

## KÍCH THÍCH TẠO TRỨNG NGHỈ VÀ THỬ NGHIỆM XỬ LÝ, BẢO QUẢN VÀ ẤP NỞ TRỨNG NGHỈ *Moina micrura*

Đoàn Thị Ninh\*, Phạm Thị Lam Hồng, Trương Đình Hoài, Kim Văn Vạn

Khoa Thủy sản, Học Viện Nông nghiệp Việt Nam

\*Tác giả liên hệ: dtnhinh@vnua.edu.vn

Ngày nhận bài: 04.12.2019

Ngày chấp nhận đăng: 11.03.2020

### TÓM TẮT

Các thử nghiệm bước đầu được tiến hành nhằm kích thích tạo trứng nghỉ, xử lý, bảo quản và ấp nở trứng nghỉ *Moina micrura* hướng đến tạo nguồn giống thức ăn tươi sống chủ động và sạch bệnh. *M. micrura* được nuôi tăng sinh khối trong các bể có thể tích 120L và sử dụng biện pháp kích thích che tối (chu kỳ sáng:tối = 0:24) ở mật độ cao để tạo trứng nghỉ. Trứng nghỉ sau khi thu được xác định tỷ lệ mang phôi và được xử lý bằng 2 phương pháp: phơi khô tự nhiên 2 ngày ở điều kiện nhiệt độ phòng 28-35°C và sấy khô trong 6 h ở nhiệt độ 45°C; sau đó được bọc tối và bảo quản ở 4-5°C; trứng được thử nghiệm ấp nở lại sau thời gian 1 tuần và sau 6 tuần bảo quản. Kết quả cho thấy, tỷ lệ con đực đạt 14,5% trong khi tỷ lệ moina mang trứng trung bình đạt từ 69,0% sau khi được che tối 5 ngày ở mật độ cao (khoảng 12.800 con/L); tỷ lệ trứng mang phôi đạt trung bình đạt 65,2%. Trứng bắt đầu nở sau 3 ngày ấp (36 h) với tỷ lệ nở ở các lô xử lý khác nhau đạt từ 14,3-16,9%. Chưa có sự khác biệt về tỷ lệ nở và thời gian trứng bắt đầu nở giữa các chế độ xử lý, bảo quản trứng sử dụng trong nghiên cứu và giữa thời gian bảo quản 1 tuần và 6 tuần.

Từ khóa: *Moina micrura*, trứng nghỉ, bảo quản, tỷ lệ nở.

### Ephippia (Resting Eggs) Induction and Trials on Treatment, Storage and Hatching of *Moina* sp. Resting Eggs

#### ABSTRACT

Trials were conducted to investigate the effects of an ephippium (resting eggs) production method and the influences of different storage conditions and durations on hatching rate of *Moina micrura* ephippia for live feed producing actively and hygienically. *M. micrura* were cultured in 120-lit tanks and covered with black plastic to make a photoperiod of L:D=0:24 at the time of the highest density to stimulate resting eggs formation. The harvested resting eggs were introduced into trials of egg quality examination and treated with two methods: dried in room condition (28-35°C) for 2 days and dried in an oven at 45°C for 6h, followed by storage duration of 1 and 6 weeks in dark, 4-5°C conditions. The rate of male and ephippium brood reached 14.5% and 69.0%, respectively, after 5 days of the induction treatment. The rate of resting eggs with embryo was at 65.2% on average. Resting eggs started hatching at around 36h (3 days) of incubation, while the hatching rates reached 14.3-16.9% for all of the treatments. No significant difference in hatching rate and the starting time of hatching was found among the treatments of storage methods and durations.

Keywords: *Moina micrura*, ephippia, storage, hatching rate.

### 1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Giáp xác râu ngành là thành phần chính trong hệ động vật phù du nước ngọt (Oda & cs., 2005), đóng vai trò quan trọng trong chuỗi thức ăn của thủy vực, trong đó hầu hết các loài đều có tập tính ăn lọc với thành phần chính trong khẩu phần ăn là vi tảo (Khaton & cs., 2012).

Trong điều kiện môi trường thuận lợi, sự phát triển quần thể dựa trên quá trình sinh sản vô tính, trong khi dạng sinh sản hữu tính xảy ra khi điều kiện môi trường sống trở lên bất lợi (Osman & cs., 2013). Sinh sản vô tính là kiểu sinh sản trong đó quần đàn chỉ tạo ra con non mang giới tính cái, làm mật độ quần đàn tăng nhanh. Khi điều kiện môi trường chất lượng

nước suy giảm, con cái vô tính bắt đầu sinh ra con đực và quá trình sinh sản hữu tính diễn ra (Kleiven & cs., 1992). Sau quá trình bắt cặp đực cái, các trứng nghỉ mang phôi sẽ hình thành với lớp vỏ bảo vệ phôi bên trong. Trứng nghỉ có khả năng sống sót qua các điều kiện khắc nghiệt của môi trường như khô hạn, lạnh (Hairston & Olds, 1997), qua đường tiêu hóa của động vật thủy sinh (Fox, 2004) và vẫn có khả năng nở sau hàng chục năm để đảm bảo sự tồn tại của thế hệ sau (Hairston & Olds, 1997).

*Moina micrura* là loài giáp xác nước ngọt có kích thước nhỏ và được tìm thấy ở hầu hết các thủy vực nước ngọt tự nhiên khu vực nhiệt đới (Idris & Fernando, 1981). Đây là loài có thể được nuôi và duy trì một cách dễ dàng trong điều kiện phòng thí nghiệm khi sử dụng vi tảo làm thức ăn (Alam & cs., 1993). *M. micrura* là nguồn thức ăn tươi sống có giá dinh dưỡng, chứa hàm lượng cao các amino acid, lipid và acid béo (Habib & cs., 2003), phù hợp cho quá trình ương giống nhiều loài cá đặc sản và tôm càng xanh nước ngọt do có kích cỡ nhỏ (Alam & cs., 1993). Khi được cho ăn bằng *M. micrura*, tỷ lệ sống và tốc độ tăng trưởng của ấu trùng trạch bùn (*Misgurnus anguillicaudatus*) cao hơn có ý nghĩa so với nhiều loại thức ăn khác (Wang & cs., 2008). *M. micrura* cũng là thức ăn ban đầu phù hợp cho cá trê (*Heterobranchus longifilis*) (Kerdchuen & Legendre, 1994), đây cũng là thức ăn được sử dụng rộng rãi trong sản xuất giống cá cảnh (Watanabe & cs., 1983).

Mặc dù moina (hay bo bo, trứng nước) có thể được nuôi dễ dàng trong các ao nuôi, nhưng nguồn thức ăn này không chủ động và tiềm ẩn nguy cơ mang mầm bệnh vào hệ thống ương nuôi. Sản xuất được trứng nghỉ với tỷ lệ nở ổn định sẽ là khâu thiết yếu để tạo ra nguồn thức ăn tươi sống chủ động và sạch bệnh với chất lượng dinh dưỡng cao nhằm ứng dụng trong nhiều hoạt động sản xuất giống và nuôi các đối tượng thủy đặc sản, các đối tượng có giá trị kinh tế cao. Một số phương pháp đã được sử dụng để kích thích tạo trứng nghỉ trên moina như nuôi mật độ cao, thay đổi chu kỳ chiếu sáng, thay đổi mật độ, giảm lượng thức ăn sử dụng. Hiệu quả tạo trứng nghỉ thường cao hơn

khi có sự kết hợp của hai hay nhiều biện pháp kích thích khác nhau (Kaur & Siang, 2009). Tuy nhiên, cho đến nay, các nghiên cứu trên thế giới về trứng nghỉ của bộ giáp xác râu ngành (Cladocera) hầu hết đều tập trung đến đặc điểm sinh thái học trên các quần thể sinh vật trong tự nhiên hoặc các nghiên cứu về tác động độc tố trong điều kiện phòng thí nghiệm, trong khi các nghiên cứu theo hướng sử dụng trứng nghỉ trong nuôi trồng thủy sản còn rất hạn chế. Tại Việt Nam, hầu như chưa có công bố nào liên quan đến việc tạo trứng nghỉ trên bộ giáp xác này. Do đó, nghiên cứu hiện tại nhằm thử nghiệm nuôi sinh khối, kích thích tạo trứng nghỉ và bước đầu đánh giá ảnh hưởng của một số phương pháp xử lý, bảo quản và thời gian bảo quản lên tỷ lệ nở của trứng.

## 2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Đối tượng nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện trên loài *Moina micrura* có kích thước cơ thể trong khoảng 350-500µm. Nguồn giống moina sử dụng trong nghiên cứu được thu từ một số hệ thống ao nuôi cá nước ngọt khu vực Gia Lâm, Hà Nội, sau đó được phân lập tạo giống thuần và nuôi tăng dần sinh khối ở các bình có thể tích nhỏ từ 2-5 lít trước khi được đưa vào nuôi để kích thích tạo trứng nghỉ.

### 2.2. Bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm được chia thành 4 giai đoạn khác nhau bao gồm: (1) Nuôi tăng mật độ, (2) Kích thích tạo trứng nghỉ; (3) Thu trứng, xử lý, bảo quản và kiểm tra chất lượng trứng; (4) Thử nghiệm ấp nở trứng nghỉ sau bảo quản.

#### 2.2.1. Thử nghiệm nuôi tăng sinh khối

Quá trình nuôi tăng sinh khối và kích thích tạo trứng được thực hiện trong thời gian 15 ngày. Trong đó, giai đoạn kích thích tạo trứng chủ yếu diễn ra từ ngày 9 đến ngày 15; giai đoạn 9 ngày nuôi đầu tiên tập trung vào nuôi tăng sinh khối.

Thử nghiệm này được thực hiện trong 3 bể có thể tích 120 L/bể. Các bể được thả giống moina

với mật độ ban đầu đồng đều ở mức 2.000 con/L. Bể nuôi được đặt ngoài trời, có mái che và được cung cấp oxy với chế độ sục khí nhẹ. Các bể nuôi được cho ăn 2 lần/ngày bằng tảo *Chlorella vulgaris* tươi, duy trì mật độ thức ăn trong bể ở mức khoảng  $10^5$  tế bào/mL, trong quá trình cho ăn kết hợp thay 25-30% nước trong bể nuôi.

Biến động mật độ moina được theo dõi vào 9-10h sáng hàng ngày. Khi theo dõi mật độ, tiến hành bật sục khí ở chế độ lớn để đảm bảo moina phân bố đều, sau đó lấy 50mL mẫu/bể ở vị trí giữa bể nuôi để đếm số lượng moina. Sử dụng pipet hút mẫu và nhỏ thành từng giọt lên đĩa petri thủy tinh để đếm trên kính hiển vi soi nổi ở vật kính 4x. Tiến hành lấy mẫu và đếm lặp lại 3 lần đối với mỗi bể nuôi. Trong quá trình nuôi cũng kiểm tra thông số nhiệt độ và pH ở các bể 1 lần/ngày.

### 2.2.2. Kích thích tạo trứng nghỉ

Khi mật độ moina trong bể nuôi tăng cao và mức tăng có dấu hiệu chậm lại, tiến hành kích thích tạo trứng nghỉ bằng biện pháp che tối (thay đổi chu kỳ chiếu sáng) dựa theo phương pháp của Kaur & Siang (2008). Các bể nuôi được che phủ toàn bộ bằng lưới đen trong thời gian 5 ngày. Trong thời gian che tối vẫn cung cấp sục khí nhẹ, thức ăn và chế độ thay nước như trong giai đoạn nuôi tăng mật độ. Tiến hành theo dõi tỷ lệ moina mang trứng nghỉ và tỷ lệ con đẻ 1 lần/ngày bằng phương pháp đếm tương tự như trên. Con đẻ có kích thước nhỏ hơn con cái và có phần râu 1 phát triển dài đặc trưng. Kết quả thu được nhằm so sánh với các kết quả nghiên cứu tương tự trên cùng loài hoặc khác loài của các tác giả trước.

### 2.2.3. Thu trứng nghỉ và kiểm tra chất lượng trứng

Sau giai đoạn che tối 5 ngày, tiến hành thu toàn bộ trứng nghỉ ở các bể nuôi. Sử dụng các lưới lọc phù du có mắt lưới khoảng từ 100-500 $\mu$ m để tách, lọc và thu riêng trứng nghỉ. Trứng nghỉ thu được ở từng bể được tách riêng nhằm đánh giá chất lượng trứng trước khi trộn chung để tiến hành xử lý và bảo quản. Để đánh giá chất lượng trứng nghỉ, lấy 100 trứng/bể sau đó ngâm trong dung dịch javel 3% (thành phần

chính là NaOCl và NaOH) trong thời gian 20 phút để khử lớp vỏ đen bên ngoài theo phương pháp của Hwan La & cs. (2009) và Paes & cs. (2016). Trứng sau khi xử lý có lớp vỏ trong suốt và dễ dàng nhận biết được trứng có mang phôi hay không khi soi dưới kính hiển vi soi nổi. Số trứng mang phôi được đếm để tính tỷ lệ trứng có chất lượng tốt. Tiến hành đánh giá lặp lại 3 lần với trứng thu được ở từng bể.

### 2.2.4. Xử lý, bảo quản và ấp nở trứng nghỉ

Xử lý trứng: Trứng sau khi được đánh giá chất lượng sẽ được trộn chung và được chia thành 2 phần tương đương nhau và được xử lý bằng 2 phương pháp: (NT1) để khô tự nhiên trong điều kiện phòng (28-35°C) trong thời gian 2 ngày và (NT2) sấy khô ở nhiệt độ 45°C trong thời gian 6 h. Trứng sau khi xử lý được bảo quản bằng cách bọc tối và bảo quản ở 4-5°C.

Thử nghiệm ấp nở: Trứng được đưa vào 2 đợt thử nghiệm ấp nở: đợt 1 - sau thời gian bảo quản 1 tuần; đợt 2 - sau thời gian bảo quản 6 tuần. Ở mỗi đợt ấp, lấy 100 trứng ở mỗi nghiệm thức xử lý trứng như trên đưa vào ấp trong các cốc thủy tinh 100mL với 3 lần lặp lại. Thí nghiệm được đặt trong phòng có nhiệt độ biến động trong khoảng 28-35°C, điều kiện ánh sáng tự nhiên (tương đương mức sáng : tối = 12:12).

Bổ sung tảo tươi *Chlorella* vào các cốc thí nghiệm ấp, duy trì mật độ tảo ở mức  $10^4$  tb/ml. Tiến hành thay 50% nước mới hàng ngày bằng cách sử dụng pipet có gắn lưới lọc để hút bỏ nước cũ và thay nước mới vào các cốc ấp. Ấu trùng nở ra được soi và hút ra khỏi cốc thí nghiệm hàng ngày bằng pipet. Số trứng nở thành công được tính bằng tổng số ấu trùng hút ra sau thời gian 7 ngày ấp thí nghiệm.

## 2.3. Theo dõi và phân tích một số chỉ tiêu

### 2.3.1. Một số chỉ tiêu nghiên cứu

- Mật độ moina (con/L):  $D = \text{số con đếm được} \times 50\text{ml} / 50 \times 1.000$

- Tỷ lệ con đẻ (%) =  $\text{số con đẻ} / \text{tổng số moina đếm được} \times 100\%$

- Tỷ lệ mang trứng (%):  $\text{TLT} = \text{số con mang trứng} / \text{tổng số con đếm được} \times 100\%$

- Tỷ lệ trứng mang phôi (%):  $TMP = \frac{\text{số trứng mang phôi}}{\text{tổng số trứng}} \times 100\%$

- Tỷ lệ nở:  $TLN = \frac{\text{số ấu trùng thu được}}{\text{tổng số trứng tốt}} \times 100\%$ .

### 2.3.2. Phân tích số liệu

Số liệu được tổng hợp và xử lý bằng phần mềm Excel. Phép phân tích ANOVA hoặc T-test được sử dụng để so sánh thống kê kết quả giữa các nghiệm thức thí nghiệm.

## 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

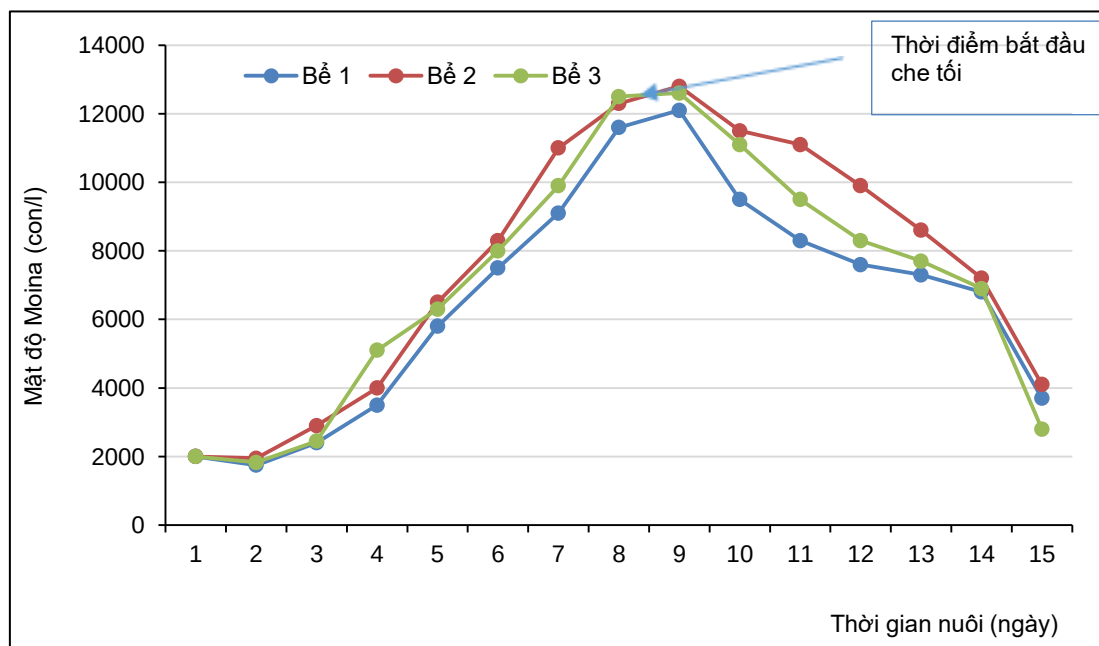
### 3.1 Kết quả ương nuôi tăng sinh khối và kích thích tạo trứng nghỉ *Moina micrura*

#### 3.1.1. Theo dõi biến động mật độ nuôi

Trong thời gian nuôi, các bể nuôi được đặt ngoài trời có mái che với mức nhiệt độ trong môi trường nước dao động trong khoảng 26-31°C, pH biến động trong khoảng 7,7-8,4. Theo Ivleva (1973), moina là nhóm rộng nhiệt và cũng có khả năng sống sót tốt ở khoảng pH rộng, với mức nhiệt độ phù hợp trong khoảng 25-32°C và pH phù hợp ở mức hơi kiềm. Như vậy, mức nhiệt độ và pH trong thời gian nuôi thử nghiệm nằm trong khoảng phù hợp cho moina sinh trưởng và tăng mật độ.

Từ mật độ thả nuôi ban đầu 2.000 con/L ở cả 3 bể, mật độ moina bắt đầu tăng từ ngày nuôi thứ 3 và giữ xu hướng tăng mật độ nhanh đến ngày nuôi thứ 8 ở mức 11.600-12.500 con/L (Hình 1). Từ ngày nuôi thứ 8, xu hướng tăng mật độ giảm dần và đạt mật độ nuôi cực đại ở ngày nuôi thứ 9, ở mức 12.600-12.800 con/L. Sau giai đoạn này, mật độ moina giảm nhanh và xuống gần với mức dưới 4.000 con/l vào ngày nuôi thứ 15. Xu hướng biến động mật độ diễn ra tương đối giống nhau ở cả 3 bể thí nghiệm trong suốt giai đoạn nuôi.

Xu hướng biến động mật độ quần thể tương tự cũng được báo cáo bởi Mubarak & cs. (2017) khi đánh giá ảnh hưởng của một số loại thức ăn lên quá trình tăng mật độ quần thể *M. macrocopa*. Nhóm tác giả nhận thấy mật độ quần thể moina ở tất cả các lô thí nghiệm tăng nhanh 1 ngày sau khi thả giống và đạt cao nhất vào ngày nuôi thứ 8-9, sau đó giảm dần và xuống gần đến mức mật độ nuôi ban đầu vào ngày nuôi thứ 13-14. Kết quả tương tự cũng được báo cáo trong các nghiên cứu về ảnh hưởng của tác nhân sản môi, ký sinh (Nandini & cs., 2010), hay tác động của một số yếu tố môi trường như nhiệt độ, hàm lượng ammonia (Nandini & cs., 2004; Arauzo & Valladolid, 2003) lên quần thể moina.



Hình 1. Biến động mật độ moina trong thời gian thử nghiệm nuôi tăng sinh khối

Xu hướng thay đổi mật độ quần đàn như trên được cho là xuất phát từ đặc điểm phát triển cá thể của moina, trong đó vòng đời cá thể moina kéo dài khoảng 10-12 ngày và hoạt động sinh sản diễn ra mạnh nhất sau 5-10 ngày (Jana & Pal, 1985). Ngoài ra, một số tác giả như Ferrão-Filho & cs. (2003) và Duncan (1989) còn giải thích quá trình tăng giảm mật độ trên là do hiện tượng “bùng nổ tăng trưởng”: giai đoạn đầu, mật độ quần đàn tăng nhanh dựa vào hình thức sinh sản vô tính do có lượng thức ăn dồi dào và mức độ cạnh tranh không gian sống còn thấp, sau đó khi mật độ tăng cao, lượng thức ăn suy giảm, không gian sống hẹp lại, quần thể các loài sẽ có quá trình chuyển sang sinh sản hữu tính, tạo ra được lượng trứng nghỉ nhất định, lưu giữ trong lớp trầm tích, đảm bảo sự tồn tại của loài. Do đó, mật độ quần đàn sẽ có xu hướng tăng chậm lại và giảm dần. Trong sản xuất, các hệ thống nuôi mở ngoài trời sẽ có sự thay đổi về điều kiện môi trường trong chu kỳ nuôi bao gồm: sự xuất hiện và tăng mật độ của một số nhóm nguyên sinh động vật; tích lũy dần chất bài tiết ammonia đến hàm lượng cao gây tác động tiêu cực và thay đổi hình thức sinh sản quần đàn (Benider & cs., 2002; Vieira & cs., 2011).

### 3.1.2. Kích thích tạo trứng nghỉ

Tại thời điểm che tối, tỷ lệ moina mang trứng nghỉ đã đạt từ 25-30% ở các bể nuôi. Tỷ lệ này tăng dần và đạt trung bình 69% sau 5 ngày che tối. Đây cũng trùng với thời điểm mật độ moina giảm thấp. Moina mang từ 1-2 trứng nghỉ màu đen trong cơ thể (Hình 2b). Tỷ lệ con đực (Hình 2a) tại thời điểm bắt đầu che tối đạt trung bình 4,8% và tăng dần và đạt đến 14,5% sau 5 ngày che tối.

Nhiều phương pháp kích thích tạo trứng nghỉ trên moina đã được thử nghiệm bao gồm làm tăng cao mật độ quần đàn (Pagano & cs., 2000; Carvalho & Hughes, 1983; Stross & Kansas, 1969); giảm lượng thức ăn cung cấp (Osman & cs., 2013, Alekseev & cs., 2006), thay đổi chu kỳ chiếu sáng (Kaur & Siang 2008) và thay đổi nhiệt độ nuôi (Osman & cs., 2013). Trong đó, biện pháp tăng mật độ quần đàn được

coi là điều kiện cần để kích thích tạo trứng nghỉ, yếu tố này thường được kết hợp thêm với một hoặc vài kích thích khác để tăng khả năng tạo trứng nghỉ (Osman & cs., 2013). Tuy nhiên, khi áp dụng các dạng kích thích khác nhau trên các loài khác nhau cũng cho kết quả khác biệt. Khi sử dụng cùng một chế độ kích thích với chu kỳ chiếu sáng ngắn (L:D = 8:16) kết hợp với điều kiện nhiệt độ thấp (20°C) cho tỷ lệ mang trứng tối đa đạt 80% trên *M. australiensis*, nhưng chỉ đạt 50% trên loài *D. carinata* (Leung, 2009). Như vậy, kết quả nghiên cứu hiện tại với sự kết hợp của mật độ cao và thay đổi chu kỳ chiếu sáng (D:L = 0:24) cho kết quả về tỷ lệ mang trứng tương đồng với các nghiên cứu trước.

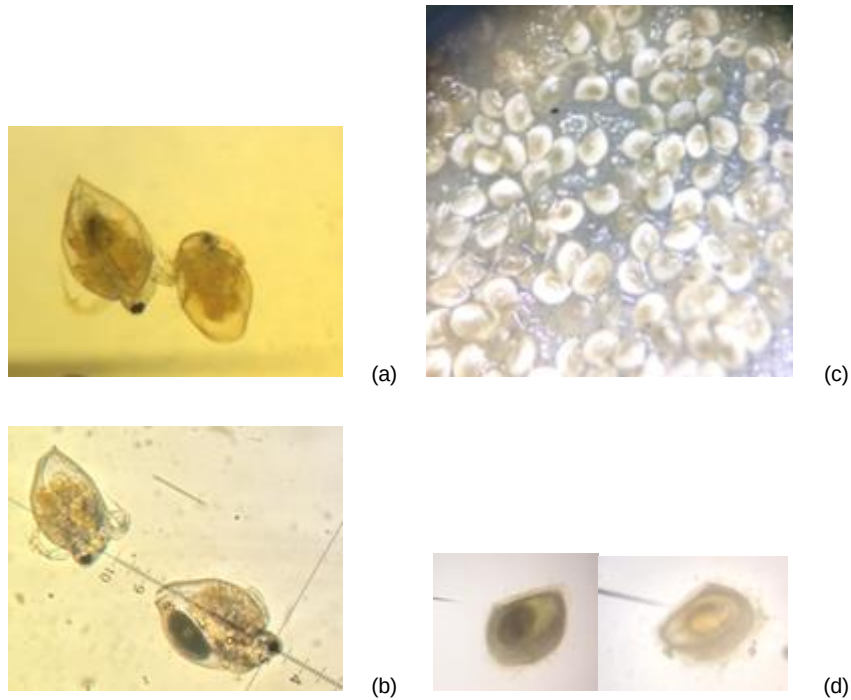
### 3.1.3. Đánh giá chất lượng trứng

Sau khi xử lý, lớp vỏ trứng trở lên trong suốt, dễ dàng quan sát phôi bên trong (Hình 2d). Kết quả kiểm tra cho thấy, tỷ lệ trứng mang phôi đạt từ 63,3-67,7%; tỷ lệ trứng không mang phôi từ 32,3-36,7%. Khác biệt không có ý nghĩa thống kê ( $P > 0,05$ ) về tỷ lệ trứng mang phôi giữa các mẻ trứng thu được từ các bể nuôi riêng rẽ. Tỷ lệ trứng tốt mang phôi thu được ở 3 bể nuôi trung bình đạt  $65,2 \pm 7,2\%$  (Bảng 2).

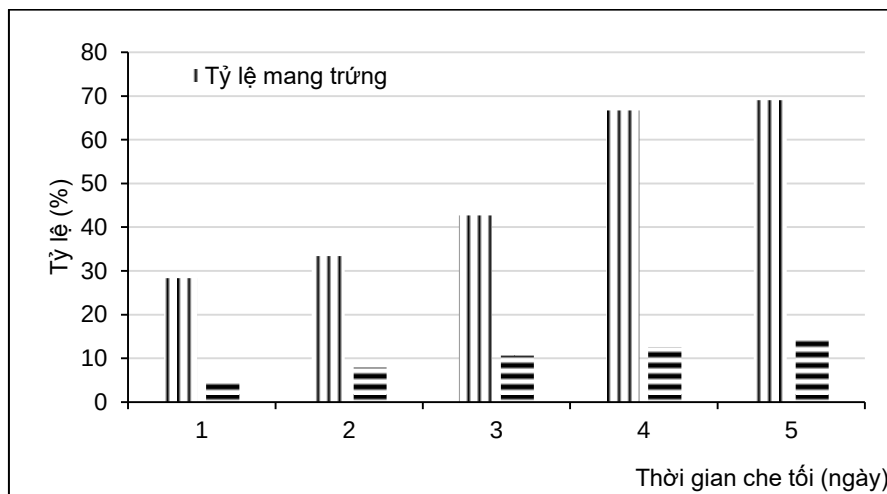
Trứng nghỉ moina được bao bọc bởi lớp vỏ chitin và một lớp sắc tố melanin màu đen bên ngoài giúp bảo vệ phôi bên trong tránh khỏi tác động từ điều kiện môi trường bất lợi và tồn tại lâu dài trong thủy vực (Ślusarczyk & Pietrzak, 2008). Khi quan sát bên ngoài rất khó xác định được trứng có mang phôi hay không; trong khi trong thực tế, nhiều trứng có thể không chứa phôi bên trong do trứng đã nở, phôi đã thoát ra ngoài (Fox, 2007), do trứng phát triển không bình thường (Conde-Porcuna & cs., 2011); hoặc do trứng không được thụ tinh (Zaffagnini & Zeni, 1987). Vì vậy, việc kiểm tra, đánh giá tỷ lệ trứng mang phôi rất quan trọng để xác định được chất lượng trứng thu được, đồng thời giúp đánh giá tỷ lệ nở chính xác hơn trong quá trình ấp. Bước xử lý trứng nghỉ trong dung dịch chlorine cũng có tác dụng giúp làm mỏng và khủ lớp vỏ, tăng tỷ lệ nở của trứng (Hwan La & cs., 2008). Tỷ lệ trứng mang phôi khác nhau lớn giữa các mẻ trứng và giữa các loài (Conde-

Porcuna & cs., 2014). Peas & cs. (2016) đánh giá chất lượng trứng nghỉ *Daphnia laevis* thu từ 2 hồ chứa tự nhiên khác nhau, cho thấy tỷ lệ trứng mang ít nhất 1 phôi dao động lớn từ 37-84%. Nghiên cứu gần đây của nhóm tác giả Lê Văn Hậu & cs. (2019), tỷ lệ trứng nghỉ thu được mang phôi đạt 65%. Như vậy, tỷ lệ trứng mang phôi thu được trong nghiên cứu hiện tại ở mức

tương đương với kết quả mà 2 tác giả trước báo cáo. Trong nghiên cứu hiện tại, tỷ lệ trứng không mang phôi ở mức khá cao (32,3-36,7%), có thể do một số trứng đã nở tại thời điểm thu, hoặc trứng không được thụ tinh liên quan đến tỷ lệ con đực tạo ra. Do đó cần có các nghiên cứu thêm về điều kiện kích thích tạo trứng nghỉ ảnh hưởng đến chất lượng trứng.



**Hình 2. (a) moina đực, (b) moina mang trứng nghỉ, (c) Trứng nghỉ sau khi thu, (d) trứng nghỉ sau khi khử vỏ**



**Hình 3. Biến động tỷ lệ moina mang trứng và tỷ lệ con đực khi sử dụng biện pháp che tối tại thời điểm mật độ cao**

**Bảng 2. Kết quả đánh giá tỷ lệ mang phôi của trứng nghỉ thu được từ các bể nuôi**  
(Số liệu được thể hiện ở dạng TB  $\pm$  SD)

| Bể TN                             | Bể 1 (%)        | Bể 2 (%)        | Bể 3 (%)        | Trung bình (%)  |
|-----------------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| Tỷ lệ trứng có phôi               | 63,3 $\pm$ 4,51 | 64,7 $\pm$ 5,03 | 67,7 $\pm$ 5,51 | 65,2 $\pm$ 4,76 |
| Tỷ lệ trứng rỗng, không mang phôi | 36,7 $\pm$ 4,51 | 35,3 $\pm$ 5,03 | 32,3 $\pm$ 5,51 | 34,8 $\pm$ 4,76 |

**Bảng 3. Tỷ lệ nở của trứng nghỉ *moina micrura* sau khi được xử lý và bảo quản bằng một số phương pháp khác nhau** (Số liệu được thể hiện ở dạng TB  $\pm$  SD)

| Thời gian bảo quản      | Để khô tự nhiên trong 2 ngày ở điều kiện nhiệt độ phòng | Sấy ở 45°C trong 6h |
|-------------------------|---------------------------------------------------------|---------------------|
| Tỷ lệ nở sau 1 tuần (%) | 15,3 $\pm$ 4,06                                         | 16,9 $\pm$ 5,31     |
| Tỷ lệ nở sau 6 tuần (%) | 14,3 $\pm$ 4,93                                         | 15,3 $\pm$ 4,06     |

### 3.1.4. Ảnh hưởng của một số biện pháp xử lý và bảo quản đến tỷ lệ nở của trứng nghỉ

Kết quả cho thấy, sau thời gian bảo quản 1 tuần, tỷ lệ nở của trứng ở các lô thí nghiệm đạt từ 15,3-16,9%. Sau 6 tuần bảo quản, tỷ lệ này dao động trong khoảng 14,3-15,3% (Bảng 3). Trong phạm vi nghiên cứu của đề tài, tỷ lệ nở của trứng nghỉ khác biệt không có ý nghĩa thống kê giữa các lô trứng được xử lý, bảo quản khác nhau. Trứng khi được bảo quản sau 1 tuần và sau 6 tuần cũng khác biệt không có ý nghĩa thống kê về tỷ lệ nở ( $P > 0,05$ ). Như vậy, chất lượng trứng chưa bị biến đổi khi kéo dài thời gian bảo quản từ 1 tuần đến 6 tuần. Điều này có ý nghĩa rất quan trọng trong quá trình bảo quản trứng nghỉ để gây nuôi hoặc làm thức ăn tươi sống trong nuôi thủy sản.

Ở các lô thí nghiệm, thời điểm bắt đầu xuất hiện ấu trùng moina trong các lô ấp đều sau 36 giờ (3 ngày) ở nhiệt độ ấp 28-35°C. Số trứng nở thường tập trung vào các ngày thứ 3, 4, và 5 sau khi ấp ở tất cả các lô thí nghiệm.

Nghiên cứu ấp nở trứng nghỉ của nhóm giáp xác Cladocera đã được một số tác giả thực hiện, tuy nhiên các kết quả báo cáo về tỷ lệ nở có sự khác biệt rất lớn. Khi được xử lý làm khô tự nhiên và bảo quản trong điều kiện tối ở nhiệt độ  $4 \pm 0,5^\circ\text{C}$ , tỷ lệ nở của trứng nghỉ loài *D. carinata* đạt 1,67% khi được ấp ngay sau quá trình xử lý làm khô và tăng lên 3,53% sau khi được bảo quản trong thời gian 6 tháng. Tuy nhiên đối với loài *M. australiensis*, tỷ lệ nở ngay sau khi làm khô

và sau 6 tháng đạt lần lượt là 41,6 và 43,3% (Leung, 2009). Tác giả cũng báo cáo thời gian trứng bắt đầu nở đối với loài *D. carinata* và *M. australiensis* tương ứng là 30-36h và 20-24h trong điều kiện nhiệt độ  $23 \pm 0,5^\circ\text{C}$  và chu kỳ chiếu sáng L:D = 16:8. Nghiên cứu của Mubarak & cs. (2017), thử nghiệm khả năng nở của *Moina macrocopa* khi được bảo quản trong điều kiện tối, ở nhiệt độ từ  $5 \pm 1^\circ\text{C}$ ; sau 2 tháng lưu giữ, tỷ lệ nở đạt từ 15,6-22,12% trong điều kiện nhiệt độ ấp 27-31°C; trong đó trứng bắt đầu nở sau 36h ấp. Sự khác biệt về kết quả giữa các nghiên cứu có thể do có sự khác nhau về điều kiện ấp nở như nhiệt độ, chế độ ánh sáng; chất lượng trứng nghỉ và phương pháp xử lý và bảo quản trứng (Stross, 1966).

## 4. KẾT LUẬN

Tỷ lệ mang trứng nghỉ của *moina micrura* đạt ở mức cao (trung bình 69%) khi sử dụng biện pháp kích thích che tối trong thời gian 5 ngày tại thời điểm mật độ nuôi cao, trứng thu được có tỷ lệ trứng mang phôi trung bình đạt ở mức 65,2%. Tỷ lệ nở của trứng nghỉ ở mức tương đối thấp, trong khoảng 14,3-16,9% khi xử lý làm khô tự nhiên hoặc sấy khô ở 45°C sau đó bảo quản trong điều kiện tối, ở 4°C với thời gian bảo quản 1 tuần và sau khi kéo dài thời gian bảo quản lên 6 tuần. Sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê về tỷ lệ nở của trứng nghỉ với các phương pháp xử lý, bảo quản và các khoảng thời gian bảo quản trên. Như vậy, chất lượng trứng

chưa bị suy giảm nhiều khi được bảo quản 6 tuần trong điều kiện lạnh tối. Ở tất cả các lô ấp, ấu trùng moina đều bắt đầu xuất hiện sau khi ấp khoảng 36h (3 ngày). Tuy nhiên, cần có thêm các đánh giá về khả năng nở của trứng sau thời gian bảo quản dài hơn và thử nghiệm thêm một số phương pháp xử lý và bảo quản khác. Cũng cần có thêm các nghiên cứu áp dụng biện pháp kích thích tạo trứng nghỉ để tăng tỷ lệ trứng mang phôi, giúp tăng thêm tỷ lệ nở.

### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Alam M.J., Cheah S.H. & Ang K.J. (1991). Possible use of *Moina* spp. as a live feed substitute in larval rearing of the freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii* (de Man). *Aquaculture and Fisheries Management*. 22: 531-535.
- Alekseev V.R., Hwang J.S. & Tseng M.H. (2006). Diapause in aquatic invertebrates: what's known and what's next in research and medical application? *Journal of Marine Science and Technology*. 14: 269-286.
- Arauzo Mercedes & Valladolid Maria (2003). Short-term harmful effects of unionised ammonia on natural populations of *Moina micrura* and *Brachionus rubens* in a deep waste treatment pond. *Water research*. 37. 2547-54. 10.1016/S0043-1354(03)00023-X.
- Benider A., Tifnouti A. & Pourriot R. (2002). Growth of *Moina macrocopa* (Straus 1820) (Crustacea, Cladocera): Influence of trophic conditions, population density and temperature. *Hydrobiologia*. 468. 1-11. 10.1023/A:101521453 0485.
- Carvalho G.R. & Hughes R.N. (1983). The effect of food availability, female-culture density and photoperiod on ephippia production in *Daphnia magna* Straus (Crustacea: Cladocera). *Freshwater Biology*. 13: 37-46.
- Conde-Porcuna J.M., Ramos-Rodriguez E. & Pérez-Martínez C. (2014). Production of empty ephippia and resting eggs by an obligate parthenogenetic population. *In situ Daphnia Journal of Plankton Research*. 36(1): 157-169. <http://dx.doi.org/10.1093/plankt/fbt072>.
- Conde-Porcuna J.M., Valde's F.J., Romo S. & Pérez-Martínez C. (2011). Ephippial and subitaneous egg abortion: relevance for an obligate parthenogenetic. *Daphnia population Journal of Limnology*. 70(1): 69-75. <http://dx.doi.org/10.4081/jlimnol.2011.69>.
- Duncan A. (1989). Food limitation and body size in the life cycles of planktonic rotifers and cladocerans. *Hydrobiologia*. 186-187: 11-28. <http://dx.doi.org/10.1007/BF00048891>
- Ferrao-Filho A., Arcifa M. & Fileto C. (2003). Resource limitation and food quality for cladocerans in a tropical Brazilian lake. *Hydrobiologia*. 491: 201-210.
- Fox J.A. (2007). Hatching timing of diapausing eggs of different ages. *Daphnia mendotae* Fundamental and Applied Limnology. 168(1): 19-26. <http://dx.doi.org/10.1127/1863-9135/2007/0168-0019>
- Fox L.A. (2004). New microsatellite primers for *Daphnia galeata mendotae*. *Molecular Ecology Notes*. 4: 544-546.
- Habib M.A.B., Yusoff F.M., Phang S.M. & Mohamed S. (2003). Growth and nutritional values of *Moina micrura* fed on *Chlorella vulgaris* grown in digested palm oil mill effluents. *Asian Fisheries Science*. 16: 107-119.
- Hairston N.G.J. & Olds E.J. (1997). Population differences in the timing of diapauses, a test of hypothesis. *Oecologia*. 71: 339-344.
- Hwan la G., Jeong H.G., Kim M.C., Joo G.J., Chang K.H. & Kim H.W. (2009). Response of diapausing eggs hatching to changes in temperature and the presence of fish kairomones. *Hydrobiologia*. 635(1): 399-402. <http://dx.doi.org/10.1007/s10750-009-9913-7>
- Idris B.A.G. & Fernando C.H. (1981). Cladocera of Malaysia and Singapore with new records, redescription and remarks on some species. *Hydrobiologia* 77: 233-256.
- Ivleva I.V. (1973). Mass cultivation of invertebrates. Biology and methods. Israel Program for Scientific Translations, Jerusalem. pp. 82-120.
- Jana B.B. & Pal G.P. (1985). Life history parameters of *Moina micrura* (KURZ.) grown in different culturing media. *Water Research*. 19: 863-867
- Kaur S. & Siang H.Y. (2008). The induction of diapause in *Moina macrocopa* influenced by photoperiod and population density. *Proceedings of the 5th National Fisheries Symposium 2008: Kuala Terengganu (Malaysia)*. pp. 28-35.
- Kerdchuen N. & Legendre M. (1994). Larval rearing of an African catfish, *Heterobranchus longifilis* (Teleostei, Clariidae): a comparison between natural and artificial diet. *Aquatic Living Resources*. 7: 247-253.
- Khatoun H., Banerjee S., Yusoff F.M. & Shariff M. (2012). Use of microalgal enriched *Diaphanosoma celebensis* Stingelin, 1900 for rearing *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) postlarvae. *Aquaculture Nutrition*. 19: 163-171. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2095.2012.00952.x>.
- Kleiven O.T., Larsson P. & Hobæk A. (1992). Sexual reproduction in *Daphnia magna* requires three stimuli. *Oikos*. 65: 197-206.



- Lê Văn Hậu, Nguyễn Thành An, Lê Lưu Phương Hạnh & Ngô Huỳnh Phương Thảo (2019). Nghiên cứu ảnh hưởng của thức ăn tới khả năng sản xuất kén và các yếu tố bảo quản tới tỷ lệ nở của trứng nghỉ *Moina micrura* Kurz, 1874. Tạp chí Khoa học - Công nghệ Thủy sản, Trường Đại học Nha Trang, 3: 47-54.
- Leung Y.F.J. (2009). Reproduction of the Zooplankton *Daphnia carinata* and *Moina australiensis*: Implications as Live Food for Aquaculture and Utilization of Nutrient Loads in Effluents, School of Agriculture, Food and Wine, University of Adelaide, Adelaide, p. 189.
- Mubarak A., Jusadi Dedi, Junior M. & Suprayudi Muhammad (2019). Maximum density in the *Moina macrocopa* culture able to produce parthenogenesis in female offspring. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. 236. 012013. 10.1088/1755-1315/236/1/012013.
- Nandini S., & Sarma S.s.s. & Dumont Henri (2010). Predatory and toxic effects of the turbellarian (*Stenostomum cf leucops*) on the population dynamics of *Euchlanis dilatata*, *Platyonus patulus* (Rotifera) and *Moina macrocopa* (Cladocera). Hydrobiologia. 662: 171-177. 10.1007/s10750-010-0493-3.
- Nandini S., Mayeli S.M. & Sarma S.S.S. (2004). Effect of stress on the life-table demography of *Moina macrocopa*. Hydrobiologia. 526: 245e254.
- Oda S., Tatarazako N., Watanabe H., Moriata M. & Iguchi T. (2005). Production of male neonates in four cladoceran species exposed to juvenile hormone analog, fenoxycarb. Chemosphere. 60: 74-78.
- Osman M. Azuraiddi, Fatimah M. Yusoff, Mariana N. Shamsudin, Rahim A. Raha Victor R. Alekseev & Hazel Monica Matias-Peralta. (2013). Effect of food density on male appearance and ephippia production in a tropical cladoceran, *Moina micrura* Kurz, 1874. Aquaculture. (412-413): 131-135.
- Paes T. & Rietzler Arnola & Barbosa Paulina (2016). Methods for selection of *Daphnia* resting eggs: The influence of manual decapsulation and sodium hypochlorite solution on hatching rates. Brazilian Journal of Biology. 76. 10.1590/1519-6984.09415.
- Pagano M., Lucien S.J., Robert A., Marc B. & Helguile S. (2000). Population growth capacities and regulatory factors in monospecific cultures of the cladocerans *Moina micrura* and *Diaphanosoma excisum* and the copepod *Thermocyclops decipiens* from Côte d'Ivoire (West Africa). Aquatic Living Resources 13: 163-172.
- Ślusarczyk M. & Pietrzak B. (2008). To sink or float: the fate of dormant offspring is determined by maternal behaviour in *Daphnia*. Freshwater Biology. 53(3): 569-576.
- Stross R.G. (1966). Light and temperature requirements for diapause development and release in *Daphnia*. Ecology. 47: 368-374.
- Stross R.G. & Kansas D.A. (1969). The reproductive cycle of *Daphnia* in an arctic pool. Ecology. 50: 457-460.
- Vieira A., Medeiros A.R., Leonardo C. & Maria C. (2011). Population dynamics of *Moina minuta* Hansen (1899), *Ceriodaphnia cornuta* Sars (1886), and *Diaphanosoma spinulosum* Herbst (1967) (Crustacea: Branchiopoda) in different nutrients (N and P) concentration ranges. Acta Limnologica Brasiliensia. 23: 48-56. 10.4322/actalb.2011.018.
- Wang Y., Hu M., Cao L., Yang Y. & Wang W. (2008). Effects of *daphnia* (*Moina micrura*) plus *Chlorella* (*Chlorella pyrenoidosa*) or microparticle diets on growth and survival of larval loach (*Misgurnus anguillicaudatus*). Aquaculture International. 16: 361-368.
- Watanabe T., Kitajima C. & Fujita S. (1983). Nutritional values of live organisms used in Japan for mass propagation of fish: a review. Aquaculture. 34: 115-143.
- Zaffagnini F. & Zeni C. (1987). Ultrastructural investigations on the labral glands of *Daphnia obtusa* (Crustacea, Cladocera). Journal of Morphology - J MORPHOL. 193. 23-33. 10.1002/jmor.1051930104.