tích. Sau khi đếm số lượng Zoea 1 của từng Cà ra mẹ, tiếp tục theo dõi Zoea 1 chuyển sang Zoea 2, đếm số lượng Zoea 2 để tính tỷ lệ chuyển giai đoạn từ Zoea 1 sang Zoea 2.

Toàn bộ số liệu thu thập trong quá trình thí nghiệm được cập nhật vào máy tính và được xử lý trên phần mềm Excel. Phân tích thống kê mô tả: Giá trị nhỏ nhất, giá trị lớn nhất, giá trị trung bình, độ lệch chuẩn, hệ số phân tán. Tính hệ số tương quan giữa khối lượng Cà ra mẹ với số lượng Zoea 1 để biết được mối tương quan giữa khối lượng cơ thể Cà ra mẹ với số lượng Zoea 1 được ấp nở. Phân tích phương sai ANOVA một nhân tố đối với số liệu sinh sản (số lượng Zoea 1 của mỗi Cà ra mẹ) giữa các nghiệm thức thức ăn và thức ăn đối chứng. Đối với tỷ lệ phần trăm ấu trùng Zoea 1 chuyển sang Zoea 2, trong thí nghiệm này có sự dao động từ 57,6 - 81,9% (Bảng 4), do đó phải chuyển đổi sang giá trị arcsine rồi phân tích phương sai [11]. Kết quả phân tích phương sai của hai nhóm số liệu này là cơ sở để đánh giá hiệu quả của thức ăn nuôi vỗ đến chất lượng Cà ra thành thục và chất lượng ấu trùng.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Kết quả sinh sản đợt 1

Kết quả phân tích thống kê sức sinh sản đợt 1 cho thấy, Cà ra mẹ được cho ăn thức ăn rươi có sức sinh sản cao hơn có ý nghĩa so với nghiệm thức cho ăn tôm và nghiệm thức cho ăn cá ($p<0,05$); tuy nhiên, nghiệm thức rươi không khác nhau có ý nghĩa so với nhóm đối chứng ($p>0,05$). Nhóm Cà ra đối chứng có sức sinh sản cao hơn có ý nghĩa so với nghiệm thức Cà ra cho ăn thức ăn Cá ($p<0,05$); không khác nhau có ý nghĩa với nghiệm thức cho ăn thức ăn tôm ($p>0,05$). Nghiệm thức cho ăn tôm và nghiệm thức cho ăn cá không khác nhau có ý nghĩa thống kê ($p>0,05$) (Bảng 1).

Bảng 1. Kết quả sinh sản đợt 1

Thức ăn	TR	TT	TC	ĐC
Số Cà ra cái đưa vào nuôi vỗ (con)	35	35	35	35
Khối lượng trung bình Cà ra cái lúc đưa vào nuôi vỗ (g/con)	$85,6^a \pm 1,5$	$85,5^a \pm 1,4$	$85,8^a \pm 1,3$	$85,2^a \pm 1,7$
CV của khối lượng Cà ra cái lúc đưa vào nuôi vỗ (%)	1,8	1,6	1,5	1,9
Số Cà ra cái còn sống sau nuôi vỗ (con)	25	25	24	26
Tỷ lệ sống của Cà ra cái sau nuôi vỗ (%)	71,4	71,4	68,6	74,3
Khối lượng trung bình Cà ra mẹ thành thục (g/con)	$103,2^a \pm 1,8$	$102,7^a \pm 2,1$	$103,4^a \pm 1,9$	$103,0^a \pm 3,0$
CV của khối lượng Cà ra mẹ thành thục (%)	1,7	2,1	1,8	2,9

Số Cà ra mẹ đẻ trứng và ấp nở (con)	25	25	24	26
Tỷ lệ Cà ra mẹ tham gia sinh sản (%)	100	100	100	100
Sức sinh sản (số Zoea 1/Cà ra mẹ)	$315.096^{a} \pm 53.455$	$280.480^{bc} \pm 43.074$	$265.792^{c} \pm 46.335$	$290.423^{ab} \pm 41.638$
CV của sức sinh sản (%)	17,0	15,4	17,4	14,3

Ghi chú: TR: Thịt rươi; TT: Thịt tôm; TC: Thịt cá; ĐC: Đối chứng gồm 50% thịt tôm và 50% thịt cá. CV = Hệ số phân tán (%). Trong cùng hàng chữ cái trên khác nhau là khác nhau có ý nghĩa thống kê (p<0,05).

3.2. Kết quả sinh sản đợt 2

Kết quả phân tích thống kê sức sinh sản đợt 2 cho thấy chỉ có sai khác có ý nghĩa thống kê (p<0,05) giữa nghiệm thức cho ăn rươi so với nghiệm thức cho ăn Cá. Giữa các nghiệm thức khác và cả với nhóm đối chứng đều không sai khác thống kê (p>0,05) (Bảng 2).

Bảng 2. Kết quả sinh sản đợt 2

Thức ăn	TR	TT	TC	ĐC
Số Cà ra cái đưa vào nuôi vỗ (con)	35	35	35	35
Khối lượng trung bình Cà ra cái lúc đưa vào nuôi vỗ (g/con)	$79,9^{a} \pm 3,0$	$80,0^{a} \pm 3,1$	$80,4^{a} \pm 2,9$	$78,9^{a} \pm 3,2$
CV của khối lượng Cà ra cái lúc đưa vào nuôi vỗ (%)	3,8	3,9	3,6	4,1
Số Cà ra cái còn sống sau nuôi vỗ (con)	29	29	28	25
Tỷ lệ sống của Cà ra cái sau nuôi vỗ (%)	82,9	82,9	80,0	71,4
Khối lượng trung bình Cà ra mẹ thành thục (g/con)	$98,0^{a} \pm 3,2$	$96,8^{a} \pm 3,1$	$97,6^{a} \pm 2,8$	$97,8^{a} \pm 3,4$
CV của khối lượng Cà ra mẹ thành thục (%)	3,3	3,2	2,9	3,5
Số Cà ra mẹ đẻ trứng và ấp nở (con)	29	29	28	25
Tỷ lệ Cà ra mẹ tham gia sinh sản (%)	100	100	100	100
Sức sinh sản (số Zoea 1/Cà ra mẹ)	$288.483^{a} \pm 55.745$	$263.966^{ab} \pm 59.711$	$245.929^{b} \pm 53.632$	$278.040^{ab} \pm 66.094$
CV của sức sinh sản (%)	19,3	22,6	21,8	23,8

Ghi chú: TR: Thịt rươi; TT: Thịt tôm; TC: Thịt cá; ĐC: Đối chứng gồm 50% thịt tôm và 50% thịt cá. CV = Hệ số phân tán (%). Trong cùng hàng chữ cái trên khác nhau là khác nhau có ý nghĩa thống kê (P<0,05).

3.3. Kết quả sinh sản đợt 3

Kết quả phân tích thống kê sức sinh sản đợt 3 gần tương tự như kết quả đợt 1, đó là Cà ra mẹ được cho ăn thức ăn rươi có sức sinh sản cao hơn có ý nghĩa so với Cà ra mẹ trong nghiệm thức cho ăn tôm và nghiệm thức cho ăn cá (P<0,05); tuy nhiên không khác nhau có ý nghĩa so với nhóm đối chứng (P>0,05). Nghiệm thức cho ăn tôm, nghiệm thức cho ăn cá và nhóm đối chứng không khác nhau có ý nghĩa thống kê (P>0,05) (Bảng 3).

Bảng 3. Kết quả sinh sản đợt 3

Thức ăn	TR	TT	TC	ĐC
Số Cà ra cái đưa vào nuôi vỗ (con)	35	35	35	35
Khối lượng trung bình Cà ra cái lúc đưa vào nuôi vỗ (g/con)	$90,0^{a} \pm 2,8$	$89,4^{a} \pm 2,8$	$90,1^{a} \pm 2,8$	$90,0^{a} \pm 2,8$
CV của khối lượng Cà ra cái lúc đưa	3,1	3,1	3,1	3,1

vào nuôi vỗ (%)				
Số Cà ra cái còn sống sau nuôi vỗ (con)	22	21	23	20
Tỷ lệ sống của Cà ra cái sau nuôi vỗ (%)	62,9	60,0	65,7	57,1
Khối lượng trung bình Cà ra mẹ thành thục (g/con)	$110,1^{a} \pm 3,0$	$109,5^{a} \pm 2,6$	$109,9^{a} \pm 2,9$	$110,5^{a} \pm 2,9$
CV của khối lượng Cà ra mẹ thành thục (%)	2,7	2,3	2,6	2,6
Số Cà ra mẹ đẻ trứng và ấp nở (con)	22	21	23	20
Tỷ lệ Cà ra mẹ tham gia sinh sản (%)	100	100	100	100
Sức sinh sản (số Zoea 1/Cà ra mẹ)	$356.273^{a} \pm 48.718$	$315.571^{b} \pm 45.682$	$301.087^{b} \pm 43.202$	$325.900^{ab} \pm 53.623$
CV của sức sinh sản (%)	13,7	14,5	14,3	16,5

Ghi chú: TR: Thịt rươi; TT: Thịt tôm; TC: Thịt cá; ĐC: Đối chứng gồm 50% thịt tôm và 50% thịt cá. CV = Hệ số phân tán (%). Trong cùng hàng chữ cái trên khác nhau là khác nhau có ý nghĩa thống kê (p<0,05).

3.4. Kết quả chuyển giai đoạn từ Zoea 1 sang Zoea 2

Tỷ lệ ấu trùng chuyển giai đoạn từ Zoea 1 sang Zoea 2 được trình bày ở bảng 4. Nhìn chung, tỷ lệ chuyển giai đoạn cao nhất ở nghiệm thức nuôi vỗ bằng rươi (trung bình 76,7%) và thấp nhất ở nghiệm thức nuôi vỗ bằng cá (trung bình 62,9%). Phân tích thống kê cho thấy, tỷ lệ chuyển giai đoạn của nghiệm thức nuôi vỗ bằng rươi khác nhau có ý nghĩa thống kê (P<0,05) so với hai nghiệm thức còn lại và thức ăn đối chứng. Thức ăn đối chứng khác nhau có ý nghĩa thống kê (P<0,05) với nghiệm thức nuôi vỗ bằng cá và không khác nhau (P>0,05) với nghiệm thức nuôi vỗ bằng tôm. Nghiệm thức nuôi vỗ bằng tôm và nghiệm thức nuôi vỗ bằng cá không khác nhau có ý nghĩa thống kê về tỷ lệ chuyển giai đoạn từ Zoea 1 sang Zoea 2 (Bảng 4).

Bảng 4. Tỷ lệ (%) chuyển giai đoạn từ Zoea 1 sang Zoea 2

Thức ăn	TR	TT	TC	ĐC
Nhỏ nhất	71,2	58,5	59,0	57,6
Lớn nhất	81,9	74,5	67,5	73,1
Trung bình ± SD	$76,7^{a} \pm 3,9$	$66,1^{bc} \pm 4,8$	$62,9^{c} \pm 2,3$	$68,3^{b} \pm 4,1$
CV%	5,0	7,2	3,7	6,1
P-values				

	TT	TC	ĐC
TR	0,0000051525	0,0000000013	0,0000315933
TT		0,0511572783	0,2378161621
TC			0,0006239545

3.5. Tổng hợp kết quả của 3 đợt nuôi vỗ

Khối lượng trung bình Cà ra cái lúc đưa vào nuôi vỗ tương đương nhau giữa các nghiệm thức: Đợt 1 (85,2 - 85,8 g/con); đợt 2 (78,9 - 80,4 g/con); đợt 3 (89,4 - 90,1 g/con). Hệ số phân tán về khối lượng Cà ra cái lúc đưa vào nuôi vỗ rất thấp 1,5 - 4,1% (Bảng 1, 2, 3) cho thấy sự đồng đều của Cà ra cái đưa vào nuôi vỗ ở mỗi đợt. Khối lượng trung bình Cà ra mẹ thành thục cũng không có sự dao động lớn giữa các nghiệm thức nuôi vỗ: Đợt 1 (102,7 - 103,4 g/con); đợt 2 (96,8 - 98,0 g/con); đợt 3 (109,5 - 110,5 g/con) (Bảng 1, 2, 3).

Tương quan giữa sức sinh sản và khối lượng Cà ra mẹ tính được là r = 0,698 đây là tương quan ở mức trung bình, vậy nên có thể nói sức sinh sản của Cà ra mẹ không phụ thuộc quá nhiều vào khối lượng Cà ra mẹ. Sức sinh sản, tính theo giá trị trung bình, dao động trong khoảng từ 245.929 - 356.273 ấu trùng Zoea 1/Cà ra mẹ và có sự biến

động lớn với hệ số phân tán ở mức cao từ 13,7% cho đến 23,8% (Bảng 1, 2, 3). Trong cả 3 đợt thí nghiệm, thức ăn rươi luôn cho sức sinh sản của Cà ra mẹ cao hơn so với hai nghiệm thức còn lại. Phân tích thống kê cũng cho thấy, sự khác biệt có ý nghĩa (P<0,05). So với nhóm đối chứng, nghiệm thức rươi cho sức sinh sản trung bình cao hơn, tuy nhiên sai khác không có ý nghĩa thống kê (P>0,05) (Bảng 1, 2, 3).

Tỷ lệ sống của Cà ra cái sau quá trình nuôi vỗ thấp nhất là 57,1% ở nhóm Cà ra cho ăn thức ăn đối chứng trong đợt 3 và cao nhất 82,9% ở nghiệm thức cho ăn rươi và nghiệm thức cho ăn tôm trong đợt 2. Những Cà ra cái còn sống sau thời gian nuôi vỗ đều giao phối, đẻ trứng và ấp nở ra ấu trùng, đạt tỷ lệ tham gia sinh sản 100% ở tất cả các nghiệm thức thức ăn, đối chứng và ở cả 3 đợt thí nghiệm.

4. THẢO LUẬN

Dinh dưỡng có vai trò rất quan trọng trong quá trình sinh sản, chất lượng trứng và chất lượng ấu trùng của giáp xác mười chân [12]. Động vật lấy dinh dưỡng chủ yếu từ thức ăn, có nhiều thành phần dinh dưỡng động vật không thể tự tổng hợp được mà phải hấp thu trực tiếp từ thức ăn ăn vào. Với Cà ra cũng vậy, tìm hiểu về nhu cầu dinh dưỡng của Cà ra bố mẹ sẽ giúp cải thiện hiệu quả sinh sản và chất lượng ấu trùng [7], [8], tạo tiền đề cho sinh sản nhân tạo giống Cà ra.

Thành phần dinh dưỡng chính của các loại thức ăn (cá, tôm, rươi, ngô) dùng trong nghiên cứu này được kế thừa từ các nghiên cứu trước đây. Thịt cá rô phi: protein 19,7%, lipid 2,3%, tro 1,2%, năng lượng 100 Kcal/100 g thịt cá; thịt tôm biển: protein 17,6%, lipid 0,9%, carbohydrate 0,9%, tro 1,4%, năng lượng 82 Kcal/100 g thịt tôm; thịt rươi (*Tylorrhynchus heterochaetus*): protein 12,4%, lipid 4,4%, tro 1,3%, năng lượng 89 Kcal/100 g thịt rươi; ngô hạt: protein 8,6%, lipid 4,7%, carbohydrate 69,4%, xơ 2,0%, tro 1,3% [10]; trong nghiên cứu của Hạnh và cs (2022) [9] cũng đã xác định thành phần dinh dưỡng của rươi (*T. heterochaetus*): protein 12,57 - 13,19%, lipid 3,53 - 3,63%. Trong 3 loại thức ăn thí nghiệm cá, tôm, rươi thì rươi (*T. heterochaetus*) có hàm lượng lipid cao nhất, điều này đồng thuận với kết quả sinh sản và chất lượng ấu trùng của Cà ra mẹ ăn rươi tốt hơn so với hai loại thức ăn còn lại.

Ở Trung Quốc, trong các trại sản xuất giống Cà ra, nguồn thức ăn tươi phổ biến cho nuôi vỗ là trùng trục (*Sinonovacula constricta*), trùn cát (*Hediste japonica*) và cá tạp (*Chaeturichthys jeoni*), đều là những thức ăn sẵn có ở Trung Quốc [7], [8], [13]. Như vậy, quan điểm lựa chọn nguồn thức ăn tươi nuôi vỗ Cà ra bố mẹ ở Trung Quốc tương tự như trong nghiên cứu này. Tuy nhiên, Trung Quốc, với gần nửa thế kỷ hình thành và phát triển nghề nuôi Cà ra, đã tiến xa hơn trong nghiên cứu thức ăn nuôi vỗ, hướng tới sản xuất thức ăn công nghiệp chuyên cho nuôi vỗ Cà ra.

Một số nghiên cứu đã cho thấy trong các thành phần dinh dưỡng của thức ăn, lipid đóng vai trò rất quan trọng đến hiệu suất sinh sản của Cà ra mẹ và chất lượng ấu trùng [14], [15]. Do đó, nhiều nghiên cứu về thức ăn nuôi vỗ Cà ra đã tập trung vào các thành phần lipid như phospholipids, HUFA và các axit béo [7, 8, 13, 14, 15, 16].

So sánh giá trị dinh dưỡng của thức ăn phối trộn theo công thức với thức ăn tươi sống trùng trục (*S. constricta*) đến hiệu suất sinh sản của Cà ra mẹ và chất lượng ấu trùng đã được thực hiện trên Cà ra cái nuôi ao. Thức ăn trùng trục có hàm lượng protein, phospholipids và amino acids cao hơn, còn thức ăn công thức chứa hàm lượng tro, tổng lipid và các axit béo 18: 1n-9, 18: 2n-6 và 22: 6n-3 cao hơn [13]. Sau thời gian nuôi vỗ, hai nhóm Cà ra cái đều cho hiệu suất sinh sản tương đương nhau, song ấu trùng mới nở Zoea 1 của Cà ra mẹ ăn thức ăn công thức có chiều dài mai trung bình lớn hơn và thời gian chuyển sang Zoea 2 ngắn hơn đáng kể trong điều kiện nuôi như nhau. Ngoài ra, axit béo trong thức ăn có ảnh hưởng đáng kể hơn đến thành phần axit béo trong gan tụy so với ảnh hưởng đến buồng trứng thành thục và trứng. Điều này cho thấy thành phần axit béo của buồng trứng thành thục là biểu hiện của loại axit béo cụ thể cần thiết cho sự phát triển buồng trứng ở Cà ra. Kết quả nghiên cứu cho thấy, thức ăn phối trộn theo công thức được xây dựng trong phòng thí nghiệm có thể thay thế hoàn toàn thức ăn tươi sống trùng trục [13].

Nguồn thức ăn chứa lipid cũng có ảnh hưởng khác nhau. Cà ra mẹ được cho ăn thức ăn chứa mỡ lợn có sức sinh sản kém và tỷ lệ trứng nở thấp. Cà ra mẹ ăn thức ăn chứa dầu đậu nành có sức sinh sản được cải thiện; tuy nhiên, không có sự cải thiện về tỷ lệ trứng nở. Cà ra mẹ ăn thức ăn chứa dầu cá cơm cho sức sinh sản và tỷ lệ trứng nở cao nhất. Mỗi loại n-3 HUFA có những vai trò cụ thể và khác nhau trong quá trình sinh sản của Cà ra và cần được cung cấp đầy đủ trong thức ăn nuôi vỗ Cà ra [14, 15].

Việc huy động lipid đến buồng trứng đang phát triển phụ thuộc nhiều vào lượng lipid hấp thụ từ thức ăn hơn là lipid đã được lưu trữ ở tuyến gan tụy [12]. Do đó, bổ sung hàm lượng lipid hợp lý vào thức ăn nuôi vỗ Cà ra là điều cần thiết. Hàm lượng phospholipids (PL) trong thức ăn có ảnh hưởng tích cực đến hiệu suất sinh sản của Cà ra mẹ. Cà ra cái ăn thức ăn 2,4% PL có hệ số thành thục (GSI) cao hơn đáng kể so với Cà ra cái ăn thức ăn 0% PL [7].

Trái ngược với những kết quả nghiên cứu trên đây, trong nghiên cứu về ảnh hưởng của hàm lượng HUFA khác nhau trong thức ăn bán tinh đến hiệu suất sinh sản của Cà ra cái nuôi ao cho kết quả tương đương giữa các nghiệm thức [16]. Nhóm tác giả đã giải thích cho kết quả trái ngược này như sau: Thứ nhất, tuyến gan tụy của Cà ra có từ khi bắt đầu thí nghiệm là tương đối lớn đủ để duy trì sự phát triển bình thường của buồng trứng và sinh sản thành công. Thứ hai, trong tự nhiên, giao phối xảy ra trong nước lợ vào cuối mùa thu, Cà ra cái mang trứng qua mùa đông cho đến khi trứng nở. Trong nghiên cứu này giao phối xảy ra vào tháng 3, đầu mùa xuân. Cà ra cái được nuôi ở nước ngọt khoảng 7 tháng và chỉ ở nước lợ ít hơn 1 tháng. Môi trường nước ngọt cùng với hành vi di cư sinh sản của Cà ra đã dẫn đến nhu cầu HUFA cho hoạt động sinh sản của chúng ít hơn [16]. Như vậy, bên cạnh nguồn thức ăn phù hợp, Cà ra cũng cần có đủ thời gian sống trong môi trường nước lợ để thành thục, giao phối, đẻ trứng và ấp nở thành công.

Tỷ lệ tham gia sinh sản của Cà ra mẹ trong 3 đợt thí nghiệm trong nghiên cứu này đều 100%, cao hơn so với các nghiên cứu khác. Với Cà ra mẹ ăn thức ăn có hàm lượng phospholipids 3,6% và 2,4% có tỷ lệ tham gia sinh sản tương ứng 95% và 92%; Cà ra mẹ ăn thức ăn có 1,2% và 0% phospholipids là 81% [7]. Cà ra mẹ ăn thức ăn công thức hoặc thức ăn trùng trục là 89,68% và 90,55% [13]. Cà ra mẹ ăn các loại thức ăn có hàm lượng HUFA khác nhau có tỷ lệ tham gia sinh sản dao động từ 80 - 87% [16].

Sức sinh sản của Cà ra mẹ trong nghiên cứu này tương đương với một số nghiên cứu khác. Trong nghiên cứu này sức sinh sản của Cà ra mẹ là số ấu trùng Zoea 1/Cà ra mẹ, dao động từ 245.929 - 356.273. Trong một số nghiên cứu khác, sức sinh sản là số trứng trên 1 g Cà ra mẹ hay tổng số trứng/Cà ra mẹ. Thông số này, kết hợp với tỷ lệ trứng nở cũng sẽ cho ra số ấu trùng Zoea 1/Cà ra mẹ. Cà ra mẹ ăn thức ăn có hàm lượng phospholipids 0 - 3,6% cho 308.000 - 411.000 trứng/Cà ra mẹ, với tỷ lệ trứng nở từ 50 - 55% [7]. Cà ra mẹ ăn thức ăn phối chế theo công thức hoặc thức ăn trùng trục cho sản lượng trứng tương ứng 383.100 và 385.700 trứng/Cà ra mẹ, với tỷ lệ trứng nở tương ứng 93,19% và 96,17% [13].

Tỷ lệ chuyển giai đoạn từ Zoea 1 sang Zoea 2 trong nghiên cứu này (trung bình 62,9 - 76,7%) thấp hơn trong nghiên cứu về thức ăn công thức và thức ăn trùng trục (92,49 - 92,31%) [13].

Ảnh hưởng của lipid đến sinh sản của Cà ra là khá rõ. Đối với protein, nhu cầu của Cà ra bố mẹ vào khoảng 40% (theo khối lượng khô). Trong quá trình nuôi, không nên tăng hàm lượng protein trong thức ăn, vì điều này sẽ làm cho Cà ra thành thục sớm. Cà ra thành thục sớm sẽ chậm lớn, kích cỡ thương phẩm nhỏ và không có giá trị sinh sản. Do đó, ngăn ngừa và kiểm soát Cà ra thành thục sớm là việc làm cần thiết [17].

Nghiên cứu về thức ăn nuôi vỗ Cà ra ở đây mới là những bước đi khởi đầu làm cơ sở nghiên cứu về thức ăn nuôi vỗ Cà ra và hướng tới sản xuất thức ăn công nghiệp dành cho nuôi vỗ Cà ra.

5. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ XUẤT

5.1. Kết luận

Thức ăn rươi tươi sống có bổ sung hạt ngô nấu chín là thức ăn nuôi vỗ Cà ra cái cho sức sinh sản và chất lượng ấu trùng tốt hơn hai thức ăn còn lại.

5.2. Đề xuất

Tiếp tục nghiên cứu về thức ăn nuôi vỗ Cà ra và hướng tới sản xuất thức ăn công nghiệp chuyên cho nuôi vỗ Cà ra, góp phần chủ động sản xuất giống nhân tạo và nuôi thương phẩm Cà ra ở nước ta.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Panning, A. (1938). The Chinese mitten crab. *Annual Report Smithsonian Institution*, 361 - 375.

2. Jin, Wen Chen (2016). *Tiêu chuẩn kỹ thuật nuôi cà ra khoẻ mạnh* (tài liệu dịch). Nxb Khoa học Công nghệ.

3. Anger, K. (1991). Effects of temperature and salinity on the larval development of the Chinese mitten crab *Eriocheir sinensis* (Decapoda: Grapsidae). *Marine Ecology Progress Series,* 72, 103 - 110.

4. Jin, Gang, Zhongjie Li, Ping Xie (2001). The growth patterns of juvenile and precocious Chinese mitten crabs, *Eriocheir sinensis* (Decapoda, Grapsidae), stocked in freshwater Lakes of China. *Crustaceana,* 74, 261 - 273.

5. Wang, Hong-Zhu, Hai-Jun Wang, Xiao-Min Liang, Yong-De Cui (2006). Stocking models of Chinese mitten crab (*Eriocheir japonica sinensis*) in Yangtze Lakes. *Aquaculture,* 255, 456 - 465.

6. Cheng, Yongxu, Xugan Wu, Xiaozhen Yang, Anson H. Hines (2008). Current trends in hatchery techniques and stock enhancement for Chinese mitten crab *Eriocheir japonica sinensis*. *Reviews in Fisheries Science,* 16, 377 - 384.

7. Sui, Li Ying, X. G. Wu, Mathieu Wille, Y. X. Cheng, Patrick Sorgeloos (2009). Effect of dietary soybean lecithin on reproductive performance of Chinese mitten crab *Eriocheir sinensis* (H. Milne-Edwards) broodstock. *Aquaculture International,* 17, 45 - 56.

8. Wu, Xugan, Yongxu Cheng, Liying Sui, Chaoshu Zeng, Paul C. Southgate, Xiaozhen Yang (2007). Effect of dietary supplementation of phospholipids and highly unsaturated fatty acids on reproductive performance and offspring quality of Chinese mitten crab, *Eriocheir sinensis* (H. Milne-Edwards), female broodstock. *Aquaculture,* 273, 602 - 613.

9. Cao Văn Hạnh, Phạm Đăng Tuấn, Phạm Văn Thức, Nguyễn Thị Tho, Lê Minh Toán, Phạm Văn Hoàng, Vũ Văn Lưỡng (2022). Báo cáo tổng kết dự án: Hoàn thiện quy trình công nghệ sản xuất giống và nuôi thương phẩm rươi (*Tylorrhynchus heterochaetus*) quy mô hàng hóa. Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản I.

10. Nguyễn Công Khẩn, Nguyễn Thị Lâm, Hà Thị Anh Đào, Lê Hồng Dũng, Lê Bạch Mai, Nguyễn Văn Sĩ (2007). *Bảng thành phần thực phẩm Việt Nam*. Nxb Y học. Bộ Y tế, Viện Dinh dưỡng Quốc gia.

11. Gomez, Kwanchai A., Arturo A. Gomez (1984). Statistical procedures for agricultural research (Second ed.). United States of America: John Wiley & Sons.

12. Harrison, Kim E. (1990). The role of nutrition in maturation, reproduction and embryonic development of decapod crustaceans: A review. *Journal of shellfish research,* 9, 1 - 28.

13. XuganWu, Yongxu Cheng, Chaoshu Zeng, Liying Sui, Paul C Southgate, Gang Zhou, Wenji Bian. (2009). Reproductive performance and offspring quality of Chinese mitten crab *Eriocheir sinensis* (H. Milne-Edwards) females fed an optimized formulated diet and the razor clam *Sinonovacula constricta*. *Aquaculture Research,* 40, 1335 - 1349.

14. Wen, Xiao Bo, Li Qiao Chen, Zhong Liang Zhou, Chun Xiang Ai, Glenn Y Deng. (2002). Reproductive response of the Chinese mitten-handed crab (*Eriocheir sinensis*) fed different sources of dietary lipid. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology,* 131, 675 - 681.

15. Wen, X, L Chen, C Ai, Z Zhou, H Jiang (2001). Variation in lipid composition of Chinese mitten-handed crab, *Eriocheir sinensis* during ovarian maturation. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology,* 130, 95 - 104.

16. Sui, L. Y., H. X. Sun, X. G. Wu, M. Wille, Y. X. Cheng, P. Sorgeloos. (2011). Effect of dietary HUFA on tissue fatty acid composition and reproductive performance of Chinese mitten crab *Eriocheir sinensis* (H. Milne-Edwards) broodstock. *Aquaculture International,* 19, 269 - 282.

17. Li, X., Z. Li, J. Liu, Sena S. De Silva. (2011). Advances in precocity research of the Chinese mitten crab *Eriocheir sinensis*. *Aquaculture International,* 19, 251 - 267.

EFFECTS OF MATURATION DIETS ON FECUNDITY OF MITTEN CRAB (*Eriocheir sinensis* H. Milne Edwards, 1853) FEMALE BROODSTOCK AND LARVAL QUALITY

Tran The Muu[1], Nguyen Trung Thanh[1], Phan Minh Quy[1]

[1]Research Institute for Aquaculture No.1

Summary

Wild adult mitten crabs (*Eriocheir sinensis* H. Milne Edwards, 1853), naturally collected from the lower area of Lach Tray river, were maturation reared with three different types of fresh feeds: Ragworm, Shrimp, Fish and control feed 50% Shrimp and 50% Fish. All experimental treatments and control feed were supplemented with starch, that was cooked corn. During the period from October 2020 to January 2023, three batches of maturation rearing were carried out. The period, from the start of rearing to the time when female mitten crabs spawning, lasts about 85 - 116 days. The reproductive results in three batches showed that the fecundity of the female mitten crab fed Ragworm (288.483 - 356.273 Zoea 1/female broodstock) was all superior to that of the other two treatments ($P<0.05$); compared with the control group (278.040 - 325.900 Zoea 1/female broodstock) the mean values were higher, but there was no statistically significant difference ($P>0.05$). The rate of metamorphosis from Zoea 1 to Zoea 2 in the female mitten crabs fed Ragworm were significantly higher than that of the other two treatments and the control group. In general, fresh Ragworm supplemented with cooked corn is a maturation feed that gave female mitten crabs better fecundity and larval quality than the other two fresh feeds.

Keywords: *Mitten crab, fecundity, diet, Zoea 1.*

Người phản biện: GS.TS. Trần Thị Thanh Hiền

Ngày nhận bài: 14/7/2023

Ngày thông qua phản biện: 15/8/2023

Ngày duyệt đăng: 29/9/2023

ẢNH HƯỞNG CỦA TỈ LỆ BỔ SUNG DẦU VỪNG ĐẾN TĂNG TRƯỞNG, CHỈ TIÊU MÁU VÀ CHẤT LƯỢNG LÝ HÓA TRONG CƠ THỊT CỦA CÁ RÔ PHI VẰN

Nguyễn Thị Mai[1,*], Nguyễn Hải Vân[2]

TÓM TẮT

Mục đích của thí nghiệm này là đánh giá ảnh hưởng của việc bổ sung dầu vừng trong thức ăn đến tăng trưởng, sử dụng thức ăn, huyết học và đặc tính hóa lý của thịt ở cá rô phi vằn. Thức ăn cơ bản được bổ sung dầu vừng với các tỷ lệ 0, 15, 30 và 45 g/kg (JS0, JS15, JS30 và JS45). Cá được cho ăn thức ăn thí nghiệm trong 8 tuần. Kết thúc thí nghiệm nuôi, mẫu máu được thu thập để phân tích huyết học, mẫu cơ được sử dụng để đo các chỉ tiêu hóa lý; số lượng cá và thức ăn cũng được ghi lại để tính tỷ lệ sống và khả năng sử dụng thức ăn. Kết quả cho thấy, lô JS15 và JS45 tăng trưởng cao nhất. Khả năng sử dụng thức ăn và tỷ lệ sống của cá không ảnh hưởng bởi thức ăn thí nghiệm. Năng suất filet cao nhất ở JS45. Số lượng bạch cầu lympho và đơn nhân ở JS30 thấp hơn so với nhóm đối chứng, nhưng bạch cầu trung tính lại cao hơn. Cholesterol trong máu cá cao nhất được tìm thấy ở JS45. Các quan sát tương tự cũng được trình bày trong lực cắt thịt cá và giá trị pH. Kết quả nghiên cứu cho thấy, JS15 mang lại hiệu quả tích cực nhất đối với tăng trưởng và sức khỏe của cá trong khi JS45 tác động tốt tới các đặc tính thịt của cá.

Từ khóa: *Chỉ tiêu máu, dầu vừng, lực cắt thịt, năng suất filet.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cá rô phi vằn (*Oreochromis niloticus*) là đối tượng cá nước ngọt quan trọng cung cấp một sản lượng lớn cho tiêu dùng toàn cầu. Nghiên cứu của Larbi và cs (2018) cho thấy, cá rô phi có thể sử dụng tốt thức ăn có chứa các loại dầu thực vật thay thế dầu cá [1] mà không có bất kì ảnh hưởng tiêu cực nào đến tăng trưởng, khả năng sử dụng thức ăn và miễn dịch ở cá. Trong nuôi trồng thủy sản, việc tìm ra các công thức thức ăn phù hợp với nhu cầu dinh dưỡng của cá với giá thành thấp góp phần tăng lợi nhuận cho người nuôi. Xu hướng dinh dưỡng thủy sản hiện này là tăng hàm lượng lipid để cung cấp đầy đủ nhu cầu năng lượng cho cá trong khi protein không đổi. Tỉ lệ lipid trong thức ăn của cá hồi vân lên tới hơn 20%, cá chép từ 8 - 10% [2]. Hầu hết các nghiên cứu chỉ ra rằng việc tăng lipid trong thức ăn thủy sản đều làm cải thiện tăng trưởng của cá, nhưng việc tăng quá nhiều sẽ có những ảnh hưởng tiêu cực đến sức khỏe và chất lượng thịt cá [3]. Dầu thực vật được xem là một đối tượng phù hợp thay thế cho dầu cá với ưu điểm là nguồn cung dồi dào và giá thành thấp. Trong đó, dầu vừng là loại chất béo rất lý tưởng do có chứa nhiều axit béo không no quan trọng bao gồm oleic (36 - 41,5% tổng số axit béo), linoleic (LA, 40,9 - 42,6% tổng số axit béo). Đối với cá rô phi, nhu cầu đối với nhóm ω6 là 0,5 - 1%. Axit béo linoleic thuộc nhóm ω6, là tiền tố để tổng hợp nên axit béo ARA nhờ quá trình khử hóa và làm dài mạch carbone. ARA được báo cáo có những ảnh hưởng tích cực đến độ rắn chắc của cơ thịt [4] và miễn dịch của cá [5]. Nghiên cứu của Nakharuthai và cs (2020) đã chứng minh cá rô phi ăn dầu vừng không bị giảm tăng trưởng và sức đề kháng [6]. Tuy nhiên, rất ít dữ liệu công bố về ảnh hưởng của dầu vừng trong thức ăn đến sinh lý máu và đặc điểm lý hóa trong cơ thịt cá rô phi. Do vậy, nghiên cứu này được thực hiện nhằm đánh giá các tác động của dầu vừng bổ sung trong thức ăn đến tăng trưởng, năng suất filet và chất lượng lý hóa trong cơ thịt của cá rô phi vằn.

[1] Bộ môn Dinh dưỡng và thức ăn Thủy sản, Khoa Thủy sản, Học viện Nông nghiệp Việt Nam
[2] Đại học Bách Khoa Hà Nội
[*]Email: ntmai.ntts@vnua.edu.vn.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Thức ăn thí nghiệm

Công thức thức ăn được xây dựng dựa trên nhu cầu dinh dưỡng của cá rô phi cỡ từ 20 g theo NRC (2011) [7]. Nguyên liệu đảm bảo chất lượng được trộn đều và bổ sung dầu vừng với tỉ lệ 0, 15, 30, 45 g/kg thức ăn tương ứng với các nghiệm thức đặt tên JS0, JS15, JS30 và JS45. Tỉ lệ này dựa trên nghiên cứu của Godoy và cs (2019) trên cá rô phi khi bổ sung dầu đậu tương trong thức ăn [8]. Thức ăn sau khi ép viên được kiểm tra chất lượng, đóng bao, bảo quản trong kho lạnh và dùng cho thí nghiệm nuôi, viên thức ăn có đặc tính là viên chìm. Thành phần các nguyên liệu và tỉ lệ tương ứng được trình bày ở bảng 1.

Bảng 1. Thành phần công thức thức ăn thí nghiệm

Thành phần nguyên liệu (g/kg)	Công thức thức ăn			
	JS0	JS15	JS30	JS45
Bột cá	110,0	110,0	110,0	110,0
Bột thịt xương	110,0	110,0	110,0	110,0
Bột sắn biến tính	100,0	100,0	100,0	100,0
Gluten mỳ	60,0	60,0	60,0	60,0
Ngô	99,3	99,3	99,3	99,3
Gelatin	59,0	59,0	59,0	59,0
Cám gạo trích ly	160,0	160,0	160,0	160,0
Khô đậu nành	288,0	288,0	288,0	288,0
Dầu vừng	*0,0*	*15,0*	*30,0*	*45,0*
Premix	10,0	10,0	10,0	10,0
D-L-Methionine	2,5	2,5	2,5	2,5
Lysine	1,2	1,2	1,2	1,2
Tổng	1.000	1.000	1.000	1.000
Protein thô (%)	36,5	35,6	36,2	35,4
Lipid (%)	5,9	6,6	8,0	9,2
Vật chất khô (%)	92,4	93,7	93,3	93,6
Xơ	4,4	4,4	4,4	4,4
Thành phần axit béo				
Oleic (18:1n-9), %	1,81	2,23	2,65	3,08
Linoleic (18:2n-6), %	0,16	0,16	0,17	0,17
Linolenic (18:3n-3), %	1,72	2,14	2,56	2,99
ARA (20:40-6), %	0,09	0,09	0,09	0,09
EPA (20:5n-3), %	0,05	0,05	0,05	0,05
DHA (22:6n-3), %	0,05	0,05	0,05	0,05

Ghi chú: JS0, JS15, JS30, JS45: thức ăn thí nghiệm bổ sung dầu vừng ở mức 0, 15, 30 và 45 g/kg.

2.2. Cá thí nghiệm

Cá rô phi vằn (*Oreochromis niloticus*) giống có khối lượng từ 15 - 30 g được nhập về từ trại cá Vàng Dung Quất (Thanh Miện, Hải Dương). Cá được nuôi thích nghi tại hệ thống thí nghiệm ướt của Khoa Thủy sản, Học viện Nông nghiệp Việt Nam trong vòng 14 ngày. Trong thời gian nuôi thích nghi, cá được cho ăn thức ăn công nghiệp dạng viên (Agrifeed, protein 35%). Các cá thể khỏe mạnh và không có dấu hiệu bệnh lý được lựa chọn để thực hiện thí nghiệm.

2.3. Thí nghiệm nuôi

Cá rô phi có khối lượng trung bình 27,8 ± 0,5 g/con được chia đều về các bể kính có thể tích thực 100 L với mật độ 25 con/bể. Hệ thống nuôi được sục khí liên tục. Cá được cho ăn thức ăn thí

nghiệm (JS0, JS15, JS30, JS45) tới no 2 lần/ngày trong vòng 8 tuần. Lượng thức ăn được ghi chép hàng ngày. Các thông số môi trường như nhiệt độ (27 - 30°C), pH (7-7,5), oxi hòa tan (6 - 6,5 mg/L), NO_2 (<0,05 mg/L), NH_3/NH_4^+ (<0,05 mg/L) được duy trì ổn định trong suốt thời gian thí nghiệm. Hệ thống bể được xiphong hàng ngày và thay mới khoảng 20% thể tích nước trong bể.

2.4. Thu và phân tích mẫu

Cuối thí nghiệm, số cá còn lại trong mỗi bể nuôi được xác định để tính toán tỉ lệ sống của cá. Đồng thời, mẫu máu của cá cũng được thu để phân tích các chỉ tiêu tế bào và sinh hóa của máu. Thịt cơ lưng của cá được thu để xác định tỉ lệ filet của cá. Các chỉ tiêu nội tạng cũng được tính toán.

Chỉ tiêu tế bào máu như bạch cầu tổng số, hồng cầu tổng số (WBC), bạch cầu lympho (LYM), bạch cầu monoxit (MID), bạch cầu trung tính (GRAN) và hematocrit được phân tích với mô hình phân tích huyết học của động vật trên máyURIT-3000VET Plus theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

Phương pháp phân tích các chỉ tiêu sinh hóa máu: Glucose, cholesterol, triglycerid, protein được định lượng theo hướng dẫn của nhà sản xuất Biosystems. Theo đó, hỗn hợp phản ứng gồm 1.000 µl chất phản ứng cung cấp bởi kit của nhà sản xuất, 10 µl (đối với chỉ tiêu cholesterol, glucose và triglyceride) hoặc 20 µl huyết thanh hoặc chất chuẩn được ủ ở 37°C trong 5 phút, đo quang ở bước sóng 500 nm. Nồng độ các chất trong mẫu thử được tính theo công thức:

$C_{mẫu} = (A_{mẫu})/(A_{chuẩn}) \times C_{chuẩn}$.

Trong đó: C là nồng độ; A là giá trị OD đo được. Các mẫu của mỗi bể được coi là số lần lặp lại.

Phương pháp phân tích các chỉ tiêu lí hóa của thịt cá

Độ dai (*shear force*) (g): Sử dụng máy đo phân tích cấu trúc thực phẩm TA-XT plus (Mỹ). Lực cắt được xác định trên mẫu cơ thịt cá thu tại thời điểm giết mổ tại thời điểm 24 giờ sau khi bảo quản ở nhiệt độ 2 - 4°C. Từ phần khoanh cốt lết, các mẫu cá được cắt thành các miếng có kích thước 3 cm x 2 cm x 1,5 cm (dài x rộng x cao). Sau đó mẫu được đưa vào máy sử dụng bộ đầu đo Warner Brazler, sao cho lưỡi cắt được đặt thẳng đứng theo hướng của các thớ thịt. Các mẫu của mỗi bể được coi là số lần lặp lại.

Giá trị pH của mẫu cơ thịt cá: Phép đo được thực hiện theo tiêu chuẩn TCVN 4835: 2002 [9]. Mẫu filet thịt cá được bảo quản ở 4°C và đo ở thời điểm 24 giờ sau giết mổ. Các mẫu của mỗi bể được coi là số lần lặp lại.

Độ ẩm (%): Độ ẩm ban đầu của filet thịt cá được xác định bằng cách sấy mẫu ở 105°C bằng tia hồng ngoại (infrared rays) đến khối lượng không đổi bằng máy phân tích ẩm nhanh MA 35 Sartorius - Đức.

2.5. Xử lý số liệu

Các chỉ tiêu về sinh trưởng của cá được tính theo các công thức như sau:

Tốc độ tăng trưởng tuyệt đối (DWG, g/con/ngày) = (FBW - IBW)/T

Tốc độ tăng trưởng tương đối (SGR, %/con/ngày) = 100 × (Ln (FBW) - Ln (IBW))/T

Trong đó: FBW, IBW là khối lượng cá khi bắt đầu và kết thúc thí nghiệm, T là số ngày thí nghiệm

Hệ số chuyển hóa thức ăn (FCR) = Khối lượng thức ăn tiêu tốn/Khối lượng cá tăng trọng.

Tăng trọng (WG, %) = 100 x (Khối lượng cá cuối thí nghiệm – Khối lượng cá bắt đầu thí nghiệm)/Khối lượng bắt đầu thí nghiệm.

Tỉ lệ sống (%) = 100 × Số lượng cá cuối thí nghiệm/Số lượng cá bắt đầu thí nghiệm.

Tỉ lệ fillet (%) = 100 x khối lượng fillet/khối lượng thân cá.

Khối lượng ruột tương đối (GaSI, %) = 100 x Khối lượng ruột/khối lượng cá.

Khối lượng nội tạng tương đối (VSI, %) = 100 x Khối lượng nội tạng/khối lượng cá.

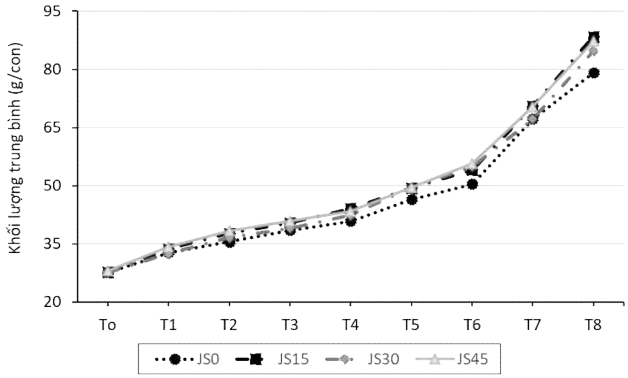
Khối lượng gan tương đối (HSI, %) = 100 x Khối lượng gan/khối lượng cá.

Số liệu được biểu diễn dưới dạng trung bình ± SD, được xử lý bằng phần mềm STATISTICA 10.0, sử dụng phương pháp phân tích ANOVA một nhân

tố và công cụ LSD để so sánh sự khác biệt giữa các nghiệm thức với mức p< 0,05. Trong đó, số lượng bể nuôi (n=3) được coi là số lần lặp lại khi phân tích các tham số tăng trưởng và sử dụng thức ăn; số lượng mẫu phân tích (n = 9) được coi là số lần lặp lại khi phân tích các chỉ tiêu còn lại.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Tăng trưởng và tỉ lệ sống của cá



Hình 1. Khối lượng trung bình của cá trong 8 tuần thí nghiệm

Ghi chú: JS0, JS15, JS30, JS45: Thức ăn thí nghiệm bổ sung dầu vừng ở mức 0, 15, 30 và 45 g/kg.

Khối lượng trung bình của cá được theo dõi sau mỗi tuần nuôi và kết quả được trình bày ở hình 1. Cuối thí nghiệm, tốc độ tăng trưởng tuyệt đối (DWG), tương đối (SGR) và tăng trưởng của cá (WG) được tính toán và trình bày ở bảng 2. Theo đó, khối lượng trung bình của cá khi bắt đầu thí nghiệm tương đồng nhau ở các lô thí nghiệm. Tuy nhiên, kết thúc thí nghiệm, khối lượng trung bình của cá bị ảnh hưởng bởi công thức thức ăn; trong đó, giá trị cao nhất thu được ở lô cá JS15 và JS45, thấp nhất ở lô cá JS0 (p<0,05). Không có sự sai khác thống kê giữa các lô cá sử dụng thức ăn có bổ sung dầu vừng hoặc giữa lô cá JS30 và đối chứng (p>0,05). Trong thời gian thí nghiệm, cá tăng trưởng mạnh nhất vào hai tuần nuôi cuối (T7 và T8) còn các tuần nuôi từ T1 - T6, khối lượng của cá tăng đều và thấp hơn. Trong toàn bộ thời gian nuôi, cá ở lô cá JS0 thể hiện giá trị khối lượng trung bình thấp hơn các lô cá sử dụng thức ăn bổ sung dầu vừng (Hình 1).

Tương tự như kết quả về khối lượng cuối thí nghiệm, tăng trưởng tuyệt đối cũng ảnh hưởng bởi tỉ lệ bổ sung dầu vừng và các giá trị cao nhất cũng thu được ở lô cá JS15 và JS45 (Bảng 2). Giá trị của tốc độ tăng trưởng tương đối có sự khác biệt rõ ràng giữa lô cá ăn thức ăn bổ sung dầu vừng (JS15, JS30, JS45) và lô JS0 (p<0,05). Tuy nhiên, không có sự khác biệt giữa các lô cá sử dụng thức ăn bổ sung dầu vừng (P>0,05). Cuối thí nghiệm nuôi, tỉ lệ sống của cá khá cao và không có sự ảnh hưởng bởi thức ăn thí nghiệm đến tỉ lệ sống của cá (p>0,05).

Bảng 2. Tăng trưởng và tỉ lệ sống của cá ăn thức ăn bổ sung dầu vừng sau 8 tuần nuôi

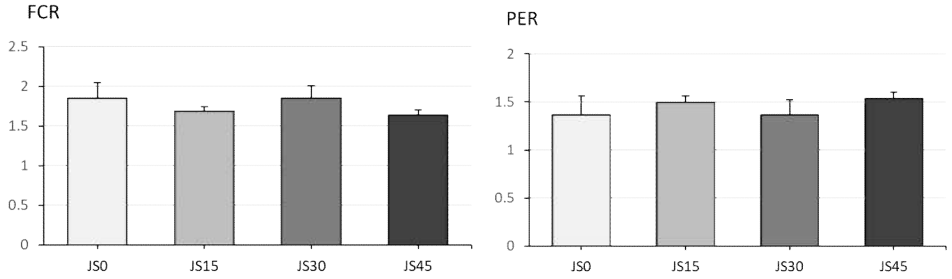
Chỉ tiêu nghiên cứu	Công thức thí nghiệm			
	JS0	JS15	JS30	JS45
IBW (g/con)	27,7±0,2^{a}	27,8±0,5^{a}	27,7±0,8^{a}	28,2±0,4^{a}
FBW (g/con)	79,1±2,7^{a}	88,4±3,3^{b}	84,8±4,6^{ab}	87,3±1,1^{b}
DWG (g/con/ngày)	0,9±0,1^{a}	1,1±0,1^{b}	1,0±0,1^{ab}	1,1±0,1^{b}
SGR (%/ngày)	1,9±0,1^{a}	2,1±0,1^{b}	2,0±0,1^{b}	2,0±0,0^{b}
WG (%)	186,0±11,8^{a}	218,0±12,5^{b}	206,5±12,6^{ab}	210,1±5,5^{b}
Tỉ lệ sống (%)	92,0±6,9^{a}	92,0±4,0^{a}	88,0±8,0^{a}	93,3±4,6^{a}

Ghi chú: JS0, JS15, JS30, JS45: Thức ăn thí nghiệm bổ sung dầu vừng ở mức 0, 15, 30 và 45 g/kg. IBW: Khối lượng bắt đầu thí nghiệm, FBW: Khối lượng kết thúc thí nghiệm, DWG: Tăng trưởng tuyệt đối, SGR: Tăng trưởng tương đối, WG: Tăng trọng của cá.

Trong các thành phần chính của công thức thức ăn thủy sản, do khả năng tiêu hóa tinh bột kém nên chất béo được xem là thành phần cung cấp năng lượng chính bên cạnh protein. Các nghiên cứu trước đây tiến hành trên cá rô phi đã chỉ ra rằng hàm lượng chất béo trong thức ăn có ảnh hưởng đến tốc độ tăng trưởng của cá [8], [10]. Trong nghiên cứu này, các công thức thức ăn chỉ khác nhau về tỉ lệ chất béo (bổ sung trong thức ăn với lượng 0, 15, 30 và 45 g/kg thức ăn) còn các thành phần khác như protein, tinh bột, premix khoáng và vitamin là tương đồng ở các nghiệm thức, do đó, khối lượng cá cuối thí nghiệm cũng như tốc độ tăng trưởng bị ảnh hưởng bởi tỉ lệ bổ sung dầu vừng trong thức ăn của cá. Cuối thí nghiệm, cá có khối lượng trung bình lớn nhất ở lô cá JS15 (88,4 ± 3,3 g/con) tương đương với khẩu phần ăn chứa 8,2% lipid, kết quả này tương đương với nghiên cứu của Abdel – Ghany và cs (2021) [10] khi bổ sung hỗn hợp dầu cá và dầu ngô trong thức ăn cho cá rô phi. Những giải thích tương tự cũng có thể áp dụng cho chỉ tiêu tăng trưởng tuyệt đối DWG. Với chỉ tiêu tăng trưởng tương đối tính trên 8 tuần nuôi, dầu vừng cải thiện đáng kể tốc độ tăng trưởng tương đối của cá so với JS0, tuy nhiên, không có sự thay đổi có ý nghĩa thống kê giữa các lô thí nghiệm sử dụng thức ăn bổ sung dầu vừng, điều đó có nghĩa là việc bổ sung dầu vừng ở các tỉ lệ 30 và 45 g/kg thức ăn cũng không có tác động vượt trội so với việc bổ sung ở tỉ lệ thấp hơn là 15 g/kg thức ăn. Theo tiêu chuẩn TCVN 10300: 2014 [11] và theo NRC (2011) [7], tỉ lệ lipid tối thiểu cần đạt trong thức ăn dành cho cá rô phi là 5 - 6%. Thức ăn JS0 có hàm lượng lipid là 6,7% đã thỏa mãn nhu cầu tối thiểu dành cho cá rô phi. Trong dinh dưỡng thủy sản, khả năng tiêu hóa protein để chuyển hóa thành năng lượng rất tốt ở cá, tuy nhiên, mỗi loài sẽ có một tỉ lệ protein tối ưu và dư thừa sẽ chuyển thành nguồn ô nhiễm trong phân thải [12]. Để tăng tốc độ tăng trưởng, các nhà nghiên cứu dinh dưỡng hướng tới việc tăng hàm lượng lipid trong thức ăn và giữ hàm lượng protein ở mức tối ưu [13]. Tuy nhiên, hàm lượng lipid tối ưu sẽ phụ thuộc từng loài cá. Hàm lượng lipid tối ưu dành cho cá rô phi dao động trong khoảng từ 5 - 12% [14] hoàn toàn phù hợp với mức lipid trong công thức thức ăn ở nghiên cứu này.

3.2. Ảnh hưởng của thức ăn bổ sung dầu vừng đến khả năng sử dụng thức ăn của cá

Các chỉ tiêu đánh giá hiệu quả sử dụng thức ăn bao gồm hệ số chuyển hóa thức ăn (FCR) và hiệu quả sử dụng protein (PER) được tính toán và trình bày trong hình 2. Giá trị FCR dao động từ 1,64 - 1,86 và không bị ảnh hưởng bởi tỉ lệ bổ sung dầu vừng. Tương tự, giá trị PER cũng không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức (từ 1,37 - 1,54).



Hình 2. Hệ số chuyển hóa thức ăn và hiệu quả sử dụng protein của cá rô phi sử dụng thức ăn bổ sung dầu vừng sau 8 tuần nuôi

Ghi chú: JS0, JS15, JS30, JS45: Thức ăn thí nghiệm bổ sung dầu vừng ở mức 0, 15, 30 và 45 g/kg. FCR: Hệ số chuyển hóa thức ăn, PER: Hệ số thu nhận protein.

Trong thức ăn thủy sản, bột cá và dầu cá được xem là một trong những chất dẫn dụ bổ sung trong thức ăn góp phần làm cải thiện khả năng bắt mồi và thu nhận thức ăn ở cá [15], [16]. Ở nghiên cứu này, nguồn lipid sử dụng là dầu vừng, một loại dầu thực vật, là nhóm chất béo được nhận định không làm tăng khả năng bắt mồi ở cá. Các nhóm thí nghiệm cùng tỉ lệ bột cá như nhau, do đó khả năng chuyển hóa thức ăn (FCR) và tỉ lệ thu nhận protein (PER) được ghi nhận không sai khác. Việc

bổ sung dầu vừng không làm cải thiện khả năng sử dụng thức ăn, kết quả này cũng tương đồng với những nghiên cứu của Godoy và cs (2019) [8] khi bổ sung dầu đậu tương trong thức ăn dành cho cá rô phi. Hệ số chuyển hóa thức ăn trong nghiên cứu này dao động từ 1,64 - 1,86 cũng phù hợp với nghiên cứu trước đó trên cá rô phi [10, 8].

3.3. Ảnh hưởng của thức ăn bổ sung dầu vừng đến các chỉ tiêu nội tạng và năng suất filet

Các chỉ tiêu nội tạng của cá bao gồm HSI, VSI, GaSI và chiều dài ruột tương đối trình bày trong bảng 3. Tỉ lệ bổ sung dầu vừng vào thức ăn của cá rô phi không ảnh hưởng đến chỉ tiêu HSI và chiều dài ruột tương đối (P>0,05), nhưng lại làm thay đổi các chỉ tiêu nội tạng khác bao gồm VSI và GaSI (P<0,05). Theo đó, khối lượng nội tạng tương đối (VSI) ở lô cá JS30 cao hơn các lô cá còn lại (P<0,05) và không có sự sai khác giữa các lô cá còn lại. Kết quả tương tự cũng quan sát được ở chỉ tiêu GaSI khi lô cá JS30 có giá trị cao nhất (P<0,05). Tuy nhiên, với chỉ tiêu GaSI, giá trị thấp nhất lại tìm thấy ở lô cá JS45.

Việc dư thừa chất béo trong thức ăn đôi khi dẫn đến những biến đổi tiêu cực đối với các chỉ tiêu nội tạng như tăng khối lượng gan, tăng khối lượng mỡ nội tạng và tiềm ẩn nhiều nguy cơ xấu đối với sức khỏe của động vật. Trong nghiên cứu này, kết quả về chỉ tiêu HSI không bị ảnh hưởng bởi lượng dầu vừng bổ sung trong thức ăn cho cá rô phi cho thấy tình trạng gan của cá duy trì ở mức bình thường. Kết quả này cũng tương đồng với nghiên cứu của Godoy và cs (2019) [8] trên cá rô phi vằn. Tuy nhiên, chỉ tiêu khối lượng nội tạng và khối lượng ruột tương đối ở lô cá JS30 lại cao hơn các nghiệm thức còn lại trong khi chiều dài ruột tương đối không sai khác giữa các nghiệm thức. Khi thu mẫu cá thí nghiệm, cá được nhịn ăn trước 24 giờ trước khi giải phẫu, điều này có thể do lượng mỡ nội tạng hoặc lượng thức ăn còn tồn tại chưa tiêu hóa hết trong ống tiêu hóa sau 24 giờ. Việc này đồng nghĩa với khả năng tiêu hóa thức ăn ở lô cá JS30 thấp hơn so với các lô cá khác. Chỉ tiêu VSI và GaSI ở lô cá JS30 cao dẫn đến tỉ lệ khối lượng cá bỏ ruột của lô cá JS30 thấp hơn so với các lô cá còn lại.

Bảng 3. Chỉ tiêu nội tạng và năng suất filet của cá rô phi sử dụng thức ăn bổ sung dầu vừng sau 8 tuần nuôi

Chỉ tiêu nghiên cứu	Công thức thí nghiệm			
	JS0	JS15	JS30	JS45
HSI (%)	1,8±0,4^{a}	1,8±0,4^{a}	2,1±0,7^{a}	2,0±0,4^{a}
VSI (%)	9,0±1,7^{a}	8,5±1,0^{a}	10,5±1,5^{b}	8,0±1,0^{a}
GaSI (%)	5,8±1,4^{bc}	5,2±0,8^{ab}	6,5±1,1^{c}	4,5±1,0^{a}
Chiều dài ruột tương đối (%)	498,3±196,8^{a}	486,1±80,0^{a}	465,5±168,3^{a}	480,7±84,5^{a}
Khối lượng bỏ ruột (%)	91,0±1,7^{b}	91,5±1,0^{b}	89,5±1,5^{a}	92,0±1,0^{b}
Năng suất filet (%)	25,6±3,7^{a}	29,5±5,4^{ab}	25,9±3,2^{ab}	30,4±2,6^{b}

Ghi chú: JS0, JS15, JS30, JS45: Thức ăn thí nghiệm bổ sung dầu vừng ở mức 0, 15, 30 và 45 g/kg. HSI: Khối lượng gan tương đối, VSI: Khối lượng nội tạng tương đối, GaSI: Khối lượng ruột tương đối.

Tỉ lệ filet là một chỉ tiêu đánh giá năng suất của cá khi mà sản phẩm cá rô phi xuất khẩu chủ yếu trên thị trường hiện nay là thịt cá filet. Tỉ lệ filet cao nhất lại được ghi nhận ở lô cá ăn thức ăn JS45 và cao hơn lô cá JS0. Điều này có thể do thành phần axit béo trong dầu vừng và khả năng chuyển hóa tổng hợp axit béo ở cá rô phi. Cá rô phi vằn là một đối tượng cá ăn tạp, chúng có khả năng chuyển hóa axit béo không no tiền tố trong dầu thực vật thuộc nhóm ω6 như LA thành axit béo ARA, có vai trò rất quan trọng trong tăng trưởng, miễn dịch và chất lượng cơ thịt của cá [17]. ARA là một axit béo cực kỳ quan trọng trong màng tế bào. Trong cơ, ARA đã được tìm thấy chiếm 15 - 17% tổng số axit béo [18]. Nghiên cứu của Markworth và cs (2018) về khả năng tăng cường tích lũy cơ và làm săn chắc cơ thịt ở người sử dụng chế độ ăn bổ sung axit này [4]. Điều này giải thích cho tỉ lệ filet cao nhất ở lô cá ăn thức ăn có tỉ lệ bổ sung dầu vừng cao nhất (JS45).

3.4. Chỉ tiêu máu của cá

3.4.1. Chỉ tiêu tế bào máu

Sau 8 tuần nuôi, các chỉ tiêu tế bào máu như bạch cầu tổng số, hồng cầu tổng số, bạch cầu lympho tổng số, bạch cầu monoxit tổng số và hematocrit không bị ảnh hưởng bởi thức ăn bổ sung dầu vừng (P>0,05). Sự sai khác có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức được tìm thấy ở các chỉ tiêu còn lại (P<0,05). Cụ thể, tỉ lệ bạch cầu lympho và bạch cầu monoxit cao nhất quan sát thấy được ở lô cá ăn thức ăn JS0, JS45 và cao hơn lô cá JS30 (Bảng 4). Ngược lại, chỉ tiêu tỉ lệ bạch cầu trung tính ở lô cá JS0 và JS45 lại thấp nhất và thấp hơn lô cá JS30 (P<0,05). Tương tự, số lượng bạch cầu trung tính cao nhất ghi nhận được ở lô cá JS30, cao hơn các lô cá ăn thức ăn thức ăn đối chứng JS0 và JS45 (P<0,05). Không có sự sai khác giữa lô cá JS15 và JS30 đối với chỉ tiêu này.

Bảng 4. Chỉ tiêu tế bào máu của cá sử dụng thức ăn bổ sung dầu vừng sau 8 tuần nuôi

Chỉ tiêu	Công thức thí nghiệm			
	JS0	JS15	JS30	JS45
WBC ($\times 10^9$ tế bào/L)	107,9±14,5^a	115,5±5,6^a	115,4±10,3^a	106,1±7,3^a
LYM (%)	32,5±4,0^b	30,3±1,5^{ab}	29,5±3,4^a	32,9±1,8^b
MID (%)	33,2±1,1^b	32,6±0,8^{ab}	32,0±1,8^a	33,5±0,7^b
GRAN (%)	34,3±5,1^a	37,2±2,3^{ab}	38,5±5,1^b	33,6±2,5^a
LYM# ($\times 10^9$ tế bào/L)	34,5±1,5^a	34,8±0,2^a	33,8±2,6^a	34,7±0,7^a
MID# ($\times 10^9$ tế bào/L)	35,6±4,0^a	37,4±1,0^a	36,7±5,5^a	35,5±1,8^a
GRAN# ($\times 10^9$ tế bào/L)	37,7±9,1^{ab}	43,2±4,7^{bc}	44,9±8,8^c	35,9±5,1^a
RBC ($\times 10^{12}$ tế bào/L)	1,8±0,3^a	1,9±0,2^a	1,9±0,3^a	1,8±0,2^a
HCT (%)	24,0±5,7^a	27,2±6,5^a	24,2±4,9^a	24,5±3,0^a

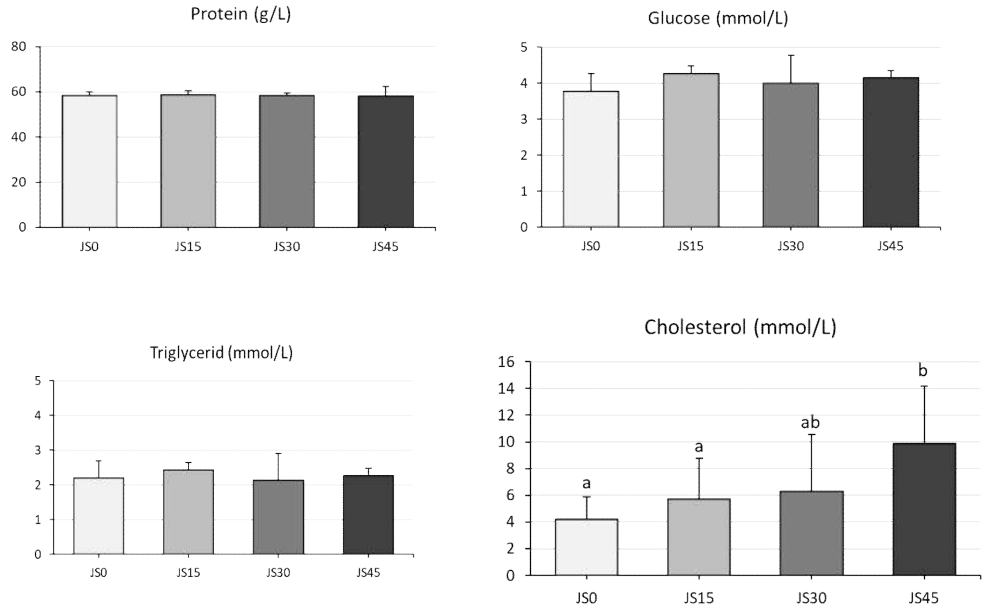
Ghi chú: JS0, JS15, JS30, JS45: Thức ăn thí nghiệm bổ sung dầu vừng ở mức 0, 15, 30 và 45 g/kg. WBC: Bạch cầu tổng số, LYM (%): Tỉ lệ bạch cầu lympho, MID (%): Tỉ lệ bạch cầu monoxit, GRAN (%): Tỉ lệ bạch cầu trung tính, LYM#: Bạch cầu lympho tổng số, MID#: Bạch cầu monoxit tổng số, GRAN#: Bạch cầu trung tính tổng số, RBC: Hồng cầu tổng số, HCT: Hematocrit.

Cá sử dụng thức ăn bổ sung dầu vừng không sai khác với cá ăn thức ăn đối chứng về chỉ tiêu bạch cầu tổng số cho thấy, xét tổng quát các đáp ứng miễn dịch tế bào không bị ảnh hưởng bởi việc bổ sung dầu vừng. Kết quả này cũng tương đồng với những nghiên cứu trước kia khi sử dụng dầu vừng trong khẩu phần ăn của cá đều không làm ảnh hưởng đến đáp ứng miễn dịch [5], đồng thời giá trị WBC cũng nằm trong khoảng tham chiếu dành cho cá rô phi [19]. Tuy nhiên, khi xem xét đến từng chỉ tiêu bạch cầu thành phần, cá sử dụng thức ăn JS30 có sự sụt giảm về tỉ lệ bạch cầu lympho và bạch cầu monoxit. Trong điều kiện bình thường không bị kích thích bởi các tác nhân gây bệnh hoặc yếu tố lạ xâm nhập, các chỉ số bạch cầu thuộc hệ miễn dịch đặc hiệu thường không tăng, những biểu hiện tăng đôi khi kèm theo trạng thái bệnh lý [20]. Như lập luận ở trên về khả năng tổng hợp axit béo ARA ở cá rô phi từ LA có nhiều trong dầu vừng, axit này tham gia nhiều vào đáp ứng miễn dịch ở động vật, là tiền tố tổng hợp nên các chất trung gian hóa học như nhóm chất tiền viêm eicosanoid hoặc kháng viêm resolvin [21]. Hàm lượng ARA cao ở lô cá JS45 có thể là yếu tố tăng tỉ lệ tế bào miễn dịch đặc hiệu trong điều kiện thường, xu hướng này cũng đã được quan sát thấy trong nghiên cứu trước đây trên cá chép [5]. Ngược lại, lô cá JS30 lại có tỉ lệ bạch cầu trung tính cao hơn lô cá JS0, JS45 và tương đồng với nhóm cá JS15. Nhóm tế bào máu này lại rất có ý nghĩa trong hoạt động sống bình thường của cá, chúng làm nhiệm vụ chính là sản xuất ra các hoạt chất tham gia vào đáp ứng miễn dịch dịch thể không đặc hiệu [22], các hoạt chất này có nhiều trong chất nhầy trên da cá, máu và các dịch tiết khác. Điều này có thể hỗ trợ khả năng kháng bệnh của nhóm cá JS30 so với JS0 và JS45 trong điều kiện thường. Đối với các chỉ tiêu này, lô cá JS15 thể hiện các giá trị trung gian chứng tỏ về khả năng điều hòa các đáp ứng miễn dịch của cá rô phi trong điều kiện

thường. Các chỉ tiêu đánh giá trạng thái sức khỏe của cá khác như số lượng hồng cầu hay tỉ lệ hematocrit của cá ở các nghiệm thức đều không sai khác và nằm trong khoảng bình thường đối với cá rô phi khỏe mạnh [19] cho thấy, việc bổ sung dầu vừng không làm ảnh hưởng đến những chỉ tiêu này cũng như sức khỏe tổng quát của cá rô phi.

3.4.2. Chỉ tiêu sinh hóa máu

Các chỉ tiêu sinh hóa máu được phân tích trong huyết thanh của cá bao gồm protein, glucose, triglycerid và cholesterolđược trình bày chi tiết ở hình 3. Sự sai khác giữa các nghiệm thức chỉ tìm thấy ở chỉ tiêu cholesterol ($p<0,05$) trong khi các chỉ tiêu khác không thấy có sự ảnh hưởng của tỉ lệ bổ sung dầu vừng. Cụ thể hơn, hàm lượng cholesterol cao nhất tìm thấy ở lô cá JS45, cao hơn hai lô cá JS0 và JS15 ($p<0,05$). Không có sự sai khác về hàm lượng cholesterol giữa JS0, JS15 và JS30 cũng như giữa JS30 và JS45.



Hình 3. Chỉ tiêu sinh hóa máu của cá sử dụng thức ăn bổ sung dầu vừng sau 8 tuần nuôi

Ghi chú: JS0, JS15, JS30, JS45: Thức ăn thí nghiệm bổ sung dầu vừng ở mức 0, 15, 30 và 45 g/kg.

Các chỉ tiêu sinh hóa máu cơ bản như protein, glucose, triglycerid đều không ảnh hưởng bởi tỉ lệ bổ sung dầu vừng và đều nằm trong khoảng tham chiếu đối với máu của cá rô phi khỏe mạnh [19]. Giá trị cholesterol ở nhóm JS45 cao hơn JS0, JS15 và tương đương với JS30. Điều này có thể lý giải khi tăng hàm lượng chất béo trong thức ăn thì hàm lượng cholesterol cũng tăng lên. Cholesterol là một nhóm chất béo steroid giữ nhiều chức năng trong cơ thể, là tiền chất chính để tổng hợp vitamin D, nhiều loại hormone steroid, bao gồm cortisol, cortisone, aldosterone ở tuyến thượng thận và các hormone sinh dục progesterone, estrogen, testosterone [23], tuy nhiên, hàm lượng cholesterol quá cao trong máu cũng có thể dẫn đến những nguy cơ bệnh về tim mạch. Trong nghiên cứu này, hàm lượng cholesterol lí tưởng được quan sát ở nhóm cá JS0 và JS15. Tương tự như lập luận của chỉ tiêu huyết học, việc duy trì hàm lượng cholesterol thấp trong máu cá ăn thức ăn JS15 cho thấy, khả năng điều hòa trạng thái sinh hóa máu tốt ở nhóm cá này. Nghiên cứu của Nguyen và cs (2021) đã chỉ ra khả năng kích thích miễn dịch của axit béo ARA, nhưng khi hàm lượng axit béo này ở mức cao cũng có thể gây nên những phản ứng miễn dịch quá mức trong điều kiện nuôi bình thường, kéo theo các tác động tiêu cực lên tình trạng sức khỏe của cá [5]. Trong thời gian nuôi 8 tuần, cá chưa có biểu hiện bất thường về sức sống nhưng ở một chu kỳ nuôi dài hơn, việc chỉ tiêu cholesterol cao ở nhóm JS45 cũng là một chỉ tiêu cần theo dõi.

3.5. Các chỉ tiêu lý hóa trong thịt cá

Ảnh hưởng của tỉ lệ bổ sung dầu vừng đến các chỉ tiêu lý hóa trong thịt của cá rô phi được thể hiện ở bảng 5. Kết quả chỉ ra rằng, khi bổ sung càng nhiều dầu vừng, giá trị lực cắt càng tăng, mẫu JS45 có giá trị lực cắt cao hơn (P<0,05) so với ba nhóm còn lại JS0, JS15 và JS30. Morais và cs (2020) [24] chỉ ra rằng, khối lượng cá khi giết mổ cũng là một trong những yếu tố ảnh hưởng đến lực cắt của thịt cá. Cá có khối lượng càng lớn thì giá trị lực cắt càng lớn. Chế độ ăn bổ sung dầu vừng có tác dụng tốt đến hàm lượng collagen trong cơ thịt cá, giảm hoạt động của cathepsin - enzyme phân giải protein quan trọng và pH của cơ thịt cá [25]. Như lập luận ở trên, chế độ ăn giàu LA trong dầu vừng có thể dẫn tới tỉ lệ tích lũy ARA cao trong các loài cá ăn tạp như cá rô phi [26], [17]. Trong cơ thể, axit ARA là tiền tố để tổng hợp nên một số cytokine có vai trò quan trọng trong hệ miễn dịch cũng như hoạt động sinh lý khác bao gồm các prostaglandin. Hai prostaglandin được tạo ra từ ARA là PGE2 và PGF2α. Các nghiên cứu *in vitro* với các tế bào cơ chỉ ra rằng PGE2 làm tăng sự phân hủy protein trong khi PGF2α kích thích tổng hợp protein. Các nghiên cứu *in vitro* khác cũng đã tìm thấy PGF2α làm tăng sự phát triển của sợi cơ xương [27]. Điều này cũng có thể dùng để lý giải lực cắt đối với filet cá sử dụng thức ăn JS45 cao hơn so với các lô cá khác.

Bảng 5. Các chỉ tiêu lý hóa trong thịt cá rô phi sử dụng thức ăn thí nghiệm sau 8 tuần nuôi

Chỉ tiêu	Công thức thí nghiệm			
	JS0	JS15	JS30	JS45
Lực cắt (g)	1.854,1±100,0^{a}	1.951,7±358,3^{a}	1.992,9±353,7^{a}	2.794,9±287,9^{b}
pH	6,1±0,1^{ab}	6,0±0,0^{a}	6,3±0,0^{b}	6,5±0,2^{c}
Độ ẩm (%)	73,8±1,7	75,3±1,5	71,3±1,6	77,1±1,4

Ghi chú: JS0, JS15, JS30, JS45: thức ăn thí nghiệm bổ sung dầu vừng ở mức 0, 15, 30 và 45 g/kg.

Giá trị pH của filet cá bị ảnh hưởng bởi các biến đổi sinh hóa của cá sau khi chết, liên qua đến sự chuyển đổi glycogen thành axit lactic. Thịt các có pH càng thấp thì sẽ dẫn đến sự mất nước nhiều hơn và kết cấu thịt kém hơn. Trong nghiên cứu này, các yếu tố đánh bắt và giết mổ được duy trì giống nhau ở tất cả các mẫu thí nghiệm. Tuy nhiên, có sự khác biệt có nghĩa về giá trị pH của mẫu cơ thịt cá sau 24 giờ bảo quản ở các mẫu thử nghiệm trong đó giá trị cao nhất (P<0,05) cũng thu được ở lô cá sử dụng thức ăn JS45 và thấp nhất là lô JS15. Không có sự khác biệt có nghĩa về độ ẩm của thịt cá, với giá trị độ ẩm của tất cả các mẫu >70%. Các kết quả thu được chứng minh tác dụng của dầu vừng đến các tính chất chức năng của thịt cá tươi. Ngay sau khi chết, cơ thịt có độ pH gần như trung tính, có thể thay đổi từ 6,0 - 7,0 bởi các yếu tố khác nhau như loài, tình trạng dinh dưỡng của cá và căng thẳng phải chịu khi đánh bắt và giết mổ [28]. Không có sự khác biệt về độ ẩm của thịt cá, với giá trị độ ẩm của tất cả các mẫu >70%. Các kết quả thu được chứng minh tác dụng của dầu vừng đến các tính chất chức năng của thịt cá tươi.

4. KẾT LUẬN

Việc bổ sung dầu vừng trong thức ăn dành cho cá rô phi không làm ảnh hưởng đến tỉ lệ sống và khả năng sử dụng thức ăn của cá rô phi. Cá sử dụng thức ăn bổ sung dầu vừng với tỉ lệ 15 và 45 g/kg thức ăn cho kết quả tốt nhất về tăng trưởng. Việc bổ sung dầu vừng không có tác động tích cực lên các chỉ tiêu nội tạng nhưng làm tăng năng suất filet của cá. Cá sử dụng thức ăn bổ sung dầu vừng ở hàm lượng cao có thể ảnh hưởng xấu đến chỉ tiêu máu.

LỜI CẢM ƠN

Đề tài được thực hiện từ nguồn kinh phí từ ngân sách nhà nước, nguồn Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn trong khuôn khổ đề tài:

"Nghiên cứu tác động của việc bổ sung dầu thực vật trong thức ăn đến sinh trưởng và chất lượng thịt của cá rô phi", mã số: ĐTTN.38/22.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Larbi Ayisi C., J. Zhao, J. W. Wu (2018). Replacement of fish oil with palm oil: Effects on growth performance, innate immune response, antioxidant capacity and disease resistance in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*), *PLoS ONE*. 13: 1 - 17. Doi: 10.1371/journal.pone.0196100.

2. Meng Y., X. Liu, L. Guan, S. Bao, L. Zhuo, H. Tian, C. Li, R. Ma (2023). Does Dietary Lipid Level Affect the Quality of Triploid Rainbow Trout and How Should It Be Assessed?*Foods*. 12. Doi:10.3390/foods12010015.

3. Yoo G. Y., I. S. Park, S. Lee (2022). Effects of graded dietary lipid levels on growth performance, fatty acid profile, and hematological characteristics of hybrid pufferfish (*Takifugu obscurus x T. rubripes*) juveniles. *Aquaculture Reports*. 24: 101120. Doi: 10.1016/j.aqrep.2022. 101120.

4. Markworth J. F., C. J. Mitchell, R. F. D'Souza, K. M. M. Aasen, B. R. Durainayagam, S. M. Mitchell, A. H. C. Chan, A. J. Sinclair, M. Garg, D. Cameron-Smith (2018). Arachidonic acid supplementation modulates blood and skeletal muscle lipid profile with no effect on basal inflammation in resistance exercise trained men. *Prostaglandins Leukotrienes and Essential Fatty Acids*. 128: 74 - 86. Doi: 10.1016/j.plefa.2017. 12.003.

5. Nguyen T. M., S. N. M. Mandiki, J. M. A. J. Salomon, J. B. Baruti, T. T. Nang Thu, T. H. Nguyen, T. Q. Nhu, P. Kestemont (2021). Pro- and anti-inflammatory responses of common carp *Cyprinus carpio* head kidney leukocytes to *E. coli* LPS as modified by different dietary plant oils. *Developmental and Comparative Immunology*. 114 (2021) 103828. https://doi.org/10.1016/j.dci. 2020.103828

6. Nakharuthai C., P. M. Rodrigues, D. Schrama, S. Kumkhong, S. Boonanuntanasarn (2020). Effects of different dietary vegetable lipid sources on health status in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*): Haematological indices, immune response parameters and plasma proteome.*Animals*. 10 : 1 - 19. Doi:10.3390/ ani10081377.

7. NRC (2011). Nutrient Requirements of Fish and Shrimp. *The National Academies, Washington, DC*. Doi:10.17226/13039.

8. Godoy A. C., O. O. Santos, J. H. Oxford, I. W. de Amorim Melo, R. B. Rodrigues, D. Neu, R. Vianna Nunes, W. R. Boscolo (2019). Soybean oil for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) in finishing diets: Economic, zootechnical and nutritional meat improvements. *Aquaculture*. 512:734324. Doi: 10.1016/j.aquaculture.2019.734324.

9. Tiêu chuẩn Quốc gia TCVN 4835: 2002. Thịt và sản phẩm thịt – đo độ pH – Phương pháp chuẩn.

10. Abdel-Ghany H. M., M. E. -S. Salem, A. A. Ezzat, M. A. Essa, A. M. Helal, R. F. Ismail, A. -F. M. El-Sayed (2021). Effects of different levels of dietary lipids on growth performance, liver histology and cold tolerance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Journal of Thermal Biology*. 96.

11. Tiêu chuẩn Quốc gia TCVN 10300: 2014. Thức ăn hỗn hợp cho cá tra và cá rô phi

12. NRC (1993). Nutrient Requirements of Fish.National Academy Press, Washington.

13. Craig S., D. D. Kuhn (2017). Understanding Fish Nutrition, Feeds, and Feeding. *Virginia Cooperative Extension*. 420–256: 1 - 6.

14. Lim C., M. Yildirim-Aksoy, P. Klesius (2011). Lipid, Fatty Acid Requirements Of Tilapia Dietary. *North American Journal of Aquaculture*. 61 - 62. Doi:10.1080/15222055.2011.579032.

15. Sathishkumar G., N. Felix, K. Manikandan (2021). Application of Chemo-attractants in aqua diets. *Aquastarmagazine*. 109 - 110.

16. Tacon A. G. J., M. R. Hassan, R. P. Subasinghe (2006). Use of fishery resoures as feed

inputs to aquaculture development: Trends and policy implications. *FAO Fisheries Circular*. 1018.

17. Nguyen T. M., S. N. M. Mandiki, C. Gense, T. N. T. Tran, T. H. Nguyen, P. Kestemont (2020). A combined in vivo and *in vitro* approach to evaluate the influence of linseed oil or sesame oil and their combination on innate immune competence and eicosanoid metabolism processes in common carp (*Cyprinus carpio*). *Developmental and Comparative Immunology*. 102. Doi: 10.1016/j.dci.2019.103488.

18. Tallima H., R. El Ridi (2018). Arachidonic acid: Physiological roles and potential health benefits – A review. *Journal of Advanced Research*. 11: 33 - 41. Doi:10.1016/j.jare.2017.11.004.

19. Kefas M., K. A. Abubakar, A. Ja'afaru (2015). Haematological indices of tilapia (*Oreochromis niloticus*). *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies*. 3: 9 - 14.

20. Nguyen T. M., S. N. M. Mandiki, C. Gense, T. T. Nang Thu, T. H. Nguyen, P. Kestemont (2020). A combined in vivo and in vitro approach to evaluate the in fl uence of linseed oil or sesame oil and their combination on innate immune competence and eicosanoid metabolism processes in common carp (*Cyprinus carpio*). *Developmental and Comparative Immunology*. 102:103488. Doi: 10.1016/j.dci.2019.103488.

21. Innes J. K., P. C. Calder (2018). Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids Omega-6 fatty acids and inflammation. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*. 7: 1-8. Doi: 10.1016/j.plefa.2018.03.004.

22. Kleiveland C., Peripheral Blood Mononuclear Cells, in: K. Verhoeckx, I. López-Expósito, C. Kleiveland, T. Lea, A. Mackie, T. Requena, D. Swiatecka, H. Wichers (Eds.) (2015). The Impact of Food Bio-Actives on Gut Health. *In vitro* and *Ex vivo* Models. *Springer Cham Heidelberg New York Dordrecht London*. p. 330. Doi:10.1007/978-3-319-16104-4.

23. Schade D. S., L. Shey, R. P. Eaton (2020). Cholesterol review: A metabolically important molecule. *Endocrine Practice*. 26 1514–1523. Doi:10.4158/EP-2020-0347.

24. Morais C. A. R. S., T. P. Santana, C. A. Santos, R. A. C. Passetti, J. F. B. Melo, F. de Assis Fonseca de Macedo, J. S. Vieira, A. J. C. Teixeira, A. P. Del Vesco (2020). Effect of slaughter weight on the quality of Nile tilapia fillets. *Aquaculture*. 520:734941. Doi:10.1016/ j.aquaculture. 2020. 734941.

25. Zhao H. F., L. Feng, W. D. Jiang, Y. Liu, J. Jiang, P. Wu, J. Zhao, S. Y. Kuang, L. Tang, W. N. Tang, Y. A. Zhang, X. Q. Zhou (2015). Flesh shear force, cooking loss, muscle antioxidant status and relative expression of signaling molecules (Nrf2, Keap1, TOR, and CK2) and their target genes in young grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) muscle fed with graded levels of choline. *PLoS ONE*. 10:1 - 21. Doi:10.1371/journal.pone.0142915.

26. Mai N. T., P. Kestemont, J. Mellery, Y. Larondelle, S. N. M. Mandiki, N. T. Tran Thi (2022). Digestibility of Different Plant-derived Oils and their Influence on Fatty Acid Composition in the Liver and Muscle of Juvenile Common Carp (*Cyprinus carpio*). *Vietnam Journal of Agricultural Sciences*. 5:1537 - 1550. https://doi.org/10.31817/ vjas.2022.5.3.03.

27. De Souza E. O., R. P. Lowery, J. M. Wilson, M. H. Sharp, C. B. Mobley, C. D. Fox, H. L. Lopez, K. A. Shields, J. T. Rauch, J. C. Healy, R. M. Thompson, J. A. Ormes, J. M. Joy, M. D. Roberts (2016). Affects of arachidonic acid supplementation on acute anabolic signaling and chronic functional performance and body composition adaptations. *PLoS ONE*. 11: 1 - 20. Doi: 10.1371/journal.pone.0155153.

28. Montoya Camacho N., E. Márquez Ríos, F. J. Castillo Yáñez, S. Ruíz Cruz, A. A. Arvizu Flores, W. Torres Arreola, J. L. Cárdenas López, S. Valdéz Hurtado, V. M. Ocaño Higuera (2020). Changes on the Development of Rigor Mortis in Cultured Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Fed with a Mixture of Plant Proteins. *Journal of Chemistry*. Doi: 10.1155/2020/5934193.

INFLUENCE OF RATIO SUPPLEMENTATION OF DIETARY SESAME OIL ON GROWTH, HEMATOLOGICAL INDICES, AND FLESH PHYSIOCHEMICAL QUALITY IN NILE TILAPIA *Oreochromis niloticus*

Nguyen Thi Mai[1], Nguyen Hai Van[2]

[1]*Department of Aquaculture nutrition and feed, Vietnam National University of Agriculture*

[2] *Ha Noi University of Science and Technology*

Summary

This study aimed to evaluate the effects of dietary sesame oil supplementation on growth, feed utilization, hematological parameters, and flesh physiochemical characteristics in Nile tilapia. The basal diet was supplemented with sesame oil at various ratios of 0, 15, 30, and 45 g/kg (JS0, JS15, JS30, and JS45 treatments). Nile tilapia were fed on the experimental diets for 8 weeks. At the end of the feeding trial, blood samples were collected for hematological analysis; muscle samples were used for physiochemical measurements; the fish numbers and consumed feed were also recorded for survival and feed utilization calculations. The results showed that the highest values of fish growth were found in JS15 and JS45-fed fish. No significant differences for feed efficiency and fish survival. The highest value of filet yield was observed in JS45 fish. The results of hematological variables displayed that the lymphocyte and monocyte counts in JS30 fish were lower than those in the control group, but in return neutrophils were higher. The highest value of cholesterol in the fish blood was also found in JS45 ones. The similar observations were also presented in flesh shear force and pH values. In conclusion, sesame oil supplementation at 15 g/kg feed brought the most positive on fish growth and health while JS45 induced the beneficial influence on the flesh fish characteristics.

Keywords: *Hematological parameters, sesame oil, flesh shear force, filet yield.*

Người phản biện: TS. Lê Văn Khôi

Ngày nhận bài: 12/7/2023

Ngày thông qua phản biện: 7/8/2023

Ngày duyệt đăng: 25/9/2023

NGHIÊN CỨU DIỄN BIẾN MÔI TRƯỜNG NƯỚC KHU VỰC NUÔI NHUYỄN THỂ TỈNH QUẢNG NINH GIAI ĐOẠN 2018 - 2022

Nguyễn Hữu Nghĩa[1,*], Đỗ Đình Minh[2], Phạm Thái Giang[1], Phan Trọng Bình[1], Tống Trần Huy[1]

TÓM TẮT

Trong những năm gần đây môi trường nước nuôi trồng thủy sản trong đó có nhuyễn thể có dấu hiệu bị suy thoái, khó kiểm soát do các nguyên nhân như ô nhiễm nước thải sinh hoạt, nông nghiệp và công nghiệp, hoạt động nuôi trồng thủy sản phát triển và hiện tượng biến đổi khí hậu đã làm gia tăng dịch bệnh thủy sản ảnh hưởng đến năng suất, sản lượng nghề nuôi. Nghiên cứu này phân tích bộ số liệu quan trắc vùng nuôi nhuyễn thể tỉnh Quảng Ninh trong thời gian 5 năm (2018 - 2022) của Chi cục Thủy sản tỉnh Quảng Ninh và Tổng cục Thủy sản. Kết quả nghiên cứu cho thấy, pH, COD, NH_3, NH_4, Alk, NO_2 có biến động nhưng phần lớn nằm trong giới hạn cho phép, phù hợp cho hoạt động nuôi nhuyễn thể. Hiện tượng nóng lên toàn cầu và tốc độ tăng nhiệt độ ghi nhận được trong vùng thì trong tương lai gần nhiệt độ có thể vượt ngưỡng thích hợp cho hàu sinh trưởng, 40% giá trị DO quan trắc dưới ngưỡng cho phép, 61% giá trị độ mặn quan trắc được nằm ngoài khoảng tối ưu cho hàu phát triển là những vấn đề mà nghề nuôi hàu của tỉnh cần quan tâm.

Từ khóa: *Quan trắc, chất lượng nước, nhuyễn thể.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Nguồn thực phẩm từ nhuyễn thể tăng trưởng nhanh trong những năm gần đây, cung cấp 14 - 16% protein động vật cho 1,5 tỉ người. Trên thế giới 89% sản lượng thực phẩm từ nhuyễn thể là từ nuôi trồng, nghề này hỗ trợ cho hơn 200 nghìn sinh kế, chủ yếu ở các nước đang phát triển. Nuôi nhuyễn thể đóng góp khoảng 21,42% (17,14 triệu tấn) cho tổng sản lượng nuôi trồng, trong đó châu Á chiếm 92,27% [1]. Theo Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn, diện tích nuôi nhuyễn thể tăng từ 28.133 ha (năm 2011) lên hơn 41.500 ha (năm 2022). Sản lượng tăng từ 157.000 tấn/năm (năm 2011) lên gần 265.000 tấn/năm (năm 2022). Năm 2021 giá trị xuất khẩu nghêu đạt 107,1 triệu USD, tiếp theo là sò điệp 12,3 triệu USD, hàu 5,6 triệu USD, vẹm 7.300 USD [2, 3, 4].

Quảng Ninh có bờ biển dài 250 km, 40.000 ha bãi triều và hơn 20.000 ha eo, vịnh kín gió thuận lợi cho các hình thức nuôi lồng bè, nhuyễn thể [5]. Theo quy hoạch năm 2022 cả tỉnh có tổng diện tích nuôi trồng thủy sản mặn, lợ hơn 11.700 ha [6]. Nuôi thủy sản đóng vai trò quan trọng trong cơ cấu kinh tế của tỉnh Quảng Ninh, đóng góp gần 50% giá trị sản xuất của toàn ngành nông, lâm, ngư nghiệp. Cùng với cá biển, nhuyễn thể là một trong hai nhóm nuôi biển chính với các đối tượng nuôi chủ yếu là ngao (*Veneridae),* hàu (*Crassostrea gigas*), tu hài (*Lutraria philippinarum*), trai ngọc (*Pinctada*). Theo Chi cục Thủy sản tỉnh Quảng Ninh, diện tích nuôi nhuyễn thể năm 2022 đạt 9.500 ha chiếm 29,6% tổng diện tích nuôi thủy sản toàn tỉnh với sản lượng 39.000 tấn. Trong đó ngao và hầu Thái Bình Dương đóng vai trò quan trọng trong cơ cấu các loài nuôi [7].

Nuôi nhuyễn thể phụ thuộc lớn vào điều kiện tự nhiên và khí hậu [4]. Các hiện tượng thời tiết cực đoan gây ra nhiều thiệt hại đối với nhuyễn thể nuôi [2]. Nguyên nhân chính gây thiệt hại đối với ngao nuôi bao gồm: (a) Ô nhiễm nước thải từ nội đồng; (b) Điều kiện khí hậu bất lợi như bão, lũ, hạn hán gây ra sự thay đổi đột ngột của độ mặn nhiệt độ; (c) Chất lượng con giống; (d) dịch bệnh; (e) Địch hại [4, 8]. Tỉnh Quảng Ninh đã ghi nhận nhiều trường hợp ngao, hàu chết trong những năm qua. Cuối năm 2015, đầu năm 2016, ngao nuôi chết hàng loạt ở huyện Hải Hà với diện tích 242 ha; tỉ lệ

[1] Trung tâm Quan trắc Môi trường và Bệnh thủy sản miền Bắc, Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản I
[2] Chi cục Thủy sản tỉnh Quảng Ninh
[*] Email: nghia@ria1.org

chết từ 20 - 50%, tổng thiệt hại khoảng 2.000 tấn [9]. Năm 2017, hàu chết bất thường hàng loạt tại huyện Quảng Yên, Tiên Yên và thành phố Móng Cái. Trong đó huyện Tiên Yên ghi nhận tỉ lệ chết ở mức 70 - 80%, gây thiệt hại 5.500 tấn [9]. Năm 2017, nhuyễn thể chuyển màu xanh bất thường và chết tại huyện Vân Đồn [10]. Một số vùng nuôi vẫn còn tồn tại hiện tượng nuôi ngoài quy hoạch, lắp đặt dàn bè, phao xốp không đúng quy định, ảnh hưởng xấu tới cảnh quan môi trường, cản trở giao thông và tác động đến môi trường sinh thái của khu vực [11].

Với vai trò quan trọng của hoạt động quan trắc môi trường từ năm 2018, Tổng cục Thủy sản và Chi cục Thủy sản tỉnh Quảng Ninh đã có các chương trình quan trắc vùng nuôi nhuyễn thể của tỉnh. Mục tiêu của nghiên cứu này là đánh giá sự biến động các chỉ tiêu môi trường nước vùng nuôi nhuyễn thể tập trung của tỉnh Quảng Ninh giai đoạn 2018 - 2022 và đề xuất giải pháp phục vụ nuôi nhuyễn thể bền vững trên địa bàn tỉnh.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Điểm quan trắc

Nghiên cứu này phân tích bộ số liệu quan trắc môi trường nước vùng nuôi nhuyễn thể tỉnh Quảng Ninh trong thời gian 5 năm (2018 - 2022) của Chi cục Thủy sản tỉnh Quảng Ninh và Tổng cục Thủy sản. Trong đó, bộ số liệu của Chi cục Thủy sản tỉnh Quảng Ninh từ 2019 - 2022 bao gồm các huyện Cẩm Phả, Vân Đồn, Hải Hà, Đầm Hà, mỗi huyện 1 - 2 xã, mỗi xã có 5 điểm quan trắc. Bộ số liệu của Tổng cục Thủy sản từ 2018 - 2022 bao gồm 1 huyện Vân Đồn, trong đó chọn 3 xã, mỗi xã 1 điểm quan trắc (Bảng 1).

Bảng 1. Địa điểm quan trắc vùng nuôi nhuyễn thể tỉnh Quảng Ninh

Điểm	Xã	Huyện	Tọa độ	Điểm	Xã	Huyện	Tọa độ
BS1	Bản Sen	Vân Đồn	20.972494,107.484456	QM5	Quảng Minh	Hải Hà	21.461975,107.808389
BS2	Bản Sen	Vân Đồn	20.972222,107.483625	TL1	Thắng Lợi	Vân Đồn	20.892505,107.310300
BS3	Bản Sen	Vân Đồn	20.958867,107.480964	TL2	Thắng Lợi	Vân Đồn	20.888039,107.313336
BS4	Bản Sen	Vân Đồn	20.954458,107.473886	TL3	Thắng Lợi	Vân Đồn	20.897739,107.306167
BS5	Bản Sen	Vân Đồn	20.943606,107.467806	TL4	Thắng Lợi	Vân Đồn	20.902225,107.305844
CĐ1	Cẩm Đông	Cẩm Phả	20.962511,107.302514	TL5	Thắng Lợi	Vân Đồn	20.903317,107.306969
CĐ2	Cẩm Đông	Cẩm Phả	20.960272,107.303067	TLA1	Tân Lập	Đầm Hà	21.242778,107.593611
CĐ3	Cẩm Đông	Cẩm Phả	20.954798,107.305297	TLA2	Tân Lập	Đầm Hà	21.236667,107.581389
CĐ4	Cẩm Đông	Cẩm Phả	20.956117,107.306389	TLA3	Tân Lập	Đầm Hà	21.234167,107.581389
CĐ5	Cẩm Đông	Cẩm Phả	20.959736,107.303356	TLA4	Tân Lập	Đầm Hà	21.231389,107.593056
QM1	Quảng Minh	Hải Hà	21.458083,107.799192	TLA5	Tân Lập	Đầm Hà	21.233661,107.591944
QM2	Quảng Minh	Hải Hà	21.453656,107.806694	ĐX	Đông Xá	Vân Đồn	21.016056,107.422800
QM3	Quảng Minh	Hải Hà	21.453386,107.798056	HL	Hạ Long	Vân Đồn	21.037806,107.491600
QM4	Quảng Minh	Hải Hà	21.450872,107.805300	TT	Thị trấn	Vân Đồn	21.058722,107.443400

2.2. Thời gian và tần suất quan trắc

Các đợt quan trắc của Tổng cục Thuỷ sản thực hiện từ tháng 4 đến tháng 10 hàng năm, riêng năm 2022 từ tháng 4 đến tháng 11. Chi cục Thuỷ sản tỉnh Quảng Ninh triển khai từ 4 đến 10 đợt quan trắc/năm trong khoảng thời gian từ tháng 4 đến tháng 11, thay đổi theo các năm (Bảng 2).

Bảng 2. Tổng hợp số đợt quan trắc theo năm các vùng nuôi nhuyễn thể tỉnh Quảng Ninh

Năm	Huyện Cẩm Phả	Huyện Đầm Hà	Huyện Hải Hà	Huyện Vân Đồn		Tổng đợt	
	CCTS	CCTS	CCTS	CCTS	TCTS	CCTS	TCTS
2018					21		21
2019	30		30	60	21	120	21
2020	20		20	40	21	80	21
2021	50	50	50	100	21	250	21
2022	40		40	80	24	160	24

Ghi chú: CCTS: Chi cục Thuỷ sản tỉnh Quảng Ninh; TCTS: Tổng cục Thuỷ sản.

2.3. Chỉ tiêu quan trắc và phương pháp phân tích

Giai đoạn 2019 - 2022, Chi cục Thuỷ sản tỉnh Quảng Ninh thực hiện quan trắc 10 chỉ tiêu, giai đoạn 2018 - 2022 Tổng cục Thuỷ sản thực hiện quan trắc 16 chỉ tiêu tại vùng nuôi nhuyễn thể tỉnh Quảng Ninh. Tổng cộng bộ dữ liệu bao gồm 17 chỉ tiêu được quan trắc. Trong nghiên cứu này 9 chỉ tiêu được phân tích và thảo luận (Bảng 3).

Bảng 3. Chỉ tiêu quan trắc và phương pháp phân tích các yếu tố môi trường nuôi nhuyễn thể

STT	Chỉ tiêu	Đơn vị	Phương pháp phân tích
1	Nhiệt độ	^{0}C	Galvanic electrochemical sensor
2	Độ pH		Galvanic electrochemical sensor
3	Oxy hòa tan	mg/l	Galvanic electrochemical sensor
4	Độ muối	‰	Khúc xạ ánh sáng
5	Nhu cầu oxy hóa học	mg/l	SMEWW 5220 C: 2017
6	Ammonia	mg/l	SMEWW 4500-NH3 F: 2017
7	Độ kiềm	mg/l	SMEWW 2320 B: 2011
8	Ammonium	mg/l	SMEWW 4500-NH3 F: 2017
9	Nitrite	mg/l	SMEWW 4500-NO2 B: 2017

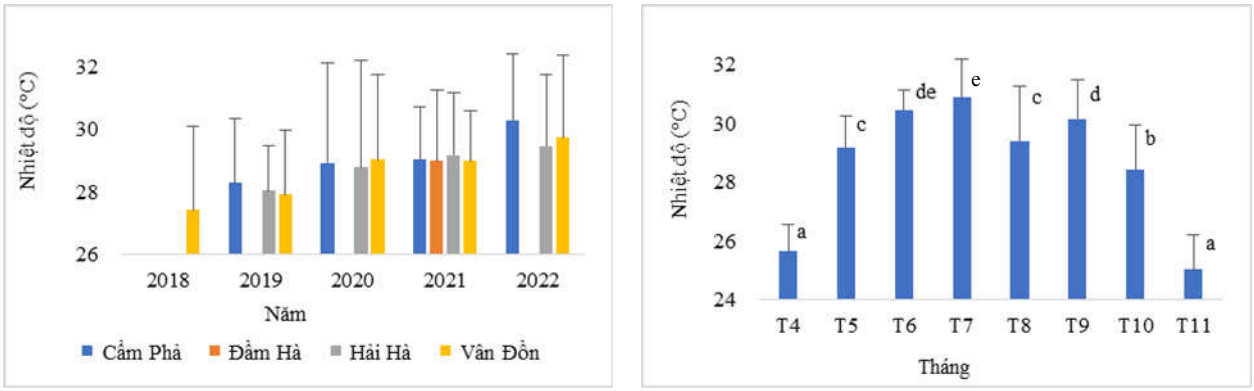
2.3. Phân tích số liệu

Để so sánh diễn biến các chỉ tiêu môi trường nước theo thời gian, số liệu các đợt quan trắc được gộp theo tháng, các điểm quan trắc được gộp theo huyện và lấy giá trị trung bình. Giá trị giới hạn cho phép của các chỉ tiêu được tham chiếu từ các quy định hiện hành về chất lượng nước nuôi trồng thủy sản và chất lượng nước mặt, từ đó tính ra tỷ lệ các mẫu vượt ngưỡng. Tương quan giữa giá trị một số chỉ tiêu được phân tích bằng thành phần chính (PCA). Mối liên hệ giữa giá trị các chỉ tiêu môi trường nước với thời gian và địa điểm được phân tích bằng hồi quy tuyến tính (Linear Regression). Số liệu được phân tích bằng công cụ Pivot table của Microsoft 365 Apps for enterprise 2023 [12] và phần mềm phân tích thống kê XLSTAT 2023 [13], $p<0,05$ được coi là có ý nghĩa.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Nhiệt độ

Nhiệt độ nước dao động trong khoảng 23 - 33,2°C, trung bình 29,01 ± 2,30°C. Nhiệt độ nước trung bình hàng năm của các năm 2018, 2019, 2020, 2021, 2022 tương ứng là 27,43 ± 2,68, 28,05 ± 1,91, 28,96 ± 2,93, 29,04 ± 1,80, 29,79 ± 2,45°C. Có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về nhiệt độ nước giữa các năm ($p<0,0001$). Nhiệt độ nước trung bình trong toàn bộ thời gian nghiên cứu vùng nuôi nhuyễn thể các huyện Cẩm Phả, Đầm Hà, Hải Hà, Vân Đồn tương ứng là 29,23 ± 2,24, 28,99 ± 2,25, 28,96 ± 2,25, 28,95 ± 2,35°C, không có sự khác biệt về giá trị nhiệt độ giữa các huyện. Có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về nhiệt độ giữa các tháng trong năm ($p < 0,0001$) (Hình 1).



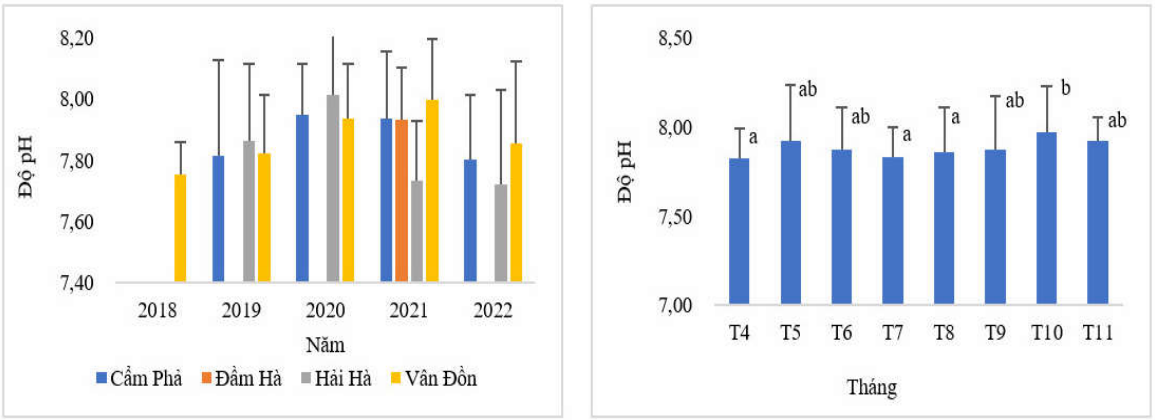
a b

Hình 1. Nhiệt độ trung bình năm tại các vùng nuôi (a) và nhiệt độ trung bình tháng của cả tỉnh (b)

Nhiệt độ nước có xu hướng tăng dần theo các năm, trung bình mỗi năm nhiệt độ nước tăng 0,59°C, đây là một mức tăng nhanh và cần phải lưu ý. Điều này cho thấy hiện tượng nóng lên toàn cầu thể hiện rất rõ ở khu vực gần bờ, nơi có nhiều hoạt động của con người. Có 5/699 giá trị quan trắc (0,7%) nhiệt độ vượt giới hạn cho phép (33°C) vào đợt quan trắc tháng 4/2019 và tháng 8/2022 tại huyện Vân Đồn. Nhiệt độ nước biển cao làm suy giảm chức năng miễn dịch của các loài hai mảnh vỏ, thay đổi tổng số tế bào máu, thực bào, hoại tử tế bào và tăng số lượng tế bào chết. Theo JTMD (2023) [14], hàu trưởng thành có thể chịu được nhiệt độ lên tới 35°C, để hàu trưởng thành phát triển từ 11 - 34°C và thích hợp nhất từ 27 - 28°C. Như vậy ở thời điểm hiện tại, nhiệt độ nước vùng nuôi nhuyễn thể tỉnh Quảng Ninh khá phù hợp cho nuôi hàu, tuy nhiên với hiện tượng nóng lên toàn cầu và tốc độ tăng nhiệt độ ghi nhận được trong vùng thì trong tương lai gần nhiệt độ có thể vượt ngưỡng thích hợp cho hàu sinh trưởng.

3.2. Độ pH

Độ pH dao động trong khoảng từ 7,11 - 8,45, trung bình 7,88 ± 0,24. Độ pH trung bình hàng năm của các năm 2018, 2019, 2020, 2021, 2022 tương ứng là 7,75 ± 0,11, 7,83 ± 0,24, 7,95 ± 0,20, 7,92 ± 0,22, 7,81 ± 0,27. Có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về độ pH giữa các năm 2018, 2019, 2022 với các năm 2020, 2021 (p=0,001, p=0,002). Độ pH trung bình trong toàn bộ thời gian nghiên cứu của vùng nuôi nhuyễn thể các huyện Cẩm Phả, Đầm Hà, Hải Hà, Vân Đồn tương ứng là 7,87 ± 0,24, 7,93 ± 0,17, 7,80 ± 0,27, 7,90 ± 0,23. Có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về giá trị pH giữa huyện Hải Hà và các huyện còn lại (p<0,0001). Có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về độ pH của một số tháng trong năm (p=0,019) (Hình 2).



a b

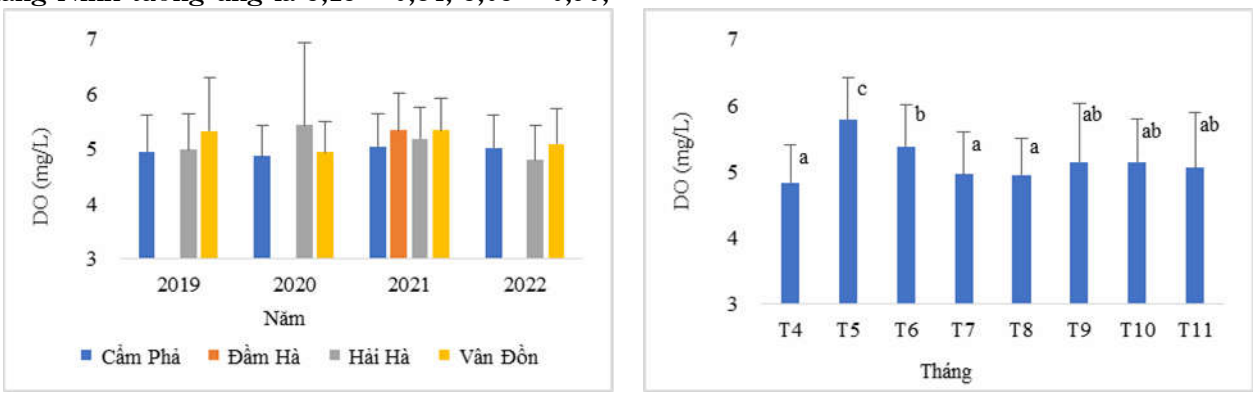
Hình 2. Giá trị pH trung bình năm tại các vùng nuôi (a) và giá trị pH trung bình tháng của cả tỉnh (b)

Độ pH có xu hướng tăng nhẹ vào tháng 5, 6, giảm nhẹ ở tháng 7, 8 sau đó tăng dần rồi lại giảm ở các tháng đầu năm, không có biến động lớn về độ pH qua các tháng trong năm. Điều này có thể giải thích do nhiệt độ tăng, tảo phát triển dẫn đến pH tăng. Tất cả các giá trị pH quan trắc được đều

nằm trong giới hạn cho phép (>7, <9). Theo M. Boulais (2017) [15], pH phù hợp cho hàu nằm trong khoảng 7,1 - 7,4. Như vậy, độ pH ở vùng nước biển tỉnh Quảng Ninh biến động không nhiều và phù hợp cho hoạt động nuôi nhuyễn thể.

3.3. Oxy hòa tan

Giá trị oxy hoà tan (DO) dao động trong khoảng 3,29 - 8,11 mg/L, trung bình 5,15 ± 0,72 mg/L. Giá trị DO trung bình năm của các năm 2019, 2020, 2021, 2022 vùng nuôi nhuyễn thể tỉnh Quảng Ninh tương ứng là 5,15 ± 0,84, 5,05 ± 0,90, 5,25 ± 0,61, 5,00 ± 0,64 mg/L, sự khác biệt giá trị DO giữa các năm có ý nghĩa thống kê (p=0,004). Giá trị DO trung bình trong toàn bộ thời gian nghiên cứu của vùng nuôi nhuyễn thể ở các huyện Cẩm Phả, Đầm Hà, Hải Hà, Vân Đồn tương ứng là 4,99 ± 0,61, 5,35 ± 0,68, 5,07 ± 0,81, 5,21 ± 0,71 mg/L, sự khác biệt DO giữa các huyện có ý nghĩa thống kê (p=0,002). Có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về giá trị DO giữa các tháng trong năm (p=<0,0001) (Hình 3).

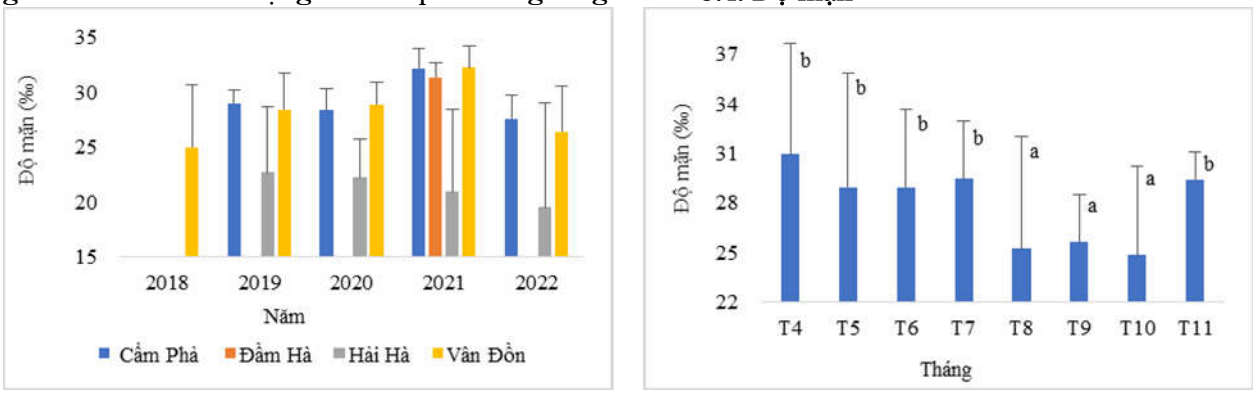


a b

Hình 3. Giá trị DO trung bình năm tại các vùng nuôi (a) và giá trị DO trung bình tháng của cả tỉnh (b)

Giá trị DO có xu hướng tăng cao vào các tháng mùa hè và giảm vào những tháng mùa thu và đông có thể lý giải do nhiệt độ tăng, tảo phát triển và quang hợp sử dụng CO_2 và thải O_2. Mặc dù hàu có thể thích ứng với nồng độ oxy thấp đến 2 mg/L, tuy nhiên trong nuôi hàu biển thì khuyến cáo DO>5 mg/L [16, 17]. Có 247/611 mẫu, chiếm 40% tổng số mẫu có hàm lượng DO thấp dưới ngưỡng cho phép (< 5 mg/L) xuất hiện ở tất cả các khu vực quan trắc, trong đó số mẫu vượt giới hạn ở các huyện Cẩm Phả, Đầm Hà, Hải Hà, Vân Đồn tương ứng là 47,86, 23,53, 45,71, 37,14% thể hiện DO ở vùng nước nuôi nhuyễn thể tỉnh Quảng Ninh nhiều thời điểm không đạt yêu cầu, đặc biệt ở Cẩm Phả và Hải Hà.

3.4. Độ mặn



a b

Hình 4. Giá trị độ mặn trung bình năm tại các vùng nuôi (a) và giá trị độ mặn trung bình tháng của cả tỉnh (b)

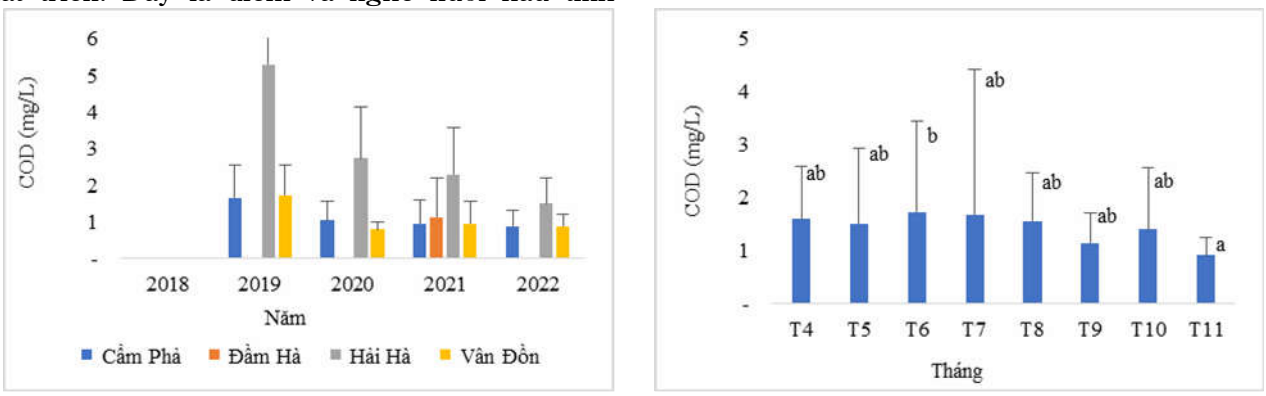
Độ mặn dao động trong khoảng 6 - 35‰, trung bình 27,74 ± 5,68‰. Độ mặn trung bình hàng năm của các năm 2018, 2019, 2020, 2021, 2022 tương ứng là 25,00 ± 5,74, 27,34 ± 4,45, 27,49 ± 3,50, 30,00 ± 5,63, 25,19 ± 6,24‰. Có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về độ mặn của năm 2021 so với các

năm còn lại (p <0,0001). Độ mặn trung bình trong toàn bộ thời gian nghiên cứu của vùng nuôi nhuyễn thể thành phố Cẩm Phả và các huyện Đầm Hà, Hải Hà, Vân Đồn tương ứng là 4 29,66 ± 2,65, 31,40 ± 1,25, 21,10 ± 47, 28,98 ± 4,04‰, có sự khác biệt về độ mặn giữa các huyện (p<0,0001). Có sự khác biệt về độ mặn của các tháng 4, 5, 6, 7, 11 với các tháng 7, 8, 9 (p <0,0001) (Hình 4).

Độ mặn có xu hướng tăng cao vào các tháng mùa hè và mùa đông. Độ mặn giảm vào những tháng mùa thu do mùa mưa lũ, nước mưa xả thải từ đất liền ra biển. Tất cả các giá trị độ mặn quan trắc được đều nằm trong giới hạn cho phép (>5, <35‰). Tuy nhiên, đây là giới hạn để hàu có thể sống, nhưng để hàu có thể sinh trưởng và phát triển tốt thì độ mặn cần nằm trong khoảng 14 - 28‰ [18]. Theo điều kiện này thì có đến 61% giá trị độ mặn quan trắc được nằm ngoài khoảng tối ưu cho hàu phát triển. Đây là điểm và nghề nuôi hàu tỉnh Quảng Ninh cần lưu ý.

3.5. Nhu cầu oxy hóa học

Nhu cầu oxy hoá học (COD) dao động trong khoảng 0,16 - 15,7 mg/L, trung bình 1,48 ± 1,55 mg/L. COD trung bình hàng năm của các năm 2019, 2020, 2021, 2022 tương ứng là 2,61 ± 2,69, 1,35 ± 1,11, 1,27 ± 1,03, 1,04 ± 0,54 mg/L, có sự khác biệt có ý nghĩa giá trị COD năm 2019 với các năm còn lại (p<0,0001). Giá trị COD trung bình trong toàn bộ thời gian nghiên cứu của vùng nuôi nhuyễn thể các huyện Cẩm Phả, Đầm Hà, Hải Hà, Vân Đồn tương ứng là 1,10 ± 0,71, 1,14 ± 1,07, 2,78 ± 2,56, 1,08 ± 0,66 mg/L, có sự khác biệt về COD giữa huyện Hải Hà với các huyện còn lại (p <0,0001). Có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về giá trị COD giữa tháng 11 với các tháng 4, 5, 7, 8, 9, 10 và tháng 6 (p=0,030) (Hình 5).



a b

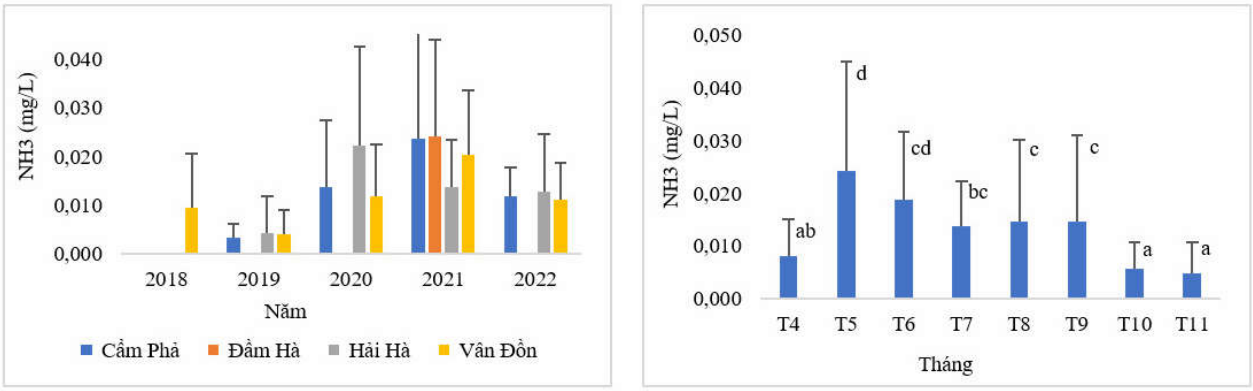
Hình 5. Giá trị COD trung bình năm tại các vùng nuôi (a) và giá trị COD trung bình tháng của cả tỉnh (b)

Giá trị COD các tháng mùa hè có cao hơn các tháng khác nhưng không nhiều. Giá trị COD của hầu hết các mẫu đều nằm trong giới hạn cho phép chỉ có 4 mẫu tại xã Quảng Minh, huyện Hải Hà vào tháng 7/2019 có giá trị 13,3 - 15,7 mg/L, vượt giới hạn cho phép (10 mg/L). COD trung bình của huyện Hải Hà cao hơn các huyện Cẩm Phả, Đầm Hà, Vân Đồn tương ứng là 2,52, 2,40, 2,56 lần chứng tỏ ô nhiễm hữu cơ ở Hải Hà cao hơn các huyện khác và cần phải lưu ý. Theo Claude E. Boyd (1998) [19], COD từ 0 - 50 mg/L được xem là chất lượng nước tốt phục vụ cho nuôi thuỷ sản, do vậy COD các điểm quan trắc trong thời gian nghiên cứu được coi nằm trong khoảng phù hợp nuôi hàu.

3.6. Ammonia

Giá trị ammonia (NH_3) dao động trong khoảng 0 - 0,142 mg/L, trung bình 0,014 ± 0,014 mg/L. NH_3 trung bình hàng năm của các năm 2018, 2019, 2020, 2021, 2022 tương ứng là 0,009 ± 0,011, 0,004 ± 0,005, 0,015 ± 0,015, 0,020 ± 0,017, 0,012 ± 0,008 mg/L, có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giá trị COD giữa các năm (p<0,0001). Giá trị NH_3 trung bình trong toàn bộ thời gian nghiên cứu của vùng nuôi nhuyễn thể các huyện Cẩm Phả, Đầm Hà, Hải Hà, Vân Đồn tương ứng là 0,014 ± 0,016, 0,024 ± 0,020, 0,013 ± 0,013, 0,012 ± 0,012 mg/L, có sự khác biệt có ý nghĩa giá trị NH_3 của

huyện Đầm Hà so với các huyện còn lại (p <0,0001). Có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về giá trị NH_3 giữa tháng 10, 11 với tháng 4, 7, 8, 9, 6 , 5 (Hình 6).



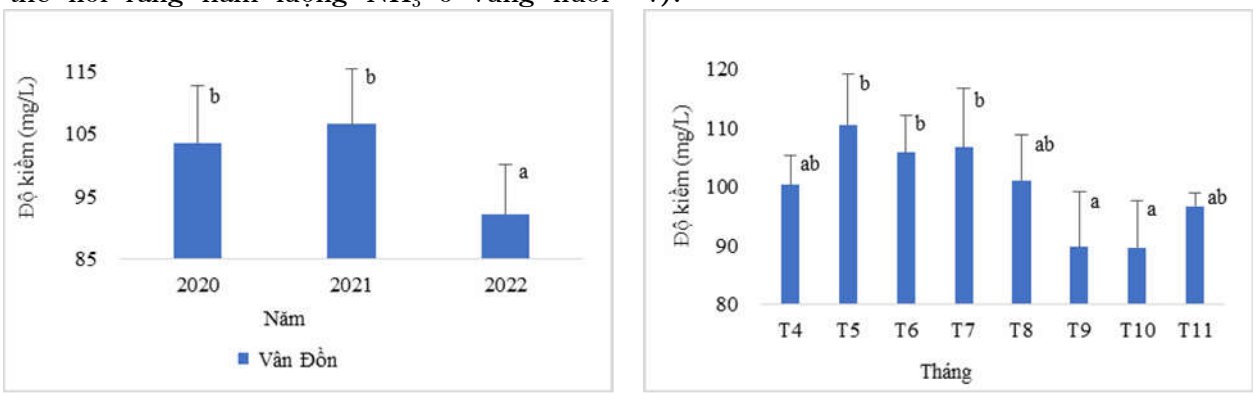
a b

Hình 6. Giá trị NH_3 trung bình năm tại các vùng nuôi (a) và giá trị NH_3 trung bình tháng của cả tỉnh (b)

NH_3 là khí độc trong môi trường nước, gây độc cho động vật thủy sinh [13]. Giá trị NH_3 cao nhất ở các tháng mùa hè, giảm dần ở các tháng mùa thu và thấp nhất ở các tháng mùa đông, điều này có thể được giải thích do nhiệt độ cao hơn nên quá trình trao đổi chất, phân hủy và tạo ra các chất hữu cơ cao hơn. Tất cả các giá trị NH_3 quan trắc được đều nằm trong giới hạn cho phép (<0,3 mg/L), tuy nhiên theo Claude E. Boyd (1998) [19] và Chanratchakool P và cs (2003) [20], NH_3 giới hạn phép cho nuôi trồng thủy sản phải nhỏ hơn 0,1 mg/L. Số liệu quan trắc cho thấy tất chỉ có 1/652 (0,15%) dữ liệu có giá trị NH_3 0,142 mg/L còn lại đều dưới 0,1 mg/L tại Cẩm Đông, Cẩm Phả, vì thế có thể nói rằng hàm lượng NH_3 ở vùng nuôi nhuyễn thể tỉnh Quảng Ninh là phù hợp cho nuôi trồng thủy sản.

3.7. Độ kiềm

Độ kiềm (Alk) dao động trong khoảng 76 - 119 mg/L, trung bình 100 ± 11 mg/L. Giá trị Alk trung bình vùng nuôi nhuyễn thể huyện Vân Đồn (chỉ tiêu độ kiềm chỉ được quan trắc tại huyện Vân Đồn theo chương trình của Tổng cục Thuỷ sản từ năm 2020) cho các năm 2020, 2021, 2022 tương ứng là 104 ± 9, 107 ± 9, 92 ± 8 mg/L. Có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê độ kiềm giữa năm 2022 với năm 2020 và 2021 (p <0,0001). Có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về giá trị Alk của các tháng 9, 10 với tháng 8, 4, 11 và tháng 5, 6, 7 (p <0,0001) (Hình 7).



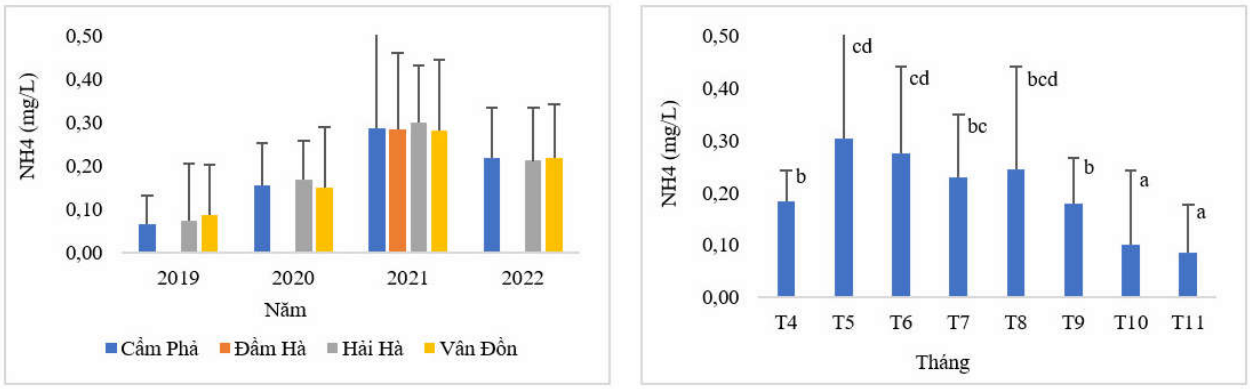
a b

Hình 7. Giá trị Alk trung bình năm tại các vùng nuôi (a) và giá trị Alk trung bình tháng của cả tỉnh (b)

Alk là tổng hàm lượng các ion HCO^{3-}, CO_3^{2-}, OH^- có trong nước. Alk trong nước tự nhiên thường gây nên bởi các muối của axit yếu, đặc biệt là các muối carbonat và bicarbonat. Alk thể hiện khả năng trung hòa axit của nước, nhờ đó giữ cho độ pH của nước được ổn định. Giá trị Alk cao nhất ở các tháng mùa hè, giảm thấp nhất ở các tháng mùa thu và tăng nhẹ ở các tháng mùa đông, tuy nhiên tất cả các giá trị Alk quan trắc được đều nằm trong giới hạn cho phép (>60, <180 mg/L).

3.8. Ammonium

Giá trị ammonium (NH_4) dao động trong khoảng 0 - 1,881 mg/L, trung bình 0,211 ± 0,163 mg/L. Giá trị NH_4 trung bình của các năm 2019, 2020, 2021, 2022 tương ứng là 0,078 ± 0,110, 0,154 ± 0,122, 0,287 ± 0,176, 0,217 ± 0,120 mg/L, có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về giá trị NH_4 giữa các năm (p <0,0001). Giá trị NH_4 trung bình trong toàn bộ thời gian nghiên cứu của vùng nuôi nhuyễn thể các huyện Cẩm Phả, Đầm Hà, Hải Hà, Vân Đồn tương ứng là 0,201 ± 0,183, 0,285 ± 0,175, 0,207 ± 0,148, 0,206 ± 0,156 mg/L. Có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về giá trị NH_4 giữa huyện Đầm Hà so với các huyện còn lại (p=0,01). Có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về giá trị NH_4 giữa các tháng 10, 11 với tháng 4, 9, 7, 8, 6 , 5 (p <0,0001) (Hình 8).

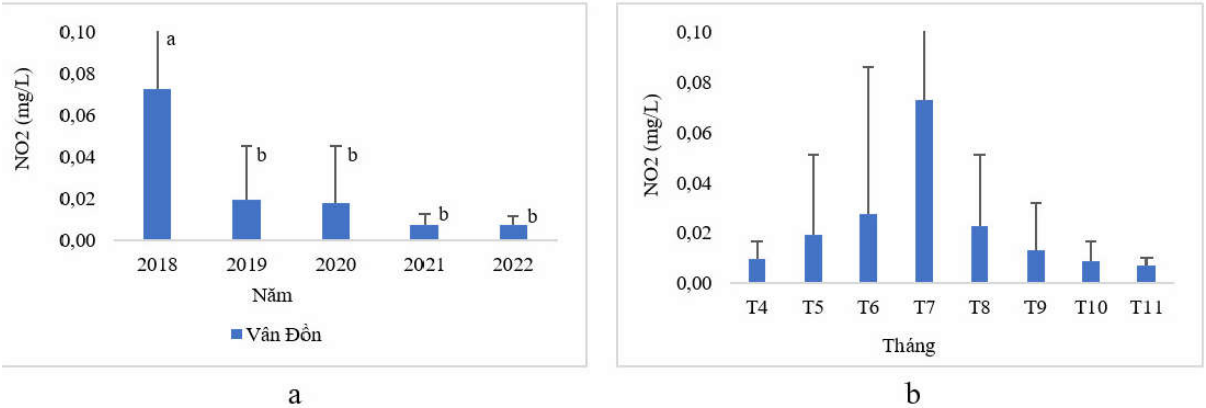


Hình 8. Giá trị NH_4 trung bình năm tại các vùng nuôi (a) và giá trị NH_4 trung bình tháng của cả tỉnh (b)

Tương tự như NH_3, giá trị NH_4 cao nhất ở các tháng mùa hè, giảm dần ở các tháng mùa thu và thấp nhất ở các tháng mùa đông. Giá trị NH_4 giữa huyện Đầm Hà có cao hơn các huyện còn lại nhưng không nhiều, tuy nhiên cần theo dõi thêm và xác định nguyên nhân. Có 138/719 mẫu, chiếm 19% tổng số mẫu có hàm lượng NH_4 vượt ngưỡng cho phép (> 0,3 mg/L) xuất hiện ở tất cả các khu vực quan trắc. Theo Claude E. Boyd (1998) [19] và Chanratchakool P và cs (2003) [20] hàm lượng NH_4 phù hợp cho nuôi trồng thủy sản từ 0,2 - 2,0 mg/L, theo ngưỡng này thì NH_4 ở khu vực nghiên cứu phù hợp cho nuôi nhuyễn thể.

3.9. Nitrite

Giá trị nitrite (NO_2) dao động trong khoảng 0 - 0,969 mg/L, trung bình 0,024 ± 0,024 mg/L. Giá trị NO_2 trung bình vùng nuôi nhuyễn thể huyện Vân Đồn (chỉ tiêu NO_2 được quan trắc tại huyện Vân Đồn theo chương trình của Tổng cục Thuỷ sản từ năm 2018) cho các năm 2018, 2019, 2020, 2021, 2022 tương ứng là 0,072 ± 0,211, 0,019 ± 0,026, 0,018 ± 0,028, 0,008 ± 0,005, 0,007 ± 0,004 mg/L. Giá trị NO_2 năm 2018 khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các năm còn lại (p =0,024). Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về giá trị NO_2 giữa các tháng trong năm (Hình 9). Giá trị NO_2 cao nhất ở các tháng mùa hè, giảm dần ở các tháng mùa thu và thấp nhất ở các tháng mùa đông.



Hình 9. Giá trị NO_2 trung bình năm tại các vùng nuôi (a) và giá trị NO_2 trung bình tháng của cả tỉnh (b)

Có 9/108 mẫu, chiếm 8,3% tổng số mẫu có hàm lượng NO_2 vượt ngưỡng cho phép (>0,05 mg/L) xuất hiện ở cả 3 điểm quan trắc thuộc huyện Vân Đồn. Hai giá trị NO_2 cao nhất được ghi nhận vào tháng 6 và 7 năm 2018 tương ứng là 0,219 và 0,969 mg/L đều thuộc điểm quan trắc thị trấn Cái Rồng, huyện Vân Đồn. Tuy nhiên theo Claude E. Boyd (1998) [19] thì chất lượng nước cho nuôi trồng thuỷ sản có hàm lượng nitrite <0,5 mg/L được xem là tốt và từ 0,5 - 2 mg/L được xem là trung bình còn Danielle A. Marshall và cs (2021) [21] cho rằng, NO_2 được coi là độc khi ở nồng độ cao (>3 mg/L), theo những ngưỡng này thì không có giá trị NO_2 quan trắc vượt ngưỡng và có thể đánh giá NO_2 khu vực nuôi nhuyễn thể tỉnh Quảng Ninh là phù hợp.

3.10. Tương quan giữa giá trị các chỉ tiêu quan trắc

Phân tích thành phần chính (PCA) được thực hiện với các chỉ tiêu nhiệt độ, pH, DO, độ muối, COD, NH_3, NH_4. Hai chỉ tiêu còn lại là Alk và NO_2 không đủ dữ liệu để đưa vào mô hình. Kết quả cho thấy, một số chỉ tiêu có chỉ số tương quan khá cao như NH_3 và NH_4 (r=0,76), nhiệt độ với NH_3, NH_4 (r=0,354 và 0,351), pH và NH_3 (r=0,457). Thành phần chính F1 và F2 giải thích cho 54,32% giá trị các chỉ tiêu, trong đó tương quan thuận gồm các nhóm nhiệt độ, NH_3, NH_4 và nhóm độ mặn, pH, DO còn COD tương quan nghịch với các chỉ tiêu còn lại.

4. KẾT LUẬN

Các chỉ tiêu quan trắc vùng nuôi nhuyễn thể tỉnh Quảng Ninh biến động theo quy luật mùa, thời tiết hoặc do ảnh hưởng của các hoạt động của con người. Những chỉ tiêu độ pH, COD, NH_3, NH_4, Alk, NO_2 có biến động nhưng phần lớn nằm trong giới hạn cho phép, phù hợp cho hoạt động nuôi hàu. Tuy nhiên, nghề nuôi nhuyễn thể (hàu) tỉnh Quảng Ninh cần lưu ý những điểm sau: 1) Nhiệt độ nước hiện tại đang nằm trong giới hạn cho phép mặc dù ở ngưỡng cao, nhưng với hiện tượng nóng lên toàn cầu và tốc độ tăng nhiệt độ ghi nhận được trong vùng thì trong tương lai gần nhiệt độ có thể vượt ngưỡng thích hợp cho hàu sinh trưởng. 2) Có 40% giá trị DO quan trắc thấp dưới ngưỡng cho phép (< 5 mg/L) xuất hiện ở tất cả các khu vực quan trắc thể hiện DO ở khu vực nghiên cứu nhiều thời điểm không đạt yêu cầu, đặc biệt ở huyện Cẩm Phả và Hải Hà. 3) Mặc dù độ mặn nằm trong giới hạn cho phép của quy chuẩn hiện hành nhưng có đến 61% giá trị độ mặn quan trắc được nằm ngoài khoảng tối ưu cho hàu phát triển.

LỜI CẢM ƠN

Nhóm tác giả trân trọng cảm ơn Chi cục Thủy sản tỉnh Quảng Ninh và Tổng cục Thủy sản đã cho phép sử dụng bộ số liệu quan trắc vùng nuôi nhuyễn thể tỉnh Quảng Ninh giai đoạn 2018 - 2022 để phân tích và xuất bản bài báo khoa học này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. FAO (2018). *The State of World Fisheries and Aquaculture 2018 - Meeting the sustainable development goals. Rome.*, Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.

2. Bộ Nông nghiệp và PTNT (2020). Nhuyễn thể hai mảnh vỏ Việt Nam: Hướng tới xuất khẩu trên 6.500 tấn từ năm 2020. https://www.mard.gov.vn/Pages/nhuyen-the-hai-manh-vo-viet-nam-huong-toi-xuat-khau-tren-6500-tan-tu-nam-2020. Truy cập ngày 25/6/2023.

3. Ngọc Thúy (2023). Ngành nghêu: Vượt bão - vươn tầm. https://tongcucthuysan.gov.vn/vi vn/tin- /nganh-ngheu-vuot-bao-vuon-tam. Truy cập ngày 25/6/2023.

4. Chu Khôi (2022). *Ngành nhuyễn thể nhiều triển vọng phát triển nhưng thiếu bền vững*. https://vneconomy.vn/nganh-nhuyen-the-nhieu-trien-vong-phat-trien-nhung-thieu-ben-vung.htm. Truy cập ngày 10/7/2023.

5. Thanh Tuyền (2023). *Quảng Ninh đầu tư lớn phát triển nuôi biển.* https://trangtraiviet.

danviet.vn/quang-ninh-dau-tu-lon-phat-trien-nuoi-bien20230710120112699.htm. Truy cập ngày 15/7/2023.

6. Ngọc Ánh (2022). *Phát triển nuôi trồng thủy sản trên biển Quảng Ninh xứng với tiềm năng lợi thế.* https://baoquangninh.vn/giai-phap-phat-trien-nuoi-trong-thuy-san-tren-bien-quang-ninh-xung-voi-tiem-nang-loi-the-3203586.html. Truy cập ngày 08/6/2023.

7. Nhà Nông Xanh (2022). *Quảng Ninh nâng cao giá trị sản xuất từ nuôi biển.* http://nhanongxanh.vn/box/quang-ninh-nang-cao-gia-tri-san-xuat-tu-nuoi-bien-151075/. Truy cập ngày 10/7/2023.

8. Thi Thu Hang Ngo, Huu Cuong Tran, Hossein Azadi, Philippe Lebailly (2015). *Clam farming risks in Thaibinh province, Vietnam: impacts and causes*. in *Workshop BVulnerable Coastal Areas^, Royal Academy for Overseas Sciences (RAOS) - Belgium*.

9. Hải Ninh (2016). *Vì sao hàng nghìn tấn ngao chết bất thường ở Quảng Ninh?* https://tepbac.com/tin-tuc/full/vi-sao-hang-nghin-tan-ngao-chet-bat-thuong-o-quang-ninh-17318.html. Truy cập ngày 08/7/2023.

10. Phạm Phong (2017). *Người dân hoang mang do thủy sản chuyển màu xanh bất thường.* https://amp.vov.vn/xa-hoi/nguoi-dan-hoang-mang-do-thuy-san-chuyen-mau-xanh-bat-thuong-588377.vov. Truy cập ngày 25/6/2023.

11. Nguyễn Quý (2022). *Quảng Ninh: Đổi mới 2 điều này, nghề nuôi tôm và nuôi biển của xứ Than sẽ tăng trưởng cấp số nhân.* https://danviet.vn/quang-ninh-doi-moi-2-dieu-nay-nghe-nuoi-tom-va-nuoi-bien-cua-xu-than-se-tang-truong-cap-so-nhan-20220325220101561.htm. Truy cập ngày 25/6/2023.

12. Microsoft Coporation (2023), *Microsoft® Excel® for Microsoft 365 MSO (Version 2305 Build 16.0.16501.20074) 64-bit*.

13. Addinsoft (2023). *XLSTAT statistical and data analysis solution*: New York, USA. https://www.xlstat.com.

14. JTMD (2023). *Crassostrea gigas*. JTMD Species Summary.

15. M. Boulais, K. J. Chenevert, A. T. Demey, E. S. Darrow, M. R. Robison, J. P. Roberts, và A. Volety (2017). Oyster reproduction is compromised by acidification experienced seasonally in coastal regions. *Sci Rep*, 7 (1), pp 13276.

16. Gilles Le Moullac, Isabelle Queau, Pierrick Le Souchu, Stephane Pouvreau, Jeanne Moal, Jean -Rene Le Coz, và Jean-Francois Samain (2007). Metabolic adjustments in the oyster Crassostrea gigas according to oxygen level and temperature. *Marine Biology Research*, 3(5), pp 357 - 366.

17. Patrick White, chris cromey, Rune Palerud, Jocelyn Hernandez, Westly Rosario, Regie Regpala và Nelson Lopez (2013). *Mitigating aquaculture impact in the Philippines PHILMINAQ Outputs and Recommendations*.

18. MCNY (2023). *Future City Lab: Oysters and their Habitat*.

19. Claude E. Boyd. (1998). *Water Quality for Pond Aquaculture*, International Center for Aquaculture Aquatic Environments. International Center for Aquaculture and Aquatic Environments. Alabama Agricultural Experiment Station, Auburn University.

20. Chanratchakool P, J. F. Turnbull, S. J. Funge-Smith, I. H. Macrae, C. Limsuwan (2003). *Quản lý sức khỏe tôm trong ao nuôi. Tái bản lần thứ 4. Người dịch: Nguyễn Anh Tuấn, Nguyễn Thanh Phuong, Đặng Thị Hoàng Oanh, Trần Ngọc Hải. Danida - Bộ Thủy sản. Trang 153.*

21. Danielle A. Marshall, Nicholas C. Coxe, Megan K. La Peyre, William C. Walton, F. Scott Rikard, Jennifer Beseres Pollack, Morgan W. Kelly, Jerome F. La Peyre (2021). *Tolerance of*

Northern Gulf of Mexico eastern oysters to chronic warming at extreme salinities. Journal of Thermal Biology, 100, pp 103072.

STUDY THE CHANGES OF WATER QUALITY IN MOLLUSK FARMING AREA IN QUANG NINH PROVINCE PERIOD 2018 - 2022

Nguyen Huu Nghia[1], Do Dinh Minh[2], Pham Thai Giang[1], Phan Trong Binh[1], Tong Tran Huy[1]

[1] Centre for Environment and Disease Monitoring in Aquaculture, Research Institute for Aquaculture No.1

[2] Quang Ninh Provincial Fisheries Sub-Department

Summary

In recent years, the aquatic environment in aquaculture, including molluscs, has shown signs of increasing deterioration and difficult to control caused by pollution of domestic use, agricultural and industrial wastewater, the development of aquaculture activities and the phenomenon of climate change. Those have increased the epidemic of aquatic diseases affecting the yield and production of aquaculture. This study analyses the monitoring data set of molluscs farming areas in Quang Ninh province during the period of 5 years (2018 - 2022) of the Quang Ninh Provincial Fisheries Sub-Department and the Directorate of Fisheries. Research results show that pH, COD, NH_3, NH_4, alkalinity, NO_2 fluctuate but most of them are within recommendation limits, suitable for molluscs culture. The phenomenon of global warming and the rate of temperature increase recorded in the region, in the near future, the temperature may exceed the appropriate threshold for oyster growth, 40% of the observed DO value is below the recommendation threshold, 61% of the observed salinity values outside the optimal range for oyster growth are issues that the province's oyster farming needs to be concerned about.

Keywords*: Monitoring, water quality, molluscs.*

Người phản biện: PGS. TS. Thái Thanh Bình
Ngày nhận bài: 16/7/2023
Ngày thông qua phản biện: 6/9/2023
Ngày duyệt đăng: 28/9/2023

ĐÁNH GIÁ NGUY CƠ XÂM HẠI CỦA TÔM HÙM NƯỚC NGỌT (*Procambarus clarkii*) Ở VIỆT NAM BẰNG CÁC BỘ CÔNG CỤ SÀNG LỌC SINH VẬT NGOẠI LAI XÂM HẠI

Bùi Đắc Thuyết[1, *]

TÓM TẮT

Tôm hùm nước ngọt (*Procambarus clarkii* Girard, 1852) có nguồn gốc ở Bắc Mỹ và được di nhập nuôi ở nhiều nước trên thế giới. Loài này đã được nhiều nước đánh giá, ghi nhận có tính xâm hại cao. Tuy nhiên, một số nguồn tin gần đây ghi nhận loài này vẫn được bán thương phẩm dạng sống ở nước ta. Do vậy, để có cơ sở vững chắc cho việc ngăn chặn, phòng ngừa, diệt trừ loài ngoại lai có nguy cơ xâm hại cao và đưa vào danh mục loài ngoại lai xâm hại, nghiên cứu này sử dụng các bộ công cụ sàng lọc sinh vật ngoại lai xâm hại (AS-ISK và Harmonia$^+$) nhằm đánh giá, sàng lọc nguy cơ xâm hại của *P. clarkii* ở Việt Nam. Kết quả cho thấy *P. clarkii* có nguy cơ xâm hại rất cao ở Việt Nam, với điểm đánh giá BRA = 39,5 cao hơn ngưỡng cảnh báo chung toàn cầu đối với động vật không xương sống nước ngọt (BRA = 13,25) và điểm Harmonia$^+$ 0,794 (so với ngưỡng cảnh báo 0,66). Kết quả nghiên cứu cũng là cơ sở để đề xuất các giải pháp ngăn chặn, phòng ngừa các con đường xâm nhập của loài này vào Việt Nam, góp phần phát triển bền vững ngành thủy sản ở nước ta.

Từ khóa: *Procambarus clarkii, tôm hùm nước ngọt, loài ngoại lai xâm hại, AS-ISK, Harmonia$^+$.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Việt Nam là một trong những quốc gia sở hữu sự đa dạng sinh học (ĐDSH) cao nhất thế giới nhưng cũng đang phải đối mặt với tình trạng suy thoái ĐDSH diễn ra ngày càng lớn [1]. Có rất nhiều nguyên nhân trực tiếp và gián tiếp dẫn tới sự suy thoái ĐDSH ở nước ta như khai thác tài nguyên sinh vật quá mức và bất hợp pháp, chuyển đổi sử dụng đất/mặt nước thiếu cơ sở khoa học, ô nhiễm môi trường, biến đổi khí hậu (BĐKH) và sự du nhập của các loài ngoại lai xâm hại [1, 2]. Do vậy, ngăn ngừa, kiểm soát chặt chẽ và phòng trừ có hiệu quả các loài ngoại lai xâm hại là một trong những nội dung, nhiệm vụ trọng tâm nhằm bảo tồn ĐDSH trong Chiến lược quốc gia về ĐDSH đến năm 2030, tầm nhìn đến năm 2050 [3].

Sinh vật ngoại lai có thể xâm nhập vào Việt Nam theo các con đường có chủ đích (như nhập khẩu phục vụ nuôi, trồng, sản xuất, kinh doanh) hoặc không chủ đích (như du nhập tự nhiên qua biên giới và biển). Một số loài ngoại lai xâm hại như ốc Bươu vàng (*Pomacea canaliculata*), Rùa tai đỏ (*Trachemys scripta*), cá Tỳ bà (*Hypostomis punctatus*), bèo tây (*Eichhornia crassipes*) và đã tác động lớn tới ĐDSH, môi trường, gây thiệt hại về kinh tế và ảnh hưởng tới cuộc sống con người [4]. Trong thời gian gần đây, Tôm hùm nước ngọt (*Procambarus clarkii*) - loài có nguồn gốc ở Bắc Mỹ và được nhiều nước đánh giá, ghi nhận có tính xâm hại cao vẫn được nhập và bán thương phẩm dạng sống ở nước ta [5-7]. Theo điều tra đánh giá tác động của Vũ Thị Hồng Nguyên và cs (2021) cũng đã ghi nhận *P. clarkii* xuất hiện tại các tỉnh, thành phố như: Sơn La, Long An và Cần Thơ [8].

Để quản lý sinh vật ngoại lai tại Việt Nam, Bộ Tài nguyên và Môi trường đã ban hành Thông tư số 35/2018/TT-BTNMT ngày 28 tháng 12 năm 2018 "Quy định tiêu chí xác định và ban hành Danh mục loài ngoại lai xâm hại" [9]. Trên thế giới, các nhà khoa học cũng đã xây dựng một số bộ công cụ hỗ trợ đánh giá sàng lọc nguy cơ xâm hại của sinh vật ngoại lai như AS-ISK [10] và Harmonia$^+$ [11, 12]. Các bộ công cụ này đáp ứng được yêu cầu cơ bản của Ủy ban châu Âu và những công ước quốc tế (như WTO, CBD) về ngăn ngừa và quản lý sự phát tán của các loài ngoại lai xâm hại [10, 13, 14], nên chúng đã và đang được sử dụng rộng rãi ở nhiều nơi trên thế giới. Ví dụ, Harmonia$^+$ đã được sử dụng để đánh giá sàng lọc nguy cơ xâm hại của 102 loài ngoại lai [15], trong

[1] Trường Đại học Tài nguyên và Môi trường Hà Nội
[*] Email: buidacthuyet@gmail.com.

đó có cả các loài thuộc danh mục các loài ngoại lai cần xem xét của châu Âu [16]. AS-ISK đã được sử dụng để đánh giá sàng lọc nguy cơ xâm hai của 819 loài thủy sinh vật ngoại lai thuộc 15 nhóm thủy sinh vật ở nước ngọt, nước lợ và nước mặn trên 120 khu vực thuộc sáu lục địa trên thế giới [17], trong đó có cả ở Việt Nam [18, 19].

Do vậy, nghiên cứu này sử dụng các bộ công cụ AS-ISK và Harmonia+ để đánh giá sàng lọc nguy cơ xâm hại của Tôm hùm nước ngọt (*P. clarkii*) ở Việt Nam - hiện đang thuộc danh mục loài ngoại lai có nguy cơ xâm hại theo Thông tư số 35/2018/TT-BTNMT [9] để có cơ sở vững chắc cho việc xem xét, rà soát danh mục loài ngoại lai xâm hại và có nguy cơ xâm hại ở nước ta.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Đối tượng nghiên cứu là Tôm hùm nước ngọt (*Procambarus clarkii*) (Hình 1) với vị trí phân loại của loài như sau:

Giới: Động vật (Animalia)
Ngành: Động vật Chân khớp (Arthropoda)
Lớp: Giáp xác lớn (Malacostraca)
Bộ: Mười chân (Decapoda)
Họ: Cambaridae
Giống: *Procambarus*
Loài: *Procambarus clarkii* (Girard, 1852).



Hình 1. Tôm hùm nước ngọt (*Procambarus clarkii*)

Nguồn: www.inaturalist.org/photos/161296348

2.2. Phương pháp đánh giá

2.2.1. Đánh giá theo AS-ISK

AS-ISK là bộ công cụ đánh giá nguy cơ xâm hại của các loài thủy sinh vật ngoại lai được Trung tâm khoa học môi trường, nghề cá và nuôi trồng thủy sản (CEFAS) của Vương quốc Anh xây dựng. Bộ công cụ này được xây dựng với 32 ngôn ngữ khác nhau nhằm tạo điều kiện thuận lợi cho người dùng ở các nước trên thế giới [10]. AS-ISK bao gồm 55 câu hỏi nhằm đánh giá nguy cơ xâm hại cơ bản (BRA) và nguy cơ trong bối cảnh BĐKH (CCA). Có 49 câu hỏi BRA, tập trung vào các nội dung địa lý sinh học và lịch sử xâm hại của loài (13 câu hỏi), đặc điểm sinh học, sinh thái của loài (36 câu hỏi). CCA có sáu câu hỏi nhằm đánh giá nguy cơ xâm hại của loài trong bối cảnh BĐKH (Bảng 1).

Bảng 1. Các nội dung đánh giá của AS-ISK

Nội dung đánh giá	Số câu hỏi
A. Địa lý sinh học và lịch sử xâm hại	13
1. Thuần dưỡng/nuôi trồng	3
2. Khí hậu, phân bố và nguy cơ du nhập	5
3. Xâm lấn ở những nơi khác	5
B. Sinh học/sinh thái	36
4. Các đặc điểm không mong muốn (hoặc tồn tại)	12
5. Khai thác tài nguyên	2
6. Sinh sản	7
7. Cơ chế phát tán	9
8. Khả năng chịu đựng	6
C. Biến đổi khí hậu	6
9. Biến đổi khí hậu	6
Tổng	55

Các câu hỏi được đánh giá, trả lời và xác định mức độ tin cậy dựa trên các tài liệu, minh chứng liên quan. Báo cáo về BĐKH và các kịch bản BĐKH tại Việt Nam [20] cũng được sử dụng trong đánh giá CCA của nghiên cứu này. Kết quả đánh giá có điểm BRA dao động từ -20 đến 68 và điểm BRA+CCA dao động từ -32 đến 80. Nếu điểm đánh giá BRA <1, loài được đánh giá là không có nguy cơ xâm hại (nguy cơ thấp). Ngược lại, nếu điểm đánh giá BRA >1 thì loài được xem có nguy cơ xâm hại ở mức trung bình hoặc cao, rất cao dựa theo giá trị ngưỡng được chuẩn hóa cho vùng đánh giá hoặc nhóm loài. Giá trị ngưỡng nguy cơ xâm hại xác định cho nhóm động vật không xương sống nước ngọt theo nghiên cứu của Vilizzi và cs (2021)

[17] được áp dụng trong đánh giá nguy cơ xâm hại của Tôm hùm nước ngọt (Bảng 2).

2.2.2. Đánh giá theo Harmonia⁺

Harmonia⁺ là bộ công cụ đánh giá nguy cơ xâm hại của các loài ngoại lai được Tổ chức Đa dạng sinh học của Vương Quốc Bỉ xây dựng [12]. Harmonia⁺ bao gồm 41 câu hỏi chia theo 11 nội dung khác nhau. Các nội dung đánh giá và số câu hỏi ( ) của mỗi nội dung này gồm: Bối cảnh đánh giá (5), di nhập (3), thiết lập quần đàn (2), phát tán (2), tác động tới môi trường (6), tác động tới thực vật (5), tác động tới động vật (3), tác động tới con người (3), tác động khác (1), tác động tới dịch vụ hệ sinh thái (3), và tác động trong bối cảnh BĐKH (8).

Tương tự như AS-ISK, các câu hỏi trong Harmonia⁺ cũng được đánh giá, trả lời và xác định mức độ tin cậy dựa trên các tài liệu, minh chứng liên quan. Kết quả đánh giá chung có điểm dao động từ 0 tới 1, dựa trên điểm thành phần của các nội dung đánh giá nêu trên (trừ phần bối cảnh đánh giá, tác động tới dịch vụ hệ sinh thái và tác động trong bối cảnh BĐKH). Thang điểm đánh giá nguy cơ xâm hại của loài theo Harmonia⁺ được thể hiện ở bảng 2.

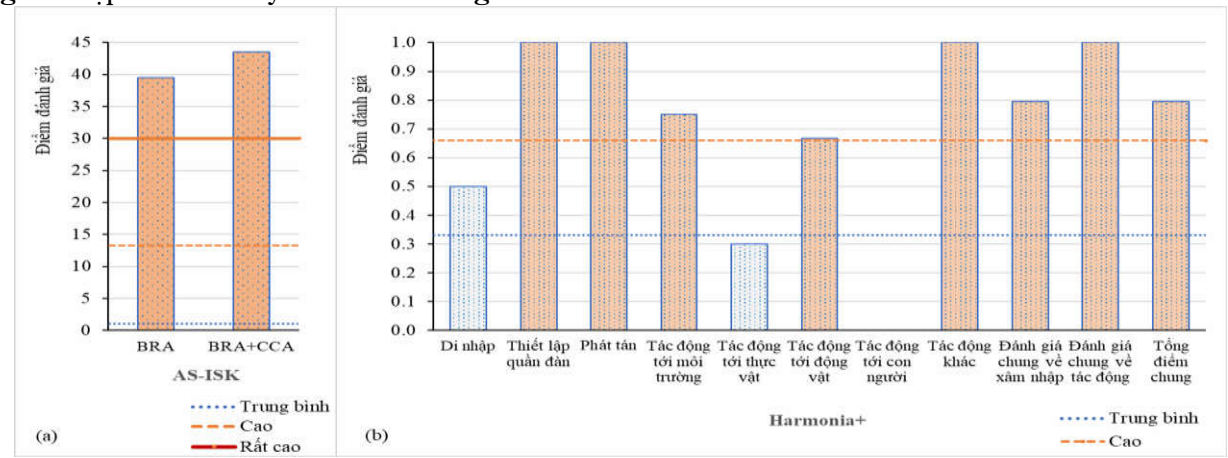
Bảng 2. Thang điểm đánh giá, xếp loại mức độ nguy hại của Tôm hùm nước ngọt (*P. clarkii*) theo AS-ISK [17] và Harmonia⁺ [12]

Thang điểm		Mức độ nguy cơ xâm hại
AS-ISK (BRA)	Harmonia⁺	
-20 – <1	<0,33	Nguy cơ thấp
1 – <13,25	0,33 – 0,66	Nguy cơ trung bình
13,25 – <30	>0,66	Nguy cơ cao
≥30	-	Nguy cơ rất cao

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Đánh giá nguy cơ xâm hại của *P. clarkii*

Kết quả đánh giá nguy cơ xâm hại của *P. clarkii* bằng AS-ISK cho thấy loài này có nguy cơ xâm hại rất cao, với điểm BRA = 39,5 và điểm BRA + CCA = 43,5. Tương tự, kết quả đánh giá bằng Harmonia⁺ cũng cho thấy *P. clarkii* có nguy cơ xâm hại cao (0,794) (bộ công cụ này không thiết lập ngưỡng rất cao như AS-ISK) (Hình 2). Hơn nữa, sử dụng Harmonia⁺ cho kết quả điểm đánh giá ở các nội dung, tiêu chí khác nhau. Cụ thể, khả năng di nhập của loài này có điểm đánh giá ở mức trung bình (0,5) nhưng điểm đánh giá về khả năng thiết lập quần đàn và phát tán của loài ở mức cao (1,0). Như vậy, đánh giá chung về khả năng xâm nhập của *P. clarkii* vào Việt Nam là cao (0,794). Về tác động của loài, kết quả điểm đánh giá bằng Harmonia⁺ cũng cho thấy ngoài những tác động đối với thực vật (0,3) và con người (0) được đánh giá ở mức thấp, tác động của *P. clarkii* tới môi trường (0,74), động vật (0,667) và các lĩnh vực khác (1,0) là cao. Điểm đánh giá chung về tác động của *P. clarkii* cũng ở mức cao (Hình 2b).



Hình 2. Điểm đánh giá nguy cơ xâm hại của Tôm hùm nước ngọt (*P. clarkii*) ở Việt Nam bằng (a) AS-ISK và (b) Harmonia⁺

Kết quả nghiên cứu này cũng phù hợp với các kết quả nghiên cứu trước đây về sử dụng các bộ công cụ như AS-ISK, Harmonia⁺, FI-ISK (sau này được phát triển thành AS-ISK) đánh giá nguy cơ xâm hại của *P. clarkii* ở nhiều nơi khác nhau trên thế giới (Bảng 3). Kết quả đánh giá bằng AS-ISK trong nghiên cứu này được đánh giá ở mức 'rất cao' so với các nghiên cứu trước đây là do phân loại mức nguy cơ xâm hại của loài theo nghiên cứu mới đây của Vilizzi và cs (2021) [17] xác định thêm ngưỡng 'rất cao' khi đánh giá động vật không xương sống nước ngọt bằng AS-ISK.

Bảng 3. Nguy cơ xâm hại của Tôm hùm nước ngọt (*P. clarkii)* theo nghiên cứu này và một số nghiên cứu đánh giá trước đây

Nước/vùng đánh giá	Bộ công cụ sử dụng đánh giá	Mức độ nguy cơ xâm hại	Tài liệu nghiên cứu
Việt Nam	AS-ISK	Rất cao	Nghiên cứu này
	Harmonia⁺	Cao	
Brazil	FI-ISK	Cao	[21]
Hungary	FI-ISK	Cao	[22]
Ý	FI-ISK	Cao	[23]
Vùng giữa Ý và Thụy Sĩ	AS-ISK	Cao	[24]
Vùng Địa Trung Hải	AS-ISK	Cao	[25]
Vương quốc Bỉ	Harmonia⁺	Cao	[11, 15]
Hà Lan	Harmonia⁺	Cao	[26]
Việt Nam	AS-ISK	Cao	[19]

Tôm hùm nước ngọt (*P. clarkii*) được đánh giá là loài có nguy cơ xâm hại cao ở nhiều nơi trên thế giới bởi vì các đặc điểm địa lý sinh học (như sự phân bố, dinh dưỡng, sinh trưởng, sinh sản, tập tính sống…) và những ảnh hưởng của loài tới môi trường, hệ sinh thái thủy vực và một số tác động khác. Về đặc điểm địa lý sinh học, *P. clarkii* là loài có khả năng phân bố và phát tán khá rộng ở nhiều nước thuộc các châu lục khác nhau (như châu Âu, châu Á, châu Phi, Bắc Mỹ và Nam Mỹ) [27]. Loài này có thể sống ở nhiều loại hình thủy vực khác nhau (như ao, hồ, sông, suối, kênh, rạch, đầm, ruộng) với khả năng thích ứng khá tốt với các điều kiện môi trường sống, như khoảng nhiệt độ từ trên ngưỡng nước đóng băng (0°C) tới 35°C [28], độ muối tới 35‰ mặc dù đây là loài có nguồn gốc sống ở nước ngọt [29]. *P. clarkii* cũng được ghi nhận đã thiết lập quần đàn và sinh sản tự nhiên ở nhiều nước không phải là vùng phân bố gốc của loài, bao gồm cả các nước có điều kiện khí hậu khá tương đồng với Việt Nam như Trung Quốc và Thái Lan [30]. Loài này có khả năng thành thục sớm (khoảng 2 tháng tuổi) và có thể tái phát dục 2 - 3 lần trong năm trong điều kiện nước ấm. Con cái có thể đẻ tới hơn 500 trứng và có đặc điểm chăm sóc trứng và con non, làm tăng tỷ lệ sống của con non [28]. Hơn nữa, *P. clarkii* là đối tượng ăn tạp, chúng ăn cả động vật, thực vật, mùn bã hữu cơ trôi nổi và trầm tích [31-33]. Do vậy chúng sẽ ảnh hưởng tới chuỗi thức ăn trong thủy vực, các loài bản địa cũng như hệ sinh thái thủy vực [34-36]. Tập tính đào hang của *P. clarkii* ảnh hưởng rất lớn tới môi trường và hệ sinh thái thủy vực như làm tăng độ đục của nước, thay đổi nền đáy [34], làm hỏng bờ kè, đập, gây sạt lở bờ sông, kênh rạch, và gây rò rỉ nước của ao, hồ, ruộng [37-39].

Một trong những tác động rất được quan tâm là việc di nhập *P. clarkii* có thể làm lây lan mầm bệnh, cả những bệnh nguy hiểm cho các đối tượng thủy sản. Ví dụ, Wang và cs (2005) đã ghi nhận *P. clarkii* có thể nhiễm vi khuẩn *Spiroplasma mirum* từ Cua *Eriocheir sinensis* ở Trung Quốc và như vậy có thể là vật mang truyền bệnh cho các loài giáp xác khác [40]. Nghiên cứu của Oficialdegui và cs (2019) cho thấy *P. clarkii* có thể là vật mang làm tăng nguy cơ nhiễm bệnh nấm *Batrachochytrium dendrobatidis* ở các loài động vật lưỡng cư trong khu bảo tồn tự nhiên ở Tây Ban Nha [41]. Hơn

nữa, những nghiên cứu mới đây cho thấy *P. clarkii* có thể làm tăng nguy cơ bùng phát bệnh vi rút gây hội chứng đốm trắng (WSSV) trên tôm [42-45]. Như vậy, không chỉ ảnh hưởng tới các đối tượng tôm nuôi nước lợ (như tôm sú, tôm thẻ) mà còn có nguy cơ truyền bệnh cho các đối tượng tôm nước ngọt ở nước ta.

3.2. Quản lý nguy cơ xâm hại của *P. clarkii*

Kết quả nghiên cứu cho thấy *P. clarkii* có nguy cơ xâm hại rất cao ở Việt Nam trong khi những thông tin gần đây ghi nhận loài này vẫn được nhập và bán dưới dạng tươi sống [5-7]. Báo cáo điều tra của Vũ Thị Hồng Nguyên và cs (2021) cũng ghi nhận sự xuất hiện của loài này tại một số tỉnh, thành phố như: Sơn La, Long An, Cần Thơ [8]. Do vậy, quản lý việc di nhập và nguy cơ xâm hại của *P. clarkii* là rất cần thiết nhằm giảm thiểu những tác động tiêu cực của loài tới môi trường, hệ sinh thái, bảo vệ đa dạng sinh học và phát triển bền vững ở Việt Nam, cụ thể như:

- Cần ngăn chặn các con đường di nhập *P. clarkii* vào Việt Nam. Việc nhập khẩu *P. clarkii* dưới dạng thủy sản tươi sống bằng những con đường tiểu ngạch, bất hợp pháp cần được kiểm soát chặt chẽ, đặc biệt là tại những vùng biên giới.

- Nâng cao nhận thức cho người dân về nguy cơ xâm hại của *P. clarkii* đối với môi trường, hệ sinh thái thủy vực và những tác động khác mà chúng có thể gây ra. Đồng thời, khuyến khích các bên liên quan (như tiểu thương buôn bán hàng thủy sản tươi sống, chủ các nhà hàng, quán ăn, kể cả người dân) cam kết không buôn bán, sử dụng *P. clarkii* ở dạng tươi sống và không thả chúng ra các thủy vực tự nhiên.

- Cần xem xét và đưa *P. clarkii* vào danh mục loài ngoại lai xâm hại ở Việt Nam để sớm áp dụng các biện pháp ngăn chặn, phòng ngừa, diệt trừ nếu có sự xuất hiện đặc biệt nếu phát hiện chúng trong các thủy vực tự nhiên.

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu, đánh giá nguy cơ xâm hại của *P. clarkii* bằng các bộ công cụ đánh giá, sàng lọc nguy cơ xâm hại của sinh vật ngoại lai như AS-ISK và Harmonia$^+$ cho thấy *P. clarkii* là loài có nguy cơ xâm hại rất cao, có thể gây ra những tác động tiêu cực tới môi trường, hệ sinh thái thủy vực và những tác động khác. Kết quả nghiên cứu đã cung cấp những thông tin hữu ích, là cơ sở khoa học cho việc ngăn chặn, phòng ngừa sự di nhập loài này vào Việt Nam. Các bộ công cụ đánh giá, sàng lọc nguy cơ xâm hại của sinh vật ngoại lai như AS-ISK và Harmonia$^+$ cần được áp dụng làm cơ sở cho việc xem xét, đánh giá và cập nhật danh mục các loài ngoại lai xâm hại và có nguy cơ xâm hại tại nước ta.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Thuaire, B., Allanic, Y., Hoang, V. A., Le, K. Q., Luu, H. T., Nguyen, T. C., and Nguyen, T. T. (2021). *Assessing the biodiversity in Vietnam - Analysis of the impacts from the economic sectors*, WWF - Vietnam, Ha Noi.

2. Bộ Tài nguyên và Môi trường (2021). *Báo cáo tóm tắt tổng kết việc thực hiện chiến lược quốc gia về đa dạng sinh học đến năm 2020, tầm nhìn đến năm 2030*. Hà Nội.

3. Thủ tướng Chính phủ (2022). *Quyết định số 149/QĐ-TTg ngày 28 tháng 01 năm 2022 phê duyệt Chiến lược quốc gia về đa dạng sinh học đến năm 2030, tầm nhìn đến năm 2050*.

4. Bui, T. D. (2021). *Development of national targets for the Vietnam's National Biodiversity Strategy and Action Plan to 2030, vision to 2050 in response to the Convention of Biological Diversity Post-2020 Global Biodiversity Framework - Targets 6 Manage pathways for the introduction of invasive alien species, preventing, or reducing their rate of introduction and establishment by at least 50%, and control or eradicate invasive alien species to eliminate or reduce their impacts, focusing on priority species and priority sites*, WWF - Vietnam, Ha Noi.

5. Chi Linh (2023). *Tôm hùm đất gây hại nhập lậu bán tràn lan*. https://cand.com.vn/Kinh-te/tom-hum-dat-gay-hai-nhap-lau-ban-tran-lan-i694285, truy cập ngày 26/5/2023.

6. Đan Thanh (2023). *Tôm hùm đất ngập chợ mạng dù cấm nhập*. https://thanhnien.vn/tom-hum-dat-ngap-cho-mang-du-cam-nhap. Truy cập ngày 26/5/2023.

7. Minh Trúc (2023). *Tôm hùm đất nguy hại được rao bán tràn lan tiền triệu*. https://plo.vn/tom-hum-dat-nguy-hai-duoc-rao-

ban-tran-lan-tien-trieu-post732810.html. Truy cập ngày 26/05/2023.

8. Vũ Thị Hồng Nguyên, Ngô Sỹ Vân, Nguyễn Đức Tuân, Kim Thị Thoa and Hương, T. T. M. (2021). *Điều tra đánh giá tác động của các loài ngoại lai xâm hại đến môi trường sinh thái và đề xuất các biện pháp quản lý*. Viện nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản 1, Bắc Ninh.

9. Bộ Tài nguyên và Môi trường (2018). *Thông tư số 35/2018/TT-BTNMT ngày 28 tháng 12 về "Quy định tiêu chí xác định và ban hành Danh mục loài ngoại lai xâm hại"*.

10. Copp, G. H., Vilizzi, L., Wei, H., Li, S., Piria, M., Al-Faisal, A. J., … and Mendoza, R. (2021). Speaking their language - Development of a multilingual decision-support tool for communicating invasive species risks to decision makers and stakeholders. *Environmental Modelling & Software*. 135: 104900.

11. D'hondt, B., Vanderhoeven, S., Roelandt, S., Mayer, F., Versteirt, V., Adriaens, T., ... and Branquart, E. (2015). Harmonia⁺ and Pandora⁺: risk screening tools for potentially invasive plants, animals and their pathogens. *Biological Invasions*. 17 (6): 1869 - 1883.

12. D'hondt, B., Vanderhoeven, S., Roelandt, S., Mayer, F., Versteirt, V., Ducheyne, E., ... and Branquart, E. (2014). *Harmonia⁺ and Pandora+: risk screening tools for potentially invasive organisms*. Belgian Biodiversity Platform, Brussels.

13. Roy, H. E., Rabitsch, W., Scalera, R., Stewart, A., Gallardo, B., Genovesi, P., … and Zenetos, A. (2018). Developing a framework of minimum standards for the risk assessment of alien species. *Journal of Applied Ecology*. 55 (2): 526-538.

14. Turbé, A., Strubbe, D., Mori, E., Carrete, M., Chiron, F., Clergeau, P., … and Shwartz, A. (2017). Assessing the assessments: evaluation of four impact assessment protocols for invasive alien species. *Diversity and Distributions*. 23(3): 297-307.

15. Belgian Forum on Invasive Species (2023). *Harmonia database*. Available from: https://ias.biodiversity.be/species/all; Access 28/5/2023.

16. Adriaens, T., Branquart, E., Gosse, D., Reniers, J., and Vanderhoeven, S. (2019). *Feasibility of eradication and spread limitation for species of Union concern sensu the EU IAS Regulation (EU 1143/2014) in Belgium*, Institute for Nature and Forest Research, Service Public de Wallonie, National Scientific Secretariat on Invasive Alien Species, Belgian Biodiversity Platform.

17. Vilizzi, L., Copp, G. H., Hill, J. E., Adamovich, B., Aislabie, L., Akin, D., ... and Clarke, S. (2021). A global-scale screening of non-native aquatic organisms to identify potentially invasive species under current and future climate conditions. *Science of The Total Environment*. 788: 147868.

18. Bui, T. D. (2022). Ecological risk screening of sturgeons introduced for aquaculture in Vietnam. *Fisheries Management and Ecology*. 29(6): 933-943.

19. Ruykys, L., Ta, K. A. T., Bui, T. D., Vilizzi, L., and Copp, G. H. (2021). Risk screening of the potential invasiveness of non-native aquatic species in Vietnam. *Biological Invasions*. 23 (7): 2047-2060.

20. Bộ Tài nguyên và Môi trường (2021). *Kịch bản biến đổi khí hậu*. Nxb Tài nguyên - Môi trường và Bản đồ Việt Nam, Hà Nội, trang 253.

21. Loureiro, T. G., Anastácio, P. M., Bueno, S. L. S., Araujo, P. B., Souty-Grosset, C., and Almerão, M. P. (2015). Distribution, introduction pathway, and invasion risk analysis of the North American crayfish *Procambarus clarkii* (Decapoda: Cambaridae) in Southeast Brazil. *Journal of Crustacean Biology*. 35 (1): 88-96.

22. Weiperth, A., Gál, B., Kuříková, P., Langrová, I., Kouba, A., and Patoka, J. (2019). Risk assessment of pet-traded decapod crustaceans in Hungary with evidence of *Cherax quadricarinatus* (von Martens, 1868) in the wild. *North-Western Journal of Zoology*. 15 (1): e171303.

23. Tricarico, E., Vilizzi, L., Gherardi, F., and Copp, G. (2009). Calibration of FI-ISK, an invasiveness screening tool for nonnative freshwater invertebrates. *Risk Analysis*. 30: 285-92.

24. Paganelli, D., Kamburska, L., Zaupa, S., Garzoli, L., and Boggero, A. (2021). Impacts

analysis of alien macroinvertebrate species in the hydrographic system of a Subalpine Lake on the Italian - Swiss border. *Water*. 13: 3146

25. Tarkan, A. S., Tricarico, E., Vilizzi, L., Bİlge, G., Ekmekçİ, F. G., Filiz, H., … and Copp, G. H. (2021). Risk of invasiveness of non-native aquatic species in the eastern Mediterranean region under current and projected climate conditions. *The European Zoological Journal*. 88 (1): 1130-1143.

26. Lemmers, P., Collas, F. P. L., Gylstra, R., Crombaghs, B., Velde, G. v. d., and Leuven, R. S. E. W. (2021). Risks and management of alien freshwater crayfish species in the Rhine-Meuse river district. *Management of Biological Invasions*. 12 (1): 193 - 220.

27. Ballinger, A. (2022). *Procambarus clarkii* (red swamp crayfish). *CABI Compendium*. CABI Compendium: 67878.

28. Huner, J. V. and Barr, J. E. (1991). *Red swamp crawfish: Biology and exploitation*. Third Edition ed. Louisiana Sea Grant College Program, Baton Rouge, 136 p.

29. Bissattini, A. M., Traversetti, L., Bellavia, G., and Scalici, M. (2015). Tolerance of increasing water salinity in the red swamp crayfish *Procambarus clarkii* (Girard, 1852). *Journal of Crustacean Biology*. 35 (5): 682-685.

30. FAO (2020). *FAO Fisheries and Aquaculture - Database on introductions of aquatic species*, FAO Fisheries and Aquaculture Division.

31. Alcorlo, P., Geiger, W., and Otero, M. (2004). Feeding preferences and food selection of the red swamp crayfish, *Procambarus clarkii*, in habitats differing in food item diversity. *Crustaceana*. 77 (4): 435 - 453.

32. Correia, A. (2003). Food choice by the introduced crayfish *Procambarus clarkii*. *Annales Zoologici Fennici*. 40 (6): 517.

33. Smart, A., Harper, D., Malaisse, F., Schmitz, S., Coley, S., and Gouder, A. C. (2002). Feeding of the exotic Louisiana red swamp crayfish, *Procambarus clarkii* (Crustacea, Decapoda), in an African tropical lake: Lake Naivasha, Kenya. *Hydrobiologia*. 488(1): 129-142.

34. Angeler, D., Sánchez-Carrillo, S., Garcia, G., and Alvarez-Cobelas, M. (2001). The influence of *Procambarus clarkii* (Cambaridae, Decapoda) on water quality and sediment characteristics in a Spanish floodplain wetland. *Hydrobiologia*. 464(1): 89-98.

35. Cruz, M. J., Segurado, P., Sousa, M., and Rebelo, R. (2008). Collapse of the amphibian community of the Paul do Boquilobo Natural Reserve (central Portugal) after the arrival of the exotic American crayfish *Procambarus clarkii*. *The Herpetological Journal*. 18(4): 197-204.

36. Gherardi, F. and Acquistapace, P. (2007). Invasive crayfish in Europe: the impact of *Procambarus clarkii* on the littoral community of a Mediterranean lake. *Freshwater Biology*. 52(7): 1249-1259.

37. Arce, J. and Diéguez-Uribeondo, J. (2015). Structural damage caused by the invasive crayfish *Procambarus clarkii* (Girard, 1852) in rice fields of the Iberian Peninsula: a study case. *Fundamental and Applied Limnology/Archiv für Hydrobiologie*. 186(3): 259–269.

38. Souty-Grosset, C., Reynolds, J., Gherardi, Aquiloni, L., Coignet, Pinet, and Mancha-Cisneros, M. (2014). Burrowing activity of the invasive red swamp crayfish, *Procambarus clarkii*, in fishponds of La Brenne (France). *Ethology Ecology & Evolution*. 26(2-3): 892538.

39. Rodríguez, C., Becares, E., and Fernández-Aláez, M. (2003). Shift from clear to turbid phase in Lake Chozas (NW Spain) due to the introduction of American red swamp crayfish (*Procambarus clarkii*). *Hydrobiologia*. 506-509(1): 421-426.

40. Wang, W., Gu, W., Ding, Z., Ren, Y., Chen, J., and Hou, Y. (2005). A novel Spiroplasma pathogen causing systemic infection in the crayfish *Procambarus clarkii* (Crustacea: Decapod), in China. *FEMS Microbiology Letters*. 249(1): 131-137.

41. Oficialdegui, F. J., Sánchez, M. I., Monsalve-Carcaño, C., Boyero, L., and Bosch, J. (2019). The invasive red swamp crayfish (*Procambarus clarkii*) increases infection of the amphibian chytrid fungus (*Batrachochytrium dendrobatidis*). *Biological Invasions*. 21(11): 3221-3231.

42. Lee, C., Kim, J. H., Choi, S.-K., Jeon, H. J., Lee, S. H., Kim, B. K., … and Han, J. E. (2021). Detection of infectious white spot syndrome virus in red claw crayfish (*Cherax quadricarinatus*) and red swamp crayfish (*Procambarus clarkii*) imported into Korea. *Aquaculture*. 544: 737117.

43. Xue, M., Jiang, N., Fan, Y., Yang, T., Li, M., Liu, W., … and Zhou, Y. (2022). White spot syndrome virus (WSSV) infection alters gut histopathology and microbiota composition in crayfish (*Procambarus clarkii*). *Aquaculture Reports*. 22: 101006.

44. Yuan, G., Zhu, L., Jiang, X., Zhang, J., Pei, C., Zhao, X., Li, L., and Kong, X. (2021). Diagnosis of co-infection with white spot syndrome virus and *Aeromonas veronii* in red swamp crayfish *Procambarus clarkii*. *Aquaculture*. 532: 736010.

45. Neuhaus, H., Pund, R., Runge, M., Kleingeld, D. W., Nardy, E., and Fischer, U. (2022). First report of White Spot Syndrome Virus (WSSV) DNA in red swamp crayfish (*Procambarus clarkii*) in Germany. *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists*. 46(6): 244-254.

RISK SCREENING OF THE POTENTIAL INVASIVENESS OF THE RED SWAMP CRAYFISH (*Procambarus clarkii*) IN VIETNAM BY USING INVASIVE SCREENING TOOLKITS

Bui Dac Thuyet[1]

[1] *Ha Noi University of Natural Resources and Environment*

Summary

The red swamp crayfish (*Procambarus clarkii* Girard, 1852) is native to North America and has been introduced to many countries around the world. The species has been listed as highly invasive by many countries. However, recent reports have indicated that the species is still sold commercially in its live form in Vietnam. Therefore, this study used invasive screening toolkits (AS-ISK and Harmonia$^+$) to screen the potential invasive risks of *P. clarkii* in Vietnam, providing the solid basis for prevention and eradication of invasive alien species as well as listing the species in the list of invasive alien species in Vietnam. The results showed that *P. clarkii* was classified as highly invasive in Vietnam. The BRA score was 39.5, higher than the global threshold (BRA = 13.25) for freshwater invertebrates. The Harmonia$^+$ score was 0.794, compared to the threshold of 0.66. Findings of this study are the basis for proposing solutions to prevent and manage entry routes of this species into Vietnam, contributing to sustainable fisheries development in Vietnam.

Keywords: *Procambarus clarkii, crayfish, invasive alien species, AS-ISK, Harmonia$^+$.*

Người phản biện: PGS.TS. Trần Khắc Định
Ngày nhận bài: 13/7/2023
Ngày thông qua phản biện: 16/8/2023
Ngày duyệt đăng: 29/9/2023

ĐÁNH GIÁ BIẾN ĐỘNG NHÓM CÁ RẠN SAN HÔ TẠI ĐIỂM PHỤC HỒI SAN HÔ KHU VỰC TỐC TAN, TRƯỜNG SA, VIỆT NAM

Trần Văn Hướng[1,*], Nguyễn Văn Hiếu[1], Vũ Quyết Thành[2], Hoàng Thị Thùy Dương[2], Trần Văn Đạt[2], Nguyễn Khắc Bát[1]

TÓM TẮT

Nghiên cứu sự biến động nhóm cá rạn san hô trên các điểm trồng phục hồi san hô nhằm kiểm chứng hiệu quả của việc trồng phục hồi nhóm san hô cứng tại rạn san hô Tốc Tan, thuộc quần đảo Trường Sa, Việt Nam từ năm 2020 đến năm 2022. Kết quả giám sát thành phần loài và biến động nhóm cá rạn san hô trên hai điểm trồng phục hồi được thực hiện bằng phương pháp lặn có khí tài (SCUBA) đã xác định được 160 loài thuộc 91 giống, 37 họ, 17 bộ, 2 lớp cá rạn san hô. Trong đó, lớp cá Vây tia (Actinopteri) chiếm trên 99,38% số loài. Ghi nhận 5 loài cá loài thuộc danh mục Sách Đỏ Việt Nam (2007), 2 loài thuộc Danh mục Đỏ thế giới (2023) và bổ sung 1 loài cho danh mục cá rạn san hô Việt Nam là loài *Calloplesiops altivelis* (Steindachner, 1903) thuộc họ cá Dông (Plesiopidae). Thành phần loài và mật độ cá thể tại các điểm trồng phục hồi đều có xu hướng tăng theo thời gian nghiên cứu. Có 7 họ cá có giá trị kinh tế thường xuyên bắt gặp ở nhóm kích thước từ 10 - 30 cm, chiếm trên 60% và 5 họ cá có giá trị làm cảnh thường xuyên bắt gặp ở nhóm kích thước <20 cm, chiếm trên 80%. Kết quả nghiên cứu này có ý nghĩa quan trọng làm cơ sở đề xuất các giải pháp bảo tồn và sử dụng bền vững nguồn lợi sinh vật biển trong rạn san hô tại các đảo thuộc quần đảo Trường Sa của nước ta.

Từ khóa: *Cá rạn san hô, trồng san hô, đá Tốc Tan, quần đảo Trường Sa.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Đá Tốc Tan (tiếng Anh: Alison Reef) là một rạn san hô vòng thuộc cụm Trường Sa của quần đảo Trường Sa, Việt Nam. Đá Tốc Tan nằm ở vĩ độ $8^0$30'00" Bắc; kinh độ $114^0$02'00" Đông. Cách đảo Đá Đông 78 hải lý về phía Đông. Cụm bãi đá Tốc Tan có chiều dài khoảng 20 km, rộng gần 7 km, diện tích khoảng 140 km^2, thềm san hô phía Bắc rộng rãi tạo thành vành đai, hình thành hồ nước có độ sâu từ 15 - 20 m [1].

Nhóm cá rạn san hô được hiểu là "tất cả các loài cá có đời sống gắn liền với sinh cảnh của rạn san hô trong một giai đoạn nhất định hoặc toàn bộ vòng đời". Cá rạn san hô có vai trò quan trọng trong việc cân bằng hệ sinh thái rạn san hô thông qua việc tham gia vào chuỗi thức ăn. Một số loài cá rạn rất nhạy cảm với sự thay đổi của các yếu tố môi trường, nên chúng được coi như nhóm sinh vật chỉ thị gián tiếp cho sức khỏe của rạn san hô [2]. Như vậy, chúng mối quan hệ rất chặt chẽ với nhau. Sự phân bố của nhóm cá rạn san hô phong phú hay đơn điệu sẽ phản ánh được chất lượng rạn san hô tốt hay không tốt.

Để khắc phục các san hô đang bị suy suy giảm mạnh về độ phủ và thành phần loài các nhà khoa học trên thế giới tập trung vào nhiều phương pháp khác nhau để làm tăng độ phủ của rạn. Ở Việt Nam công tác trồng phục hồi san hô bằng phương pháp tách mảnh giống san hô với kích thước lớn >10 cm từ tự nhiên để gắn vào nền rạn đã được nghiên cứu thực hiện khoảng hơn 20 năm trở lại đây ở các đảo ven bờ điển hình như ở Vườn Quốc gia Côn Đảo (2001), Cát Bà (2004), Cồn Cỏ (2011 - 2012), Cát Bà (2016 - 2019), Bạch Long Vĩ (2019 - 2020). Năm 2020, Viện Nghiên cứu Hải sản phối hợp với Trung tâm Nhiệt đới Việt - Nga tiến hành nghiên cứu đa dạng sinh học các hệ sinh thái biển khu vực quần đảo Trường Sa và thử nghiệm trồng phục hồi một số loài san hô cứng tại một số điểm rạn san hô Tốc Tan. Kết quả nghiên cứu bước đầu về sự tăng trưởng và tỷ lệ sống của các loài san hô trồng tương đối khả quan. Việc đánh giá hiệu quả trồng san hô thông qua thành diễn biến thành phần loài và mật độ nhóm sinh vật chỉ thị cho sức

[1] Viện Nghiên cứu Hải sản
[2] Trung tâm Nhiệt đới Việt - Nga
[*] Email: tvhuong@rimf.org.vn

khỏe rạn thông qua nhóm cá rạn san hô được thực hiện đồng thời với quá trình trồng và giám sát tăng trưởng.

Kết quả nghiên cứu này lần đầu tiên được thực hiện ở một đảo xa bờ và đặc biệt hơn nữa là triển khai ở khu vực quần đảo Trường Sa. Tuy hiện trạng rạn bị tác động nhiều bởi các yếu tố bất lợi của điều kiện tự nhiên như bão gió, yếu tố chủ quan như việc rất hạn chế trong việc trông coi, bảo vệ trước các tàu lặn khai thác hải sản tự do. Tuy nhiên, số liệu thu được trong thời gian thử nghiệm đã phản ánh rất đầy đủ và chi tiết thực trạng thành phần loài và mật độ nhóm cá rạn san hô trên các điểm trồng phục hồi tại rạn san hô Tốc Tan. Đây là cơ sở khoa học cho việc đề xuất các giải pháp bảo tồn và sử dụng bền vững các hệ sinh thái rạn san hô ở quần đảo Trường Sa trong tương lai.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Nhóm cá rạn san hô phân bố trong khu vực giám sát.

2.2. Địa điểm và thời gian nghiên cứu

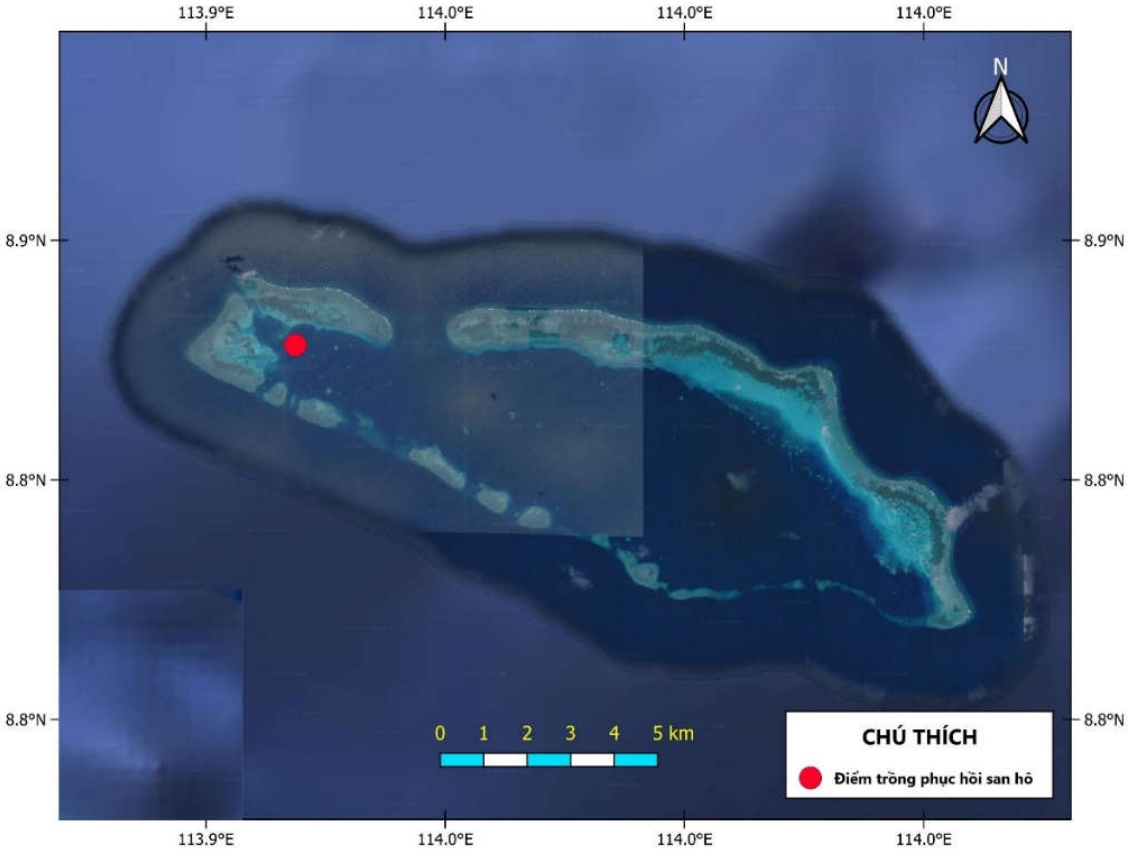
2.2.1. Địa điểm nghiên cứu

- Khu vực phục hồi: Tại gò ngầm phía Tây bãi cạn Tốc Tan có tọa độ vị trí địa lý: Kinh độ: 113˚58'13"E; vĩ độ: 08˚48'40"N. Triển khai trồng phục hồi tại 2 điểm khác nhau:

+ Đới nông: từ 4 - 7 m nước (Ký hiệu Điểm 1);

+ Đới sâu: từ 8 - 13 m nước (Ký hiệu Điểm 2).

- Diện tích khoanh vùng giám sát cá hai điểm là 1.200 m^2 rạn san hô.



Hình 1. Khu vực phục hồi và khoanh vùng giám sát tại rạn Tốc Tan, Trường Sa

2.2.2. Thời gian và chỉ tiêu theo đánh giá

Thời gian: Lần I tháng 10 năm 2020, lần II tháng 4 năm 2021 và lần III tháng 8 năm 2022.

Chỉ tiêu đánh giá: Giám sát thành phần loài và biến động mật độ nhóm cá rạn san hô.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

Xác định tọa độ, vị trí các mặt cắt khảo sát tại mỗi địa điểm nghiên cứu bằng máy định vị vệ tinh GPS làm cơ sở cho việc xây dựng bản đồ phân bố và chuẩn hoá các nguồn số liệu, thông tin thu mẫu thu thập ngoài thực địa.

Thu mẫu định tính: Thu mẫu bằng hình thức câu và đánh lưới trực tiếp tại điểm nghiên cứu.

Thu mẫu định lượng: Thu các số liệu định lượng về phân bố, thành phần loài, biến động mật độ cá thể trong quần xã cá rạn san hô bằng phương pháp lặn quan sát trực tiếp kết hợp với máy quay phim và chụp ảnh dưới nước theo phương pháp của English và cs [3]. Tại mỗi điểm giám sát (Điểm 1 và Điểm 2) tiến hành cố định một dây mặt cắt có độ dài 100 m từ đầu khu vực trồng san hô đến cuối khu vực trồng san hô, các lần giám sát chỉ thực hiện trên khu vực đã cố định sẵn dây ban đầu. Theo phương pháp này thì trên mỗi đoạn dây 100 m được chia thành 4 đoạn, mỗi đoạn có chiều dài 20 m và hai đoạn cách nhau 5 m. Chiều dài của dây mặt cắt sử dụng cho nghiên cứu là 100 m, độ rộng quan sát 2,5 m mỗi bên. Như vậy, mỗi mặt cắt khảo sát sẽ quét qua một vùng rạn có diện tích 500 m^2.

Cách thức tiến hành: Thợ lặn nghiên cứu về cá tiến hành công việc trước, ghi lại tất cả các loài cá có trên các phân đoạn mặt cắt. Các số liệu thu thập gồm có: Tên loài (nếu có thể), mật độ, chiều dài toàn thân ước tính (TL) và tập tính phân bố trên các tập đoàn san hô. Sau khi hoàn thành thu thập số liệu trên dây mặt cắt, thợ lặn tiến hành bơi xung quanh bên ngoài dây để ghi nhận những loài cá chưa bắt gặp trên dây để bổ sung vào danh mục thành phần loài của điểm khảo sát. Thời gian điều tra mỗi dây mặt cắt dài 100 m dao động từ 50 - 60 phút tùy thuộc vào điều kiện của rạn và được tiến hành trong khoảng thời gian từ 9:00 - 14:00 giờ. Bên cạnh đó, đã tiến hành chụp ảnh các loài cá trong từng trạm khảo sát để so sánh đối chiếu sau này.

2.4. Phương pháp phân loại

Mẫu vật được thu thập được cố định và chụp ảnh; các tư liệu ảnh chụp và quay phim trong quá trình khảo sát và giám sát được phân tích tại Phòng thí nghiệm Sinh học biển của Viện Nghiên cứu Hải sản.

Công tác định danh loài (tại hiện trường và phòng thí nghiệm) dựa theo phương pháp phân loại hình thái, theo các tài liệu phân loại của các nghiên cứu của Nguyễn Hữu Phụng và cs (1994, 1997, 1995, 1999 [4 - 8], Lieske và cs (1996) [9]. Nakabo (2002) [10], Alen (2003) [11], Fricke và cs (2023) [12].

2.5. Phương pháp xử lý số liệu

Mật độ cá rạn san hô được tính theo mật độ tổng số và theo từng nhóm kích cỡ (chiều dài toàn thân) < 10 cm, < 20 cm, < 30 cm và ≥ 30 cm. Số liệu mật độ cá rạn san hô được quy về số cá thể/500 m^2 và tính giá trị trung bình ± sai số chuẩn (Standard Error) - (Trung bình ± S.E).

Số liệu được phân tích trên phần mềm Microsoft Excel 2010. Sử dụng phần mềm Mapinfor v 7.5 và QGIS (Ver 3.24) để vẽ bản đồ vị trí mặt cắt khảo sát.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

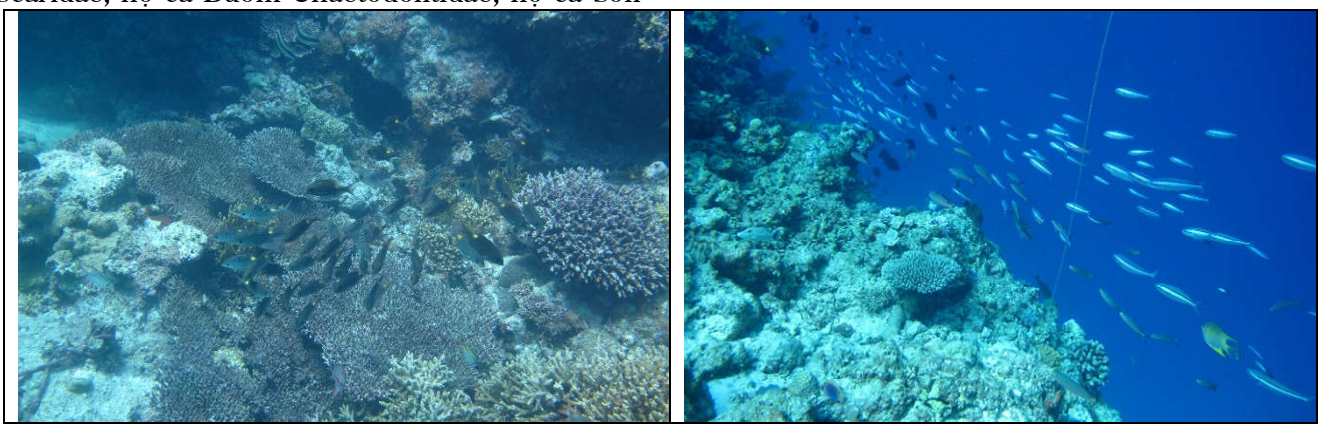
3.1. Đa dạng thành phần loài

Tổng hợp phân tích kết quả nghiên cứu 3 chuyến khảo sát của năm 2020, năm 2021 và năm 2022 đã thống kê được ở 2 khu vực trồng phục hồi san hô tại rạn ngầm Tốc Tan có 160 loài thuộc 91 giống, 37 họ, 17 bộ, 2 lớp. Trong đó, lớp cá Vây tia (Actinopteri) có số lượng loài nhiều nhất với 159 loài (chiếm 99,38% tổng số loài), lớp cá mập, cá đuối (Elasmobranchii) chỉ có 1 loài (chiếm 0,62% tổng số loài) [12]. So sánh với kết quả nghiên cứu của Trần Văn Hướng, Nguyễn Văn Hiếu [13] tại khu vực trồng và giám sát rạn san hô tại đảo Cát Bà từ năm 2014 đến năm 2018 nhận thấy có sự chênh lệch không lớn về số lượng loài (8 loài). Tuy vậy, nếu xét về cấu trúc thành phần loài quần xã thì có sự khác nhau vì Cát Bà đặc trưng bởi khu hệ cá ven bờ còn Tốc Tan đặc trưng cho khu hệ cá biển khơi. Ngoài ra, sự khác nhau còn phải kể đến phạm vi không gian và thời gian nghiên cứu. Nghiên cứu tại Cát Bà điều tra trên phạm vi rộng 1 lần (toàn quần đảo) và đánh giá trên 8 khu vực trồng và giám sát san hô trong 4 lần, trong khi đó ở đảo Tốc Tan phạm vi và số điểm khảo sát đều nhỏ hơn.

Trong tổng số 17 bộ cá ghi nhận, bộ cá Vược (Perciformes) có số loài nhiều nhất là 84 loài (chiếm 52,50%), bộ cá đuôi gai (Acanthuriformes) có 33 loài (chiếm 20,63%), bộ cá Nóc (Tetraodontiformes) có 11 loài (chiếm 6,88%), 14 bộ còn lại có số lượng loài dao động từ 1 - 8 loài (chiếm tổng số 20,00%) [12].

Xét về bậc phân loại họ cá thì họ cá Thia Pomacentridae có số lượng loài nhiều nhất là 23 loài (chiếm 14,38%), họ cá Bàng chài Labridae có 21 loài (chiếm 13,13%), họ cá Đuôi gai

Acanthuridae có 16 loài (chiếm 10,00%), họ cá Mú Serranidae có 13 loài (chiếm 8,13%), họ cá Mó Scaridae, họ cá Bướm Chaetodontidae, họ cá Sơn đá Holocentridae đều có 8 loài (chiếm 5,00%) các họ còn lại có từ 1 - 6 loài.



Hình 2. Một số đàn cá phân bố tại điểm trồng san hô Tốc Tan, Trường Sa

Số liệu thống kê được tổng số 15 họ với tổng số 36 loài (chiếm khoảng 23% số loài) bắt gặp thường xuyên tại 2 điểm trồng phục hồi san hô ở cả 3 năm khảo sát. Trong đó, họ cá Thia xuất hiện nhiều nhất với 8 loài; họ cá Bàng chài có 6 loài; họ cá đuôi gai có 4 loài, họ cá Phèn có 3 loài; họ cá Hè, cá Hồng, cá Mó và cá Mú đều có 2 loài; các họ còn lại ghi nhận xuất hiện 1 loài (Bảng 1).

Bảng 1. Một số họ cá thường xuyên ghi nhận ở cả 3 năm nghiên cứu

TT	Tên tiếng Việt	Tên tiếng Anh	Số lượng loài
1	Họ cá Thia	Pomacentridae	8
2	Họ cá Bàng chài	Labridae	6
3	Họ cá Đuôi gai	Acanthuridae	4
4	Họ cá Phèn	Mullidae	3
5	Họ cá Hè	Lethrinidae	2
6	Họ cá Hồng	Lutjanidae	2
7	Họ cá Mó	Scaridae	2
8	Họ cá Mú	Serranidae	2
9	Họ cá miền	Caesionidae	1
10	Họ cá Bướm	Chaetodontidae	1
11	Họ cá Sơn đá	Holocentridae	1
12	Họ cá Bống biển sâu	Microdesmidae	1
13	Họ cá Bò giấy	Pomacanthidae	1
14	Họ cá Nóc	Tetraodontidae	1
15	Họ cá Thù lù	Zanclidae	1
	Tổng số loài		36

- *Danh sách loài quý hiếm:* Đánh giá giá trị loài quý hiếm thông qua Sách Đỏ Việt Nam (2007) [14] và Danh mục Đỏ thế giới (2023) [15] nghiên cứu ghi nhận có 5 loài trong tổng số 160 loài trong danh mục. Trong đó có 5 loài trong Sách Đỏ Việt Nam (2007) [14] chỉ có loài cá kèn Trung Quốc là ở cấp độ EN (loài nguy cấp), 4 loài còn lại được xếp ở cấp độ VU (loài sắp nguy cấp) và 2 loài thuộc Danh mục Đỏ thế giới (2023) [15] đều thuộc cấp độ VU (Bảng 2).

Bảng 2. Danh sách các loài thuộc Sách Đỏ Việt Nam (2007) và Danh mục Đỏ thế giới (2023) tại Tốc Tan

TT	Tên khoa học	Tên tiếng việt	Cấp đe dọa	
			Sách Đỏ Việt Nam (2007)	IUCN (2003)
I	Serranidae	Họ cá mú		
1	*Anyperodon leucogrammicus* (Valenciennes, 1828)	Cá sọc trắng	VU A1c, d B1+2c	
II	Labridae	Họ cá Bàng chài		
2	*Thalasoma lunare* (Linnaeus, 1758)	Cá bàng chài đầu đen	VU A1d B2b+3c	
III	Aulostomidae	Họ cá Mõm ống		
3	*Aulostomus chinensis* (Linnaeus, 1766)	Cá kèn Trung Quốc	EN A1 B2b + 3c	VU
IV	Monacanthidae	Họ cá Bò Giấy		
4	*Oxymonacanthus longirostris* (Bloch & Schneider, 1801)	Cá Bò xanh hoa đỏ	VU A1d B2b,e	VU
V	Pomacanthidae	Họ cá bướm gai		
5	Pygoplites diacanthus (Boddaert, 1772) (Hình 3.A)	Cá chim xanh nắp mang tròn	VU A1d B2b+3c	

Ghi chú: EN: Loài có nguy cơ tuyệt chủng rất lớn; VU: Loài có nguy cơ tuyệt chủng lớn.

Kết quả phân tích mẫu đã phát hiện 01 loài cá rạn san hô là loài *Calloplesiops altivelis* (Steindachner, 1903) thuộc họ cá Dông (Plesiopidae) (Hình 3.B). Ghi nhận mới bổ sung cho danh mục san hô mới cho Danh mục cá rạn san hô 19 đảo thuộc vùng biển Việt Nam của Đỗ Văn Khương và cs (2016) [16].



A. Loài *Oxymonacanthus longirostris* B. Loài *Calloplesiops altivelis*

Hình 3. Cá rạn san hô thuộc loài nguy cấp quý hiếm tại Tốc Tan

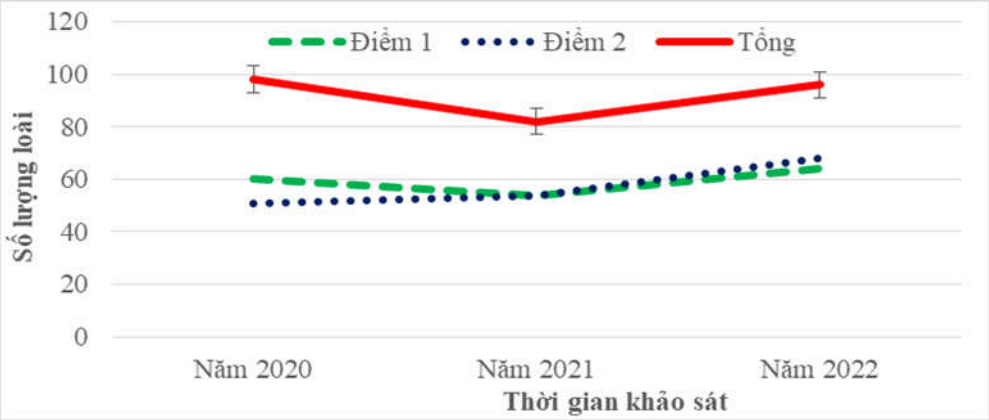
3.2. Đánh giá biến động

3.2.1. Biến động thành phần loài

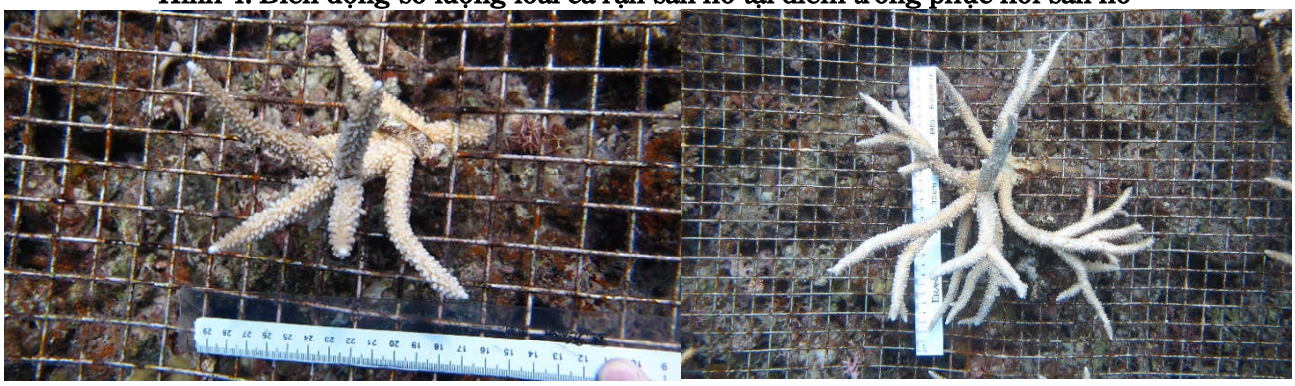
Kết quả giám sát tại 2 điểm trồng san hô cho thấy; tổng số loài cá rạn san hô có sự biến động nhẹ nhưng nhìn chung không có sự chênh lệch nhiều, dao động từ 96 - 98 loài (Hình 4). Thành phần loài cá rạn san hô chi tiết tại hai điểm đều tăng, điểm trồng số 2 có độ sâu dao động từ 8 - 13 m với số loài tăng là 17, gấp khoảng 4 lần so với điểm số 1. Sự khác biệt này có thể lý giải do ban đầu thời gian theo dõi trồng phục hồi ngắn (6 tháng sau khi trồng) nên môi trường sống chưa ổn định và san hô trồng chưa phát triển mạnh; lần khảo sát thứ 3 thời gian trồng dài (16 tháng so với đợt 2 và 22 tháng so với khi mới trồng trồng) (Hình 4) nên các tập đoàn san hô trồng phát triển mạnh thành những tập đoàn lớn, thu hút nhiều loài cá sinh sống. Mặt khác, sự khác biệt số lượng loài ở hai điểm trồng có thể do sự chênh lệch về độ sâu của nền rạn cũng góp phần có sự gia tăng số lượng

loài. Do đặc thù cấu trúc rạn, nền đáy và nước ở khu vực đảo Trường Sa có độ trong lớn nên sự phát triển của rạn san hô ở độ sâu từ trên 8 m trở xuống rất tốt do ít phải chịu ảnh hưởng của sóng tầng mặt.

Kết quả giám sát tại Cát Bà số loài dao động từ 45 - 50 loài [13] thấp hơn so với kết quả nghiên cứu tại Tốc Tan. Tuy nhiên, có một điểm chung là trước khi trồng phục hồi thì số lượng loài thường cao hơn so với đợt giám sát lần đầu, sau các lần giám sát tiếp theo số lượng loài mới tăng và cao nhất ở lần giám sát cuối. Như vậy, điều đó phần nào phản ánh được tác động có lợi của việc trồng phục hồi san hô ở hai khu vực trên.



Hình 4. Biến động số lượng loài cá rạn san hô tại điểm trồng phục hồi san hô



Tháng 4 năm 2021 - Khung Y5 Tháng 10 năm 2022 – Khung Y5



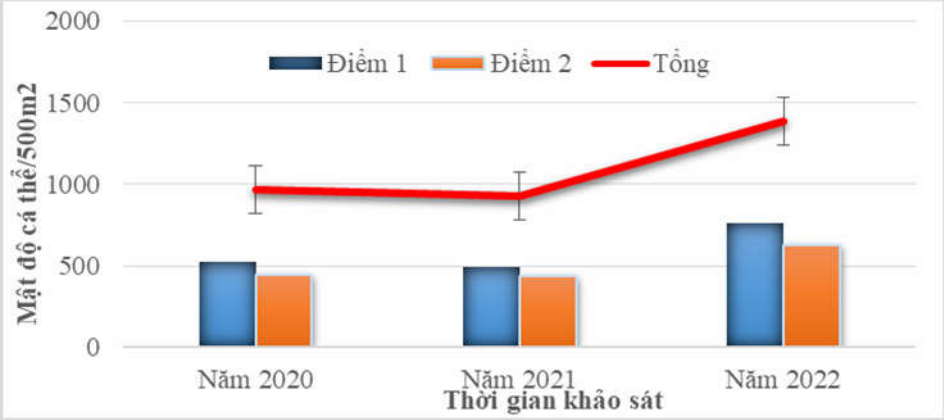
Năm 2020(10.2020)-Khung L Năm 2021 (4.2021) Năm 2021 (10.2021)

Hình 5. Sự phát triển của san hô trồng theo thời gian tại khung Y5 và Khung L

3.2.2. Biến động mật độ cá thể

Mật độ trung bình cá rạn san hô có xu hướng tăng rõ rệt nhất theo thời gian, dao động từ 968 cá thể/500 m^2 (năm 2020) đến 1.387 cá thể/500 m^2 (năm 2022). Xu hướng tăng này cũng được thể hiện ở hai điểm trồng san hô. Giai đoạn đầu mật độ cá thể không có sự thay đổi nhiều nhưng sau lần khảo sát đợt 3 thì cả hai điểm đều ghi nhận tăng với điểm trồng số 1 có mật độ cá thể tăng nhiều hơn ở điểm số 2 ở cả 3 đợt khảo sát (Hình 6). So sánh với khu vực trồng san hô tại Cát Bà thì mật độ cá rạn tại Tốc Tan cao hơn từ 2,6 - 7,2 lần nhưng sau thời gian trồng phục hồi thì mật độ cá rạn đều có xu hướng tăng. Tại Cát Bà mật độ trung

bình ghi nhận tăng khoảng 4 lần, tại Tốc Tan ghi nhận tăng khoảng 1,4 lần [13]. Nhìn chung, trong khu vực trồng phục hồi san hô đã ghi nhận sự gia tăng mật độ các loài cá rạn, điều đó càng khẳng định hiệu quả của việc trồng phục hồi san hô.



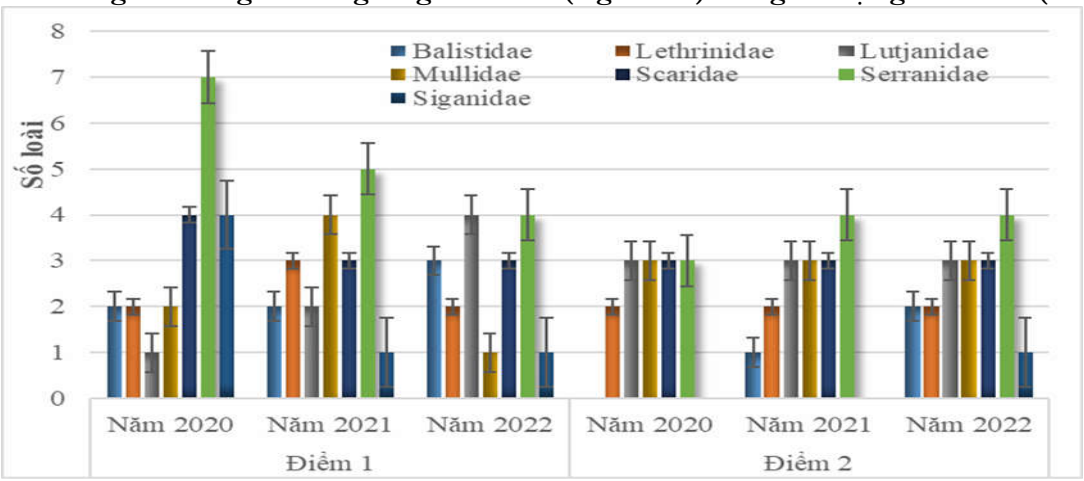
Hình 6. Biến động mật độ cá thể cá rạn san hô tại điểm trồng phục hồi san hô

3.3. Biến động một số nhóm cá điển hình

3.3.1. Biến động nhóm cá có giá trị kinh tế

- Biến động thành phần loài

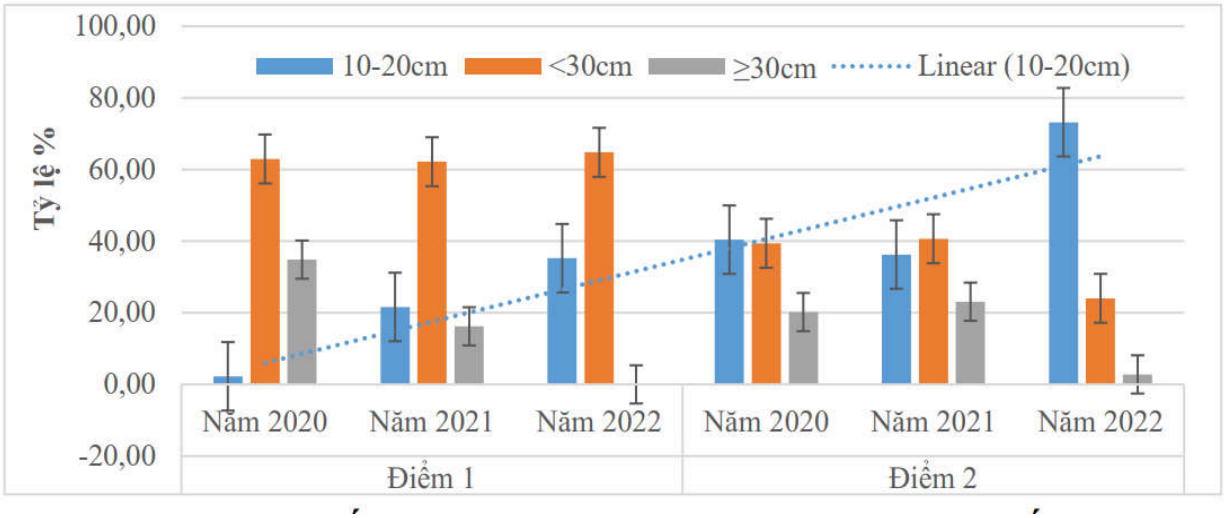
Trong phạm vi nghiên cứu đã tiến hành lựa chọn 7 họ cá rạn san hô có giá trị kinh tế và điển hình như họ cá Bò (Balistidae), họ cá Hè (Lethrinidae), họ cá Hồng (Lutjanidae), họ cá Phèn (Mullidae), họ cá Mó (Scaridae), họ cá Mú (Serranidae) và họ cá Dìa (Siganidae) để đánh giá sự biến động thành phần số lượng cũng như mật độ từ trước và trong khi trồng và thời gian giám sát sau khi trồng. Kết quả phân tích tại 2 điểm trồng sau 3 đợt đánh giá cho thấy xu hướng tăng số lượng loài ở hầu hết cá họ cá kinh tế. Tại điểm số 2, tuy số lượng loài ghi nhận không nhiều như điểm số 1 như sự gia tăng rõ rệt nhất, có sự xuất hiện thêm của một số loài cá Bò (Balistidae) và họ cá Dìa (Siganidae) mà ở đợt khảo sát năm 2020 và năm 2021 không gặp. Tại điểm số 1, ghi nhận họ có Hồng (Lutjanidae) tăng 3 loài so với ban đầu; ngược lại họ cá Mú (Serranidae) và họ cá Dìa (Siganidae) đều ghi nhận giảm 3 loài (Hình 7).



Hình 7. Biến động số loài của nhóm cá có giá trị kinh tế

- Biến động tỷ lệ % nhóm kích thước nhóm cá có giá trị kinh tế

Đánh giá mật độ nhóm kích thước của 7 họ cá kinh tế thường gặp cho thấy có sự khác nhau rõ rệt ở cả hai điểm nghiên cứu. Tại điểm 1 thì nhóm cá có kích thước từ 20 - 30 cm chiếm ưu thế (chiếm trên 60%) ở cả 3 đợt nghiên cứu. Tại điểm 2 số lượng lớn tập chung ở cả hai nhóm kích thước từ 10 - 20 cm và từ 20 - 30 cm. Phân tích sự biến động mật độ cá thể của 7 họ cá kinh tế cho thấy, nhóm cá thuộc có kích thước từ 10 - 20 cm tăng mạnh nhất ở cả hai điểm. Ngược lại, nhóm cá có kích thước từ 30 cm trở lên có xu hướng giảm ở cả hai điểm nghiên cứu. Như vậy, cả hai điểm trồng phục hồi nhóm cá có kích thước từ 10 - 30 cm chiếm ưu thế và có xu hướng tăng mạnh (Hình 8).

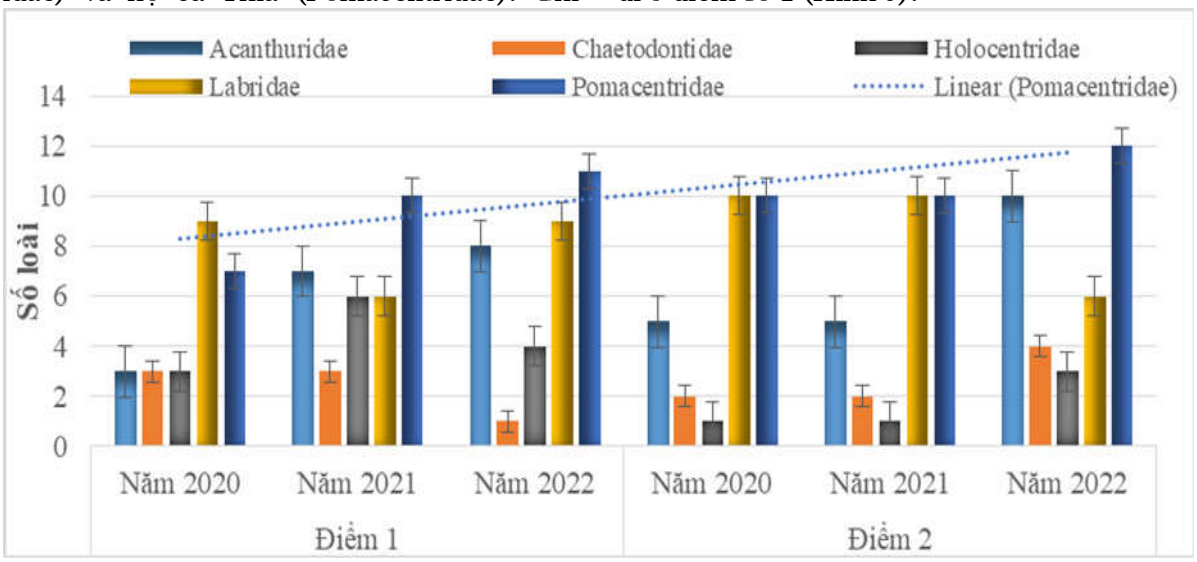


Hình 8. Biến động kích thước nhóm cá có giá trị kinh tế

3.3.2. Biến động nhóm cá cảnh

- Biến động thành phần loài

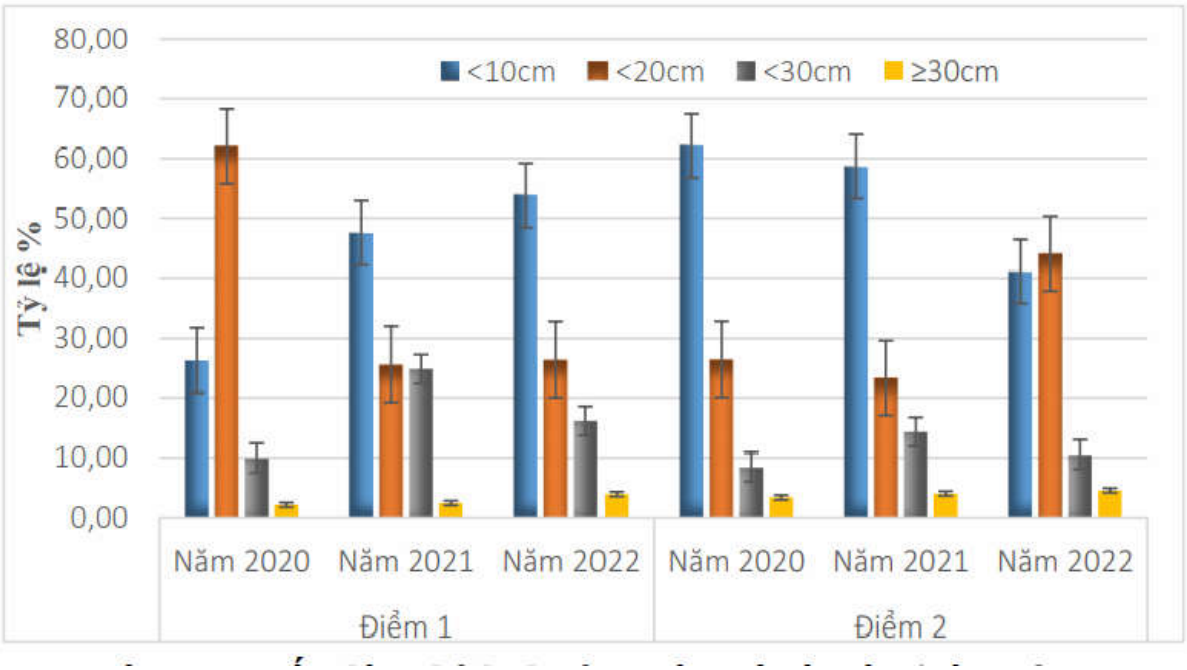
Với nhóm cá có giá trị làm cảnh, nghiên cứu lựa chọn một số họ cá thường gặp, màu sắc đẹp, chiếm ưu thế về số lượng loài và mật độ cá thể để phân tích. Các họ cá đó bao gồm họ cá Đuôi gai (Acanthuridae), họ cá Bướm (Chaetodontidae), họ cá Sơn đá (Holocentridae), họ cá Bàng chài (Labridae) và họ cá Thia (Pomacentridae). Ghi nhận họ cá Thia và họ cá Bàng chài có số lượng loài nhiều nhất ở cả hai điểm, họ cá Bướm và họ cá Sơn đá có số loài ít nhất. Đánh giá sự biến động số lượng loài thì ghi nhận xu hướng đều tăng ở cả hai điểm nghiên cứu. Đã ghi nhận sự tăng nhiều nhất ở cả hai điểm là họ cá Đuôi gai tăng gần 3 lần ở điểm số 1 và tăng 2 lần ở điểm số 2. Họ cá Bướm có xu hướng tăng lên ở điểm số 2 nhưng lại giảm đi ở điểm số 1 (Hình 9).



Hình 9. Biến động thành phần loài nhóm cá có giá trị làm cảnh

- Biến động tỷ lệ % nhóm kích thước nhóm cá cảnh

Với nhóm cá có giá trị làm cảnh ghi nhận nhóm kích thước <10 cm và nhóm <20 cm, chiếm trung bình trên 80% ở tất cả các điểm và các đợt khảo sát, thấp nhất là nhóm có kích thước từ 30 cm trở lên, dao động từ 1,98 - 4,41%. Tại điểm 1 nhóm cá có kích thước <10 cm tăng mạnh nhất từ 26,17 - 53,79%, giảm mạnh nhất thuộc nhóm kích thước <20 cm, trong khi đó ở điểm 2 thì xu hướng ngược lại. Nhóm cá có kích thước từ 30 cm trở lên tuy số lượng không đáng kể nhưng có xu hướng tăng đều ở toàn bộ thời gian nghiên cứu (Hình 10). Như vậy, với nhóm cá có giá trị làm cảnh tập nhóm kích thước nhỏ hơn 20 cm có số lượng lớn và tăng mạnh về mật độ theo thời gian khảo sát.



Hình 10. Biến động kích thước nhóm cá có giá trị làm cảnh

Như vậy, trong thời gian 3 năm giám sát sự biến động nhóm cá rạn san hô trên khu vực trồng san hô tại rạn san hô Tốc Tan đã ghi nhận số lượng loài trên hai điểm trồng đều tăng. Thành phần loài nhóm cá có giá trị kinh tế và nhóm cá cảnh đều gia tăng cả về số lượng loài và mật độ. Như vậy, bước đầu cho thấy việc trồng san hô góp phần tạo môi trường sống giúp gia tăng số lượng và mật độ của tất cả các nhóm cá rạn thường gặp.

4. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

4.1. Kết luận

Trên khu vực trồng phục hồi san hô đã xác định được 160 loài cá rạn san hô thuộc 91 giống, 37 họ, 17 bộ, 2 lớp. Trong đó, lớp cá Vây tia (Actinopteri) chiếm 99,38% số loài.

Xác định được 5 loài thuộc Danh mục Sách Đỏ Việt Nam (2007), trong đó 1 loài ở cấp độ EN, 4 loài ở cấp độ VU và 2 loài thuộc Danh mục Đỏ thế giới (2023) cấp độ VU. Ghi nhận một loài *Calloplesiops altivelis* (Steindachner, 1903) thuộc họ cá Dông (Plesiopidae) bổ sung cho danh mục cá rạn san hô Việt Nam.

Thành phần loài và mật độ cá rạn san hô tại hai điểm trồng đều có xu hướng tăng theo thời gian khảo sát.

Xác định được 7 họ cá có giá trị kinh tế thường gặp với số lượng loài đều có xu hướng tăng nhẹ và nhóm kích thước từ 10 – 30 cm chiếm ưu thế ở tất cả các lần khảo sát; 5 họ cá có giá trị làm cảnh thường gặp có số lượng loài tăng đồng đều hơn nhóm cá có giá trị kinh tế và nhóm kích thước tập chung chủ yếu ở nhóm < 20 cm.

4.2. Kiến nghị

Cần tiếp tục các nghiên cứu khoa học ở tất cả các đảo và rạn san hô tại quần đảo Trường Sa;

Thành lập một số khu bảo tồn biển thuộc quần đảo Trường Sa góp phần bảo tồn các rạn san hô cũng như bảo tồn đa dạng sinh học, các loài động vật có giá trị kinh tế cao và quí hiếm như tôm hùm, ốc tù và, hải sâm, trai tai tượng, san hô đen, san hô trúc, … đồng thời mở rộng thực hiện nghiên cứu thử nghiệm trồng phục hồi san hô tại nhiều điểm của các rạn san hô Tốc Tan và một số đảo khác thuộc quần đảo của Trường Sa trước thực trạng hầu hết rạn san hô ở đây đang bị suy thoái.

LỜI CẢM ƠN

Để hoàn thành bài báo này, nhóm tác giả chân thành cảm ơn Viện Nghiên cứu Hải sản, Trung tâm Nhiệt đới Việt - Nga và Ban chủ nhiệm đề tài: "Nghiên cứu các hệ sinh thái biển khu vực quần đảo Trường Sa làm cơ sở đề xuất các giải pháp bảo

tồn và sử dụng bền vững" đã hỗ trợ về kinh phí và cho phép sử dụng số liệu để hoàn thành bài báo này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Phước Liêu (2019). Biển đảo quê hương đảo Tốc Tan. https://www.baosoctrang.org.vn/bien-dao-que-huong/dao-toc-tan-32075.html, truy cập 10/5/2023.

2. Michael King (l995). Fisheries Population Dynamic. Fisheries Biology, assessement and management, the fishing new books. Blackwell science LTD. ISBN 85238 - 2235. 340 pp.

3. English S, Wilkinson C, Baker V (eds). (1997). *Survey Manual for Tropical Marine Resources,* ASEAN-Australian marine science project, Australian Institute of Marine Science, Twonsville.

4. Nguyễn Hữu Phụng, Nguyễn Nhật Thi (1994). *Danh mục cá biển Việt Nam.* Tập II. Lớp cá xương (Osteichthyes) từ bộ cá cháo biển (Elopiformes) đến bộ cá đối (Mugiliformes). Nxb Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội.

5. Nguyễn Hữu Phụng, Trần Hoài Lan (1994). *Danh mục cá biển Việt Nam.* Tập I. Lớp cá lưỡng tiêm (Amphioxi) và lớp cá sụn (Chondrichthyes). Nxb Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội.

6. Nguyễn Hữu Phụng, Nguyễn Nhật Thi, Nguyễn Phi Đính, Đỗ Thị Như Nhung (1997). *Danh mục cá biển Việt Nam.* Tập IV. Bộ cá vược (Perciformes) tiếp từ bộ phụ cá bàng chài (Labroidei) đến bộ phụ cá chim trắng (Stromateoidei). Nxb Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội.

7. Nguyễn Hữu Phụng, Nguyễn Nhật Thi, Nguyễn Phi Đính, Lê Trọng Phấn, Đỗ Thị Như Nhung, Nguyễn Văn Lục (1995). *Danh mục cá biển Việt Nam. Tập III.* Bộ cá vược (Perciformes): Bộ phụ cá vược (Percoidei) và bộ phụ cá ép (Echeneoidei). Nxb Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội.

8. Nguyễn Hữu Phụng (1999). *Danh mục cá biển Việt Nam. Tập V.* Bộ cá mù làn (Scopaeniformes), bộ các bơn (Pleuronectiformes), bộ cá nóc (Tetraodontiformes), bộ cá nhái (Lophiiformes), bộ cá cóc (Batrachoidiformes) và bộ cá rồng (Pegasiformes). Nxb Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội.

9. Lieske E and Meyers R. (1996). *Coral Reef Fishes* (Caribbean, Indian Ocean and Pacific Ocean including the Red Sea). Princeton University Presss, America.

10. Nakabo, T. (2002). *Fishes of Japan with pictorial keys to the species*. Tokai University Press, Japan.

11. Allen G. R., R. Steene, H. Humann and N. Deloach. (2003). Reef Fish Identification Tropical Pacific. New World Publications, Inc., 457 pp.

12. Fricke, R., Eschmeyer, W. N. & Van der Laan, R. (eds). (2023). Eschmeyers Catalog of Fisher: Genera, Species, References. http://researcharchive.calacademy.org/research/ichthyology/catalog/fishcatmain.asp. Electronic version. Accessed 10 May 2023.

13. Trần Văn Hướng, Nguyễn Văn Hiếu (2019). *Hiện trạng thành phần loài và biến động mật độ cá rạn san hô khu vực ven biển Cát Bà, Hải Phòng*: Tuyển tập báo cáo khoa học Diễn đàn khoa học toàn quốc 2019 - Sinh học biển và phát triển bền vững, 60 - 73.

14. Bộ Khoa học Công nghệ và Môi trường (2007). *Sách Đỏ Việt Nam. Phần I. Động vật.* Nxb Khoa học Tự nhiên và Công nghệ, Hà Nội.

15. IUCN Red List. (2023). https://www.iucnredlist.org/species. Accessed 10 May 2023.

16. Đỗ Văn Khương (2016). Báo cáo tổng kết dự án I.2. Điều tra tổng thể đa dạng sinh học các hệ sinh thái rạn san hô và vùng ven đảo ở vùng biển Việt Nam phục vụ phát triển bền vững. Báo cáo tổng kết lưu trữ tại Viện Nghiên cứu Hải sản.

ASSESSMENT OF FLUCTUATION CORAL REEF FISH AT THE CORAL RECOVERY POSITION IN THE TOC TAN REEF, TRUONG SA ARCHIPELAGO, VIETNAM

Tran Van Huong [1], Nguyen Van Hieu [1], Vu Quyet Thanh [2], Hoang Thi Thuy Duong [2], Tran Van Dat [2], Nguyen Khac Bat [1]

[1] *Research Institute for Marine Fisheries*

[2] *Joint Vietnam-Russia Tropical Science and Technology Research Center*

Summary

The study on the fluctuation of coral reef fish groups on coral restoration planting sites to test the effectiveness of restoring hard coral groups were carried out in Toc Tan Reef, Truong Sa archipelago, Vietnam from 2020 to 2022. The results of monitoring species composition and density fluctuation in coral reef fish at two coral planting sites using SCUBA diving identified 160 species belonging to 91 genera, 37 families, 17 orders, and 02 classes. The Actinopteri class accounted for over 99.38% of the species. Five coral reef fish species were listed in the Vietnam Red Book, two coral reef fish species were listed on the IUCN red list and identified 01 new species was added to the list of coral reef fish in Vietnam, which is *Calloplesiops altivelis* (Steindachner, 1903) belonging to the Plesiopidae family. Species composition and individual density at the restored planting sites increased over the study period. There were 07 families of economic fish with a size from 10 - 30 cm, accounting for over 60% of the total fish species, and there were 05 families of fish of ornamental value with the size group below 20 cm, accounting for over 80%. This research result played an important role as a basis for proposing solutions to conserve and sustainably use marine resources in Toc Tan coral reefs and Truong Sa archipelago.

Keywords: *Coral reef fishes, grow corals, Alison Reef (Toc Tan reef), Truong Sa archipelago.*

Người phản biện: PGS.TS. Nguyễn Thành Nam
Ngày nhận bài: 21/7/2023
Ngày thông qua phản biện: 14/9/2023
Ngày duyệt đăng: 27/9/2023

ĐA DẠNG KHU HỆ CÁ Ở ĐẦM VÂN LONG, TỈNH NINH BÌNH

Nguyễn Đình Tạo[1,*], Lê Hùng Anh[1], Đỗ Văn Tứ[1]

TÓM TẮT

Nghiên cứu này được thực hiện nhằm cập nhật hiện trạng đa dạng cá ở đầm Vân Long, một khu hệ sinh thái nước ngọt nội địa của tỉnh Ninh Bình. Dựa trên số liệu và mẫu thu thập được qua 2 đợt khảo sát thực địa vào tháng 3/2021 (mùa khô) và tháng 7/2021 (mùa mưa), tổng số 39 loài cá thuộc 22 họ và 8 bộ đã được xác định. Đã xác định được hai loài cá quý hiếm gồm loài cá trối (*Channa asiatica*) có tên trong nhóm I của Phụ lục II ban hành kèm theo Nghị định số 26/2019/NĐ-CP của Chính phủ và loài cá dầu sông thân mỏng (*Pseudohemiculter dispar*) có tên trong Danh lục Đỏ IUCN (2021) bậc sẽ nguy cấp (VU). Hầu hết các loài cá được ghi nhận có giá trị sử dụng cho con người và làm cảnh. Các phát hiện cho thấy, đầm Vân Long, tỉnh Ninh Bình vẫn là nơi sinh sống của nhiều loài cá và cần được bảo tồn để đảm bảo sự phong phú của khu hệ cá này trong tương lai.

Từ khóa: *Khu hệ cá, bảo tồn, đầm Vân Long*.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Khu Bảo tồn Thiên nhiên (BTTN) đất ngập nước Vân Long có tổng diện tích quy hoạch là 2.643 ha, nằm về phía Đông Bắc tỉnh Ninh Bình, trên địa phận của 6 xã: Gia Hưng, Liên Sơn, Gia Hòa, Gia Vân, Gia Xuân và Gia Thanh thuộc huyện Gia Viễn. Vị trí khu bảo tồn: từ 20°20'55"-20°25'45" vĩ độ Bắc, từ 105°48'20"-105°54'30" kinh độ Đông [1].

Đầm Vân Long thuộc Khu BTTN đất ngập nước Vân Long, là một khu hệ sinh thái nước ngọt nội địa, có diện tích lớn ở vùng đồng bằng Bắc bộ, có nhiều dải núi đá vôi và các hòn đảo nổi trên mặt nước, là khu vực có tính đa dạng sinh học cao về động thực vật. Tại đầm Vân Long, sinh cảnh đất ngập nước quanh năm (chiếm 13% diện tích) [1]. Theo nghiên cứu của Nguyễn Xuân Huấn và cs (2003) về thành phần các loài cá vùng đất ngập nước Vân Long cho thấy, khu hệ cá ở đây có 44 loài thuộc 14 họ, 7 bộ [2]. Việc nghiên cứu đa dạng sinh học khu vực đầm Vân Long cho thấy, khu hệ động vật và thực vật nơi đây đặc trưng cho hai hệ sinh thái núi đá vôi và đất ngập nước của vùng châu thổ sông Hồng.

Thời gian gần đây, việc phát triển kinh tế - xã hội với tốc độ nhanh chóng, đặc biệt là sự phát triển du lịch ở tỉnh Ninh Bình nói chung và ở khu vực đầm Vân Long nói riêng có thể gây những tác động nhất định tới cảnh quan này, trong đó có quần xã thuỷ sinh vật, đặc biệt là các loài cá. Vì vậy, việc điều tra, nghiên cứu cá ở đầm Vân Long, tỉnh Ninh Bình nhằm bổ sung các dẫn liệu đầy đủ và cập nhật, là cơ sở khoa học cần thiết cho bảo tồn đa dạng sinh vật tại nơi đây.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Hai đợt điều tra, khảo sát thực địa và thu mẫu cá được tiến hành ở đầm Vân Long trong tháng 3/2021 (mùa khô) và tháng 7/2021 (mùa mưa), mỗi đợt 14 ngày. Mẫu cá được thu trực tiếp tại đầm từ ngư dân đang đánh cá, bằng nhiều loại các ngư cụ: Như thả lờ bát quái, lưới bén, quăng chài, câu, vó, đăng, đó vào nhiều khung thời gian trong ngày (ngày, đêm) và nhiều loại sinh cảnh khác nhau. Ngoài ra, còn thu mẫu có chọn lọc ở tại bến thuyền, chợ cá xung quanh khu vực đầm nghiên cứu…. Mẫu cá được tạm thời bảo quản trong thùng đá lạnh để tiến hành phân loại sơ bộ và chụp ảnh mẫu vật, sau đó mẫu được xử lý, định hình bằng fomalin 8 - 10% và được chuyển về phân tích định loại tại Phòng thí nghiệm, Phòng Sinh thái môi trường nước, Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật. Bên cạnh thu mẫu cá, đã tiến hành điều tra ngư dân và người dân địa phương về tình trạng, nơi phân bố và độ thường gặp của từng loài trên cơ sở mô tả chi tiết, kèm theo bộ Atlat ảnh màu cá.

[1] Viện Sinh thái và Tài nguyên Sinh vật, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam
[*] Email: dinhtao23@gmail.com

Các mẫu cá được phân tích định loại dựa vào đặc điểm hình thái ngoài, theo Pravdin (1973) [3], Mai Đình Yên (1978) [4], Rainboth (1996) [5], Kottelat (2001) [6], Nguyễn Văn Hảo và Ngô Sỹ Vân (2001) [7]. Cấu trúc thành phần loài cá được sắp xếp theo hệ thống phân loại cá của Fricke và cs (2021) [8].

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Danh mục thành phần loài

Kết quả phân tích 202 mẫu cá thu được trong 2 đợt điều tra thực địa năm 2021, đã ghi nhận và xác định được 39 loài cá thuộc 33 giống, 22 họ và 8 bộ. Thành phần loài cá thu thập được phần lớn là những loài cá phổ biến, đặc trưng ở môi trường nước đứng. Danh sách các loài cá ghi nhận ở đầm Vân Long thể hiện ở bảng 1.

Bảng 1. Danh sách thành phần loài cá ở đầm Vân Long

TT	Tên khoa học	Tên phổ thông	Số mẫu	Loài kinh tế	IUCN (2021)
	I. Cypriniformes	Bộ cá chép			
	1. Cobitidae	Họ cá chạch		x	
1	*Misgurnus anguillicaudatus* (Cantor, 1842)	Cá chạch bùn	2		LC
	2. Cyprinidae	Họ cá chép			
2	*Barbodes semifasciolatus* (Günther, 1868)	Cá đòng đong	5		LC
3	*Carassius auratus* (Linnaeus, 1758)	Cá diếc	2	x	LC
4	*Cyprinus rubrofuscus* Lacepède, 1803	Cá chép	1	x	LC
5	*Osteochilus salsburyi* Nichols & Pope, 1927	Cá dầm đất	5		LC
	3. Danionidae	Họ cá lòng tong			
6	*Rasbora steineri* Nichols & Pope, 1927	Cá lòng tong vạch	10		LC
7	*Rasbora daniconius* (Hamilton, 1822)	Cá lòng tong vạch	8		LC
	4. Xenocyprididae	Họ cá nhàng			
8	*Ancherythroculter daovantieni* (Bănărescu, 1967)	Cá ngão	3	x	DD
9	*Metzia formosae* (Oshima, 1920)	Cá mại	5		LC
10	*Metzia lineata* (Pellegrin, 1907)	Cá mại bầu	6		LC
11	*Ctenopharyngodon idella* (Valenciennes, 1844)	Cá trắm cỏ	1	x	NE
12	*Pseudohemiculter dispar* (Peters, 1881)	Cá dầu thân mỏng	10	x	VU
13	*Xenocypris macrolepis* Bleeker, 1871	Cá nhàng	3	x	LC
	5. Acheilognathidae	Họ cá thè be			
14	*Acheilognathus tonkinensis* (Vaillant, 1892)	Cá thè be thường	5		DD
15	*Acheilognathus macropterus* (Bleeker, 1871)	Cá thè be	6		DD
16	*Rhodeus ocellatus* (Kner, 1866)	Cá bướm chấm	10		DD
17	*Rhodeus spinalis* Oshima, 1926	Cá bướm gai	5		LC
	6. Gobionidae	Họ cá đục			
18	*Squalidus argentatus* (Sauvage & Dabry de Thiersant, 1874)	Cá đục trắng	6	x	DD
	7. Tanichthyidae	Họ cá diếc nhẳng			
19	*Tanichthys thacbaensis* Nguyen & Ngo, 2001	Cá diếc nhẳng	3		DD
	II. Siluriformes	Bộ cá nheo			
	8. Loricariidae	Họ cá tỳ bà			
20	*Pterygoplichthys disjunctivus* (Weber, 1991)	Cá tỳ bà	2		NE
	9. Bagridae	Họ cá lăng			
21	*Tachysurus fulvidraco* (Richardson, 1846)	Cá bò	5	x	LC
	10. Clariidae	Họ cá trê			

22	*Clarias fuscus* (Lacepède, 1803)	Cá trê	3	x	LC
	11. Siluridae	Họ cá nheo			
23	*Pterocryptis cochinchinensis* (Valenciennes, 1840)	Cá thèo	3		LC
	III. Gobiiformes	Bộ cá bống			
	12. Odontobutidae	Họ cá bống ống tròn			
24	*Neodontobutis tonkinensis* (Mai, 1978)	Cá bống suối	10		DD
	13. Gobiidae	Họ cá bống trắng			
25	*Gobiopterus chuno* (Hamilton, 1822)	Cá bống trắng	5		DD
26	*Acentrogobius caninus* (Valenciennes 1837)	Cá bống đá	10		LC
	14. Eleotridae	Họ cá bống đen			
27	*Eleotris fusca* (Forster, 1801)	Cá bống đen	6		LC
	IV. Synbranchiformes	Bộ mang liền			
	15. Mastacembelidae	Họ cá chạch sông			
28	*Mastacembelus armatus* (Lacepède, 1800)	Cá chạch sông	5	x	LC
	16. Synbranchidae	Họ lươn			
29	*Monopterus albus* (Zuiew, 1793)	Lươn đồng	2		LC
	V. Anabantiformes	Bộ cá rô			
	17. Anabantidae	Họ cá rô đồng			
30	*Anabas testudineus* (Bloch, 1792)	Cá rô đồng	5	x	LC
	18. Osphronemidae	Họ cá tai tượng			
31	*Trichopsis vittata* (Cuvier, 1831)	Cá bã trầu	10	x	LC
32	*Trichopodus trichopterus* (Pallas, 1770)	Cá sặc bướm	10		LC
33	*Macropodus opercularis* (Linnaeus, 1758)	Cá đuôi cờ	8		LC
	19. Channidae	Họ cá quả			
34	*Channa striata* (Bloch, 1793)	Cá chuối	2	x	LC
35	*Channa asiatica* (Linnaeus, 1758)	Cá trối	5	x	LC
	VI. Cichliformes	Bộ cá rô phi			
	20. Cichlidae	Họ cá rô phi			
36	*Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758)	Cá rô phi vằn	3	x	LC
37	*Oreochromis mossambicus* (Peters, 1852)	Cá rô phi đen	2	x	LC
	VII. Cyprinodontiformes	Bộ cá bạc đầu			
	21. Poeciliidae	Họ cá ăn muỗi			
38	*Gambusia affinis* (Baird & Girard, 1853)	Cá ăn muỗi	5		LC
	VIII. Beloniformes	Bộ cá kìm			
	22. Adrianichthyidae	Họ cá sóc			
39	*Oryzias curvinotus* (Nichols & Pope, 1927)	Cá sóc	5		DD
	Tổng số		202	17	

Ghi chú: Phân hạng theo IUCN (2021) [9]: Bậc VU - sẽ nguy cấp; bậc DD- thiếu dẫn liệu; bậc LC - ít lo ngại và NE - chưa đánh giá.

3.2. Cấu trúc thành phần loài khu hệ cá ở đầm Vân Long

Về cấu trúc thành phần loài, đa dạng nhất là bộ cá chép (Cypriniformes) với 19 loài (chiếm 48,72% tổng số loài - TSL), tiếp đến là bộ cá rô đồng (Anabantiformes) với 6 loài (chiếm 15,38% TSL); bộ cá nheo (Siluriformes) và bộ cá bống (Gobiiformes), mỗi bộ có 4 loài (chiếm 10,26% TSL); bộ mang liền (Synbranchiformes) và bộ cá rô phi (Cichliformes), mỗi bộ có 2 loài (chiếm

5,13% TSL); bộ cá kìm (Beloniformes) và bộ cá bạc đầu (Cyprinodontiformes), mỗi bộ chỉ có 1 loài (chiếm 2,56% TSL). Tính đa dạng về cấu trúc khu hệ cá ở đầm Vân Long thể hiện ở bảng 2.

Bảng 2. Tính đa dạng về cấu trúc khu hệ cá ở đầm Vân Long

TT	Bộ	Số họ	Tỷ lệ %	Số giống	Tỷ lệ %	Số loài	Tỷ lệ %
1	Cypriniformes	7	31,82	15	45,45	19	48,72
2	Siluriformes	4	18,18	4	12,12	4	10,26
3	Gobiiformes	3	13,64	4	12,12	4	10,26
4	Synbranchiformes	2	9,09	2	6,06	2	5,13
5	Anabantiformes	3	13,64	5	15,15	6	15,38
6	Cichliformes	1	4,55	1	3,03	2	5,13
7	Cyprinodontiformes	1	4,55	1	3,03	1	2,56
8	Beloniformes	1	4,55	1	3,03	1	2,56
	Tổng số	22	100,0	33	100	39	100,0

3.3. Một số đặc điểm về khu hệ cá ở đầm Vân Long

Trong số 39 loài cá được xác định, có 34 loài cá bản địa và 5 loài cá ngoại lai gồm cá trắm cỏ (*Ctenopharyngodon idella*), cá tỳ bà (*Pterygoplichthys disjunctivus*), cá rô phi đen (*Oreochromis mossambicus*), cá rô phi vằn (*Oreochromis niloticus*) và cá ăn muỗi (*Gambusia affinis*). Trong đó, có 4 loài cá ngoại lai là cá rô phi vằn, cá rô phi đen, cá ăn muỗi và cá tỳ bà là phổ biến, được ghi nhận ở hầu hết các điểm thu mẫu, khảo sát (Hình 1).

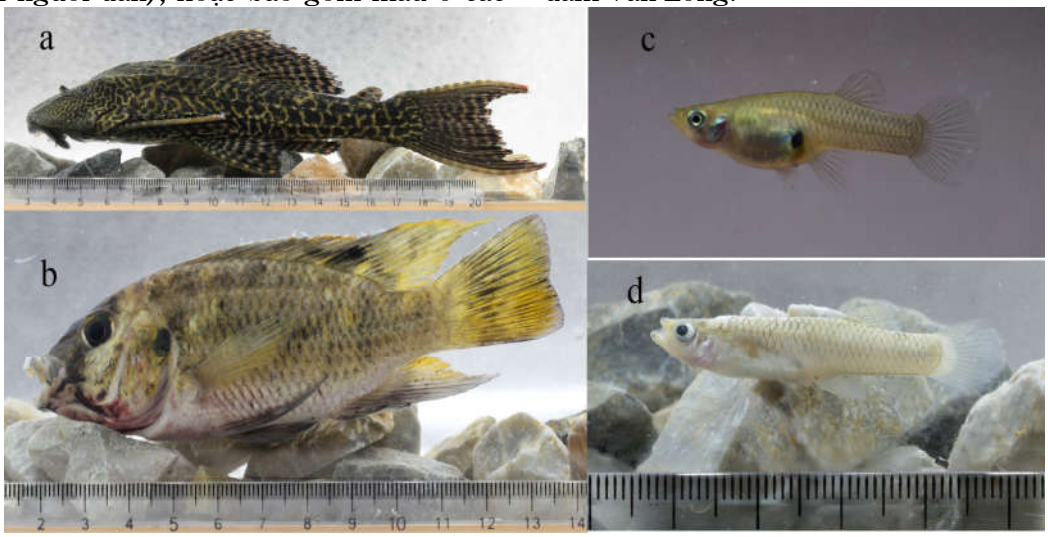
Trong số các loài được ghi nhận, có loài cá Trối (*Channa asiatica*) là loài cá quý hiếm thuộc nhóm I của Phụ lục II, Nghị định 26/2019/NĐ-CP của Chính phủ [10]. Theo phân hạng trong Danh lục Đỏ thế giới (IUCN, 2021) [9], có 1 loài cá ở mức sẽ nguy cấp (VU) là cá Dầu sông thân mỏng (*Pseudohemiculter dispar*). Có tới 9 loài ở mức thiếu dẫn liệu (DD), 26 loài ở mức ít lo ngại (LC) và 2 loài chưa đánh giá (NE). Không có loài nào nằm trong Sách Đỏ Việt Nam (2007) [11]

Đối chiếu với các chỉ tiêu xác định các loài cá có giá trị kinh tế của Bộ Thủy sản (1996) [12] cho thấy, ở đầm Vân Long có tới 17 loài cá kinh tế (chiếm 43,58% TSL), trong đó đó chủ yếu là các loài thuộc bộ cá chép (Cypriniformes) với 8 loài (20,51% TSL). Hầu hết các loài cá được ghi nhận có giá trị sử dụng cho con người và làm cảnh. Các phát hiện cho thấy đầm Vân Long vẫn là nơi sinh sống của nhiều loài cá và cần được bảo tồn để đảm bảo sự phong phú của khu hệ cá này trong tương lai.

Đầm Vân Long với diện tích không lớn, thành phần loài của khu hệ cá ở mức trung bình (39 loài), nhưng trong đó có tới 5 loài là loài cá ngoại lai. Trong đó có tới 3 loài cá tỳ bà (*Pterygoplichthys disjunctivus*), cá rô phi đen (*Oreochromis mossambicus*) và cá ăn muỗi (*Gambusia affinis*) nằm trong danh sách 7 loài cần phải được theo dõi nghiêm ngặt do tác hại của chúng đối với cân bằng sinh thái ở Việt Nam theo Thông tư số 35/2018/TT-BTNMT [13]. Đây là những loài được đánh giá ở mức "đen", được coi là loài xâm hại, phá vỡ hệ sinh thái, gây sức ép lên nơi sống đối với các loài thuỷ sinh vật bản địa. Sự xâm nhập của các sinh vật lạ, nhất là những loài mới xâm nhập còn ở mức độ chưa lớn, nhưng đang tiềm ẩn nguy cơ phát triển gây ảnh hưởng trực tiếp cho sản xuất nông nghiệp. Các loài này cạnh tranh nguồn thức ăn và sinh cảnh của cá bản địa. Do vậy cần có cơ chế để giám sát chặt chẽ và kiểm soát các loài cá ngoại lai này nhằm tránh những tác động xấu đến các loài cá và sinh vật thủy sinh bản địa khác.

Nguyễn Xuân Huấn và cs (2003) [2] khi điều tra nghiên cứu ở đầm Vân Long và các thủy vực, kênh mương nội đồng xung quanh đã ghi nhận có 44 loài thuộc 14 họ, 7 bộ. Như vậy, sự khác biệt về thành phần loài trong nghiên cứu này (39 loài) so với kết quả nghiên cứu của Nguyễn Xuân Huấn và cs (2003) [2] (44 loài) có thể là do khác biệt về xác định giới hạn, phạm vi của thủy vực điều tra. Nghiên cứu này chỉ ghi nhận những loài có mẫu và phân bố ở trong khu vực đầm Vân Long, trong khi nghiên cứu của Nguyễn Xuân Huấn và cs (2003)

bao gồm cả những loài không thu được mẫu (phỏng vấn người dân), hoặc bao gồm mẫu ở các thủy vực, kênh mương nội đồng ở xung quanh đầm Vân Long.



Hình 1. Một số loài cá ngoại lai xâm hại ở đầm Vân Long

a) cá tỳ bà (*Pterygoplichthys disjunctivus*); b) cá rô phi đen (*Oreochromis mossambicus*); c-d) cá ăn muỗi (*Gambusia affinis*) (cá cái, cá đực)

Kết quả nghiên cứu này cũng đồng quan điểm nhận định của Trần Đức Lương và cs (2011) [14]: Đầm Vân Long mang đặc tính của một hồ chứa nhỏ với độ sâu thấp, có sự phát triển của thực vật thủy sinh, song đa dạng các nhóm thủy sinh vật nói chung và cá nói riêng không cao.

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã xác định được thành phần loài cá ở đầm Vân Long, tỉnh Ninh Bình gồm: 39 loài cá thuộc 22 họ, 8 bộ. Bộ cá chép (Cypriniformes) chiếm ưu thế về các bậc phân loại với 7 họ, 15 giống và 19 loài. Khu hệ cá ở Đầm Vân Long có hai loài cá quý hiếm có tên trong Nghị định số 26/2019/NĐ-CP của Chính phủ và Danh lục Đỏ thế giới; 17 loài cá kinh tế và 3 loài cá ngoại lai xâm hại.

Đầm Vân Long dù có diện tích không lớn nhưng lại là nơi sinh sống của nhiều loài cá (39 loài), trong đó đã có mặt của nhiều loài ngoại lai (3 loài ngoại lai xâm hại). Do đó kiến nghị cần giám sát chặt chẽ sự phát triển các loài cá ngoại lai, giảm các tác động tiêu cực đến các loài cá bản địa ở đầm Vân Long.

LỜI CẢM ƠN

Bài báo được hỗ trợ kinh phí của đề tài nghiên cứu khoa học cấp cơ sở Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật, mã số: IEBR.ĐT.2-21.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Vũ Trung Tạng (2004). *Đất ngập nước Vân Long - Đa dạng sinh học vấn đề khai thác và quản lý cho phát triển bền vững*. Nxb Nông nghiệp, Hà Nội, 352 trang.

2. Nguyễn Xuân Huấn, Nguyễn Việt Cường, Thạch Mai Hoàng (2003). *Đa dạng sinh học cá ở Khu Bảo tồn Thiên nhiên Vân Long - huyện Gia Viễn - tỉnh Ninh Bình. Những vấn đề nghiên cứu cơ bản trong khoa học sự sống*. Nxb Khoa học và Kỹ thuật, trang 612-614.

3. Pravdin I. F. (1973). *Hướng dẫn nghiên cứu cá* (bản dịch của Nguyễn Thị Minh Giang). Nxb Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội, 278 trang.

4. Mai Đình Yên (1978). *Định loại cá nước ngọt các tỉnh phía Bắc Việt Nam*. Nxb Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội, 328 trang.

5. Rainboth W. J. (1996). Fishes of the Cambodian Mekong. FAO. Rome, 263 pp.

6. Kottelat M. (2001). Freshwater fishes of the Northern Vietnam. Environment and Social Development. Sector Unit East Asia and Pacific Region. The World Bank, 123 pp.

7. Nguyễn Văn Hảo, Ngô Sỹ Vân (2001). *Cá nước ngọt Việt Nam*, tập 1. Nxb Nông nghiệp, 622 trang.

8. Fricke, R., Eschmeyer, W. N. & R. van der Laan (2021). Eschmeyer's catalog of fishes: genera, species, references. http://researcharchive.calacademy.org/research/ichthyology/catalog/fishcatmain.asp. Electronic version accessed June 18th 2021.

9. IUCN (2021). The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2021-1. *https://www.iucnredlist.org*.

10. Chính phủ (2019). *Nghị định 26/2019/NĐ-CP. Quy định chi tiết một số điều và biện pháp thi hành Luật Thủy sản*.

11. Bộ Khoa học Công nghệ và Môi trường (2007). *Sách Đỏ Việt Nam - phần động vật*. Nxb Khoa học Tự nhiên và Công nghệ, Hà Nội, 603 trang.

12. Bộ Thuỷ sản (1996). *Nguồn lợi thuỷ sản Việt Nam*. Nxb Nông nghiệp, Hà Nội, trang 174-323.

13. Bộ Tài nguyên và Môi trường (2018). *Thông tư số 35/2018/TT-BTNMT. Quy định tiêu chí xác định và ban hành danh mục loài ngoại lai xâm hại*.

14. Trần Đức Lương, Lê Hùng Anh, Phan Văn Mạch, Cao Thị Kim Thu, Nguyễn Đình Tạo (2011). *Một số dẫn liệu về đa dạng thủy sinh vật vùng núi đá vôi của tỉnh Ninh Bình*. Hội nghị khoa học toàn quốc về Sinh thái và tài nguyên sinh vật. Nxb Nông nghiệp, trang 707-712.

DIVERSITY OF ICHTHYOFAUNA IN VAN LONG LAGOON, NINH BINH PROVINCE

Nguyen Dinh Tao[1], Le Hung Anh[1], Do Van Tu[1]

[1] *Institute of Ecology and Biological Resources, Vietnam Academy of Science and Technology*

Summary

This study was carried out in order to update the current freshwater-fish diversity in Van Long lagoon, Ninh Binh province. Based on data and samples collected through two field surveys in March 2021 (dry season) and July 2021 (rain season), a total of 39 species of fish from 22 families and 8 orders has been identified. Two species of endangered fish, including one species listed in Decree No. 26/2019/ND-CP (species of *Channa asiatica)* and one species listed in IUCN Red List of Threatened Species (2021) (species of *Pseudohemiculter dispar*) with categorized as Vulnerable (VU). Most of the identified fish were usually used for human consumption and ornamental purposes. The findings suggest that Van Long lagoon is still inhabited by numerous fish species and should be conserved to ensure the richness of its ichthyofauna in the future.

Keywords: *Ichthyofauna, conservation, Van Long lagoon*.

Người phản biện: TS. Thái Ngọc Chiến
Ngày nhận bài: 15/7/2023
Ngày thông qua phản biện: 6/9/2023
Ngày duyệt đăng: 14/9/2023

NGHIÊN CỨU HOÀN THIỆN QUY TRÌNH BẢO QUẢN CÁ NGỪ ĐẠI DƯƠNG BẰNG CÔNG NGHỆ NANO UFB TRÊN TÀU CÂU TAY

Phạm Văn Long[1, *], Trần Xuân Lâm[1]

TÓM TẮT

Với mục tiêu nâng cao chất lượng cá ngừ đại dương bảo quản trên tàu câu tay đủ tiêu chuẩn xuất khẩu, đã tiến hành nghiên cứu hoàn thiện quy trình ứng dụng công nghệ nano UFB (Ultra Fine Bubble) để bảo quản cá ngừ đại dương trên tàu câu tay. Thực hiện 71 chuyến nghiên cứu thử nghiệm trên biển với 2 phương pháp bảo quản cá ngừ đại dương. Kết quả đã lựa chọn được phương pháp bảo quản tốt nhất và đề xuất được quy trình bảo quản cá ngừ bằng công nghệ nano UFB trên tàu câu tay phù hợp với trình độ sản xuất của ngư dân. Quy trình mới giúp doanh thu chuyến biển tăng thêm, chi phí sản xuất giảm xuống. Tỷ lệ chất lượng cá ngừ đại dương bảo quản bằng công nghệ nano UFB loại A chiếm 73%, cao hơn 10,4 lần so với cá ngừ bảo quản theo phương pháp truyền thống của ngư dân.

Từ khóa: *Bảo quản, cá ngừ đại dương, công nghệ nano UFB, quy trình.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cá ngừ đại dương là đối tượng có giá trị kinh tế cao, tiềm năng khai thác lớn ở biển Việt Nam. Cá ngừ đại dương có 4 loài chính, đó là cá ngừ vây vàng, cá ngừ mắt to, cá ngừ vây dài và cá ngừ vằn. Cá ngừ đại dương được khai thác chủ yếu bằng nghề câu và lưới vây, trong đó nghề câu khai thác cá ngừ vây vàng, cá ngừ mắt to và cá ngừ vây dài, còn nghề lưới vây khai thác cá ngừ vằn [1]. Do đặc điểm phân bố của cá ngừ đại dương ở những ngư trường xa bờ nên đội tàu khai thác thường phải hoạt động dài ngày trên biển. Điều này đã ảnh hưởng không nhỏ đến chất lượng sản phẩm cá ngừ.

Ở Việt Nam, đa phần các tàu khai thác cá ngừ đại dương đều sử dụng phương pháp bảo quản lạnh bằng đá xay. Hầm bảo quản được làm theo kiểu truyền thống, vật liệu cách nhiệt bằng xốp ghép hoặc đệm mút có hệ số cách nhiệt thấp, dễ bị ngấm nước, hiệu quả không cao. Tổn thất nhiệt trong hầm bảo quản rất lớn làm cho nước đá tiêu hao nhanh, dẫn đến chất lượng sản phẩm xuống cấp nhanh chóng và không đảm bảo vệ sinh an toàn thực phẩm. Có thể nói, công nghệ bảo quản cá ngừ trên tàu khai thác xa bờ hiện nay ở nước ta chỉ duy trì được thời gian bảo quản tốt khoảng dưới 12 ngày. Trong khi đó, thời gian chuyến biển trung bình của tàu khai thác cá ngừ thường trên 20 ngày [2]. Do đó, việc cần thiết hiện nay là phải ứng dụng công nghệ bảo quản mới cho các tàu khai thác cá ngừ để nâng cao chất lượng và giá trị sản phẩm.

Từ năm 2017-2018, nhóm nghiên cứu đã thực hiện các thí nghiệm để đánh giá chất lượng cá ngừ đại dương bằng công nghệ nano UFB trên tàu câu tay. Kết quả nghiên cứu cho thấy phương pháp bảo quản cá ngừ đại dương bằng công nghệ nano UFB là phương pháp tối ưu nhất, sau 21 ngày bảo quản, tổn thất về khối lượng cá ngừ được bảo quản bằng công nghệ nano UFB (TN1) thấp hơn 2 lần so với cá ngừ bảo quản theo phương pháp truyền thống của ngư dân (TN3); tổn thất Protein của mẫu thí nghiệm TN1 chỉ 2,7%, trong khi đó tổn thất của mẫu thí nghiệm TN3 là 9,1%; tổn thất Naa của mẫu thí nghiệm TN1 là 14,4%, mẫu thí nghiệm TN3 là 36,3%; vi sinh vật tổng số của mẫu thí nghiệm TN1 là 4,75 x 10^3 Cfu/gr, mẫu thí nghiệm TN3 ở mức 5,63 x 10^6 Cfu/gr [3].

Kế thừa kết quả nghiên cứu năm 2017-2018, nghiên cứu này tiếp tục thực hiện trên tàu sản xuất thử nghiệm nhằm hoàn thiện quy trình bảo quản cá ngừ đại dương trên tàu câu tay phù hợp với trình độ sản xuất của ngư dân, giảm tổn thất sau thu hoạch trên tàu đánh bắt xa bờ.

[1] Viện Nghiên cứu Hải sản
[*] Email: pvlong@rimf.org.vn

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

2.1.1. Tàu nghiên cứu

- Sử dụng 10 tàu câu tay cá ngừ đại dương có chiều dài tàu ≥15m của ngư dân tỉnh Bình Định tham gia sản xuất thử nghiệm (tàu mô hình), thực hiện 41 chuyến biển sản xuất thử nghiệm bảo quản cá ngừ đại dương bằng công nghệ nano UFB.

- Sử dụng 10 tàu câu tay cá ngừ đại dương có chiều dài tàu ≥15m của ngư dân tỉnh Bình Định (tàu đối chứng), thực hiện 30 chuyến biển bảo quản cá ngừ đại dương theo phương pháp truyền thống để thu mẫu đối chứng.

2.1.2. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

- Thời gian nghiên cứu: Từ tháng 7/2019 – 03/2020.

- Địa điểm nghiên cứu: Vùng giữa biển Đông.

2.1.3. Máy móc, trang thiết bị nghiên cứu

** Thiết bị tạo bọt khí nitơ nano*

Sử dụng hệ thống thiết bị tạo bọt khí nitơ nano của Việt Nam sản xuất để ứng dụng trong bảo quản cá ngừ đại dương. Hệ thống thiết bị có 2 bộ phận: + Bộ phận tách khí nitơ từ không khí tự nhiên. + Bộ phận tạo bọt khí nitơ nano. Thông số kỹ thuật của hệ thống thiết bị như sau: Lưu lượng khí nitơ: ≥ 2 lít/phút, nồng độ nitơ ≥ 99%, công suất xử lý nước: ≥ 4 m^3/h, tiêu chuẩn oxy hòa tan: D/O < 1 ppm.

** Bộ dụng cụ sơ chế, bảo quản cá ngừ:*

- Shocker là thiết bị tạo xung điện. Sử dụng điện áp 220 V dùng để phóng điện vào cá, khiến cá bị tê cứng do đó cá không còn giãy dụa, hạn chế sinh nhiệt trong cơ thịt cá.

- Dao xả máu cá; dùi chọc não; dây phá tủy: Sử dụng những thiết bị này để làm cho cá chết ngay lập tức.

2.2. Phương pháp bố trí thí nghiệm

Thực hiện 2 phương pháp bảo quản cá ngừ đại dương trên tàu câu tay nhằm đối chứng kết quả nghiên cứu, lựa chọn phương pháp bảo quản tốt nhất.

Thí nghiệm 1 (TN1): Bảo quản cá ngừ đại dương bằng công nghệ nano UFB. Sử dụng máy tạo bong bóng nano UFB để sục khí nitơ vào nước biển lạnh. Nước biển được làm lạnh bằng cách hòa đá xay với nước biển theo tỉ lệ đá - nước là 3 : 2, với độ mặn từ 20 - 25‰, nhiệt độ nước được duy trì ở mức -1,5^{0}C. Đảm bảo lớp đá nổi trên mặt nước có độ dày từ 20 – 30 cm, cần bổ sung đá vào hầm khi lớp đá trong hầm có độ dày <20 cm. Cá ngừ được ngâm trong nước biển lạnh chứa bong bóng nano ni tơ trong suốt chuyến biển. Thí nghiệm 1 được thực hiện với quy mô 10 tàu.

Các bước thực hiện như sau: Cá ngừ nguyên liệu >> Shocker làm ngất cá >> Xả máu >> Chọc não, phá tủy >> Mổ lấy nội tạng >> Rửa >> Bảo quản (Ngâm trong nước biển lạnh chứa boong bóng khí nano nitơ đến khi tàu về bờ.

Thí nghiệm 2 (TN2): Bảo quản cá ngừ bằng đá xay theo cách truyền thống của ngư dân. Nghiên cứu tiến hành thu số liệu chất lượng sản phẩm cá ngừ đại dương bảo quản sản phẩm theo phương pháp truyền thống của ngư dân khi tàu về bến.

Các bước thực hiện như sau: Cá ngừ nguyên liệu >> Shocker làm ngất cá >> Giết cá bằng vồ >> Mổ lấy nội tạng >> Rửa >> Bảo quản bằng đá xay trong hầm.

2.3. Số mẫu thí nghiệm

- Mẫu đánh giá chất lượng sản phẩm:

Tổng số mẫu đánh giá chất lượng sản phẩm của các phương án thí nghiệm là 1.501 mẫu. Mỗi mẫu là 1 con cá ngừ đại dương, khối lượng khoảng 40 kg. Trong đó, mẫu thí nghiệm 1 (TN1) là 867 mẫu, mẫu thí nghiệm 2 (TN2) là 634 mẫu.

- Mẫu đánh giá hiệu quả kinh tế:

Tổng số mẫu đánh giá hiệu quả kinh tế của các phương án thí nghiệm là 71 mẫu, tương ứng với 71 chuyến biển. Trong đó, mẫu thí nghiệm 1 (TN1) là 41 mẫu, mẫu thí nghiệm 2 (TN2) là 30 mẫu.

2.4. Phương pháp thu mẫu

- Cá ngừ đại dương được lấy mẫu theo TCVN 5276-90 thủy sản - lấy mẫu và chuẩn bị mẫu [4]. Tiến hành lấy mẫu sau khi tàu cập cảng để đánh giá chất lượng cảm quan sản phẩm. Mẫu được lấy trên 03 vị trí: giữa thân phải, giữa thân trái và đuôi cá.

- Sử dụng cây xăm thịt cắm vào thân cá, sau đó rút cây xăm ra để lấy mẫu thịt cá ngừ ở phần thân;

Sử dụng dao cắt 1 lát thịt phần đuôi cá, vị trí cắt ở vây bụng thứ 3.

2.5. Phương pháp đánh giá chất lượng cá ngừ

Sử dụng kết hợp 2 phương pháp đánh giá cảm quản: Phương pháp đánh giá cảm quan áp dụng theo TCVN 12153: 2018 [5];

Phương pháp đánh giá, phân loại cá ngừ đại dương xuất khẩu của Công ty Bidifisco (điểm tối đa 200 điểm). Các chỉ tiêu đánh giá: Màu sắc cơ thịt, Mùi, Vị, Trạng thái.

Việc đánh giá, phân loại cá ngừ dương được thực hiện tại cảng cá Tam Quan Bắc, tỉnh Bình Định. Khi tàu về cảng, nhóm chuyên gia (5 người) tiến hành đánh giá, phân loại cá ngừ đại dương theo 4 loại (A, B^+, B, C), cụ thể như sau:

- Cá ngừ loại A (Điểm cảm quan từ 180 – 200 điểm): Là loại đủ tiêu chuẩn chất lượng để xuất khẩu nguyên con sang thị trường Nhật Bản.

- Cá ngừ loại B^+ (Điểm cảm quan từ 150 – 179 điểm): Sử dùng làm hàng phi lê cao cấp hoặc tiêu thụ nguyên con ở thị trường nội địa. Loại này cũng có thể xuất khẩu nguyên con sang thị trường Mỹ.

- Cá ngừ loại B (Điểm cảm quan từ 110 – 149 điểm): Sử dụng làm hàng phi lê thường.

- Cá ngừ loại C (Điểm cảm quan từ 70 – 109 điểm): Sử dụng làm nguyên liệu đồ hộp hoặc làm chả cá.

2.6. Phương pháp đánh giá hiệu quả kinh tế

Hiệu quả kinh tế các chuyến biển sản xuất thử nghiệm của 10 tàu mô hình (TN1) và 10 tàu đối chứng (TN2)được đánh giá thông qua các chỉ số: vốn đầu tư, doanh thu, chi phí sản xuất, lợi nhuận tức thời và chỉ số hiệu quả hoạt động theo vốn đầu tư (doanh lợi).

Sử dụng phương pháp giá so sánh để so sánh hiệu quả kinh tế của đội tàu bảo quản cá ngừ cá ngừ đại dương bằng công nghệ nano UFB với hiệu quả kinh tế của đội tàu bảo quản cá ngừ đại dương theo phương pháp truyền thống. Các chỉ tiêu đánh giá cụ thể như sau:

- Vốn đầu tư:

Vốn đầu tư được xác định là tổng chi phí đầu tư tăng thêm do áp dụng công nghệ nano UFB, bao gồm: chi phí đầu tư máy tạo bọt khí nano UFB, chi phí cải hoán hầm bảo quản sản phẩm, chi phí trang bị bộ dụng cụ sơ chế cá ngừ đại dương.

-Tổng sản lượng khai thác của đội tàu tham gia sản xuất thử nghiệm:

$$SL = \sum_{i=1}^{n} SL_i \quad (2\text{-}1)$$

Trong đó: SL (kg) là tổng sản lượng khai thác của đội tàu trong thời gian tham gia sản xuất thử nghiệm; n là số lượng tàu tham gia SXTN; SL_i (kg) là sản lượng khai thác của tàu thứ i trong thời gian tham gia sản xuất thử nghiệm.

- Tổng doanh thu của đội tàu tham gia sản xuất thử nghiệm:

$$DT = \sum_{i=1}^{n} DT_i \quad (2\text{-}2)$$

Trong đó: DT (VNĐ) là tổng doanh thu của đội tàu trong thời gian tham gia sản xuất thử nghiệm; n là số lượng tàu tham gia sản xuất thử nghiệm; DT_i (VNĐ) là doanh thu của tàu thứ i trong thời gian tham gia sản xuất thử nghiệm.

- Chi phí biến đổi của đội tàu tham gia sản xuất thử nghiệm:

$$CP = \sum_{i=1}^{n} CP_i \quad (2\text{-}3)$$

Trong đó: CP (VNĐ) là tổng chi phí biến đổi của đội tàu trong thời gian tham gia sản xuất thử nghiệm; n: là số lượng tàu tham gia sản xuất thử nghiệm; CP_i (VNĐ) là chi phí biến đổi của tàu thứ i trong thời gian tham gia sản xuất thử nghiệm.

- Lợi nhuận của đội tàu tham gia SXTN: LN = DT - CP *(2-4).*

Trong đó: LN (VNĐ) là lợi nhuận của đội tàu tham gia SXTN; DT (VNĐ) là tổng doanh thu của đội tàu (bao gồm toàn bộ tiền bán sản phẩm); CP (VNĐ)là tổng chi phí các chuyến biển: chi phí nhiên liệu, nước đá, thực phẩm,...

- Hiệu quả hoạt động theo vốn đầu tư (doanh lợi):

$$DL = \frac{LN}{VĐT} \quad (2\text{-}5)$$

Trong đó: DL *(%)*: Hiệu quả hoạt động theo vốn đầu tư. LN *(VNĐ)*: Lợi nhuận của đội tàu tham gia sản xuất thử nghiệm; VĐT *(VNĐ)*: Tổng vốn đầu tư công nghệ nano UFB của đội tàu tham gia sản xuất thử nghiệm.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Kết quả đánh giá chất lượng sản phẩm

Kết quả phân tích, đánh giá chất lượng tại cảng cho thấy, cá ngừ đại dương bảo quản bằng công nghệ nano UFB đạt tỷ lệ loại A 93% với thời gian bảo quản đến 7 ngày. Thời gian bảo quản từ ngày thứ 8 đến ngày thứ 14, tỷ lệ chất lượng loại A là 69%. Thời gian bảo quản từ 15 ngày đến 21 ngày, cá ngừ chất lượng loại A đạt 46%. Trung bình cả chuyến, tỷ lệ cá ngừ loại A đạt 73%, loại B+ đạt 11%, loại B chiếm 15%, loại D chỉ chiếm 1% sản lượng.

Đối với cá ngừ bảo quản theo phương pháp truyền thống của ngư dân, tỷ lệ chất lượng loại A chỉ đạt 7%, loại B^+ 14%. Số lượng cá ngừ có chất lượng tốt đa phần là sản phẩm mới đánh bắt trong khoảng thời gian cuối chuyến biển, thời gian bảo quản ngắn ngày.

Bảng 1. Kết quả phân loại, đánh giá chất lượng cá ngừ đại dương

TT	Loại sản phẩm	Tỷ lệ chất lượng sản phẩm bảo quản theo phương pháp TN1 (%)				Tỷ lệ chất lượng sản phẩm bảo quản theo phương pháp TN2 (%)
		7 ngày	14 ngày	21 ngày	Trung bình	
1	Loại A	93	69	46	73	7
2	Loại B^+	3	12	22	11	14
3	Loại B	4	18	31	15	76
4	Loại C	-	1	2	1	3

Nhìn chung chất lượng cá ngừ bảo quản bằng công nghệ nano UFB (TN1) tốt hơn nhiều so với cá được bảo quản theo phương pháp truyền thống của ngư dân (tỷ lệ chất lượng sản phẩm loại A cao hơn 10,4 lần). Điều này được giải thích khi cá ngừ được ngâm trong nước chứa các hạt bọt khí nitơ siêu nhỏ, bọt khí nitơ sẽ khử oxy hòa tan trong nước, hàm lượng oxy trong môi trường bảo quản luôn duy trì ở ngưỡng ≤ 0,5 ppm, ở điều kiện này vi sinh vật hiếu khí ngừng hoạt động [6]. Bên cạnh đó, các bong bóng nano nitơ với kích cỡ < 100nm sẽ thấm vào bên trong cơ thể cá, cô lập các phân tử oxy trong cơ thể cá, giúp ngăn ngừa phản ứng oxy hóa chất béo trong cơ thịt cá. Giúp cho thịt cá giữ được màu đỏ tươi tự nhiên, cơ thịt không bị phá vỡ, thịt không bị chua [7].

Ngoài ra, việc hạ nhiệt nhanh sản phẩm giúp cơ thịt cá không bị cháy, kéo dài giai đoạn tê cứng, vi sinh vật và các enzyme nội tại bị ức chế gần như hoàn toàn. Do đó hạn chế tối đa các biến đổi suy giảm chất lượng sản phẩm. Cá ngừ bảo quản trong suốt chuyến biển vẫn giữ được chất lượng tốt, màu da sáng bóng tự nhiên, cơ thịt đỏ trong, săn chắc, độ đàn hồi tốt.

Ngược lại, với phương pháp bảo quản cá ngừ bằng đá xay theo cách truyền thống của ngư dân (TN2) cho kết quả chất lượng cảm quan suy giảm rõ rệt. Do bảo quản bằng đá xay trong hầm xốp ghép nên thời gian hạ nhiệt độ tâm cá về 0°C lâu hơn gấp 3 lần so với phương án TN1. Do đó, chất lượng cá ngừ biến đổi nhiều sau quá trình bảo quản, cá bị mất nước, da có màu tái, khô, lõm, cơ thịt cá bị cháy, chuyển sang màu nâu đục, mùi tanh hôi,… Sản phẩm chỉ có thể sử dụng làm hàng phi lê CO.

3.2. Đánh giá hiệu quả kinh tế

3.2.1. Chi phí đầu tư công nghệ

Dự án đã chuyển giao công nghệ nano UFB cho 10 tàu câu tay cá ngừ đại dương. Tổng vốn đầu tư công nghệ nano UFB cho 10 tàu mô hình là 1.795.200.000 đồng. Trong đó, vốn đầu tư cho 01 tàu câu tay là 179.520.000 đồng/tàu.

Bảng 1. Chi phí đầu tư công nghệ nano trên 10 tàu mô hình

TT	Danh mục đầu tư	ĐVT	Số lượng	Đơn giá (đồng)	Thành tiền (đồng)	Tỷ lệ (%)
1	Cải hoán hầm bảo quản	Hầm	10	128.520.000	1.285.200.000	71,5
2	Hệ thống thiết bị nano UFB	Bộ	10	50.000.000	500.000.000	27,9
3	Bộ dụng cụ sơ chế cá ngừ	Bộ	10	1.000.000	10.000.000	0,6
	Tổng				1.795.200.000	100

Chi phí đầu tư cải hoán hầm bảo quản từ hầm cách nhiệt bằng vật liệu xốp ghép sang hầm cách nhiệt bằng vật liệu poly urethane (PU) chiếm 71,5% tổng chi phí đầu tư công nghệ. Trong khi đó, chi phí đầu tư hệ thống thiết bị nano UFB và bộ dụng cụ sơ chế cá ngừ – là công nghệ chính giúp nâng cao chất lượng sản phẩm chỉ chiếm 28,5%. Nếu tàu câu tay đã trang bị sẵn hầm bảo quản kín nước, cách nhiệt bằng vật liệu PU thì chi phí đầu tư chỉ còn 51.000.000 đồng/tàu.

3.2.2. Sản lượng và doanh thu của đội tàu mô hình

Quan hệ thương mại giữa các nậu vựa thu mua và chủ tàu câu cá ngừ đại dương có đặc thù riêng so với những những sản phẩm thủy sản khác, cá ngừ được thu mua theo giá xô, không phân loại theo chất lượng và giá bán. Dự án đã phối hợp với các bên liên quan tiến hành xây dựng chuỗi giá trị cá ngừ, thay đổi phương thức mua bán truyền thống trong nhiều năm qua. Cá ngừ chất lượng tốt phải được bán với giá cao hơn, ngư dân được hưởng lợi nhiều hơn, tạo động lực khuyến khích người dân ứng dụng công nghệ mới.

Khi tàu về cảng, sản phẩm cá ngừ đại dương bảo quản bằng công nghệ nano UFB được phân loại, xếp hạng và thu mua sản phẩm theo tiêu chuẩn chất lượng. Cá loại A mua tăng so với giá thị trường 15.000 đồng/kg; cá loại B^+ mua tăng thêm 7.000 đồng/kg; loại B mua bằng với giá thị trường (102.000 đồng/kg); cá loại C mua bằng với giá thị trường (60.000 đồng/kg). Những loại cá khác là sản phẩm phụ của chuyến biển cũng được thu mua bằng với giá thị trường.

Giai đoạn SXTN, dự án đã tổ chức cho 10 tàu mô hình tham gia SXTN được 41 chuyến biển. Kết quả SXTN như sau:

Bảng 2. Tổng sản lượng và doanh thu của đội tàu mô hình

TT	Tên sản phẩm	Sản lượng (kg)	Giá bán (đồng)	Thành tiền (đồng)	Giá thị trường (đồng)	Chênh lệch (đồng)
I	Cá ngừ đại dương ≥30 kg	34.670		3.932.451.000		406.947.000
1	A	25.398	117.000	2.971.566.000	102.000	380.970.000
2	B+	3.711	109.000	404.499.000	102.000	25.977.000
3	B	5.303	102.000	540.906.000	102.000	-
4	C	258	60.000	15.480.000	60.000	-
II	Cá ngừ đại dương <30 kg	1.050	87.000	91.350.000	87.000	-
III	Cá khác	36.069		1.203.663.000		-
1	Cá cờ	3.560	83.542	303.584.000	83.542	-
2	Cá nục heo	17.359	27.268	479.941.000	27.268	-
3	Cá thu	3.044	62.610	190.348.000	62.610	-
4	Mực xà	12.106	18.634	229.790.000	18.634	-
	Tổng	71.789		5.227.464.000		406.947.000

Tổng sản lượng khai thác trong 41 chuyến biển của đội tàu mô hình (TN1) là 71.789 kg. Sản lượng khai thác trung bình 1.751 kg/tàu/chuyến biển. Trong đó, tỷ lệ sản lượng cá ngừ đại dương chiếm 49,8%, cá khác chiếm 50,2%. Trung bình mỗi chuyến biển trên 20 ngày một tàu mô hình chỉ khai thác được 872 kg cá ngừ đại dương, sản lượng đánh bắt cá ngừ đại dương đã giảm khoảng 30% so với các năm trước.

Tổng doanh thu của đội tàu mô hình (TN1) là 5.227.464.000 đồng. Doanh thu bình quân chuyến biển đạt 127.500.000 đồng/tàu/chuyến. Do chênh lệch giá bán giữa cá ngừ đại dương bảo quản bằng công nghệ nano UFB (TN1) và cá ngừ bảo quản theo phương pháp truyền thống (TN2) nên doanh thu chuyến biển của tàu mô hình tăng thêm so với tàu đối chứng khoảng 9.926.000 đồng/tàu/chuyến.

3.2.3. Chi phí sản xuất

Việc ứng dụng công nghệ nano UFB trong bảo quản cá ngừ làm chi phí vận hành hệ thống thiết bị nano UFB tăng thêm không đáng kể, mỗi chuyến biển chi phí thêm khoảng 5 lít dầu cho việc vận hành thiết bị tạo bọt khí nano UFB. Tuy nhiên, với việc cải hoán hệ thống hầm bảo quản và việc thay đổi phương pháp bảo quản đã giúp giảm đáng kể lượng nước đá tiêu hao trong mỗi chuyến biển. Bình thường các tàu mô hình khi chưa tham gia dự án thường mang theo 500 cây đá cho mỗi chuyến biển. Khi tham gia dự án SXTN các tàu mô hình chỉ mang theo 300 cây đá/chuyến. Ước tính mỗi chuyến biển tàu mô hình giảm được khoảng 200 cây đá so với tàu đối chứng.

Ngoài ra, việc giảm bớt lượng đá mang theo tàu (200 cây đá = 9 tấn) cũng giúp các tàu giảm tải trọng hơn khi chạy hành trình ra ngư trường. Qua đó giảm bớt tiêu hao nhiên liệu.

Bảng 3. Chi phí sản xuất của đội tàu mô hình

TT	Khoản chi	Thành tiền (đồng)		
		Tàu Mô hình (TN1)	Tàu đối chứng (TN2)	Chênh lệch
1	Dầu	2.655.611.000	2.655.611.000	0
2	Đá	295.200.000	492.000.000	-196.800.000
3	Bổ sung ngư cụ	151.208.000	151.208.000	0
4	Thực phẩm	372.321.000	372.321.000	0
5	Lương	1.053.946.000	1.053.946.000	0
	Tổng	4.528.286.000	4.725.086.000	196.800.000

Tổng chi phí sản xuất của đội tàu mô hình (TN1) là 4.528.286.000 đồng. Chi phí sản xuất bình quân của 01 tàu là 110.446.000 đồng/chuyến biển, chi phí này thấp hơn tàu đối chứng (TN2) 4.800.000 đồng/chuyến do tàu mô hình áp dụng phương pháp bảo quản bằng công nghệ nano UFB giúp tiết kiệm nước đá hơn so với phương pháp bảo quản truyền thống.

3.2.4. Lợi nhuận

Do sản lượng đánh bắt thấp nên tổng lợi nhuận của các tàu mô hình chỉ đạt 699.178.000 đồng. Trong đó, lợi nhuận bình quân của một tàu mô hình trong chuyến biển đạt 17.053.000 đồng/tàu/chuyến biển. Lợi nhuận bình quân của tàu đối chứng là 2.328.000 đồng/tàu/chuyến biển.

Bảng 4. Lợi nhuận của đội tàu mô hình và tàu đối chứng

TT	Danh mục	Tàu Mô hình (TN1)	Tàu đối chứng (TN2)	Chênh lệch
1	Doanh thu (đồng)	5.227.464.000	4.820.517.000	406.947.000
2	Chi phí (đồng)	4.528.286.000	4.725.086.000	-196.800.000
3	Lợi nhuận (đồng)	699.178.000	95.431.000	603.747.000

Như vậy việc ứng dụng công nghệ nano UFB vào thực tiễn sản xuất đã giúp doanh thu của tàu mô hình tăng thêm và chi phí sản xuất giảm so với tàu đối chứng, qua đó lợi nhuận bình quân chuyến biển của tàu mô hình tăng thêm 14.726.000 đồng/tàu/chuyến, cao hơn 7,4 lần so với lợi nhuận của tàu đối chứng.

3.2.5. Hiệu quả đầu tư

Hiệu quả đầu của tàu mô hình được ước lượng dựa trên chỉ số lợi nhuận tăng thêm trong 01 năm trên tổng vốn đầu tư công nghệ nano UFB (doanh lợi). Số chuyến biển bình quân của nghề câu tay cá ngừ đại dương là 11 chuyến/năm. Dự kiến lợi nhuận tăng thêm của tàu mô hình đạt 161.986.000 đồng/tàu/năm. Hiệu quả đầu tư công nghệ nano UFB đối với tàu mô hình chưa trang bị hầm PU là 90,2% năm, tương ứng với thời gian hoàn vốn là 13,3 tháng. (Hiệu quả đầu tư chưa tính đến khấu hao tài sản và chi phí lãi vay).

Bảng 5. Hiệu quả đầu tư công nghệ nano UFB

Chỉ số kinh tế đội tàu	ĐVT	Giá trị
Lợi nhuận tăng thêm bình quân 01 chuyến biển	đồng/tàu	14.726.000
Dự kiến số chuyến biển hoạt động trong 1 năm	chuyến	11
Dự kiến lợi nhuận tăng thêm 01 năm	đồng/tàu	161.986.000
Chi phí đầu tư	đồng/tàu	179.520.000
Hiệu quả đầu tư (Doanh lợi)	%	90,2
Thời gian hoàn vốn	tháng	13,3

Hiệu quả đầu tư của các tàu mô hình (TN1) đạt trên 90%, điều này chứng tỏ việc đầu tư công nghệ nano cho đội tàu câu tay cá ngừ đại dương đã mang lại hiệu quả cao, góp phần tăng thêm thu nhập cho ngư dân, ổn định sản xuất trong bối cảnh sản lượng khai thác cá ngừ đại dương ngày càng thấp dần.

Hiệu quả của việc ứng dụng công nghệ nano UFB để bảo quản cá ngừ đại dương đã được chứng minh từ kết quả nghiên cứu và thực tiễn sản xuất. Tuy nhiên, 5 năm trở lại đây sản lượng khai thác cá ngừ đại dương sụt giảm mạnh. Đội tàu hoạt động thua lỗ nhiều, ngư dân thiếu vốn đầu tư công nghệ mới, do đó việc nhân rộng mô hình gặp nhiều khó khăn. Sau khi Dự án kết thúc (tháng 3/2020), mới chỉ có thêm 22 mô hình được nhân rộng trên toàn quốc. Xuất phát từ những khó khăn, vướng mắc của ngư dân, Uỷ ban nhân dân tỉnh Bình Định đã ban hành Quy định chính sách khuyến khích đầu tư, phát triển nông nghiệp ứng dụng công nghệ cao trên địa bàn tỉnh Bình Định, giao đoạn 2022-2026. Trong đó, ngân sách tỉnh hỗ trợ 50% kinh phí mua mới hệ thống thiết bị nano UFB và kinh phí cải tạo, làm mới hầm bảo quản cá ngừ đại dương theo công nghệ nano UFB cho đội tàu câu tay cá ngừ đại dương của tỉnh *(Quyết định số 83/2022/QĐ-UBND ngày 20/12/2022 của Uỷ ban nhân dân tỉnh Bình Định)..*

4. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

4.1. Kết luận

Việc ứng dụng công nghệ nano UFB kết hợp với cải hoán hầm bảo quản sản phẩm từ kiểu hầm truyền thống thành hầm cách nhiệt bằng vật liệu PU trên tàu câu tay đã giúp tăng tỷ lệ chất lượng sản phẩm loại A cao gấp 10,4 lần so với tỷ lệ chất lượng sản phẩm loại A bảo quản theo phương pháp truyền thống.

Doanh thu chuyến biển của tàu ứng dụng công nghệ nano UFB cao hơn và chi phí sản xuất thấp hơn tàu bảo quản sản phẩm theo phương pháp truyền thống. Lợi nhuận của tàu ứng dụng công nghệ nano UFB cao hơn 7,4 lần so với tàu bảo quản sản phẩm theo phương pháp truyền thống. Hiệu quả đầu tư công nghệ nano UFB đạt 90,2%, thời gian hoàn vốn chỉ 13,3 tháng.

Công nghệ tạo bọt khí nano UFB là công nghệ cao, lần đầu tiên được nghiên cứu, ứng dụng và chuyển giao vào thực tiễn sản xuất trong lĩnh vực bảo quản cá ngừ trên tàu đánh bắt xa bờ tại Việt Nam. Hiện nay trên thế giới chỉ có hai nước Nhật Bản và Việt Nam làm chủ công nghệ tạo bọt khí nano UFB ứng dụng trong bảo quản cá ngừ đại

dương trên tàu câu. Kết quả nghiên cứu của dự án đã được Tổng cục Thủy sản công nhận Tiến bộ kỹ thuật năm 2021.

4.2. Kiến nghị

Cần thực hiện dự án khuyến nông để chuyển giao, áp dụng quy trình bảo quản cá ngừ đại dương bằng công nghệ nano UFB cho đội tàu câu tay ở khu vực miền Trung.

Cần tiếp tục thực hiện những nghiên cứu ứng dụng công nghệ nano UFB để bảo quản một số đối tượng có giá trị kinh tế cao, có tiềm năng khai thác lớn ở biển Việt Nam như cá ngừ vằn, cá thu, mực, cá nổi nhỏ,…

LỜI CẢM ƠN

Nhóm tác giả trân trọng cảm ơn Viện Nghiên cứu Hải sản, Phân viện Nghiên cứu Hải sản phía Nam, Ban chủ nhiệm Dự án "Ứng dụng công nghệ nano UFB (Ultra Fine Bubble) để bảo quản cá ngừ đại dương trên tàu câu tay" đã cho phép sử dụng số liệu nghiên cứu của Dự án để thực hiện bài báo này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Viết Nghĩa (2016). *Điều tra tổng thể hiện trạng và biến động nguồn lợi hải sản ở biển Việt Nam (Giai đoạn 2011-2015).* Báo cáo tổng kết, Viện Nghiên cứu Hải sản.

2. Trần Đức Phú và cs (2013). *Điều tra thực trạng bảo quản sau thu hoạch sản phẩm khai thác trên tàu cá xa bờ và đề xuất giải pháp.* Báo cáo tổng hợp dự án, Trường Đại học Nha Trang.

3. Phạm Văn Long và cs (2019). Nghiên cứu ứng dụng công nghệ nano UFB (Ultra fine bubble) để bảo quản cá ngừ đại dương trên tàu câu tay. *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn*, số chuyên đề nghề cá biển 12/2019, trang 168-175.

4. Tiêu chuẩn Quốc gia TCVN 5276: 1990 thủy sản. *Lấy mẫu và chuẩn bị mẫu.*

5. Tiêu chuẩn Quốc gia TCVN 12153: 2018. *Cá ngừ nguyên liệu.*

6. Nguyễn Lân Dũng (2015). *Ảnh hưởng của các nhân tố môi trường đến sự sinh trưởng của vi sinh vật.* Thư viện Học liệu Mở Việt Nam (VOER).

7. Kenji Mogami (2014). *Characteristics of Ultra Fine Bubble*, http://www.nano-x.co.jp.

RESEARCH ON COMPLETE OCEANIC TUNA PRESERVATION PROCESS BY NANO UFB TECHNOLOGY ON HANDLINER

Pham Van Long[1], Tran Xuan Lam[1]

[1] *Research Institute For Marine Fisheries*

Summary

With the aim of improving the quality of preserved oceanic tuna on hand-liner comply with export standard, researchers group conducted research to complete the process of applying Nano UFB technology (Ultra Fine Bubble) to preserve oceanic tuna on hand-liner. To conducted 71 trial voyages on sea with 02 oceanic tuna preservation methods. The most preservation method was selected and preservation process by nano UFB on hand-liner match with fishermen's level. The new process is helped increasing revenue, decreasing operation cost. The oceanic tuna quality was preserved by nano UFB technology reached rate of type A 73%, it folded 10.4 times compare with the tuna stored by traditional methods in currently.

Keywords: *Process, oceanic tuna, nano UFB technology, preservation.*

Người phản biện: TS. Trần Văn Vinh
Ngày nhận bài: 20/7/2023
Ngày thông qua phản biện: 22/8/2023
Ngày duyệt đăng: 24/9/2023

BIẾN ĐỔI CHẤT LƯỢNG CÁ THU BẢO QUẢN BẰNG CÔNG NGHỆ ĐÁ SỆT KẾT HỢP KHÍ NITƠ NANO TRÊN TÀU LƯỚI RÊ

Nguyễn Xuân Thi[1,*], Trương Quốc Cường[1]

TÓM TẮT

Bài viết này trình bày tóm tắt kết quả phân tích, đánh giá sự biến đổi chất lượng (cảm quan, hóa học, vi sinh và khối lượng) cá thu bảo quản bằng công nghệ đá sệt kết hợp khí nitơ nano trên tàu lưới rê. Thí nghiệm được bố trí với 10 nghiệm thức, trong đó 9 nghiệm thức bảo quản bằng đá sệt kết hợp khí nitơ nano, 1 nghiệm thức đối chứng bảo quản bằng đá xay, thời gian bảo quản 25 ngày. Kết quả phân tích chất lượng cho thấy: Bảo quản cá thu trên tàu lưới rê ở nhiệt độ -1,5^{o}C, nồng độ đá sệt nano 60%, tỷ lệ đá sệt nano/cá 3/1, DO < 1 mg/l cho kết quả tỷ lệ tổn thất cảm quan so với ban đầu là 9,50%; tỷ lệ tổn thất protein là 8,61%; hàm lượng amoniac là 19,0 ± 3,05 mg/100 g); tổng số vi sinh vật hiếu khí là 1,8 x 10^5 CFU/g, tỷ lệ tổn thất khối lượng là 3,88 ± 0,26%; thời gian bảo quản 25 ngày. Đây là cơ sở khoa học và thực tiễn để xây dựng quy trình bảo quản cá thu bằng công nghệ đá sệt kết hợp khí nitơ nano trên tàu lưới rê.

Từ khóa: *Đá sệt, cá thu, lưới rê, nitơ nano.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cá thu là một trong những loài thủy sản có giá trị kinh tế cao tại thị trường trong nước cũng như xuất khẩu. Cá thu cung cấp các thành phần dinh dưỡng quan trọng như sắt, phốt pho, canxi, kẽm, omega-3, các vitamin nhóm B và vitamin PP [1]. Tại Việt Nam, cá thu chủ yếu được khai thác bằng nghề lưới rê xa bờ, thường sử dụng đá cây xay nhỏ (0^{o}C) để bảo quản sản phẩm. Phương pháp này còn tồn tại nhiều hạn chế như: Cá không được làm lạnh ngay do chưa có công đoạn hạ nhiệt độ tâm cá trước khi bảo quản, do đó mất một lượng nhiệt lớn để hạ nhiệt độ cá trong quá trình bảo quản; nhiệt độ trong hầm duy trì tốt nhất chỉ được 0^{o}C nên cá chỉ bảo quản trong khoảng 10 - 12 ngày [2], không phù hợp với thời gian khai thác thực tế của tàu lưới rê (20 – 25 ngày/chuyến). Để góp phần giải quyết thực trạng đó, Viện Nghiên cứu Hải sản đã thực hiện nhiệm vụ "*Hoàn thiện công nghệ bảo quản cá ngừ đại dương và cá thu bằng đá sệt kết hợp khí nitơ nano*".

Đá sệt hay còn gọi là đá lỏng (*liquid ice*), đá bùn (*slurry ice*), đá nano (*icenano*), đá tuyết (*snow ice*) - là hỗn hợp đồng nhất của các hạt băng nhỏ và chất lỏng. Đá sệt có nhiều ưu điểm như mật độ lưu trữ năng lượng cao, làm lạnh nhanh, dễ thâm nhập vào bên trong đối tượng cần làm lạnh, duy trì được nhiệt độ thấp liên tục trong suốt quá trình làm mát với hệ số truyền nhiệt cao, do đá sệt có nhiệt độ thấp -2^{o}C đến -4^{o}C nên thời gian bảo quản 25 - 30 ngày [3]; [4]; [5]. Công nghệ nano UFB (*Ultra Fine Bubble*) là công nghệ tạo bóng khí siêu nhỏ có đường kính nanomet. Với hiệu ứng hấp thụ của bong bóng nano nitơ sẽ khử oxy hòa tan trong nước, ức chế sự phát triển và hoạt động của vi khuẩn hiếu khí [6]. Bên cạnh đó, bong bóng nano nito có tác dụng hiệu quả trong việc ngăn chặn quá trình oxy hóa chất béo từ bề mặt ngoài vào đến tận bên trong cơ thể cá, do đó ngăn chặn hữu hiệu thịt cá bị ôi, biến chất, giảm giá trị thương mại. Việc kết hợp hai công nghệ (đá sệt, nano) sẽ phát huy ưu điểm của công nghệ bảo quản bằng đá sệt, khắc phục nhược điểm là nồng độ DO trong dung dịch đá sệt là 5 - 6 mg/l bằng cách tận dụng ưu điểm của công nghệ nano UFB là dùng khí nitơ để diệt khuẩn, đồng thời đẩy DO ra khỏi dung dịch để đưa DO trong dung dịch đá sệt < 1 mg/l. Lúc đó, bảo quản cá bằng đá sệt trong điều kiện nhiệt độ thấp (-1^{o}C đến -2^{o}C) kết hợp DO thấp (< 1 mg/l), hiệu quả sẽ cao hơn.

Nghiên cứu này phân tích, đánh giá sự sự biến đổi chất lượng cá thu bảo quản bằng công nghệ đá sệt kết hợp khí khí nitơ nano trên tàu lưới rê.

[1] Phân Viện Nghiên cứu Hải sản phía Nam
[*] Email: ngxthi@gmail.com

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Cá thu vạch (*Scomberomorus commerson*) được đánh bắt bằng nghề lưới rê xa bờ.

2.2. Thiết bị trên tàu nghiên cứu

Thiết bị đá sệt kết hợp khí khí nitơ nano, các thông số chính: Công suất đá sệt: 2 - 3 tấn/ngày/hệ thống; nhiệt độ đá sệt 1,0°C đến -2,0°C; hàm lượng (nồng độ) đá sệt ≥ 40%; DO < 1 mg/l. Hầm bảo quản cá, cách nhiệt bằng PU (Poly Urethane) và dụng cụ khác. Thiết bị này được lắp đặt trên tàu lưới rê BV91666TS (tỉnh Bà Rịa Vũng Tàu).

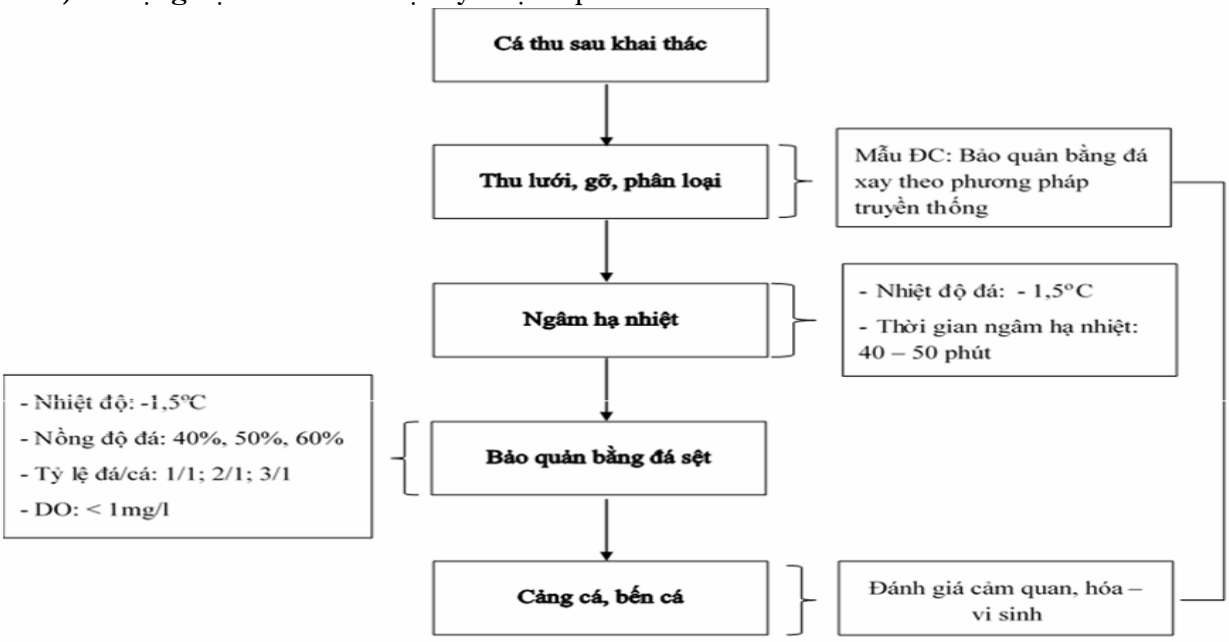
2.3. Thời gian, địa điểm thử nghiệm

Thời gian: Từ tháng 7 đến tháng 11 năm 2022.

Địa điểm: Các thí nghiệm được bố trí, theo dõi trên tàu lưới rê BV91666TS hoạt động đánh bắt trên vùng biển xa bờ vùng Đông Nam bộ.

2.4. Bố trí thí nghiệm

Trong quá trình thí nghiệm, các nghiệm thức được thực hiện theo sơ đồ tại hình 1.



Hình 1. Sơ đồ bố trí thí nghiệm bảo quản cá thu bằng đá sệt kết hợp khí nitơ nano

Bảng 1. Bố trí thí nghiệm

Nghiệm thức (NT)	Nhiệt độ đá sệt (^{0}C)	Nồng độ đá sệt (%)	Tỷ lệ đá sệt/cá	Thời gian bảo quản (ngày)					
				0 (BĐ)	12	17	20	23	25
NT 1	-1,5	40	1/1	3	3	3	3	3	3
NT 2	-1,5	40	2/1	0	3	3	3	3	3
NT 3	-1,5	40	3/1	0	3	3	3	3	3
NT 4	-1,5	50	1/1	0	3	3	3	3	3
NT 5	-1,5	50	2/1	0	3	3	3	3	3
NT 6	-1,5	50	3/1	0	3	3	3	3	3
NT 7	-1,5	60	1/1	0	3	3	3	3	3
NT 8	-1,5	60	2/1	0	3	3	3	3	3
NT 9	-1,5	60	3/1	0	3	3	3	3	3
ĐC (đối chứng)	Bảo quản bằng đá xay (nhiệt độ 0^{0}C, tỷ lệ đá xay/cá: 2/1)			0	3	3	3	3	3

** Ghi chú: (i) BĐ là mẫu ban đầu. (ii) Nồng độ đá sệt: Là hàm lượng tinh thể đá có trong 1 đơn vị thể tích dung dịch đá sệt. (iii) Tỷ lệ đá sệt/cá: Là tỷ lệ giữa dung dịch đá sệt được sử dụng và lượng cá khi thực hiện bảo quản.*

Thí nghiệm được bố trí gồm có 3 nhân tố (nồng độ đá sệt, tỷ lệ đá sệt/cá, riêng yếu tố nhiệt độ cố định do đã kế thừa các nghiên cứu trước [5]; [6] với 10 nghiệm thức (9 nghiệm thức thí nghiệm bảo quản bằng đá sệt kết hợp khí nitơ nano và 1 nghiệm thức đối chứng bảo quản bằng đá xay), cụ thể trình bày bảng 1.

2.5. Thời gian, tần suất lấy mẫu, bảo quản mẫu và nơi phân tích

Thời gian bảo quản cá thu từ 0 ngày đến 25 ngày. Mẫu sẽ được lấy vào các ngày 0 (BĐ), 12, 17, 20, 23 và 25. Mẫu ngày lấy 3 mẫu. Mẫu cá thu (mỗi mẫu 01 con, 2,5 - 3,0 kg/con) sau khi mã hóa xong được đưa vào dụng cụ chứa cá và đưa xuống hầm bảo quản.

Kết thúc chuyến biển thử nghiệm: Chuyển ngay các mẫu cá thu dưới hầm bảo quản lên xe lạnh, phân tích các chỉ tiêu về cảm quan, hóa học và vi sinh tại phòng thí nghiệm Phân viện Nghiên cứu Hải sản phía Nam và Công ty sắc ký Hải Đăng (Eurofins), thành phố Hồ Chí Minh.

2.6. Phương pháp đánh giá cảm quan

Đánh giá cảm quan chất lượng của các sản phẩm thực phẩm bằng phương pháp cho điểm theo TCVN 3215-1979 [7], các chỉ tiêu cảm quan hay từng chỉ tiêu riêng biệt của sản phẩm được dùng hệ điểm 20 theo bảng 2, bảng 3.

Bảng 2. Bảng xếp hạng chất lượng sản phẩm cá thu theo điểm cảm quan

STT	Xếp hạng chất lượng	Điểm chung	Yêu cầu về điểm trung bình chưa có khối lượng đối với các chỉ tiêu
1	Tốt	18,8 - 20	Các chỉ tiêu quan trọng nhất ≥ 4,7
2	Khá	15,2 - <18,8	Các chỉ tiêu quan trọng nhất ≥ 3,8
3	Trung bình	11,2 - <15,2	Mỗi chỉ tiêu ≥ 2,8
4	Kém	7,2 - <11,2	Mỗi chỉ tiêu ≥ 1,8
5	Rất kém	4,0 - <7,2	Mỗi chỉ tiêu ≥ 1

Bảng 3. Thang điểm đánh giá chất lượng cảm quan cá thu

Chỉ tiêu	Hệ số QT	Mô tả cá thu	Thang điểm	Đánh giá
Hình dạng bên ngoài	0,8	Cá nguyên vẹn, không có vết xây xát	5	Tốt
		Cá nguyên vẹn, có một vài vết xây xát nhỏ ở đuôi	4	Khá
		Cá nguyên vẹn, có một số vết xây xát nhỏ ở đuôi và ở đầu	3	Trung bình
		Cá không nguyên vẹn, bị một trong các lỗi (mõm rách, mất vây ngực, đuôi); có một số vết xây xát ở đuôi, ở đầu và thân	2	Kém
		Cá không nguyên vẹn, bị 2 lỗi trở lên (mõm rách, mất vây ngực, đuôi); có nhiều vết xây xát ở đuôi, ở đầu và thân	1	Rất kém
		Dưới mức rất kém	0	Hư hỏng
Màu sắc	1,2	- Da: Màu sáng đặc trưng của cá thu, hệ sắc tố óng ánh (không biến màu). Dịch nhớt trong suốt như có nước - Phấn: Màu xám bạc, phấn trên da cá gần như nguyên vẹn (≥90%) - Mang: Màu đỏ sáng - Mắt: Giác mạc trong suốt; đồng tử đen đỏ sáng	5	Tốt
		- Da: Ít sáng, hơi sạm, hệ sắc tố sáng nhưng không bóng láng. Dịch nhớt hơi đục - Phấn: Màu xám bạc, phấn trên da cá tương đối nguyên vẹn (75-< 90%)	4	Khá

		- Mang: Màu đỏ sáng hơi sẫm - Mắt: Giác mạc hơi đục; đồng tử đen đỏ sáng		
		- Da: Màu sạm hoặc bạc màu, hệ sắc tố sáng sậm. Dịch nhớt trắng đục - Phấn: Màu xám bạc, phấn trên da còn (60-< 75%) - Mang: Màu đỏ sẫm - Mắt: Giác mạc đục; đồng tử mờ đục đỏ sẫm	3	Trung bình
		- Da: Màu sẫm. Dịch nhớt mờ đục - Phấn: Màu xám bạc, phấn trên da còn (40-< 60%) - Mang: Màu nâu sẫm - Mắt: Giác mạc đục như sữa; đồng tử xám	2	Kém
		- Da: Màu rất sẫm. Dịch nhớt rất đục - Phấn: Màu xám bạc, phấn trên da còn (20-< 40%) - Mang: Màu nâu nhạt - Mắt: Giác mạc đục như sữa đặc; đồng tử xám xịt	1	Rất kém
		Dưới mức rất kém	0	Hư hỏng
Trạng thái, kết cấu	1,2	- Cơ thịt: Săn chắc, đồng nhất, đàn hồi tốt - Thân cá: Căng, chắc, da bám chặt vào thân - Đầu: Dính chặt vào thân cá - Bụng: Căng - Mắt: Lồi (phồng lên)	5	Tốt
		- Cơ thịt: Chắc, đồng nhất, đàn hồi - Thân cá: Chắc, da bám chặt vào thân, có một số nếp nhăn - Đầu: Dính chặt vào thân cá - Bụng: Căng - Mắt: Lồi	4	Khá
		- Cơ thịt: Hơi mềm, đàn hồi chậm - Thân cá: Chắc, da bám chặt vào thân, có nhiều nếp nhăn - Đầu: Dính chặt vào thân cá - Bụng: Hơi mềm, hơi lõm vào - Mắt: Lồi (hơi trũng chỗ lồi)	3	Trung bình
		- Cơ thịt: Mềm, đàn hồi kém - Thân cá: Mềm, da bám vào thân, có rất nhiều nếp nhăn - Đầu: Chắc, dính chặt vào thân cá nhưng hơi lỏng lẻo - Bụng: Mềm, lõm vào - Mắt: Phẳng	2	Kém
		- Cơ thịt: Mềm nhũn, đàn hồi rất kém - Thân cá: Mềm nhũn, da bám vào thân, có quá nhiều nếp nhăn - Đầu: Dính vào thân cá nhưng lỏng lẻo - Bụng: Mềm, lõm vào nhiều - Mắt: Lõm ở giữa	1	Rất kém
		Dưới mức rất kém	0	Hỏng
Mùi	0,8	Mùi tanh tự nhiên (mùi cá biển)	5	Tốt

		Mùi tanh tự nhiên xen lẫn mùi tanh rong biển	4	Khá
		Mùi rong biển	3	Trung bình
		Mùi chua nhẹ	2	Kém
		Mùi chua mạnh	1	Rất kém
		Dưới mức rất kém	0	Hỏng

Hội đồng đánh giá cảm quan gồm 5 người là các chuyên gia tại Phân viện Nghiên cứu Hải sản phía Nam.

2.7. Phương pháp phân tích hóa - sinh

- Xác định hàm lượng protein theo TCVN 3705-1990 [8].

- Phân tích hàm lượng nitơ amoniac theo TCVN 3706-1990 [9].

- Xác định vi sinh vật tổng số bằng phương pháp đếm theo ISO 4833-1: 2013 [10].

2.8. Phương pháp xác định tổn thất khối lượng

- Hao hụt khối lượng tính theo công thức:

$$\Delta M = \frac{(M_{bandau} - M_{sau}) * 100}{M_{bandau}}$$

Trong đó: Δ M là độ hao hụt khối lượng (%), M_{bandau} là khối lượng mẫu trước khi bảo quản(kg), M_{sau} là khối lượng mẫu sau bảo quản (kg).

2.9. Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu được xử lý bằng phần mềm thống kê Microsoft Excel để tổng hợp số liệu và kiểm định phương sai và giá trị trung bình trên phần mềm SPSS 25.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Biến đổi chất lượng cảm quan

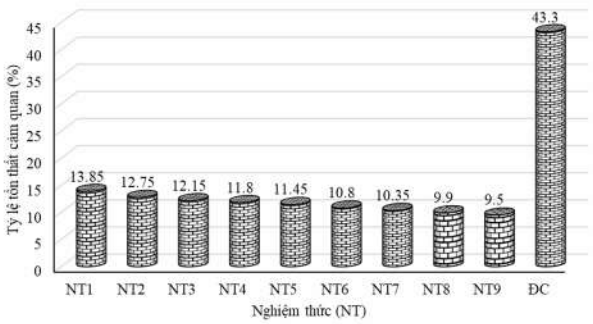
Kết quả đánh giá biến đổi chất lượng cảm quan của cá thu bằng đá sệt kết hợp khí nitơ nano trên tàu lưới rê cho thấy, điểm cảm quan của các nghiệm thức giảm dần theo thời gian bảo quản, phương pháp bảo quản bằng đá sệt kết hợp khí nitơ nano giữ được chất lượng tốt sau 25 ngày bảo quản, các sản phẩm đều đạt loại khá theo thang điểm cảm quan (15,2 - 18,0) (Bảng 4).

Bảng 4. Chất lượng cảm quan của cá thu trong quá trình bảo quản

Nghiệm thức (NT)	Thời gian bảo quản (ngày)					
	0 (BĐ)	12	17	20	23	25
NT1	20,00±0,10^{a}	18,55±0,12^{g}	18,06±0,21^{g}	18,02±0,18^{g}	17,80±0,11^{g}	17,23±0,11^{f}
NT2	20,00±0,10^{a}	18,67±0,14^{fg}	18,12±0,12^{g}	18,07±0,11^{f}	17,88±0,12^{fg}	17,45±0,22^{e}
NT3	20,00±0,10^{a}	18,81±0,11^{ef}	18,19±0,32^{ef}	18,14±0,12^{ef}	18,04±0,22^{ef}	17,57±0,12^{de}
NT4	20,00±0,10^{a}	19,00±0,23^{de}	18,27±0,12^{ef}	18,20±0,28^{def}	18,11±0,17^{de}	17,64±0,13^{cde}
NT5	20,00±0,10^{a}	19,14±0,12^{cd}	18,38±0,22^{de}	18,31±0,10^{cde}	18,20±0,18^{cde}	17,71±0,10^{cd}
NT6	20,00±0,10^{a}	19,26±0,13^{c}	18,50±0,21^{cd}	18,40±0,11^{bcd}	18,28±0,23^{bcd}	17,84±0,28^{bc}
NT7	20,00±0,10^{a}	19,35±0,22^{bc}	18,65±0,11^{bc}	18,48±0,32^{abc}	18,35±0,27^{abc}	17,93±0,32^{ab}
NT8	20,00±0,10^{a}	19,53±0,10^{ab}	18,80±0,17^{ab}	18,56±0,22^{ab}	18,44±0,17^{ab}	18,02±0,12^{ab}
NT9	20,00±0,10^{a}	19,73±0,18^{a}	18,93±0,10^{a}	18,67±0,16^{a}	18,53±0,11^{a}	18,10±0,23^{a}
ĐC	20,00±0,10^{a}	16,53±0,19^{h}	14,08±0,10^{a}	13,20±0,12^{h}	12,64±0,11^{h}	11,34±0,11^{g}

Ghi chú: Các chữ cái khác nhau trong cùng một cột thể hiện sự khác biệt ý nghĩa thống kê (p<0,05).

Sau 12 ngày bảo quản, có sự khác biệt ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức thí nghiệm về điểm cảm quản của sản phẩm cá thu (p< 0,05). Ở các nghiệm thức bảo quản cá thu bằng đá sệt kết hợp khí nito nano có giá trị điểm cảm quan tăng dần theo nồng độ đá sệt và tỷ lệ đá/cá. Trong đó, nghiệm thức 9 có giá trị điểm cảm quan vào ngày thứ 25 cao nhất (18,10 ± 0,23 điểm), xếp loại khá theo thang điểm đánh giá (15,2 - 18,8) (Bảng 4). Ngược lại, nghiệm thức đối chứng (bảo quản bằng đá xay) có giá trị điểm cảm quan vào ngày 25 thấp nhất (11,34±0,11), xếp loại trung bình (11,2 - 15,2) (Bảng 4).



Hình 2. Tỷ lệ tổn thất chất lượng cảm quan của cá thu vào ngày bảo quản thứ 25

Kết quả trình bày mức độ tổn thất chất lượng cảm quản của cá thu tại hình 2 cho thấy, ở các nghiệm thức bảo quản bằng đá sệt kết hợp khí nitơ nano nồng độ đá sệt và tỷ lệ đá/cá càng cao thì tỷ lệ tổn thất chất lượng cảm quan càng thấp và ngược lại. Trong đó, nghiệm thức 9 (nhiệt độ -1,5°C, nồng độ đá sệt 60%, tỷ lệ đá sệt/cá 3 : 1) có tỷ lệ tổn thất cảm quan ở ngày bảo quản thứ 25 thấp nhất (9,50%), thấp hơn rất nhiều so với nghiệm thức đối chứng khoảng 4,5 lần (43,30%) (Hình 2). Như vậy, nghiệm thức 9 sẽ cho chất lượng cảm quản tốt, duy trì chất lượng tốt đến 25 ngày bảo quản, cao hơn 7 ngày so với sử dụng đá sệt để bảo quản cá sòng [11], cá mòi [12], cá tuyết [13], điều này chứng tỏ ưu việt của việc kết hợp công nghệ đá sệt và công nghệ nano UFB.

3.2. Biến đổi hàm lượng protein

Trong quá trình thí nghiệm bảo quản cá thu bằng đá sệt kết hợp khí nitơ nano cho thấy, thời gian bảo quản càng dài thì hàm lượng protein trong cơ thịt cá càng thấp. Đồng thời, các nghiệm thức có nồng độ dung dịch đá sệt nano và tỷ lệ đá/cá càng lớn thì hàm lượng protein tại các móc thời gian càng cao và ngược lại, kết quả thể hiện ở bảng 5.

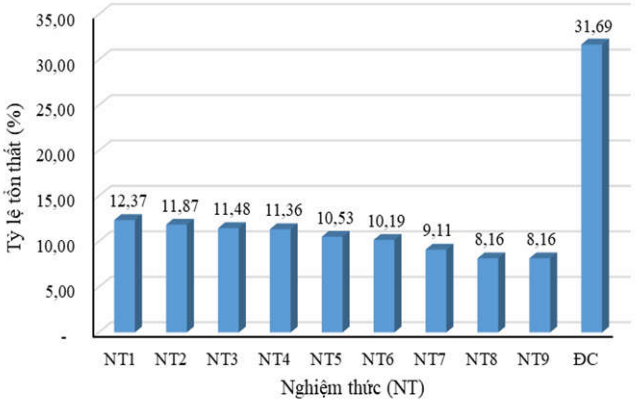
Bảng 5. Hàm lượng protein trong quá trình bảo quản cá thu

Đơn vị: %

Nghiệm thức (NT)	Thời gian (ngày)					
	0 (BĐ)	12	17	20	23	25
NT1	22,50±0,11^{a}	19,91±0,19^{e}	19,86±0,16^{e}	19,82±0,11^{c}	19,78±0,09^{d}	19,72±0,5^{e}
NT2	22,50±0,11^{a}	20,27±0,22^{d}	20,19±0,17^{d}	20,05±0,10^{c}	19,91±0,14^{d}	19,83±0,06^{d}
NT3	22,50±0,11^{a}	20,96±0,16^{c}	20,54±0,05^{c}	20,23±0,45^{c}	20,07±0,56^{cd}	19,92±0,53^{cd}
NT4	22,50±0,11^{a}	21,05±0,06^{bc}	20,72±0,18^{c}	20,68±0,11^{b}	20,36±0,14^{bc}	19,94±0,08^{cd}
NT5	22,50±0,11^{a}	21,24±0,23^{abc}	21,06±0,12^{b}	20,93±0,15^{ab}	20,64±0,13^{ab}	20,13±0,03^{bcd}
NT6	22,50±0,11^{a}	21,40±0,32^{ab}	21,33±0,30^{ab}	21,08±0,37^{ab}	20,76±0,40^{ab}	20,21±0,77^{bcd}
NT7	22,50±0,11^{a}	21,42±0,04^{a}	21,34±0,04^{ab}	21,11±0,18^{ab}	20,82±0,07^{a}	20,45±0,07^{abc}
NT8	22,50±0,11^{a}	21,50±0,02^{a}	21,41±0,02^{a}	21,13±0,03^{a}	20,87±0,07^{a}	20,66±0,03^{ab}
NT9	22,50±0,11^{a}	21,54±0,19^{a}	21,45±0,18^{a}	21,15±0,08^{a}	20,98±0,15^{a}	20,86±0,29^{a}
ĐC	22,50±0,11^{a}	18,44±0,29^{f}	22,50±0,11^{a}	17,03±0,33^{d}	16,26±0,08^{e}	15,37±0,12^{f}

Ghi chú: Các chữ cái khác nhau trong cùng một cột thể hiện sự khác biệt ý nghĩa thống kê (p<0,05).

Nhìn chung, có sự khác biệt ý nghĩa thống kê về hàm lượng protein giữa các nghiệm thức (p<0,05), trong đó nghiệm thức 9 có hàm lượng protein vào ngày thứ 25 cao nhất (20,86 ± 0,29%), cao hơn nghiệm thức đối chứng (15,37 ± 0,12%) (Bảng 5). Trong quá trình bảo quản, protein trong cơ thịt cá có thể bị thủy phân bởi các enzyme nội sinh và các enzyme tiết ra từ các vi khuẩn gây ươn hỏng, protein hòa tan có thể bị thất thoát do quá trình mất nước [14]. Bên cạnh đó, tỷ lệ tổn thất protein giữa các nghiệm thức giảm dần theo nồng độ dung dịch đá sệt và tỷ lệ đá/cá, cụ thể trình bày tại hình 3.



Hình 3. Tỷ lệ tổn thất protein ở ngày bảo quản thứ 25 so với ban đầu

Kết quả phân tích cho thấy, mẫu cá thu tại nghiệm thức đối chứng có tỷ lệ tổn thấp hàm lượng protein sau 25 ngày bảo quản cao nhất (31,96%). Ngược lại, tỷ lệ tổn thất hàm lượng protein ở ngày thứ 25 của mẫu cá thu tại nghiệm thức 9 (nhiệt độ -1,5°C, nồng độ đá 60%, tỷ lệ đá sệt/cá; 3/1, DO<1 mg/l) là thấp nhất (8,16%) (Hình 3), kết quả này tốt hơn (tổn thất protein thấp hơn) so với tỷ lệ tổn thất protein của sản phẩm cá khai thác ở nghề lưới kéo và được bảo quản bằng phương pháp lạnh kết hợp (lạnh ngâm, thấm) (<10%) [15].

3.3. Biến đổi hàm lượng amoniac

Amoniac là một trong những chỉ số để đánh giá chất lượng của thủy sản, sự biến đổi amoniac sẽ giúp dự báo quá trình tự phân giải và gây ươn hỏng thủy sản do hoạt động của vi khuẩn. Amoniac chiếm tỷ lệ chính trong tổng số các hợp chất nitơ bazo bay hơi (TVB). Theo các tiêu chuẩn hiện hành của Việt Nam thì hàm lượng amoniac cho phép trong cá tươi <50 mg/100g thịt cá [16], đối với các nước châu Âu thì không đánh giá riêng hàm lượng amoniac mà đánh giá thông qua chỉ số TVB trong thủy sản, hàm lượng cho phép TVB trong thủy sản tươi <35 mg/100 g [17]. Hàm lượng ammonia trong cơ thịt cá thu trong quá trình bảo quản được trình bày tại bảng 6.

Bảng 6. Hàm lượng ammonia trong quá trình bảo quản cá thu

Đơn vị: mg/100 g

Nghiệm thức (NT)	Thời gian (ngày)					
	0 (BĐ)	12	17	20	23	25
NT1	12,40±0,12^{a}	16,07±0,12^{c}	23,40±0,5^{g}	25,50±0,45^{f}	28,33±0,12^{g}	33,60±0,12^{f}
NT2	12,40±0,12^{a}	15,33±0,55^{bc}	21,47±0,61^{f}	23,53±0,50^{e}	26,33±0,89^{f}	31,33±0,12^{f}
NT3	12,40±0,12^{a}	13,90±0,61^{ab}	19,83±0,49^{e}	21,97±0,76^{d}	25,43±1,10^{e}	26,83±2,66^{e}
NT4	12,40±0,12^{a}	13,88±0,07^{ab}	19,73±0,25^{e}	21,50±0,10^{cd}	23,53±0,42^{de}	25,47±0,41^{de}
NT5	12,40±0,12^{a}	13,87±0,06^{ab}	19,20±0,17^{e}	20,50±0,20^{cd}	22,77±0,25^{d}	24,43±0,41^{cde}
NT6	12,40±0,12^{a}	13,87±2,54^{ab}	17,67±0,42^{d}	19,97±1,68^{c}	21,57±0,38^{cd}	23,20±1,67^{bcd}
NT7	12,40±0,12^{a}	13,63±0,15^{ab}	16,00±2,0^{c}	17,77±0,25^{b}	19,73±0,25^{bc}	22,40±0,53^{bc}
NT8	12,40±0,12^{a}	13,10±0,10^{b}	14,43±0,67^{b}	15,73±0,25^{a}	17,87±0,51^{ab}	20,77±0,25^{ab}
NT9	12,40±0,12^{a}	12,97±0,60^{a}	13,00±0,46^{a}	14,30±1,17^{a}	16,10±0,26^{a}	19,00±3,05^{a}
ĐC	12,40±0,12^{a}	19,30±2,0^{d}	35,40±0,12^{h}	41,44±1,43^{g}	58,70±4,07^{h}	74,97±1,31^{g}

Ghi chú: Các chữ cái khác nhau trên cùng một cột thể hiện sự khác biệt ý nghĩa thống (p<0,05).

Kết quả ở bảng 6 cho thấy, có sự khác biệt ý nghĩa thống kê về hàm lượng amoniac trong thịt cá thu giữa các nghiệm thức (p<0,05), hàm lượng ammonia tăng dần trong quá trình bảo quản và giảm dần theo nồng độ dung dịch đá sệt - nano và tỷ lệ đá/cá. Trong đó, nghiệm thức 9 (nhiệt độ -1,5°C; nồng độ đá sệt 60%; tỷ lệ đá sệt/cá: 3/1; DO <1 mg/l) có hàm lượng amoniac thấp nhất (19,00 ± 3,05 mg/100 g), phù hợp theo quy định của 58 TCN 9-1974 [16] về hàm lượng amoniac tối thiểu trong thủy sản tươi, ngược lại cá thu bảo quản bằng đá xay ở nghiệm thức đối chứng có hàm lượng amoniac cao nhất (74,97 ± 1,31 mg/100 g), vượt quy định của 58 TCN 9-1974 [16] về hàm lượng amoniac tối thiểu trong thủy sản tươi.

3.4. Biến đổi vi sinh vật

Vi sinh vật được tìm thấy trên toàn bộ bề mặt ngoài (da, mang) và trong nội tạng của thủy sản còn sống cũng như thủy sản ngay sau khi đánh bắt, vi sinh vật có thể lây nhiễm vào thủy sản từ nhiều nguồn như môi trường, dụng cụ chứa đựng, ngư dân,…. Kết quả phân tích hàm lượng vi sinh vật trong cơ thịt cá trình bày tại bảng 7.

Bảng 7. Biến đổi tổng số vi sinh vật hiếu khí trong quá trình bảo quản cá thu

Đơn vị: CFU/g

Nghiệm thức (NT)	Thời gian (ngày)					
	0 (BĐ)	12	17	20	23	25
NT1	1,5x10^4^{a}	3,1x10^4^{a}	1,4x10^5^{a}	5,2x10^5^{c}	2,5x10^6^{d}	4,3x10^6^{c}

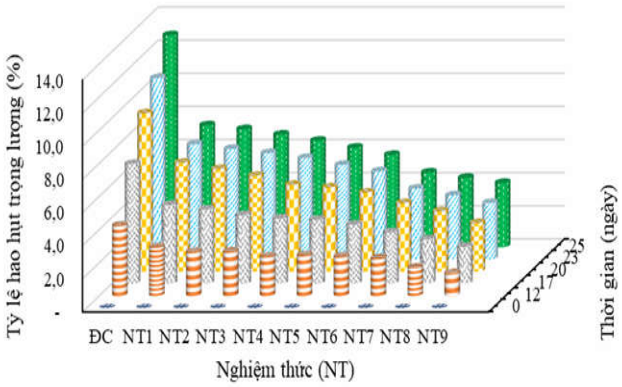
NT2	1,5x10^4^{a}	3,0x10^4^{a}	1,3x10^5^{a}	5,0x10^5^{c}	2,4x10^6^{d}	4,1x10^6^{c}
NT3	1,5x10^4^{a}	2,9x10^4^{a}	1,2x10^5^{a}	4,8x10^5^{c}	2,2x10^6^{d}	3,8x10^6^{bc}
NT4	1,5x10^4^{a}	2,8x10^4^{a}	1,2x10^5^{a}	4,6x10^5^{c}	2,0x10^6^{cd}	3,3x10^6^{abc}
NT5	1,5x10^4^{a}	2,7x10^4^{a}	1,1x10^5^{a}	4,2x10^5^{ab}	1,7x10^6^{bcd}	2,8x10^6^{abc}
NT6	1,5x10^4^{a}	2,6x10^4^{a}	1,1x10^5^{a}	4,0x10^5^{ab}	1,3x10^6^{abcd}	2,3x10^6^{abc}
NT7	1,5x10^4^{a}	2,5x10^4^{a}	7,6x10^4^{a}	2,3x10^5^{ab}	6,3x10^5^{abc}	9,3x10^5^{abc}
NT8	1,5x10^4^{a}	2,5x10^4^{a}	4,7x10^4^{a}	1,5x10^5^{ab}	3,0x10^5^{ab}	6,0x10^5^{ab}
NT9	1,5x10^4^{a}	2,4x10^4^{a}	3,7x10^4^{a}	5,6x10^4^{a}	8,0x10^4^{a}	1,8x10^5^{a}
ĐC	1,5x10^4^{a}	3,3x10^5^{b}	8,4x10^5^{b}	3,6x10^6^{d}	9,3x10^6^{e}	4,8x10^7^{d}

Ghi chú: Những chữ cái khác nhau trên cùng một cột thể hiện sự khác biệt ý nghĩa thống (p<0,05).

Kết quả ở bảng 7 cho thấy, có sự khác biệt ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức thí nghiệm về tổng số vi sinh vật hiếu khí trong cơ thịt cá thu (p<0,05), vi sinh vật tăng nhanh trong quá trình bảo quản thủy sản, đặc biệt là bảo quản bằng đá xay (đối chứng). Trong thời gian 12 ngày đầu khi vi sinh vật chưa quen với môi trường nên hạn chế phát triển, nhưng theo thời gian bảo quản vi sinh vật dần dần thích nghi với nhiệt độ lạnh thì tốc độ phát triển tăng mạnh hơn. Đối với bảo quản bằng đá sệt kết hợp khí nitơ nano, vi sinh vật bị hạn chế hoạt động hơn do ở nhiệt độ -1,5°C nước tự do trong thủy sản phần lớn bị kết tinh do đó sẽ hạn chế sự hoạt động của vi sinh vật. Cụ thể, ở ngày bảo quản thứ 25, tổng vi sinh vật hiếu khí trong cơ thịt cá ở mẫu đối chứng là cao nhất (4,8 x 10^7 CFU/g). Ngược lại, mẫu cá thu ở nghiệm thức 9 (nhiệt độ -1,5°C; nồng độ đá sệt 60%; tỷ lệ đá sệt/cá: 3/1; DO <1 mg/l) có tổng số vi sinh vật hiếu khí thấp nhất (1,8 x 10^5 CFU/g), thấp hơn mẫu đối chứng 2 đơn vị log. Ở ngày bảo quản thứ 12, kết quả này tương đồng với nghiên cứu của Rodríguez và cs (2003) [13] khi bảo quản cá sòng bằng đá sệt (tổng số vi sinh vật hiếu khí đạt 10^4 CFU/g vào ngày thứ 12), tuy nhiên cá thu và cá song là 2 đối tượng khác nhau. Vi sinh vật hiếu khí sản xuất các loại enzyme thủy phân protein từ đó sinh ra các chất chuyển hóa như peptit hoặc axit amin, điều này góp phần đáng kể vào những thay đổi cảm quan trong các sản phẩm thủy sản, những thay đổi về mùi, kết cấu và hình thức bên ngoài có liên quan trực tiếp đến sự hư hỏng trong các sản phẩm thủy sản [15], [18].

3.5. Biến đổi khối lượng

Tổn thất về khối lượng là sự mất nước trong bảo quản thủy sản, sự tổn thất này là một trong những nguyên nhân chính gây ra tổn thất sản lượng sau thu hoạch thủy sản. Tỷ lệ tổn thất khối lượng ở các nghiệm thức có xu hướng tăng dần trong quá trình bảo quản, phương pháp bảo quản bằng đá sệt kết hợp khí nitơ nano làm giảm tỷ lệ tổn thất khối lượng ở cá thu, cụ thể trình bày tại hình 4.



Hình 4. Kết quả tổn thất khối lượng cá thu trong quá trình bảo quản

Hình 4 cho thấy, tỷ lệ tổn thất khối lượng của cá thu tỷ lệ nghịch với nồng độ dung dịch đá sệt nano và tỷ lệ đá/cá, ở các nghiệm thức có nồng độ dung dịch đá sệt nano càng cao thì tỷ lệ tổn thất khối lượng sau 25 ngày càng thấp. Trong đó, nghiệm thức 9 (nhiệt độ -1,5°C, nồng độ đá sệt 60%, tỷ lệ đá sệt/cá: 3/1, DO <1 mg/l) có tỷ lệ hao hụt khối lượng sau 25 ngày bảo quản là thấp nhất (3,88 ± 0,26%); trong khi đó nghiệm thức đối chứng có tỷ lệ tổn thất khối lượng cao nhất (12,80 ± 0,56%). Sự tổn thất khối lượng trong quá trình bảo quản là do các biến đổi về sinh hóa làm cho cơ thịt cá mềm, đàn hồi không tốt dẫn đến hiện tượng mất nước, tổn thất một phần các chất dinh dưỡng hòa tan.

4. KẾT LUẬN

Trong 9 nghiệm thức thử nghiệm bảo quản cá thu bằng công nghệ đá sệt kết hợp khí nitơ nano thì tất cả các nghiệm thức đều cho kết quả chất lượng tốt hơn rất nhiều so với nghiệm thức đối bảo quản bằng nước đá truyền thống.

Kết quả phân tích chất lượng cho thấy: Bảo quản sản phẩm cá thu khai thác trên tàu lưới rê ở nhiệt độ -1,5°C, nồng độ đá sệt nano 60%, tỷ lệ đá sệt nano/cá 3/1, DO <1 mg/l, thời gian bảo quản là 25 ngày cho kết quả điểm cảm quan cao nhất (18,10 ± 0,23 điểm), tỷ lệ tổn thất cảm quan so với ban đầu là 9,50%; hàm lượng protein cao nhất (20,86 ± 0,29%), tỷ lệ tổn thất protein là 8,61%; hàm lượng amoniac là 19,0 ± 3,05 mg/100g); tổng số vi sinh vật hiếu khí là 1,8 x 10^5 CFU/g, tỷ lệ tổn thất khối lượng là 3,88 ± 0,26%. Đây là cơ sở khoa học và thực tiễn để xây dựng quy trình bảo quản cá thu bằng công nghệ đá sệt kết hợp khí nitơ nano trên tàu lưới rê.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Y tế (2007). *Bảng thành phần thực phẩm Việt Nam*. Hà Nội. Trang 386.

2. Huss, H. H. (1995). *Quality and quality changes in fresh fish*. FAO, Rome.

3. Kauffeld, M., Kawaji, M., Egolf, P.W., and Editors. (2005). *Handbook on Ice Slurries – Fundamentals and Engineering*. Paris: IIF/IIR.

4. Nguyễn Xuân Thi, Đinh Xuân Hùng (2021). Nghiên cứu, ứng dụng công nghệ bảo quản trên tàu cá xa bờ: Thực trạng và giải pháp. *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn*, tháng 12/2021.

5. Nguyễn Xuân Thi, Đinh Xuân Hùng, Phạm Văn Long, Bùi Thị Thu Hiền và cộng sự (2020). *Nghiên cứu ứng dụng hệ thống thiết bị bảo quản cá ngừ đại dương bằng đá sệt trên tàu vỏ gỗ*. Báo cáo tổng kết đề tài. Viện Nghiên cứu Hải sản.

6. Phạm Văn Long, Nguyễn Xuân Thi, Trần Xuân Lâm, Đặng Văn An và cộng sự (2020). *Ứng dụng công nghệ Nano UFB (Ultra Fine Bubble) để bảo quản cá ngừ đại dương trên tàu câu tay*. Báo cáo tổng kết dự án sản xuất thử nghiệm cấp Quốc gia. Viện Nghiên cứu Hải sản.

7. Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 3215-1979 - Sản phẩm thực phẩm phân tích cảm quan phương pháp cho điểm.

8. Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 3705-1990 - Thủy sản - Phương pháp xác định hàm lượng nitơ tổng số và protein thô.

9. Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 3706-1990 - Thủy sản - Phương pháp xác định hàm lượng nitơ amoniac.

10. Tiêu chuẩn Quốc gia TCVN 4884-1: 2015 (ISO 4833-1: 2013) – Vi sinh vật trong chuỗi thực phẩm - Phương pháp định lượng vi sinh vật - Phần 1: Đếm khuẩn lạc ở 30°C bằng kỹ thuật đổ đĩa.

11. Vanesa L., Pineiro, C., Barros-Velázquez, J. and Aubourg, S. P. (2005). Inhibition of chemical changes related to freshness loss during storage of horse mackerel (*Trachurus trachurus*) in slurry ice. *Food Chemistry*, 93 (4), p:619-625.

12. Nunes, M., Batista I. and Morâo de C. R., (1992). Physical, chemical and sensory analysis of sardine (*Sardina pilchardus*) stored in ice. *Journal Science Food Agriculture*, 59, p: 37-43.

13. Rodríguez, O., Barros-Velázquez, J., Ojea, A., Piñeiro, C. and Aubourg, S. (2003). Evaluation of sensory and microbiological changes and identification of proteolytic bacteria during the iced storage of farmed turbot (*Psetta maxima*). *Journal Food Science,* 68, p: 9 - 10.

14. Nguyễn Trọng Cẩn và Đỗ Minh Phụng (2006). *Công nghệ chế biến thực phẩm thủy sản.* Nxb Nông nghiệp.

15. Nguyễn Xuân Thi, Bùi Thị Thu Hiền, Phạm Văn Long, Phạm Thị Điểm, Đinh Xuân Hùng, Nguyễn Trí Ái, Đặng Văn An, Vũ Thị Quyên và cộng sự (2017). Nghiên cứu công nghệ bảo quản sản phẩm khai thác trên tàu lưới kéo xa bờ. Báo cáo tổng kết đề tài. Viện Nghiên cứu Hải sản.

16. 58 TCN 9-1974 - Cá tươi tự nhiên – Yêu cầu kỹ thuật.

17. Commission Regulation (EC) No 2074/2005. Section II: obligations on the competent authorities - chapter I: total volatile basic nitrogen (TVB-N) limit values for certain categories of fishery products and analysis methods to be used. *Official Journal of the European Union*, p: 36.

18. Makarios-Laham, I. K. and Lee, T. C. (1993). Protein hydrolysis and quality deterioration of refrigerated and frozen seafood due to obligately psychrophilic bacteria. *Journal Food Science* 58, p: 310 - 313.

19. Shewan, J. M. (1977). The bacteriology of fresh and spoiling fish and the biochemical changes induced by bacterial action. In: Handling, Processing and Marketing of Tropical Fish. London: Tropical product Institute, p: 51 - 68.

QUALITY CHANGE OF MACKEREL PRESERVED BY SLURRY ICE TECHNOLOGY COMBINED WITH NANO-NITROGEN GAS ON GILLNET VESSELS

Nguyen Xuan Thi[1], Truong Quoc Cuong[1]

[1]South Research Sub-Institute for Marine Fisheries

Summary

This article shows a summary of the results of analysis and assessment of quality changes (sensory, chemical, microbiological and weight) of mackerel on gill nets preserved by technology of slurry combined with nano nitrogen in gill net vessel. The experiment was arranged with two factors (ice concentration and ice/fish ratio), 10 treatments (9 experimental treatments were preserved by slurry ice combined with nano-nitrogen gas and 1 control experiment preserved with crushed ice), the storage time was 25 days. Quality analysis results show that: preserving mackerel products in gill net vessel at a temperature of -1.5^{o}C, concentration of slurry ice 60%, ratio of ice/fish: 3/1, DO <1 mg/l showed the rate of sensory loss was 9.50%; the proportion of protein loss was 8.61%; ammonia content was 19.0 ± 3.05 mg/100 g); total aerobic microorganisms was 1.8 x 10^5 CFU/g and weight loss ratio was 3.88 ± 0.26%; the storage time was 25 days. This is the scientific and practical basis for establishing a process of preserving mackerel by slurry ice combined with nano nitrogen gas technology on gillnet vessels.

Keywords: *Gill net, mackerel, nano nitrogen, slurry ice.*

Người phản biện: TS. Đỗ Thị Yến
Ngày nhận bài: 20/7/2023
Ngày thông qua phản biện: 24/8/2023
Ngày duyệt đăng: 24/9/2023

VAI TRÒ CỦA THƯƠNG LÁI NGHÊU TRONG CHUỖI GIÁ TRỊ NGHÊU TRẮNG *(Meretrix lyrata)* Ở ĐỒNG BẰNG SÔNG CỬU LONG

Đặng Thị Hải Yến[1,*], Nguyễn Phi Uy Vũ[1]

TÓM TẮT

Thông qua việc phân tích các tác nhân tham gia chuỗi ngành hàng nghêu ở đồng bằng sông Cửu Long (ĐBSCL) dựa vào các chỉ tiêu giá bán, chi phí sản xuất, giá trị gia tăng, lợi nhuận, nghiên cứu rút ra một số nhận định về vai trò của thương lái nghêu ở ĐBSCL. Sự tham gia của thương lái nghêu vào chuỗi "hợp tác xã - thương lái nghêu - doanh nghiệp chế biến thủy sản", thương lái nhận được lợi nhuận khoảng từ 5,4 - 11,3%/tổng lợi nhuận toàn chuỗi, tỷ suất sinh lợi trên vốn đầu tư thương lái thu được là cao 62%. Tuy nhiên, họ đóng góp vai trò nhất định trong chuỗi bởi các ưu điểm đặc trưng như tính linh hoạt trong việc mua bán nghêu, am hiểu thị trường, góp phần hỗ trợ cho các doanh nghiệp tìm được đủ nguồn hàng để chế biến xuất khẩu. Trong bối cảnh hiện nay ở ĐBSCL việc tồn tại tác nhân thương lái là cần thiết, các cơ quan quản lý thủy sản cần có chính sách hỗ trợ việc xây dựng mối liên kết hợp tác xã/nông dân - thương lái - doanh nghiệp chế biến thủy sản, khuyến khích thương lái thành lập hiệp hội nghề và đăng ký ngành nghề kinh doanh để họ có trách nhiệm với ngành hàng, tổ chức cho thương lái tham gia các khóa tập huấn về ký kết hợp đồng, bảo quản hàng thủy sản.

Từ khóa: *Chính sách, chuỗi giá trị, đồng bằng sông Cửu Long, nghêu trắng, thương lái.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Nghêu trắng (*Meretrix lyrata* Sowerby, 1851) thuộc ngành nhuyễn thể hai mảnh vỏ hay còn gọi là thân mềm hai mảnh vỏ, sinh sản và phát triển ở vùng cửa sông và ven biển ở độ sâu từ 0 - 20 m. Trong tự nhiên nghêu trắng phân bố ở một số vùng biển của Indonesia, Philippines, Trung Quốc và vùng biển phía Nam Việt Nam [1]. Ở Việt Nam nghêu trắng là đối tượng nuôi có giá trị kinh tế cao, hiện nay sản lượng nghêu đạt khoảng 179.000 tấn/năm, là mặt hàng thủy sản xuất khẩu chủ lực của Việt Nam, mã ngành hàng là 0307. Theo VASEP (2022) [2] mặt hàng nghêu đạt kim ngạch xuất khẩu 104,5 triệu USD.

ĐBSCL có điều kiện tự nhiên và khí hậu thuận lợi để phát triển nuôi nghêu, nghêu được nuôi quảng canh tại các bãi bồi ven biển, tập trung nhiều tại ba tỉnh: Bến Tre, Trà Vinh, Tiền Giang và được xác định là sản phẩm thuỷ sản chính của các tỉnh này [3]. Nghề nuôi nghêu ở ĐBSCL đã tạo công ăn việc làm cho lực lượng lao động có độ tuổi từ 45 - 60, thu nhập đảm bảo 27% thu nhập hộ [4]. Đây là một nghề được đánh giá là nghề cá có quy mô nhỏ, sản xuất và thu hoạch nghêu còn manh mún nhỏ lẻ, chưa tạo được sản lượng lớn. Các hợp tác xã (HTX) hoặc đơn lẻ từng hộ nuôi bán nghêu cho thương lái. Thị trường nghêu ở ĐBSCL phụ thuộc vào thương lái, thương lái thu gom sản phẩm sau thu hoạch rồi phân phối cho các kênh ngành hàng. Thương lái nghêu là tác nhân trung gian giữa HTX và doanh nghiệp chế biến thủy sản (DN CBTS) [5].

Để thực hiện Nghị định số 98/2018/NĐ-CP [6], ngành thủy sản có định hướng cho các HTX nghêu thực thi chính sách về kết nối giữa vùng sản xuất nghêu và DN CBTS, sản phẩm nghêu sẽ được các HTX cung ứng trực tiếp cho nhà máy, thay vì phải qua tác nhân trung gian là thương lái. Tuy nhiên, trong thực tế, tất cả các khâu mua bán nghêu giống và nghêu thịt ở ĐBSCL đều có sự tham gia của thương lái. Nghiên cứu này tiến hành tìm hiểu vai trò của thương lái trong chuỗi giá trị nghêu, đánh giá mặt tích cực, mặt tiêu cực của thương lái, đề xuất chính sách đưa thương lái vào guồng sản xuất, kinh doanh có kiểm soát, xem họ như một lực lượng lao động sản xuất.

[1] Viện Hải dương học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam
*Email: haiyenhdh@gmail.com

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Nghiên cứu này được thực hiện từ tháng 6/2020 - 3/2021 dựa trên tổng quan các tài liệu nghiên cứu trước đây về ngành hàng nghêu ở các tỉnh Bến Tre, Tiền Giang, Trà Vinh và các chuyến đi thực địa, khảo sát mùa thu hoạch nghêu ở HTX Tân Thủy, HTX Rạng Đông, HTX Nghêu An Thủy – Huyện Ba Tri (Bến Tre) tháng 7/2020 và tháng 1/2021, phỏng vấn sâu cán bộ thủy sản, HTX nghêu Rạng Đông, HTX nghêu Tân Thủy, HTX Nghêu An Thủy, huyện Ba Tri, tỉnh Bến Tre, thương lái nghêu ở tỉnh Bến Tre và thành phố Hồ Chí Minh (Hình 1).

Số liệu thứ cấp thu thập được gồm: Báo cáo về ĐBSCL, về ngành hàng nghêu, các văn bản của Nhà nước và địa phương liên quan đến quy hoạch phát triển nuôi nghêu, các bài báo nghiên cứu về nghề nuôi nghêu ở ĐBSCL của Lê Tân Thới (2010) [7], Huỳnh Văn Hiền, Lê Xuân Sinh (2014) [5] và Liên minh HTX tỉnh Trà Vinh (2020) [8], Lê Quốc Phong và cs (2018) [9]. Số liệu sơ cấp được thu bằng phương pháp phỏng vấn sâu các tác nhân tham gia chuỗi ngành hàng nghêu bao gồm: 9 cán bộ HTX nghêu, 8 cán bộ ngành thủy sản ở tỉnh Bến Tre và viện nghiên cứu, 3 thương lái thủy sản, 20 xã viên, 6 DN CBTS, 4 tiểu thương dựa vào bảng hỏi soạn sẵn để thu thập các thông tin về kỹ thuật (vùng nuôi, kỹ thuật nuôi, khai thác, diện tích nuôi, sản lượng, mô hình sản xuất), tài chính (chi phí sản xuất, giá bán nghêu, lợi nhuận).

Số liệu thu thập được nhập vào Excel để tính toán, phân tích chi phí - lợi nhuận, phân tích giá trị gia tăng cho từng công đoạn và toàn bộ chuỗi giá trị theo một số kênh tiêu thụ sản phẩm nghêu thịt ở ĐBSCL (Bảng 1). Các chỉ tiêu như giá trị gia tăng (GTGT) được tính bằng tổng giá trị đầu ra trừ đi tổng giá trị đầu vào (chi phí sản xuất), đây là chỉ tiêu quan trọng trong phân tích chuỗi giá trị bởi nó cho biết từng tác nhân tham gia chuỗi đóng góp bao nhiêu giá trị vào sản phẩm hay dịch vụ cuối, cụ thể GTGT dùng để chỉ quá trình đóng góp của các tác nhân tố sản xuất như đất đai, lao động, kinh doanh vào quá trình tăng thêm giá trị của một sản phẩm [10], [11]. GTGT thuần (lợi nhuận) là khoản lợi thu được từ hoạt động sản xuất kinh doanh, đây là những thông tin có ý nghĩa quan trọng trong việc đưa ra các quyết định liên quan đến chuỗi, xác định được hoạt động đầu tư và lợi nhuận đã được phân chia giữa các tác nhân tham gia chuỗi; chi phí tăng thêm là chi phí hoạt động đầu tư của từng tác nhân tham gia chuỗi giá trị và chính là hiệu số giữa tổng giá trị đầu ra với lợi nhuận của từng tác nhân.



Hình 1. Các huyện ven biển ĐBSCL phát triển nghề nuôi nghêu

Bảng 1. Các chỉ tiêu kinh tế được áp dụng

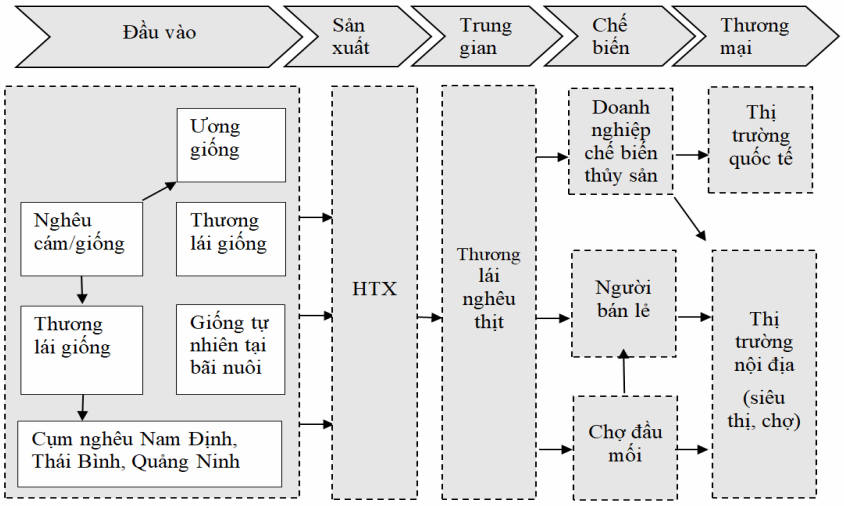
Chỉ tiêu	Công thức/đơn vị tính/nội dung
Giá bán nghêu	đồng/kg
Chi phí mua (chi phí sản xuất)	Con giống, thuê nhân công thu hoạch, bảo vệ bãi nghêu, lưới, cọc, điện nước, vận chuyển
Chi phí tăng thêm	Đầu tư thêm (thuê lao động, thuê mặt bằng, khấu hao, vận chuyển, nhiên liệu)
Giá trị gia tăng	Giá bán trừ chi phí mua (chi phí sản xuất)
% Giá trị gia tăng	Giá trị gia tăng của 1 tác nhân chia tổng giá trị gia tăng của các tác nhân

Lợi nhuận thuần	Giá trị gia tăng trừ các chi phí tăng thêm
% Lợi nhuận thuần	Lợi nhuận thuần của 1 tác nhân chia tổng lợi nhuận thuần của các tác nhân
Lợi nhuận/tác nhân	Sản lượng nhân giá trị gia tăng của 1 tác nhân
% Lợi nhuận/tác nhân	Lợi nhuận của 1 tác nhân chia tổng lợi nhuận của các tác nhân
Tỷ suất sinh lợi trên vốn	(Lợi nhuận của 1 tác nhân chia chi phí sản xuất đầu tư)*100%

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Đặc thù ngành hàng nghêu ở ĐBSCL

Sơ đồ hoạt động chính trong chuỗi ngành hàng nghêu ở ĐBSCL với đặc thù ở khâu hậu cần đầu vào và hậu cần đầu ra đều có sự tham gia của thương lái (Hình 2). Ngoài nuôi nghêu thương phẩm, các tỉnh Bến Tre và Tiền Giang có vùng nghêu giống tự nhiên, nghêu giống của ĐBSCL được bán cho các vùng nuôi nghêu phía Bắc, việc mua bán nghêu giống cũng phải nhờ đến thương lái, họ có kinh nghiệm vận chuyển nghêu đi xa và có các mối mua hàng ở phía Bắc (theo kết quả phỏng vấn của 3 HTX ở tỉnh Bến Tre).



Hình 2. Sơ đồ phân phối ngành hàng nghêu ĐBSCL

Theo khảo sát thực tế ngành hàng nghêu ở ĐBSCL, hiện trên thị trường ĐBSCL có 3 kênh giao dịch mua bán nghêu, nghêu từ cơ sở nuôi đến được với thị trường nội địa và thị trường quốc tế được mô tả như sau:

- Kênh 1 (chiếm khoảng 90% sản lượng): HTX nuôi nghêu –>Thương lái nghêu –> DN CBTS –> Thị trường nội địa và quốc tế;

- Kênh 2 (chiếm khoảng 2,7% sản lượng): HTX nuôi nghêu –> Thương lái nghêu –> Người bán lẻ –> Người tiêu dùng nội địa;

- Kênh 3 (chiếm khoảng 4,2% sản lượng): HTX nuôi nghêu –>Thương lái nghêu –> Vựa sạp/chợ đầu mối –>Người bán lẻ –> Người tiêu dùng nội địa;

3.2. Cơ cấu tài chính trong ngành hàng nghêu ở ĐBSCL

Trong ngành hàng nghêu hoạt động sản xuất nghêu của các HTX và lưu thông sản phẩm nghêu trên thị trường ở các kênh đều phải có sự đầu tư tài chính (chi phí mua hay chi phí tăng thêm) của các tác nhân theo các thông tin tài chính ở bảng 2.

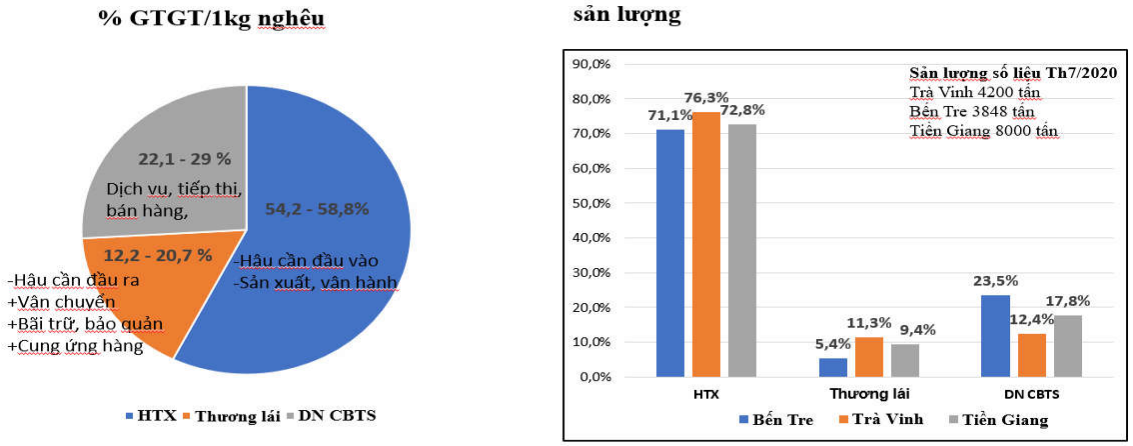
Bảng 2. Cơ cấu chi phí tài chính ngành hàng nghêu các tỉnh ĐBSCL năm 2020

Nội dung	Tỷ lệ (%)	Chi phí (đồng)
HTX		
Chi phí mua (đồng/kg)		8.628
Con giống	78,20	6.747,10
Nhân công san thưa bãi nghêu, bảo vệ	14,50	1.251,06
Kiểm tra môi trường, nghiên cứu	5,13	442,62

Lưới cọc	1,69	145,81
Nhiên liệu	0,42	36,24
Thương lái		
Chi phí tăng thêm (đồng/kg)		4.126
Thuê nhân công thu hoạch, phân loại nghêu, đóng bao	24,30	1.000
Bao lưới nông sản 20 kg 1 bao	2,20	90
Xe vận chuyển (trong phạm vi 100 km)	48,50	2.000
Chi phí xử lý cát, điện nước	5,70	236
Chi phí giao dịch và chi phí khác	19,30	800
Vựa/Sạp		
Chi phí tăng thêm (đồng/kg)		1.000
Thuê nhân công bán hàng	91	914
Chi phí nhiên liệu cho bảo quản	4	36
Đóng thuế	5	50
Người bán lẻ		
Chi phí tăng thêm (đồng/kg)		2.000
Công bán hàng	50	1.000
Chi phí vận chuyển, thuê sạp ...	50	1.000
Nhà máy chế biến		
Chi phí tăng thêm (đồng/kg)		4.000
Công lao động		
Khấu hao máy móc		
Chi phí điện nước		
Bao bì đóng gói		
Quảng cáo tiếp thị		

*Ghi chú: *Số liệu chi tiết DN CBTS chưa cung cấp chi tiết.*

Tiến hành nghiên cứu tính toán ở kênh 1 (chiếm khoảng 90% sản lượng nghêu) để đánh giá việc đóng góp của các tác nhân HTX nuôi nghêu - Thương lái nghêu - DN CBTS tham gia chuỗi ngành hàng nghêu và lợi nhuận họ thu được (Hình 3A, 3B). Đối với kênh 1, tỷ lệ phân phối đầu tư chi phí sản xuất hoặc chi phí tăng thêm, lợi nhuận và tỷ suất sinh lợi cho từng tác nhân trong chuỗi được mô tả trong bảng 3 (số liệu được tính trung bình của ba tỉnh: Bến Tre, Trà Vinh và Tiền Giang).



(3A) (3B)

Hình 3. (3A) Tỷ lệ đóng góp của từng tác nhân trong việc sản xuất và đưa ra tiêu thụ 1 kg nghêu; (3B) Tỷ lệ lợi nhuận từng tác nhân thu được trong chuỗi ngành hàng nghêu ở ĐBSCL

Bảng 3. Phân phối chi phí, lợi nhuận trung bình, tỷ suất sinh lợi giữa các tác nhân tham gia chuỗi ngành hàng nghêu ở kênh 1 (tính trên 1 kg nghêu)

Kênh ngành hàng 1 (kênh phân phối nội địa và xuất khẩu)	HTX	Thương lái	DN CBTS
Chi phí đầu tư sản xuất/chi phí tăng thêm (tính đồng/1 kg nghêu)	8.628	4.126	4.000
Lợi nhuận (GTGT thuần) (tính 1 kg nghêu)	23.039	2.541	6.667
% Lợi nhuận (GTGT thuần) (tính 1 kg nghêu)	73,4	8,7	17,9
% GTGT đóng góp (tính 1 kg nghêu)	57	17	26
Thời gian đầu tư (tháng)	20	1	20
Tỷ suất sinh lợi trên vốn đầu tư - ROI (12 tháng)	160%	739%	100%
Tỷ suất sinh lợi trên vốn sở hữu – ROE, giả định rằng sử dụng toàn bộ vốn thuộc chủ sở hữu không đi vay	267%	62%	167%

Nguồn: Tác giả tính toán từ số liệu phỏng vấn

Bảng 3 cho thấy, ở kênh ngành hàng 1, là kênh phân phối phục vụ chủ yếu cho hàng xuất khẩu, để sản xuất 1 kg nghêu thương phẩm, tính trên toàn chuỗi, HTX phải đầu tư 8.628 đồng, sau 20 tháng HTX đóng góp GTGT là 57% và nhận được 73,4% lợi nhuận (23.039 đồng), nếu tính tỷ suất lợi nhuận trên vốn sở hữu thì HTX nhận được là 267%. Thương lái đầu tư 4.126 đồng, sau 1 tháng họ đóng góp GTGT là 17% và nhận được 8,7% lợi nhuận (2.541 đồng), tỷ suất lợi nhuận trên vốn sở hữu của thương lái là cao đến 62% (tuy nhiên theo phỏng vấn, thương lái bán nghêu cho DN CBTS, các DN CBTS thường thanh toán tiền chậm cho thương lái). DN CBTS với mức đầu tư 4.000 đồng, sau 1 tháng họ đóng góp GTGT là 26% và nhận được lợi nhuận 17,9% (6.667 đồng), tỷ suất sinh lời trên vốn sở hữu của DN CBTS là 167% (chưa trừ đi các khoản khấu hao tài sản và thuế).

Các kênh 2 và kênh 3 phân phối nghêu đến các chợ truyền thống trong vùng và các tỉnh (chiếm khoảng gần 7% sản lượng nghêu ở ĐBSCL), ở các kênh bán hàng này tính trên 1 kg nghêu, vựa sạp với mức đầu tư 1.000 đồng, họ đóng góp GTGT là 6,6% và nhận được lợi nhuận 0,3% (1.999 đồng), tỷ suất sinh lời trên vốn sở hữu của vựa sạp là gần 200%; người bán buôn lẻ với mức đầu tư 2.000 đồng, họ đóng góp GTGT là 15% và nhận được lợi nhuận 0,4% (3.500 đồng), tỷ suất sinh lời trên vốn sở hữu của người bán buôn lẻ là gần 175%. Tỷ suất sinh lời của vốn sở hữu của vựa sạp và người bán lẻ là cao nhất so với công đóng góp GTGT trong chuỗi ngành hàng nghêu (Bảng 4).

Bảng 4. Phân phối chi phí, lợi nhuận trung bình, tỷ suất sinh lợi giữa các tác nhân tham gia chuỗi ngành hàng nghêu ở kênh 2, kênh 3 (tính trên 1 kg nghêu)

Kênh ngành hàng 2, 3 (kênh phân phối ở các chợ truyền thống)	HTX	Thương lái	Vựa sạp	Người bán lẻ
Chi phí đầu tư sản xuất/chi phí tăng thêm (tính đồng/1 kg nghêu)	8.628	4.126	1.000	2.000
Lợi nhuận (GTGT thuần) (tính 1 kg nghêu)	23.039	2.541	1.999	3.500
% Lợi nhuận (GTGT thuần) (tính 1 kg nghêu)	89	10	0,3	0,4
% GTGT đóng góp (tính 1 kg nghêu)	63	19	6,6	15
Thời gian đầu tư (tháng)	20	1	1	1
Tỷ suất sinh lợi trên vốn đầu tư (ROI) (12 tháng) (%)	160	739	2399	2100
Tỷ suất sinh lợi trên vốn sở hữu (ROE) – giả định rằng sử dụng toàn bộ vốn thuộc chủ sở hữu không đi vay	267	62	200	175

Nguồn: Tác giả tính toán từ số liệu phỏng vấn

4. THẢO LUẬN

Đội ngũ thương lái nghêu ở ĐBSCL có những đóng góp nhất định cho sự phát triển của nghề nuôi nghêu bao đời nay, giúp cho sản phẩm nghêu được lưu thông trong thị trường hàng hóa, tuy nhiên việc mua bán bảo quản hàng hóa của họ là theo kinh nghiệm, trong bối cảnh hiện nay hàng hóa thủy sản xuất khẩu đòi hỏi phải nghiêm ngặt về truy xuất nguồn gốc hàng hóa và bảo quản, đây là điểm yếu về năng lực của thương lái. ĐBSCL là nơi kinh tế hàng hóa được hình thành khá sớm, "Thương lái, vựa nậu, hàng xáo" là lực lượng kinh tế gắn bó với sản xuất và đời sống của nông dân ĐBSCL trong nhiều ngành hàng như lúa gạo, thủy sản, trái cây... Đa số họ có chữ tín khi mua bán hàng hóa với HTX/nông dân và cung ứng nguồn nguyên liệu cho các doanh nghiệp. Cùng tham gia vào hoạt động kinh tế thị trường, doanh nghiệp được sự hỗ trợ của Nhà nước, nhưng thương lái thì tự thân vận động cả tài lực và vật lực không có sự hỗ trợ của Nhà nước. Đây là lực lượng kinh tế tư nhân, có kinh nghiệm kinh doanh trong từng ngành hàng nông nghiệp thủy sản, đặc biệt gần gũi với nông dân. Ngành thủy sản cần có các chính sách phát huy các điểm tích cực của lực lượng thương lái, hạn chế mặt tiêu cực của thương lái về nguồn gốc sản phẩm và giá cả mua bán.

Việc liên kết từ nhà sản xuất đến nhà máy chế biến sẽ giảm chi phí trung gian, tăng lợi nhuận cho các tác nhân tham gia ngành hàng. Nhưng thực tế ở ĐBSCL, mắt xích thương lái cũng tạo ra công ăn việc làm cho lực lượng lao động làm việc theo thời vụ ở khu vực nông thôn, đặc biệt là lao động nữ chiếm tỷ lệ cao, đây được xem là chi phí phi thị trường, do đó các cơ quan quản lý nhà nước và các doanh nghiệp nên xem xét ưu điểm này của lực lượng thương lái để khuyến khích họ tham gia vào chuỗi nghêu với trách nhiệm đối với ngành hàng thay vì thực thi ngay chính sách loại bỏ tác nhân thương lái ra khỏi chuỗi ngành hàng. Trong bối cảnh hiện nay tình trạng người lao động ở ĐBSCL di dân, toàn vùng ghi nhận hơn 1,3 triệu dân di cư và là nơi có tỷ lệ xuất cư cao nhất nước [12], việc thương lái tạo ra công ăn việc làm cho người lao động tự do là đáng ghi nhận, không nên xem họ là đối tượng làm cản trở việc phát triển chuỗi ngành hàng nghêu ở ĐBSCL. Các cơ quan quản lý Nhà nước và doanh nghiệp nên có chính sách tăng cường năng lực cho các thương lái địa phương bằng cách tổ chức đưa họ tham gia vào chuỗi giá trị nghêu một cách có khuôn khổ theo quy định của ngành thủy sản như tổ chức cho thương lái tham gia các lớp tập huấn về bảo quản chất lượng nghêu thương phẩm, soạn thảo hợp đồng mua bán theo qui định của pháp luật và đảm bảo lợi ích cho các bên tham gia. Khuyến khích các thương lái tham gia trực tiếp hoặc hỗ trợ các HTX nghêu ở khâu khai thác, phân loại nghêu, khâu cung ứng nghêu giống và nghêu thương phẩm trong thị trường nội địa.

Để các tác nhân trung gian thương lái nghêu ở ĐBSCL hoàn thành vai trò cung ứng nguyên liệu/sản phẩm nghêu ổn định cho các kênh thị trường và đáp ứng tiêu chuẩn về vệ sinh an toàn thực phẩm (VSATTP) thì các HTX nghêu phải có các chính sách nâng cao năng lực quản lý của các HTX nghêu ở khâu ký kết hợp đồng kinh tế mua bán với thương lái có các điều khoản ràng buộc về truy xuất nguồn gốc sản phẩm, đảm bảo uy tín thương hiệu của sản phẩm nghêu của ĐBSCL, đặc biệt là nghêu ở các vùng có giấy chứng nhận do Hội đồng Quản lý biển (Marine Stewardship Council - MSC) cấp. Các HTX cần phải xây dựng thương hiệu, bao bì nhận diện sản phẩm của từng HTX nghêu. Song song đó, các cơ quan quản lý thủy sản cũng cần cập nhật thêm kiến thức pháp luật về thực hiện hợp đồng cho các tác nhân thương lái tham gia chuỗi ngành hàng nghêu, từ đó hình thành trong nhận thức của tác nhân việc tuân thủ theo hợp đồng đã ký, tránh trường hợp thương lái mua nghêu ở vùng khác trộn lẫn với nghêu ở ĐBSCL để cung ứng cho DN CBTS.

Các cơ quan quản lý thủy sản nên có chính sách thành lập hiệp hội ngành nghề thương lái thủy sản để họ có diễn đàn trao đổi kinh nghiệm kinh doanh, nghiệp vụ, hợp đồng ký kết, qua đó ngành thủy sản có thể tổ chức cho họ tham gia các lớp tập huấn để họ hiểu được vai trò của việc cung ứng nguyên liệu trong chuỗi giá trị, nâng cao năng lực về bảo quản, vận chuyển, VSATTP.

Việc xây dựng mối liên kết giữa doanh nghiệp và lực lượng thương lái trong việc bao tiêu các vùng sản xuất nguyên liệu có nguồn gốc, đảm bảo về môi trường khai thác, ký kết hợp đồng pháp lý

là rất cần thiết. Các địa phương nên tổ chức lại sản xuất theo liên kết chuỗi giá trị sản phẩm, từ vùng sản xuất đến thị trường tiêu thụ, trong đó doanh nghiệp thu mua, chế biến, tiêu thụ đóng vai trò hạt nhân liên kết với HTX, thương lái và tổ chức chuỗi. Ngành thủy sản cũng cần nâng cao năng lực cho các nhà sản xuất (HTX và nông hộ) về việc tính toán đầu tư trong sản xuất, để họ nắm được đồng vốn đầu tư và lợi nhuận thu được, định giá bán sao cho hợp lý, tránh để thương lái điều khiển giá cả để thu nhiều lợi nhuận.

5. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

5.1. Kết luận

Sự tham gia của thương lái vào chuỗi ngành hàng làm tăng chi phí sản phẩm nghêu thương phẩm, lợi nhuận của cả cơ sở nuôi và DN CBTS bị giảm do phải qua khâu trung gian. Ở kênh HTX - thương lái - DN CBTS (chiếm khoảng 90% sản lượng), lợi nhuận của thương lái được hưởng khoảng 5,4 - 11,3%/tổng lợi nhuận của toàn chuỗi, so với nghiên cứu của Huỳnh Văn Hiền và Lê Xuân Sinh (2014) là 5,2%, tỷ suất lợi nhuận của thương lái là cao 62%. Bù lại, trong chuỗi ngành hàng nghêu, thương lái giải quyết khâu hậu cần đầu ra của sản phẩm. Hình thức thu mua của thương lái đơn giản, linh động về thời gian, giải phóng nhanh mặt bằng bãi thu hoạch. Đội ngũ thương lái có thể thu gom được số lượng lớn sản phẩm nghêu từ các HTX khác nhau trong ĐBSCL, phân loại sản phẩm nghêu ra kích cỡ khác nhau ra để cung cấp cho từng đối tác theo đúng yêu cầu mà đối tác DN CBTS cần để chế biến đưa vào siêu thị hoặc xuất khẩu, khoảng 10% sản lượng thu mua thương lái bán ra thị trường nội địa ở các chợ truyền thống.

Qua phân tích các kênh giao dịch cho thấy, sự hiện diện của thương lái ở tất cả các kênh mua bán nghêu. Theo phỏng vấn các HTX nghêu đều trả lời rằng ở ĐBSCL các cơ sở nuôi nghêu thương phẩm khó bán trực tiếp sản phẩm cho các DN CBTS vì mỗi DN có các hợp đồng về số lượng và kích cỡ nghêu đạt tiêu chuẩn. Một bãi nghêu thịt, không thể đáp ứng được cả về mặt số lượng nghêu và đúng kích cỡ theo yêu cầu của DN CBTS. Riêng thương lái họ có thể điều phối và thu mua nghêu từ các HTX khác nhau, sau đó phân loại và bán lại cho từng nhà máy đúng với yêu cầu về số lượng và cỡ nghêu đều nhau, kể cả thị trường nội địa. Ở ĐBSCL, thông qua đội ngũ thương lái, doanh nghiệp tìm được các nguồn hàng nghêu, phân loại nghêu, vận chuyển đến nhà máy. Như vậy để sản phẩm nghêu đến được thị trường, đội ngũ thương lái là cầu nối không thể thiếu giữa HTX và DN CBTS trong bối cảnh ngành hàng nghêu ở ĐBSCL sản xuất còn manh mún, sản lượng bị chia nhỏ.

Việc hợp tác, liên kết sản xuất thủy sản theo chuỗi từ nhà sản xuất đến doanh nghiệp là vô cùng cần thiết, có ý nghĩa giúp các nhà sản xuất giảm thiểu chi phí và tăng lợi nhuận. Người tiêu dùng được sử dụng sản phẩm theo yêu cầu, bảo đảm VSATTP. Khi một chuỗi liên kết được đảm bảo, doanh nghiệp sẽ có lợi vì có được nguồn nguyên liệu đầu vào ổn định, các HTX cũng yên tâm về đầu ra sản phẩm để sản xuất. DN CBTS xuất khẩu cần minh bạch trong việc cung cấp các thông tin thị trường và yêu cầu chất lượng sản phẩm của khách hàng cho nhà sản xuất, để sản xuất những sản phẩm đáp ứng yêu cầu của thị trường và khách hàng. Tuy nhiên, trong thực tế nhiều DN chưa tạo được mối liên kết với nhà sản xuất nên kênh phân phối sản phẩm này vẫn còn tồn tại nhiều cấp trung gian là thương lái. Cả nhà sản xuất và DN CBTS vẫn phải phụ thuộc vào tác nhân trung gian để bán/thu mua nguyên liệu. Các tác nhân thu mua trung gian ở ĐBSCL vẫn đóng vai trò chính trong chuỗi cung ứng nguyên liệu cho DN CBTS, điều này dẫn đến một nhược điểm lớn là các DN CBTS khó kiểm soát được nguồn gốc nguyên liệu ban đầu, nhất là đối với mặt hàng xuất khẩu yêu cầu truy xuất nguồn gốc nguyên liệu rất nghiêm ngặt. Hiện nay quy mô nuôi nghêu ở ĐBSCL còn ở mức độ quảng canh, nhỏ lẻ nên sản lượng và chất lượng chưa ổn định, do đó việc liên kết giữa DN CBTS và HTX cần phải có thời gian, quy trình và các chính sách thúc đẩy việc liên kết chuỗi.

5.2. Kiến nghị

Trong bối cảnh của ĐBSCL việc tồn tại tác nhân thương lái là cần thiết, các cơ quan quản lý nên phát huy các mặt tích cực của thương lái ở khâu vận chuyển, linh hoạt tìm nguồn hàng cung ứng, có chính sách khuyến khích các thương lái có nguồn lực tài chính, nguồn lực vận tải, kho bãi và các dịch vụ hỗ trợ thành lập doanh nghiệp chuyên cung ứng nguyên liệu thủy sản đầu vào cho các

DN CBTS sản xuất, cung cấp đầy đủ, kịp thời, đúng chủng loại và quy cách chất lượng.

Để có những bãi nghêu lớn, sản lượng lớn đủ cung ứng trực tiếp cho DN CBTS thay vì các thương lái phải đi thu gom nghêu từ các HTX khác nhau cung ứng cho doanh nghiệp, các cơ quan quản lý thủy sản địa phương nên có chính sách hợp nhất các HTX nghêu có diện tích nuôi nhỏ thành HTX có diện tích nuôi lớn, quy hoạch lại các bãi nuôi nghêu và áp dụng khoa học kỹ thuật xuống giống nghêu cùng lúc để tăng sản lượng. Việc hợp nhất các HTX nghêu trong vùng, chính quyền địa phương cần phải thực hiện một số chính sách như: Chính sách tái cấu trúc tổ chức các HTX trong vùng; chính sách quy hoạch lại vùng nuôi; chính sách triển khai ứng dụng kỹ thuật mới về nuôi nghêu nước sâu là cơ hội lớn để mở rộng diện tích và tăng sản lượng; chính sách khuyến nông nhằm tăng cường năng lực cho các xã viên của HTX; chính sách tổ chức tiêu thụ sản phẩm nghêu qua sàn đấu giá sản phẩm thủy sản giữa các doanh nghiệp cung ứng nguyên liệu thủy sản (thay vì như hiện nay đến vụ nghêu các thương lái tập trung lại để đấu giá); chính sách phát triển công nghiệp chế biến ở các DN CBTS với mục tiêu đa dạng hóa sản phẩm và tăng giá trị sản phẩm. Các yếu tố then chốt thúc đẩy HTX nghêu phát triển tham gia vào chuỗi giá trị thủy sản xuất khẩu: năng lực sản xuất của các xã viên trong HTX; kết nối đầu ra cho sản phẩm - dịch vụ của HTX với doanh nghiệp; trình độ quản trị kinh doanh của các cán bộ quản lý HTX; khả năng tiếp cận với các nguồn lực hỗ trợ (vốn, đất đai, nhân lực, pháp lý); trình độ nguồn nhân lực và khả năng công nghệ trong HTX.

LỜI CẢM ƠN

Tác giả xin trân trọng cảm ơn Trường Chính sách công và Quản lý Fulbright thuộc Đại học Fulbright Việt Nam đã hỗ trợ tác giả thực hiện nghiên cứu này. Cảm ơn các cơ quan đơn vị và các cá nhân mà tác giả đã sử dụng tư liệu để tham khảo trích dẫn trong nghiên cứu.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Poutiers, J. M. (1998). Bivalves. Acephala, Lamellibranchia, Pelecypoda. In book *FAO species identification guide for fishery purposes. The living marine resources of the Western Central Pacific. Volume 1. Seaweeds, corals, bivalves, and gastropods*. Rome, FAO, p. 123-362.

2. VASEP (2022). Năm 2022, xuất khẩu nghêu có thể mang về trên 100 triệu USD. https://vasep.com.vn/san-pham-xuat-khau/hai-san-khac/xuat-nhap-khau/nam-2022-xuat-khau-ngheu-co-the-mang-ve-tren-100-trieu-usd-25729.html, truy cập ngày 3/01/2023.

3. Tổng cục Thủy sản (2019). Phát triển chuỗi giá trị nghêu tại một số tỉnh đồng bằng sông Cửu Long. Bản tin Công thông tin điện tử Tổng cục Thủy sản, số ngày 20/9/2019, https://tongcucthuysan.gov.vn/vi-vn/phat-trien-chuoi-gia-tri-ngheu-tai-mot-so-tinh-dong-bang-song-cuu-long, truy cập ngày 21/12/2020.

4. Cao Lệ Quyên và cộng sự (2019). Nguồn lợi nghêu tại Bến Tre, Tiền Giang và Trà Vinh. Báo cáo Dự án do Liên minh châu Âu và Tổ chức Oxfam Việt Nam tài trợ.

5. Huỳnh Văn Hiền, Lê Xuân Sinh (2014). Phân phối lợi ích và chi phí trong chuỗi giá trị Nghêu trắng (*Meretrix lyrata*, Sowerby, 1851) ở Trà Vinh. Hội thảo mối liên hệ giữa rừng ngập mặn và nguồn lợi nghêu, thành phố Hồ Chí Minh ngày 18/11/2014, trang 110-120.

6. Chính phủ (2018). *Nghị định số 98/2018/NĐ-CP, ngày 5 tháng 7 năm 2018 về chính sách khuyến khích phát triển hợp tác, liên kết trong sản xuất và tiêu thụ sản phẩm nông nghiệp*.

7. Lê Tân Thới (2010). Phân tích tình hình sản xuất kinh doanh ngành hàng nghêu trắng Bến Tre (*Meretrix lyrate* Sowerby, 1851). Luận văn thạc sỹ, chuyên ngành nuôi trồng thủy sản - Trường Đại học Cần Thơ.

8. Liên minh HTX tỉnh Trà Vinh (2020). Liên kết chuỗi sản xuất, chế biến Nghêu theo tiêu chuẩn MSC tại các tỉnh ĐBSCL, tại đia chỉ https://lmhtx.travinh.gov.vn/, truy cập ngày 22/12/2020.

9. Lê Quốc Phong, Nguyễn Công Tráng và Phan Duy Khánh (2018). Hiện trạng kỹ thuật và tài chính của nghề nuôi nghêu (*Meretrix lyrata*) tại huyện Gò Công Đông, tỉnh Tiền Giang. *Tạp chí Khoa học, Trường Đại học Cần Thơ*, Tập 54, Số chuyên đề: Thủy sản 2018: trang 184-190.

10. Bellù, Lorenzo G., FAO (2013). Value Chain Analysis for Policy Making Methodological Guidelines and country cases for a Quantitative Approach. *EASYPool Series FAO No. 129/2013*. http://www.fao.org/3/at511e/at511e.pdf. Retrieved 12 April 2021.

11. Tallec, F. and Bockel, L. (2005). Commodity chain analysis: Constructing the Commodity Chain Functional Analysis and Flow Charts. FAO EasyPol, No. 43: 23 pp. http://www.fao.org/3/am350e/am350e.pdf. Retrieved 25 January 2021.

12. Fulbright và VCCI Cần Thơ (2020). Báo cáo kinh tế thường niên ĐBSCL 2020 của VCCI và Fulbright: Nâng cao năng lực cạnh tranh để phát triển bền vững. https://fsppm.fulbright.edu.vn/vn/tin-tuc-su-kien/an-pham-moi/bao-cao-kinh-te-thuong-nien-dong-bang-song-cuu-long-2020-nang-cao-nang-luc-canh-tranh-de-phat-trien-ben-vung/index.html, truy cập ngày 25/01/2021.

THE ROLE OF INTERMEDIARY TRADERS IN THE VALUE CHAIN OF WHITE CLAM (*Meretrix lyrata*) IN MEKONG DELTA

Dang Thi Hai Yen[1], Nguyen Phi Uy Vu[1]

[1]*Institute of Oceanography, VAST, Vietnam*

Summary

Through analyzing the factors of the clam product chain in the Mekong Delta, consisting of economic indicators such as prices, production cost, value-adds, profits based on the theoretical framework of the value chain, combined with interview data and statistics from previous researches, this research provides some conclusions about the role of clam intermediary traders (CIT) in the Mekong Delta. In the chain "co-operatives/producers - clam intermediary traders - seafood processing enterprises", CIT earn between 5.4% to 11.3% of the total profit that the chain makes. The return on equity for CIT can reach as high as 62%. However, they have a certain role in the chain because of their characteristic such as flexibility in buying and selling clams, deep understanding of the local market, distributing in the local clam market, being able to buy in products, have financial potential (not dependent on the bank), speeding up the harvesting process thanks to the effective usage of local workforces, helping seafood processing enterprises to find adequate supply for processing and exporting. Governing organizations should enforce policies to further push the link between "co-operatives/producers - clam intermediary traders - seafood processing enterprises", and have policies to encourage CIT to establish clam trade associations, register business lines, participate in training on signing contracts & preserving seafood, food safety, so that they are responsible for their trading.

Keywords: *Marine policy, Mekong Delta, Meretrix lyrata, white clam, clam intermediary trader.*

Người phản biện: TS. Cao Lệ Quyên
Ngày nhận bài: 20/7/2023
Ngày thông qua phản biện: 20/8/2023
Ngày duyệt đăng: 28/9/2023

THỂ LỆ VIẾT VÀ GỬI BÀI

1. Tạp chí Nông nghiệp và PTNT đăng tải các bài báo khoa học công bố các công trình nghiên cứu khoa học có nội dung khoa học mới, các bài tổng quan về ngành nông nghiệp và PTNT chưa gửi đăng ở bất kỳ loại hình báo chí nào.

2. Bài báo có thể viết bằng tiếng Việt (đăng trên Tạp chí bằng ngôn ngữ tiếng Việt) hoặc tiếng Anh (đăng trên Tạp chí bằng ngôn ngữ tiếng Anh), soạn thảo trên máy vi tính, các dòng cách nhau bằng 1,2 (Paragraph/Line spacing Multiple at 1,2), sử dụng font chữ Times New Roman, cỡ chữ 12, có độ dài không quá 10 trang giấy khổ A4 bao gồm cả tài liệu tham khảo.

3. Từ khóa được trình bày theo thứ tự alphabet, từ 3 - 5 từ. Từ khóa bằng tiếng Việt và tiếng Anh phải cùng nội dung, ý nghĩa của từ. Phần tóm tắt có độ dài không quá 350 từ viết liền, không xuống dòng, cỡ chữ 10, bao gồm: Nêu ngắn gọn về mục đích, phương pháp nghiên cứu, kết quả nghiên cứu chính. Bài báo viết bằng tiếng Việt phải có tóm tắt bằng cả tiếng Anh, tiếng Việt và không khác biệt về nội dung, ý nghĩa.

4. Bài báo phải được trình bày theo thứ tự sau: Tên bài báo bằng tiếng Việt và tiếng Anh, (các) tác giả, tên cơ quan của (các) tác giả, tóm tắt, từ khóa, nội dung của bài báo, lời cảm ơn (nếu có), tài liệu tham khảo. Tác giả liên hệ phải được chỉ rõ cùng với địa chỉ cơ quan, Email, số điện thoại trên trang nhất của bản thảo. Tên riêng tiếng Việt phải có đủ dấu thanh kể cả các bài viết bằng tiếng Anh.

5. Tài liệu tham khảo được trình bày theo thứ tự alphabet và đánh số đặt trong ngoặc vuông theo thứ tự xuất hiện trong bài báo và trong danh mục tài liệu tham khảo.

+ Đối với các tài liệu là bài báo trong Tạp chí ghi đầy đủ theo thứ tự: Tên tác giả, năm xuất bản, tên bài báo, tên tạp chí, tập, số, trang.

+ Đối với các tài liệu là sách ghi đầy đủ theo thứ tự: Tên tác giả, năm xuất bản, tên sách, nhà xuất bản, nơi xuất bản.

Nếu bài viết bằng tiếng Anh, tài liệu tham khảo nào không phải bằng tiếng Anh thì phải dịch ra tiếng Anh và chú thích ngôn ngữ gốc trong ngoặc đơn.

6. Tạp chí Nông nghiệp và PTNT thực hiện quy trình gửi bài, quy trình phản biện online trên hệ thống phần mềm của Tạp chí và sử dụng cơ sở dữ liệu các số báo đã phát hành xuất bản, đề nghị các cộng tác viên, phản biện bài báo và bạn đọc truy cập vào link: http://tapchikhoahocnongnghiep.vn/ sau đó tiến hành đăng ký tài khoản và đăng nhập để bắt đầu quy trình sử dụng.

7. Chi tiết xin liên hệ: Tạp chí Nông nghiệp và PTNT; Số 10 Nguyễn Công Hoan, Ba Đình, Hà Nội; Điện thoại: 024.37711070; 024.38345457; 024.37716634 Email: bbtnongnghiep@gmail.com.