Vietnam J. Agri. Sci. 2020, Vol. 18, No. 3: 212-220 Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam 2020, 18(3): 212-220
www.vnua.edu.vn

THỬ NGHIỆM THỨC ĂN TRONG ƯƠNG NUÔI ẤU TRÙNG CÁ SONG CHANH (*Epinephelus malabaricus*) GIAI ĐOẠN ĐẦU

Hoàng Nhật Sơn[1*], Phạm Công Hải[2], Kim Văn Vạn[3]

[1]Viện Nghiên cứu nuôi trồng Thủy sản 1
[2]Trường Cao đẳng Công nghệ, Kinh tế và Thủy sản
[3]Khoa Thủy sản, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

[*]Tác giả liên hệ: hnson@ria1.org

Ngày nhận bài: 06.03.2020 Ngày chấp nhận đăng: 13.04.2020

TÓM TẮT

Nghiên cứu này nhằm xác định loại và mật độ thức ăn tươi sống phù hợp cho sinh trưởng và tỷ lệ sống của ấu trùng cá song chanh (*Epinephelus malabaricus*) giai đoạn 0-12 ngày tuổi. Thí nghiệm 1 đã sử dụng 04 loại thức ăn tươi sống (3 loài luân trùng: *Proales similis, Brachionus rotundiformis, Brachionus plicatilis* và ấu trùng trochophore của hàu Thái Bình Dương) để ương nuôi. Kết quả cho thấy luân trùng siêu siêu nhỏ (SSS-rotifer) *Proales similis* (kích thước 50-60µm) là phù hợp nhất cho ương nuôi ấu trùng cá song chanh đến 12 ngày tuổi. Trong thí nghiệm 2, chúng tôi đã xác định được 02 mật độ luân trùng (*P. similis*) là 10 con/mL và 15 con/mL trong ương nuôi ấu trùng cá song chanh cho kết quả cao nhất với tỷ lệ sống của ấu trùng 12 ngày tuổi đạt 8,3-11,7%; hệ số phân đàn: 4,4-8,8%; chiều dài trung bình đạt 601,8-603,6µm.

Từ khoá: Thức ăn tươi sống, ương nuôi, ấu trùng, cá song chanh.

The Effect of Live Food on Larval of Malabar Grouper (*Epinephelus malabaricus*) in Early-Stage Age

ABSTRACT

This study aimed to determine the types and densities of live foods that affect the growth and survival of grouper larvae (*Epinephelus malabaricus*) from 0 to 12 days old. In the first experiment, the feeding regime consisted of four types of live feeds (three rotifer strains: *Proales similis, Brachionus rotundiformis, Brachionus plicatilis* and the trochophore of Pacific oyster) for larval nursing. The results showed that super small rotifers (*Proales similis*) (size 50-60µm) were most suitable for larval rearing of grouper to 12 days old. In experiment 2, the densities of rotifer (*P. similis*) at 10 individuals/ml and 15 individuals/ml were showed the best results in nursing of larval grouper, denoted as the survival rate of 12-day-old larvae was 8.3-11.7%; the population's subdivision coefficients and the average length of grouper larvae were 4.4-8.8% and 601.8-603.6µm, respectively.

Keywords: Live feed, rearing, larval, Malabar grouper.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cá song chanh (*Epinephelus malabaricus*) là đối tượng cá biển quý hiếm, giá trị kinh tế cao. Cá thương phẩm được tiêu thụ trong nước và xuất khẩu sang một số thị trường nước ngoài với nhu cầu số lượng lớn. Vì vậy, loài cá biển này có nguy cơ suy giảm số lượng ngoài tự nhiên bởi sự khai thác của ngư dân. Năm 1990, cá song chanh được Sách đỏ IUCN đưa vào danh sách các loài cần được bảo vệ và một số nước như Thái Lan, Đài Loan, Trung Quốc,… đã bước đầu thành công trong nghiên cứu sinh sản nhân tạo giống. Từ năm 2005 đến nay, Việt Nam chính thức lưu giữ bảo tồn (hình thức *ex-situ*) nguồn gen cá song chanh. Để từng bước phục tráng, đồng thời khai thác và phát triển giá trị kinh tế nguồn gen cá song chanh thì việc nghiên cứu để chủ động trong quy trình sản xuất giống nhân tạo trở nên cần thiết.

Trong quy trình sản xuất giống cá biển nói chung, việc xác định được loại thức ăn phù hợp với từng giai đoạn phát triển của ấu trùng, cá hương, cá giống có vai trò quan trọng và quyết định đến hiệu quả của quy trình ương nuôi. Sau khi nở, dinh dưỡng để ấu trùng phát triển là từ nguồn dự trữ trong khối noãn hoàng. Với các loài thuộc giống cá song (*Epinephelus* spp.*)*, dinh dưỡng noãn hoàng thường cung cấp năng lượng cho ấu trùng sống trong thời gian 5-6 ngày. Ấu trùng bắt đầu ăn thức ăn ngoài 60-70 giờ sau khi nở (tùy thuộc vào loài và điều kiện môi trường sống). Tỷ lệ sống của ấu trùng (giai đoạn đầu) phụ thuộc nhiều vào loại thức ăn tươi sống, chất lượng dinh dưỡng, kích thước, mật độ. Các nghiên cứu về ương nuôi ấu trùng cá song chấm nâu *(E. coioides)*, cá song da báo *(Plectropomus leopardus)*, cá song hổ *(Epinephelus fuscogutatus)* (Lê Xân, 2005; 2010), cá song chấm nâu (*Epinephelus coioides*) (Rayes & cs., 2011; Toledo & cs., 1999; Doi & cs., 1997), cá song Nassau (*Epinephelus striatus*) (Watanabe & cs., 1997),... cho thấy giai đoạn mới mở miệng, loại thức ăn thích hợp nhất là luân trùng (rotifer), ấu trùng nhuyễn thể, nauplius của *Artemia*, copepoda hoặc copepoda trưởng thành.

Những nghiên cứu về đặc điểm sinh học đã xác định ấu trùng cá song chanh *(Epinephelus malabaricus)* có kích thước nhỏ (chiều dài mới nở chỉ đạt 1.300-1.600µm, kích thước miệng mới mở khoảng 125-130µm). Vì vậy, các nghiên cứu để xác định loại thức ăn tươi sống đảm bảo về nhu cầu dinh dưỡng và kích thước phù hợp phải được triển khai trước tiên, góp phần nâng cao tỷ lệ sống ấu trùng, không chỉ ở giai đoạn 0-12 ngày tuổi mà còn đảm bảo cho ấu trùng phát triển qua biến thái thành cá hương, cá giống.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Nghiên cứu triển khai từ tháng 4-6/2019, tại Trung tâm Quốc gia Giống hải sản miền Bắc (Xã Xuân Đám - Huyện Cát Hải - Tp. Hải Phòng).

2.2. Vật liệu thí nghiệm

Ấu trùng cá song chanh cung cấp cho 2 thí nghiệm được ấp nở từ nguồn trứng của đàn cá song chanh bố mẹ sinh sản tại bè cá Việt Hải (Cát Bà - Hải Phòng). Sinh sản bằng phương pháp kích thích hormone, liều lượng (cá cái: 500UI HCG + 25µg LHRH-a_3/1kg; cá đực = 1/2 cá cái). Tỷ lệ thụ tinh 85%.

Ấp nở bằng phương pháp ấp tĩnh, mật độ 500 trứng/lít với điều kiện môi trường (nhiệt độ 27-29°C; độ mặn: 28-30‰; pH: 8,0-8,2; DO: 4,5-5,2). Tỷ lệ nở >80%; tỷ lệ dị hình <3% và không nhiễm VNN.

Thiết bị đo môi trường: nhiệt kế thủy ngân; máy đo độ mặn (Atago PAL-SALT); máy đo pH, DO (EXTECH–DO610); kính hiển vi và trắc vi thị kính (Olympus - Nhật Bản).

Thức ăn sử dụng trong thí nghiệm:

Ba loài luân trùng (rotifer): *Proales similis*, kích thước 60-80µm (nguồn gốc từ Nhật Bản); *Brachionus rotundiformis,* dòng siêu nhỏ (SS-type) kích thước 90-110µm (nguồn gốc từ Úc); *Brachionus plicatilis*, dòng lớn, kích thước 130-340µm (nguồn gốc tại Việt Nam). Nuôi luân trùng sử dụng thức ăn là một số loài tảo gồm *Nannochloropsis oculata*, *Isochrysis galbana*, bổ sung men bánh mì *Saccharomyces cerevisiae* (Pháp). Riêng luân trùng *P. similis*, nuôi sinh khối theo phương pháp của Stanly Wullur (Stenly Wullur & cs., 2009). Trước khi sử dụng, 3 dòng luân trùng đều được cường hóa bằng dung dịch DHA selco (INVE - Thái Lan) liều lượng 10mL/100L/10-12 giờ.

Ấu trùng hầu Thái Bình Dương (*Crassostrea gigas*) giai đoạn Trochophore, kích thước 50-60µm. Sản xuất trochophore bằng cách chọn cá thể hầu bố mẹ khỏe mạnh, có tuyến sinh dục căng đầy, màu trắng sữa. Tách tuyến sinh dục đực, cái trộn lẫn và hòa tan trong nước biển từ 1-2 giờ. Thu trứng thụ tinh bằng lưới phù du có kích thước 25µm, rửa sạch bằng nước biển sạch trước khi đưa vào bể ương.

Tảo (*Nannochloropsis oculata*, *Isochrysis galbana*): Nuôi sinh khối tảo sử dụng bình nhựa (20 lít) và túi plastic (80L). Nước biển được lọc qua hệ thống lọc tinh, sau đó được xử lý Chlorine A với nồng độ 10-15ppm/48-56 giờ và trung hòa bằng Natrithiosulfat, bổ sung EDTA (10ppm) và môi trường dinh dưỡng Walne, F2

(1 mL/L). Tảo giống được cung cấp với mật độ ban đầu 3-5×10^3 tế bào/mL, ánh sáng và ôxy được cung cấp 24/24. Thu hoạch khi mật độ tảo đạt 25-30×10^6 tế bào/mL.

2.3. Bố trí thí nghiệm

Bố trí triển khai lần lượt 02 thí nghiệm trong hệ thống 15 bể xi măng, thể tích 10 m^3/bể, lặp lại 3 lần với mỗi công thức. Mật độ ấu trùng (at) bắt đầu thí nghiệm 10 at/L (khoảng 90.000 at/bể). Điều kiện môi trường ban đầu: nhiệt độ 28-29°C; độ mặn: 28-30‰; pH: 8,0-8,2; DO: 4,5-5,2 mg/L. Mật độ tảo *Nannochloropsis* sp. duy trì: 3-6.10^3 tb/mL. Thức ăn tươi sống bắt đầu đưa vào bể thí nghiệm khi ấu trùng được 3 ngày tuổi. Dầu ăn (Neptune) với 5 mL/m^2 diện tích bể ương được đưa vào từ khi đưa ấu trùng vào thí nghiệm để ngăn chặn ấu trùng chết do sức căng bề mặt nước.

Thí nghiệm 1: Theo dõi ảnh hưởng của loại thức ăn đến tỷ lệ sống và sinh trưởng ấu trùng cá song chanh giai đoạn 0-12 ngày tuổi.

Thí nghiệm được thực hiện với 4 lô thí nghiệm (với 4 loại thức ăn tươi sống khác nhau, cùng mật độ thức ăn 10 con/L), có ký hiệu: CT1 sử dụng luân trùng *Proales similis* (SSS-rotifer); CT2 sử dụng luân trùng *B. rotundiformis* (SS-rotifer); CT3 sử dụng luân trùng *B. plicatilis*; CT4 sử dụng ấu trùng Trochophore hầu (*C. gigas*) và 1 lô đối chứng không sử dụng thức ăn (ĐCTA).

Thí nghiệm 2: Theo dõi ảnh hưởng của mật độ thức ăn đến tỷ lệ sống và sinh trưởng của ấu trùng cá song chanh giai đoạn 0-12 ngày tuổi.

Kế thừa kết quả từ thí nghiệm 1 (xác định được loại thức ăn phù hợp nhất), thí nghiệm 2 được tiến hành với 4 mật độ thức ăn khác nhau: 7; 10; 15; 20 con/mL, 01 lô đối chứng không sử dụng thức ăn. Mã các lô thí nghiệm lần lượt là (MĐ1; MĐ2; MĐ3; MĐ4; ĐCMĐ).

2.4. Thu thập số liệu

Các yếu tố môi trường như: nhiệt độ, pH, oxy hòa tan được đo 2 lần/ngày vào 6h và 14h bằng nhiệt kế và máy đo các yếu tố môi trường đa năng. Mật độ tảo, luân trùng được đếm hàng ngày dưới kính hiển vi (bằng buồng đếm hồng cầu Neubauer). Mẫu ấu trùng được thu ngẫu nhiên 30 at/lần/bể và 3 ngày/lần vào 18-19h; Bảo quản nhanh mẫu bằng dung dịch cồn pha loãng 20°. Đo chiều dài ấu trùng dưới kính hiển vi (bằng trắc vi thị kính). Chiều dài trung bình của ấu trùng được đo từ điểm mắt đến điểm đầu của đuôi. Phương pháp thu mẫu xác định tỷ lệ sống của ấu trùng: được thu vào các buổi tối (tăng sục khí để ấu trùng phân bố đều, sử dụng cốc đong có dung tích 1,0 lít và lấy 03 mẫu/bể thí nghiệm, đếm số lượng ấu trùng), tần suất thu mẫu 3 ngày/ lần.

Các công thức sử dụng:

+ Tăng trưởng theo chiều dài:

$L_t = L_2 - L_1$ (µm)

Trong đó: L_1: Chiều dài cá đo được tại thời điểm t_1 (µm)

L_2: Chiều dài cá đo được tại thời điểm t_2 (µm)

+ Hệ số phân đàn (theo chiều dài):

CVL (%) = SD × 100/X

Trong đó:

CV_L: Hệ số phân đàn (mức độ đồng đều cá thể)

SD: Độ lệch chuẩn

X: Giá trị chiều dài trung bình

+ Tỷ lệ sống (TLS) được xác định theo công thức:

TLS (%) = (N_t : N_o) × 100

Trong đó:

TLS: Tỷ lệ sống (%)

N_t: Số lượng cá thể ở thời điểm kiểm tra t

N_o: Số lượng cá thể ở thời điểm ban đầu.

2.5. Xử lý số liệu

Số liệu được xử lý bằng phần mềm SPSS 20.0. Số liệu là tỷ lệ phần trăm được chuyển đổi đưa về dạng phân phối chuẩn trước khi đưa vào phân tích. Các số liệu phần trăm đều được Ln hóa phù hợp cho việc so sánh thống kê. Phân tích phương sai một nhân tố (loại thức ăn; mật độ ấu trùng cá song chanh) với mức ý nghĩa (P <0,05).

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Môi trường trong hai thí nghiệm

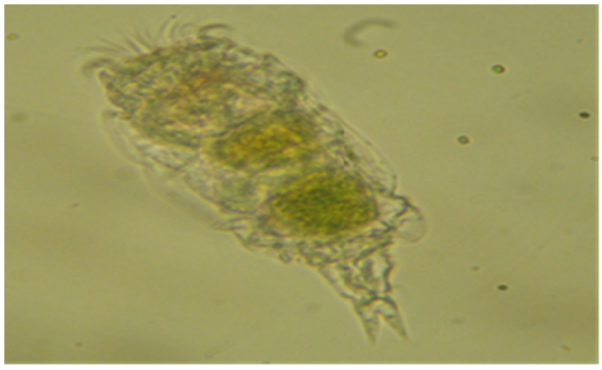
Kết quả kiểm tra chỉ tiêu môi trường hàng ngày trong suốt quá trình triển khai thí nghiệm (1 và 2) cho thấy: Mmột số yếu tố môi trường nước trong các bể thí nghiệm không có sự sai khác giữa các nghiệm thức. Trong đó: Nhiệt độ dao động từ 28-30°C; pH: 8,0-8,1; DO: 5,4 ± 0,2 mg/L; độ mặn: 29-30‰. Nhìn chung, sự biến thiên của một số chỉ tiêu môi trường đều nằm trong khoảng thích hợp cho ấu trùng cá song chanh phát triển.

3.2. Ảnh hưởng của loại thức ăn đến tỷ lệ sống và sinh trưởng ấu trùng cá song chanh giai đoạn 0-12 ngày tuổi

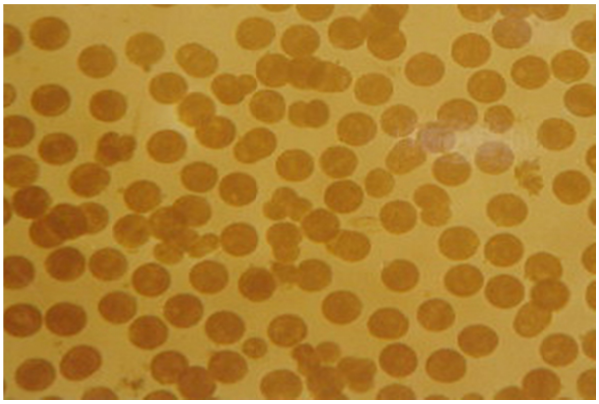
Trong điều kiện thí nghiệm, phôi cá song chanh nở thành cá bột (ấu trùng) khoảng thời gian 20-22h (tính từ khi đẻ). Sau khi nở 58-60h, ấu trùng bắt đầu mở miệng và bắt mồi. Kích thước miệng lúc này đo được trung bình 130,7µm. Tuy nhiên, ấu trùng chỉ có thể ăn được con mồi có kích thước <90µm. Trong các loại thức ăn sử dụng trong thí nghiệm 1, trochophore (*C. gigas*) có kích thước nhỏ nhất (50-55 µm), luân trùng *P. similis* (60-80µm), *B. rotundiformis* (90-110µm); *B. plicatilis* (130-340µm). Kết quả được tổng hợp phân tích tại các bảng 1, 2, 3.

Tăng trưởng chiều dài trung bình trong giai đoạn ấu trùng dinh dưỡng bằng noãn hoàng (từ khi nở đến 3 ngày tuổi), chiều dài ấu trùng trong các lô thí nghiệm lần lượt dao động từ 136,27-136,62µm và 246,0-246,78µm. Sự sai khác giữa các lô thí nghiệm không mang ý nghĩa thống kê (P >0,05). Ở giai đoạn này, ấu trùng cá song chanh chủ yếu sử dụng dinh dưỡng từ khối noãn hoàng, chưa sử dụng thức ăn từ bên ngoài nên tăng trưởng chiều dài cũng như phát triển hình thái của ấu trùng là khác nhau không có ý nghĩa thống kê giữa các lô thí nghiệm.

Khu thí nghiệm tại Xuân Đám - Cát Hải



Luân trùng siêu siêu nhỏ (*Proales similis*)



Ấu trùng trochophore (Hầu TBD)

Nuôi sinh khối tảo phục vụ thí nghiệm

Hình 1. Khu thí nghiệm và một số thức ăn tươi sống sử dụng

Giai đoạn từ 6-9 ngày tuổi: Tăng trưởng chiều dài của ấu trùng có chịu ảnh hưởng của thức ăn tươi sống: Ở lô thí nghiệm sử dụng luân trùng *Proales similis* (CT1) và *B. rotundiformis* (CT2) có chiều dài thân tăng trưởng nhanh hơn CT3, CT4; Sự sai khác có ý nghĩa thống kê (P <0,05). Riêng ấu trùng cá song chanh lô ĐCTA bị chết 100% tại giai đoạn 5-6 ngày tuổi nên tăng trưởng chiều dài không được phân tích. Kết thúc giai đoạn 12 ngày, chiều dài ấu trùng lô CT1 đạt 603,8µm và lô CT2 đạt 599,2µm nhưng sự sai khác không mang ý nghĩa thống kê (P >0,05). Trong khi đó, ở CT3 và CT4 chỉ đạt lần lượt 536,7µm và 535,2µm và sai khác giữa 2 lô thí nghiệm không có ý nghĩa thống kê (P >0,05). So sánh chiều dài ấu trùng cá song chanh ương trong 12 ngày đầu cho thấy ở CT1 và CT2 sai khác có ý nghĩa thống kê với CT3 và CT4 (P <0,05) (Bảng 1).

Bảng 1. Ảnh hưởng của loại thức ăn đến tăng trưởng chiều dài ấu trùng

Nghiệm thức TN	Chiều dài thân của ấu trùng cá song chanh (µm) ở các ngày theo dõi				
	0	3	6	9	12
CT1	136,3^{a} ± 0,59	246,1^{a} ± 3,43	342,4^{b} ± 5,36	443,3^{b} ± 4,05	603,8^{b} ± 3,09
CT2	136,4^{a} ± 0,64	246,0^{a} ± 3,12	340,3^{b} ± 4,40	440,2^{b} ± 3,90	599,2^{b} ± 5,50
CT3	136,4^{a} ± 0,53	246,3^{a} ± 3,79	321,0^{a} ± 5,12	403,2^{a} ± 5,72	536,7^{a} ± 10,17
CT4	136,6^{a} ± 0,59	246,8^{a} ± 3,94	320,2^{a} ± 6,76	401,3^{a} ± 5,52	535,2^{a} ± 11,47
ĐCTA	136,4^{a} ± 0,62	246,3^{a} ± 1,58			

Ghi chú: Các giá trị trung bình trên cùng một cột có chữ cái khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa thống kê (P <0,05).

Bảng 2. Hệ số phân đàn của ấu trùng khi dùng các loại thức ăn khác nhau

Nghiệm thức	Hệ số phân đàn của ấu trùng cá song chanh (%) ở các ngày theo dõi				
	0	3	6	9	12
CT1	4,7^{a} ± 0,096	12,7^{a} ± 0,82	13,3^{a} ± 0,67	7,8^{a} ± 0,01	4,4^{a} ± 1,35
CT2	4,6^{a} ± 0,35	13,5^{a} ± 0,75	13,6^{a} ± 1,2	10,3^{a} ± 0,33	8,5^{b} ± 0,45
CT3	4,9^{a} ± 018	12,8^{a} ± 1,59	14,5^{a} ± 0,88	10,7^{b} ± 0,58	13,7^{c} ± 0,16
CT4	4,5^{a} ± 0,046	13,4^{a} ± 2,06	16,3^{a} ± 2,33	11,2^{b} ± 0,58	13,9^{c} ± 0,18
ĐCTA	4,8^{a} ± 0,39	13,2^{a} ± 0,48			

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

Bảng 3. Tỷ lệ sống của ấu trùng cá song chanh khi dùng các loại thức ăn khác nhau

Nghiệm thức	Tỷ lệ sống ấu trùng cá song chanh (%) ở các ngày theo dõi				
	0	3	6	9	12
CT1	100	60,7^{a} ± 0,33	18,7^{c} ± 0,67	13,3^{c} ± 0,88	8,3^{c} ± 0,33
CT2	100	63,0^{a} ± 1,53	13,3^{b} ± 0,67	7,7^{b} ± 0,33	6,7^{b} ± 0,33
CT3	100	61,7^{a} ± 4,04	6,7^{a} ± 0,67	4,3^{a} ± 0,33	3,1^{a} ± 0,56
CT4	100	61,3^{a} ± 0,67	14,0^{b} ± 1,16	4,7^{a} ± 0,67	3,0^{a} ± 0,57
ĐCTA	100	62,3^{a} ± 0,88			

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

Hệ số phân đàn của ấu trùng (Thí nghiệm 1): Xét CV_L của từng lô thí nghiệm đều tăng cao tại giai đoạn ấu trùng 3-6 ngày tuổi. Hệ số phân đàn $CV_L(3)$, $CV_L(6)$ của ấu trùng cao hơn $CV_L(0)$ (giai đoạn 0 ngày tuổi) bởi từng ấu trùng có tốc độ tăng trưởng khác nhau do chúng khác nhau về kích thước khối noãn hoàng, khả năng bắt mồi và chất lượng dinh dưỡng trong con mồi.

Ở 2 giai đoạn nuôi tiếp theo, hệ số phân đàn của ấu trùng có xu hướng giảm dần. Phân tích cho thấy ấu trùng đã tiêu hóa tốt thức ăn và đồng đều hơn. Kết thúc chu kỳ (giai đoạn 12 ngày tuổi), CV thấp nhất tại lô thí nghiệm CT1 (4,39%) và sai khác có ý nghĩa thống kê (P <0,05) với CV của CT2, CT3, CT4; CT2 với CT3, CT4. Riêng CV của CT3 và CT4 có xu hướng tăng ở giai đoạn 12 ngày tuổi và sự sai khác không mang ý nghĩa thống kê (P >0,05) (Bảng 2).

Tỷ lệ sống của ấu trùng cá song chanh khi dùng các loại thức ăn khác nhau: Kết thúc thí nghiệm, khi ấu trùng được 12 ngày tuổi cho thấy tỷ lệ sống của ấu trùng cá song chanh cao nhất tại lô sử dụng thức ăn *Proales similis* (8,3 ± 0,33%), giảm dần theo các lô sử dụng *B. rotundiformis* (6,7 ± 0,33%); *B. plicatilis* (3,0 ± 0,56%); trochophore (*C.gigas*) (3,0 ± 0,57%). Lô ĐCTA, 100% ấu trùng chết khi đạt 6 ngày tuổi. Phân tích cho thấy sự sai khác có ý nghĩa thống kê (P <0,05) giữa lô CT1, CT2 và CT3, CT4. TLS của ấu trùng thấp tại lô thí nghiệm CT4 (trochophore Hàu *G.gigas*), chỉ đạt khoảng 3,0%, nguyên nhân có thể do ấu trùng cá song chanh có xu hướng bắt cả những con mồi là ấu trùng veliger (ấu trùng chữ D - giai đoạn phát triển sau của ấu trùng trochophore) có lớp vỏ cứng bên ngoài nên khó tiêu hóa, dần yếu và chết (mật độ ấu trùng veliger trong bể ương được xác định >20 con/mL). Lô thí nghiệm CT3 (sử dụng *B. plicatilis)* có kích thước lớn, tỷ lệ ấu trùng bắt mồi thấp dẫn đến TLS thấp nhất trong các lô thí nghiệm tại giai đoạn 6 ngày tuổi khi chỉ đạt 6,7 ± 0,67% (Bảng 3).

Kết quả nghiên cứu cũng tương đồng với kết quả nghiên cứu của Watanabe & cs. (1996) khi tiến hành ương nuôi cá bột cá *Epinephelus striatus* đến giai đoạn cá 10 ngày tuổi sử dụng ba loại thức ăn gồm luân trùng *Brachionus plicatilis* dòng Hawaii (s-rotifer), dòng Thái Lan (ss-rotifer) và *trochophore* (*C. gigas*). Trong nghiên cứu này, cá bột mới nở với mật độ 11,2-20,8 con/L, độ mặn 36-38‰, nhiệt độ nước 25-26°C, duy trì hàng ngày có 11 giờ chiếu sáng và 13 giờ tối. Bắt đầu từ ngày thứ 2, thức ăn được cung cấp vào bể ương với mật độ 20 con/mL cùng với *Nannochloropsis oculata* ở mật độ 5.10^5 tế bào/mL. Kết quả đã thu được tỷ lệ sống lần lượt là 3,45%, 7,96% và 2,13% tương ứng với ba loại thức ăn thí nghiệm, sai khác có ý nghĩa thống kê (P <0,05) về tỷ lệ sống của cá khi sử dụng các loại thức ăn thí nghiệm. Nagano & cs. (2000) đã sử dụng nguyên sinh động vật (*Euplotes* spp và *Favella taraikaensis*) để ương cá bột cá song *E. septemfasciatus* giai đoạn đến 8 ngày tuổi. Kết quả cho thấy với việc sử dụng *Euplotes* spp. (35µm); *F. taraikaensis* (55µm) làm thức ăn đều cho tỷ lệ sống cao hơn khi sử dụng luân trùng *B. plicatilis* (55µm) khi ương nuôi cá đến 4-6 ngày tuổi. Koh & cs. (2010) trong nghiên cứu của mình với cá song lai (giữa cá song chấm nâu *E. coioides* và cá song vua *E. lanceolatus*) cũng cho kết quả là tỷ lệ tử vong cao nhất của ấu trùng xảy ra ở giai đoạn ấu trùng từ 3-7 ngày tuổi (tỷ lệ sống giảm từ 66,3% xuống 28,9%) và kết quả tương tự cũng được ghi nhận trên con lai của cá song chấm nâu *E. coioides* và cá song hổ *E. fuscoguttatus* (Koh & cs., 2008). Nguyên nhân gây ra vấn đề này có thể là do giai đoạn này, ấu trùng cá song có kích thước miệng và cơ thể nhỏ, dinh dưỡng dự trữ trong cơ thể ít (noãn hoàng nhỏ), tỷ lệ bắt mồi kém. Kết quả nghiên cứu này cùng với các nghiên cứu trước đây trên đối tượng cá biển khác cho thấy, kích thước của thức ăn tươi sống có vai trò rất quan trọng trong việc nâng cao tỷ lệ sống của ấu trùng cá biển khi ương.

Như vậy, qua phân tích các chỉ tiêu về chiều dài thân, hệ số phân đàn và tỷ lệ sống của ấu trùng cá song chanh trong 12 ngày tuổi khi dùng các loại thức ăn tươi sống khác nhau cho thấy: luân trùng siêu siêu nhỏ (SSS-rotifer) *P. similis* là loại thức ăn tươi sống phù hợp nhất cho ương nuôi ấu trùng cá song chanh giai đoạn này.

3.3. Ảnh hưởng của mật độ thức ăn đến tỷ lệ sống và sinh trưởng ấu trùng cá song chanh giai đoạn 0-12 ngày tuổi

Khi kết thúc thí nghiệm 1 luân trùng dòng siêu siêu nhỏ (*P. similis)* được lựa chọn để sử dụng với 4 mức mật độ khác nhau để thử nghiệm tiếp cho ương ấu trùng cá song chanh giai đoạn 0-12 ngày tuổi. Kết quả theo dõi được đánh giá và phân tích như sau:

Chiều dài trung bình của ấu trùng cá song chanh khi mới nở trong khoảng 130-150µm. Nhưng khi ương trong 12 ngày (với mật độ luân trùng khác nhau) đã cho chiều dài ấu trùng cá có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (P <0,05) giữa các lô thí nghiệm. Lô thí nghiệm với mật độ thức ăn MĐ 2 (10 con/mL) và MĐ 3 (15 con/mL) cho tăng trưởng chiều dài ấu trùng cao nhất (đạt 601,78-603,56µm) và sai khác với các lô thí nghiệm MĐ1 và MĐ4. Lô thí nghiệm MĐ1 với mật độ 7 con/mL có tăng trưởng chiều dài thấp nhất (538,0 ± 9,9µm) và không sai khác đáng kể (P >0,05) với MĐ4 (548,22 ± 10,29µm) (Bảng 4). Qua thí nghiệm cho thấy mật độ thức ăn quá thưa hay quá dầy đều làm cho ấu trùng cá sinh trưởng chậm hơn mật độ thức ăn vừa phải.

Bảng 4. Ảnh hưởng mật độ thức ăn đến tăng trưởng chiều dài của ấu trùng

Nghiệm thức	Chiều dài ấu trùng cá song chanh (µm) ở các ngày tuổi				
	0	3	6	9	12
MĐ1	136,7^{a} ± 0,64	246,3^{a} ± 3,75	320,2^{a} ± 4,72	403,1^{a} ± 5,66	538,0^{a} ± 9,90
MĐ2	136,6^{a} ± 0,69	246,2^{a} ± 3,17	335,2^{a} ± 5,80	440,3^{b} ± 4,50	601,8^{b} ± 5,60
MĐ3	136,6^{a} ± 1,00	246,4^{a} ± 3,31	334,9^{a} ± 5,30	443,5^{b} ± 3,93	603,6^{b} ± 3,03
MĐ4	136,7^{a} ± 0,88	245,8^{a} ± 3,67	333,9^{a} ± 5,75	435,0^{b} ± 2,76	548,2^{a} ± 10,29
ĐCMĐ	136,6^{a} ± 0,79	245,9^{a} ± 2,92			

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

Bảng 5. Hệ số phân đàn của ấu trùng khi sử dụng mật độ thức ăn khác nhau

Nghiệm thức	Hệ số phân đàn ấu trùng cá song chanh (%) ở các ngày tuổi				
	0	3	6	9	Chu kỳ
MĐ1	5,3^{a} ± 0,24	12,6^{a} ± 0,86	13,9^{a} ± 0,38	10,7^{b} ± 0,84	13,4^{c} ± 0,16
MĐ2	5,5^{a} ± 0,18	13,3^{a} ± 0,52	15,7^{a} ± 2,50	7,7^{a} ± 0,10	8,8^{b} ± 0,52
MĐ3	5,6^{a} ± 0,02	12,6^{a} ± 0,78	14,4^{a} ± 1,70	7,3^{a} ± 0,27	4,4^{a} ± 1,35
MĐ4	5,2^{a} ± 0,21	14,0^{a} ± 0,14	14,9^{a} ± 0,88	10,4^{b} ± 0,64	12,7^{c} ± 0,26
ĐCMĐ	5,1^{a} ± 0,35	13,7^{a} ± 0,67			

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

Bảng 6. Tỷ lệ sống của ấu trùng khi ương ở các mật độ thức ăn khác nhau

Nghiệm thức	Tỷ lệ sống ấu trùng cá song chanh (%) ở các ngày tuổi				
	0	3	6	9	12
MĐ1	100	59,0^{a} ± 0,58	8,7^{a} ± 0,01	5,3^{a} ± 0,33	4,0^{a} ± 0,01
MĐ2	100	58,7^{a} ± 0,67	18,9^{b} ± 0,67	13,7^{b} ± 0,33	8,3^{b} ± 0,33
MĐ3	100	59,7^{a} ± 0,33	20,3^{c} ± 0,33	19,0^{d} ± 0,58	11,7^{c} ± 0,88
MĐ4	100	59,3^{a} ± 0,67	19,3^{b} ± 0,33	9,7^{b} ± 0,33	3,7^{a} ± 0,33
ĐCMĐ	100	59,0^{a} ± 0,58			

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

Chiều dài ấu trùng ở công thức thí nghiệm MĐ4 (20 con/mL) chỉ đạt 548,22 ± 10,29µm. Kết quả này có thể lý giải là mặc dù mật độ thức ăn cao nhưng khi luân trùng tồn tại lâu trong môi trường bể ương trước khi tiêu thụ thì chất lượng dinh dưỡng giảm. Ngoài ra, mật độ luân trùng cao cũng có thể làm ảnh hưởng đến chất lượng nước ương, mật độ tảo thấp dẫn đến tăng trưởng ấu trùng thấp. Lô thí nghiệm đối chứng (ĐCMĐ) không sử dụng thức ăn, sau 5 ngày tuổi thì một ít cá bột vẫn sống nhưng kích thước nhỏ, chỉ tương đương cá bột 3 ngày tuổi (245,9µm); Đến ngày thứ 6, hầu hết ấu trùng bị chết khi đã tiêu thụ hết dinh dưỡng trong khối noãn hoàng.

Về hệ số phân đàn ở thí nghiệm 2: Giai đoạn ấu trùng được 9 ngày tuổi cho thấy hệ số phân đàn của ấu trùng giữa các lô thí nghiệm có sự sai khác có ý nghĩa thống kê (P <0,05) giữa MĐ1, MĐ4 với MĐ2, MĐ3. Giai đoạn 12 ngày tuổi, hệ số phân đàn theo chiều dài của ấu trùng thấp nhất tại lô thí nghiệm MĐ3 (4,4 ± 1,35%), tiếp đến lần lượt là MĐ2 (8,8 ± 0,52%); MĐ4 (12,7 ± 0,26%); MĐ1 (13,4 ± 0,16%) và sai khác có ý nghĩa thống kê (P <0,05) (Bảng 5).

Ở giai đoạn 9 và 12 ngày tuổi, hệ số phân đàn (CV_L) của từng lô thí nghiệm có sự thay đổi. Tại lô thí nghiệm MĐ1, hệ số phân đàn tăng (10,7% lên 13,39%), nguyên nhân có thể do mật độ thức ăn (7 con/mL) là thấp và chưa đủ đáp ứng nhu cầu của ấu trùng. Lô thí nghiệm MĐ4 có CV lớn nhất do thức ăn dư, dinh dưỡng thức ăn và chất lượng môi trường giảm dẫn đến sự phát triển không đồng đều giữa các cá thể trong quần đàn.

Tỷ lệ sống của ấu trùng cá song chanh ương trong điều kiện mật độ luân trùng (*P. similis*) làm thức ăn khác nhau cho thấy: Tỷ lệ sống cao nhất sau 12 ngày tuổi tại lô thí nghiệm MĐ3 (11,7 ± 0,88%), tiếp đến là MĐ2 (8,3 ± 0,33%); MĐ1 (4,0 ± 0,01%). Tỷ lệ sống thấp nhất ở bể ương có mật độ luân trùng 20 con/mL (3,7 ± 0,33%), sai khác có ý nghĩa thống kê (P <0,05). Lô thí nghiệm đối chứng không cho thức ăn, ấu trùng chết 100% sau 6 ngày thí nghiệm (Bảng 6).

Qua theo dõi thí nghiệm cho thấy khi ương cá song chanh giai đoạn đầu (từ 0-12 ngày tuổi) dùng thức ăn là luân trùng *Proales similis* với mật độ 10-15 con/mL cho tỷ lệ sống và sinh trưởng tốt hơn so với mật độ 7 con/mL và 20 con/mL (P <0,05). Mật độ luân trùng 7 con/mL, ấu trùng cá ít cơ hội bắt mồi. Với mật độ >20 con/mL sẽ dẫn đến hiện tượng dư mồi cũng ảnh hưởng xấu đến sự sinh trưởng ở ấu trùng giai đoạn này, không những vậy còn cho tỷ lệ sống thấp và hệ số phân đàn cao.

4. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ XUẤT

4.1. Kết luận

Trong 04 loại thức ăn tươi sống (*P. similis*; *B. rotundiformis*; *B. plicatilis*; Trochophore hàu *C. gigas*) sử dụng để ương nuôi ấu trùng cá song chanh (giai đoạn 0-12 ngày tuổi) cho thấy dùng luân trùng siêu siêu nhỏ *Proales similis* (kích thước 60-80µm) làm thức ăn là phù hợp nhất.

Khi sử dụng luân trùng *P. similis* với mật độ 10-15 con/mL ương nuôi ấu trùng cá song chanh (0-12 ngày tuổi) cho tỷ lệ sống từ 8,3-11,67%, tăng trưởng về chiều dài (601,78-603,56µm) và có hệ số phân đàn thấp (4,4-8,8%).

4.2. Đề xuất

Nghiên cứu này mới chỉ sử dụng thức ăn đơn để thử nghiệm. Cần thiết triển khai thêm nghiên cứu sử dụng thức ăn là kết hợp một vài loại thức ăn tươi sống khác. Một số loại thức ăn dinh dưỡng cao (đặc biệt là Copepods nauplii) cũng cần thiết được thử nghiệm nhằm đề xuất thêm công thức thức ăn tươi sống phù hợp cho ương nuôi ấu trùng cá song chanh (*E. malabaricus*) giai đoạn đầu.

LỜI CÁM ƠN

Nhóm tác giả xin chân thành cám ơn Bộ Khoa học và Công nghệ; Viện nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản 1 (Bộ NN&PTNT) đã tài trợ kinh phí (thông qua Nhiệm vụ "Khai thác và phát triển nguồn gen cá song chanh (*Epinephelus malabaricus*)") và tạo điều kiện cơ sở vật chất để thực hiện nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Doi M., Toledo J., Golez M.S.N. & Ohno A. (1997). Preliminary investigation of feeding performance

of larvae of early red-spotted grouper, *Epinephelus coioides*, reared with mixed zooplankton. Hydrobiologia. 358: 259-263.

Koh I., Shaleh S. & Senoo S. (2008). Egg and larval development of a new hybrid orange-spotted gruper *Epinephelus coioides* × tiger grouper *E. fuscoguttatus*. Aquaculture Science (Japan). 56(4): 505-512.

Koh I.C.C., Sitti Raehanah M., Akazawa N., Ota Y. & Senoo S. (2010). Egg and larval development of a new hybrid orangespotted grouper *Epinephelus coioides* × giant grouper *E. lanceolatus*. Aquaculture Science. 58(1): 1-10.

Lê Xân (2005). Nghiên cứu công nghệ sản xuất giống và nuôi thương phẩm một số loài cá song (*Epinephelus* sp.) phục vụ xuất khẩu. Báo cáo tổng kết đề tài KC 06.13.NN. Trung tâm Tư liệu quốc gia.

Lê Xân (2010). Nghiên cứu công nghệ sản xuất giống và nuôi thương phẩm một số loài cá biển có giá trị kinh tế cao. Báo cáo tổng kết đề tài KC 06.04/06-10. Trung tâm Tư liệu quốc gia.

Nagano N., Iwatsuki Y., Kamiyama T., Shimizu H. & Nakata H. (2000). Cilli ated protozoans as food for first - feeding larval grouper, *Epinephelus septemfasciatus*: Laboratory experiment. Plankton Biol. Ecol. 47(2): 93-99.

Toledo J.D., Golez M.S., Doi M. & Ohno A. (1999). Use of copepod Nauplii during early feeding stage of Grouper *Epinephelus coioides*. Fish Sci. 65(3): 390-397.

Watanabe W.O., Ellis S.C., Ellis E.P., Lopez V.G., Bass P., Ginoza J. & Moriwake A. (1996). Evaluation of First-Feeding Regimens for Larval Nassau Grouper *Epinephelus straitus* and Preliminary, Pilot-Scale Culture through Metamophosis. Jounal of the World Aquaculture Society. 27(3): 323-331.

Wullur S., Sakakura Y. & Hagikawa A. (2009). The minnute monognont rotifer *Proales similis* de Beauchamp: culture and feeding to small mouth marine fish larvae. Aquaculture. 293(1-2): 62-67.