

# NGHIÊN CỨU KHẢ NĂNG LƯU GIỮ GIỐNG LUÂN TRÙNG CỖ NHỎ *Proales similis* BẰNG CÁC PHƯƠNG PHÁP TẠO TRÙNG NGHỈ

Đinh Thị Hạnh<sup>1</sup>, Trần Thế Mưu<sup>1</sup>, Đỗ Xuân Hải<sup>1</sup>

## TÓM TẮT

Sự hình thành trùng nghỉ của dòng luân trùng *Proales similis* chịu sự tác động nhiều nhất của ba yếu tố: thức ăn, độ mặn và nhiệt độ. Nghiên cứu này đánh giá hiệu quả của ba phương pháp: giảm thức ăn, sốc độ mặn và nhiệt độ lên sự hình thành trùng nghỉ và sự khôi phục quần thể *P. similis*. Các thí nghiệm được tiến hành trong 11 bình thủy tinh có thể tích 100 ml. Thí nghiệm giảm thức ăn, thức ăn được giảm 2 ngày/lần xuống 70%, 50%, 30%, 10%. Thí nghiệm sốc độ mặn, độ mặn được tăng ngay từ 22‰ lên 32‰, sau đó lại giảm dần (2‰) sau 2 ngày/lần. Thí nghiệm sốc nhiệt, nhiệt độ được hạ nhanh xuống 18°C, sau đó tăng dần (2°C) sau 2 ngày/lần. Kết quả cho thấy, phương pháp giảm thức ăn thu được trùng nghỉ sau 7 ngày, nhanh hơn 1 ngày so với phương pháp sốc nhiệt độ và 2 ngày so với phương pháp sốc độ mặn. Trùng nghỉ từ mỗi thí nghiệm được thu hoạch và bảo quản trong tủ bảo quản (8°C). Sau 7 ngày bảo quản trùng nghỉ được áp cho nở để đánh giá khả năng khôi phục quần thể. Trùng nghỉ thu được bằng phương pháp giảm thức ăn nở sớm nhất (sau 3 ngày) và có tỷ lệ nở thành công cao nhất 82%. Thí nghiệm sốc độ mặn, trùng nở sau 5 ngày với tỷ lệ nở thành công 45% và thí nghiệm sốc nhiệt độ khi trùng nở sau 6 ngày đạt tỷ lệ nở thành công 18%. Do đó, phương pháp tạo trùng nghỉ bằng phương pháp giảm thức ăn nên được áp dụng trong lưu giữ giống của *P. similis*.

Từ khoá: Trùng nghỉ, yếu tố, gây sốc, ảnh hưởng, *Proales similis*, nhiệt độ, độ mặn, thức ăn.

## 1. MỞ ĐẦU

*Proales similis* là dòng luân trùng có kích thước nhỏ nhất trong các dòng luân trùng đã phát hiện. *P. similis* có chiều dài 83 µm và chiều rộng 40 µm, nhỏ hơn 38% so với kích thước loài *Brachionus rotundiformis* (Hagiwara et al., 1995; Wullur et al., 2009). Do vậy, *P. similis* phù hợp với ấu trùng cá có cỡ miệng nhỏ như cá song, cá giò, cá hồng. Thành phần dinh dưỡng của *P. similis* phù hợp với ấu trùng cá giai đoạn 10 ngày đầu tiên sau khi nở, làm tăng tỷ lệ sống và sinh trưởng cho ấu trùng cá biển, đặc biệt là ấu trùng cá song *Epinephelus septemfasciatus* (Okumura, 1997). Để đáp ứng nhu cầu sản xuất thức ăn tươi sống cho sản xuất giống các loài cá biển có giá trị kinh tế cao như cá Song, cá Giò, cá Hồng, *P. similis* được nhập về Việt Nam năm 2010 và được thử nghiệm nghiên cứu về khả năng tăng sinh khối cung cấp cho ấu trùng cá. Tuy nhiên, chưa có những nghiên cứu về việc lưu giữ dòng luân trùng này.

Ở Việt Nam lưu giữ luân trùng được thực hiện chủ yếu trong các viện nghiên cứu thủy sản và một số trường đại học. Việc lưu giữ luân trùng được tiến

hành theo hai phương pháp: lưu giữ quần đàn và lưu giữ bằng trùng nghỉ.

Lưu giữ luân trùng bằng phương pháp tạo trùng nghỉ là phương pháp giữ giống mà không gây ra hiện tượng thoái hoá giống như phương pháp lưu giữ bằng quần thể do trùng nghỉ được sinh ra từ sinh sản hữu tính. Do đó, nguồn gen được cải thiện nhờ giao phối. Mặt khác, trùng nghỉ được bảo quản ở trạng thái tiềm sinh nên không tốn chi phí chăm sóc, thức ăn và không gian lưu giữ so với phương pháp lưu giữ quần thể.

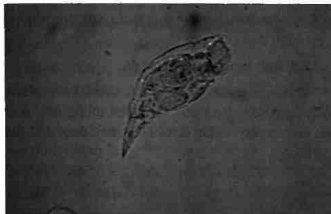
Phương pháp tạo ra trùng nghỉ đối với các dòng luân trùng nhờ sự tác động của ba yếu tố chính: giảm thức ăn, sốc độ mặn và nhiệt độ. Tuy nhiên, chưa có nghiên cứu nào đánh giá hiệu quả của ba phương pháp này lên quá trình tạo trùng nghỉ và khả năng khôi phục quần thể *P. similis* trong điều kiện của Việt Nam. Do đó, mục tiêu của nghiên cứu này tìm ra phương pháp tốt nhất để tạo trùng nghỉ của *P. similis* với mục đích lưu giữ giống. Nghiên cứu cũng tiến hành đánh giá khả năng khôi phục quần thể *P. similis* từ trùng nghỉ để chủ động cho nuôi sinh khối cung cấp thức ăn tươi sống cho sản xuất giống cá biển.

<sup>1</sup> Viện Nghiên cứu Nuôi trồng thủy sản I

## 2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Vật liệu

Dòng luân trùng *Proales similis* được lưu giữ bằng phương pháp lưu giữ quần thể trong các bình thủy tinh hình tam giác 100 ml và cho ăn hằng ngày bằng vi tảo *Nannochloropsis oculata* với mật độ  $1.10^6$  tế bào/ml.



Ảnh 1. Hình ảnh *Proales similis* thí nghiệm

### 2.2 Phương pháp

#### 2.2.1. Chuẩn bị luân trùng làm thí nghiệm

Luân trùng được nuôi trong bình thủy tinh có thể tích 100 ml, chứa 40 ml nước biển sạch. Mật độ luân trùng khi bắt đầu nuôi là 50 cá thể/ml. Luân trùng được nuôi tăng sinh bằng vi tảo với mật độ  $1.10^6$  tế bào/ml (tb/ml). Khi mật độ luân trùng đạt tới 300 cá thể/ml (cá thể/ml) thì bắt đầu tiến hành thí nghiệm gây sốc. Mỗi thí nghiệm gây sốc được lặp lại 11 lần.

#### 2.2.2. Thí nghiệm tạo trứng nghì bằng cách giảm dần liều lượng cho ăn

Trong thí nghiệm này, mật độ thức ăn khi bắt đầu thí nghiệm là  $1.10^6$  tb/ml, sau đó thức ăn được giảm theo thứ tự: 70%, 50%, 30% và 10%, theo thứ tự 2 ngày/lần cho tới khi quan sát có sự xuất hiện con đực và không xuất hiện cá thể trong bình thí nghiệm nữa thì dừng lại. Trứng nghì được lọc bằng giấy lọc và đưa bảo quản bằng tủ bảo quản (8°C). Trong suốt thời gian thí nghiệm, độ mặn được duy trì ở 22‰ và nhiệt độ được duy trì ở 28°C.

#### 2.2.3. Thí nghiệm tạo trứng nghì bằng sốc độ mặn

*P. similis* là dòng luân trùng phân lập tại vùng cửa sông và đưa về thuần hoá độ mặn (Hagiwara, 2010), do vậy khi làm phản ứng gây sốc độ mặn phải tăng độ mặn lên thay vì hạ độ mặn xuống.

Để gây sốc độ mặn cho *P. similis* độ mặn được tăng nhanh từ 22‰ lên tới 32‰, sau đó giảm xuống 30‰, 28‰, 26‰ và 24‰, 2 ngày/lần cho tới khi quan sát có sự xuất hiện con đực và không xuất hiện cá thể trong bình thí nghiệm nữa thì dừng lại. Trứng nghì được lọc bằng giấy lọc và bảo quản ở 8°C. Trong suốt quá trình gây sốc độ mặn, mật độ tảo được duy trì ở  $1.10^6$  tb/ml và nhiệt độ được duy trì ở 28°C.

#### 2.2.4. Thí nghiệm tạo trứng nghì bằng sốc nhiệt độ

Nhiệt độ có ảnh hưởng quan trọng tới chu kỳ sinh sản của các dòng luân trùng. Khi tổng lượng nhiệt đủ quá trình sinh sản của quần thể diễn ra nhanh hơn, đồng nghĩa với việc rút ngắn thời gian sống của cá thể luân trùng. Vì vậy cần giảm nhiệt độ xuống để gây sốc nhiệt, luân trùng sẽ sinh trứng nghì.

Để gây sốc nhiệt độ, nhiệt độ trong bình thủy tinh được giảm nhanh từ 28°C xuống 18°C, sau đó tăng dần lên 20°C, 22°C, 24°C và 26°C, 2 ngày/lần cho tới khi quan sát có sự xuất hiện con đực và không xuất hiện cá thể trong bình thí nghiệm nữa thì dừng lại. Trứng nghì được lọc bằng giấy lọc và bảo quản ở 8°C. Trong suốt thời gian thí nghiệm, thức ăn vi tảo được duy trì ở mật độ  $1.10^6$  tb/ml và độ mặn được duy trì ở 22‰.

#### 2.2.5. Khôi phục quần thể bằng cách cho trứng nghì bảo quản nở trở lại

Sau 7 ngày lưu giữ, trứng nghì thu được từ các thí nghiệm sốc thức ăn, độ mặn và nhiệt độ được ấp trong các bình tam giác 100 ml như trước thí nghiệm. Điều kiện ấp trứng được duy trì như trong quá trình nuôi tăng sinh khối trước các thí nghiệm gây sốc: độ mặn 22‰, nhiệt độ 28°C và cho ăn bằng vi tảo *N. oculata* với mật độ  $10.10^6$  tb/ml. Lắc hàng ngày và quan sát trứng nở.

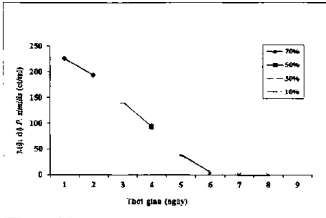
## 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 3.1. Ảnh hưởng của thức ăn

Sau khi giảm lượng thức ăn, mật độ luân trùng *P. similis* giảm nhanh theo thời gian như trong hình 1.

Mật độ luân trùng giảm nhẹ vào ngày thứ 1 thí nghiệm (25% số cá thể so với số cá thể bắt đầu thí nghiệm) và giảm mạnh ở ngày cuối của mỗi ngưỡng thay đổi ngày 2 (35%), ngày 4 (69%), ngày 6 (98%).

Sau 32 - 42 giờ quan sát thấy xuất hiện con đực trong 11 bình thủy tinh của thí nghiệm. Sau 7 ngày, toàn bộ luân trùng trong thí nghiệm chết và quá trình sinh trứng nghỉ hoàn tất. So sánh ảnh hưởng của việc giảm mật độ thức ăn với hai yếu tố còn lại, phương pháp tạo trứng nghỉ bằng giảm thức ăn cho kết quả tạo trứng nghỉ nhanh nhất (xem thêm phần 3.2 và 3.3).

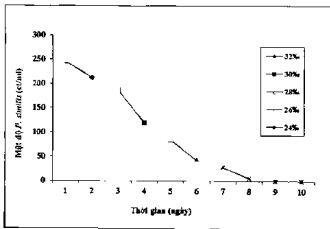


Hình 1. Ảnh hưởng của giảm thức ăn tới sự biến động quần thể *P. similis*

### 3.2. Ảnh hưởng của độ mặn

*P. similis* là loài luân trùng thu ở vùng cửa sông nên khi tăng độ mặn lên cao đột ngột gây stress mạnh lên quần thể, làm giảm số lượng cá thể.

Sự biến động số lượng *P. similis* được thể hiện qua hình 2.



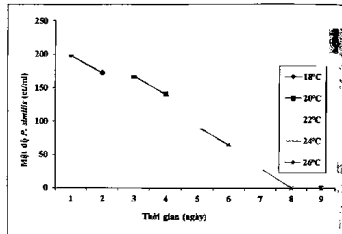
Hình 2. Ảnh hưởng của sốc độ mặn tới sự biến động quần thể *P. similis*

Qua đồ thị hình 2 có thể thấy mật độ quần thể luân trùng *P. similis* giảm mật độ ít hơn vào ngày đầu tiên thí nghiệm (18% số cá thể so với số cá thể bắt đầu thí nghiệm). Mật độ luân trùng thường giảm nhanh vào cuối ngưỡng độ mặn trước khi thay đổi: ngày thứ 2 (29%), thứ 4 (60%), thứ 6 (86%) và ngày

thứ 8 (98%). Tốc độ giảm số lượng cá thể *P. similis* chậm hơn so với thí nghiệm ảnh hưởng của thức ăn. Sau 48 - 54 giờ quan sát thấy con đực xuất hiện trong bình thủy tinh thí nghiệm. Thí nghiệm này thu được trứng nghỉ hoàn toàn ở ngày thứ 9, chậm nhất so với các phương pháp tạo trứng nghỉ khác. Thời gian để quần thể đạt trạng thái nghỉ bằng phương pháp sốc độ mặn dài hơn so với thí nghiệm giảm thức ăn 2 ngày và dài hơn 1 ngày so với thí nghiệm nhiệt độ (xem hình 3).

### 3.3. Ảnh hưởng của nhiệt độ

*P. similis* cũng chịu tác động mạnh mẽ của nhiệt độ lên sự biến động của quần thể giống như ở các loài luân trùng cỡ lớn hơn. Điều này được thể hiện qua hình 3.



Hình 3. Ảnh hưởng của sốc nhiệt độ tới sự biến động quần thể *P. similis*

Đồ thị hình 3 cho thấy, mật độ quần thể *P. similis* giảm ngay từ ngày đầu tiên (34%). Như vậy, sốc nhiệt làm giảm mật độ luân trùng mạnh nhất trong ngày đầu tiên so với giảm thức ăn (25%) và sốc độ mặn (18%). Tuy nhiên, ở các ngưỡng còn lại mật độ giảm chậm hơn ở hai yếu tố trên: giảm 42% ngày thứ 2, 53% ngày thứ 4, 78% ngày thứ 6 và 100% ngày thứ 8. Sau 50 - 62 h quan sát có thể thấy sự xuất hiện con đực trong các bình thí nghiệm. So với hai phương pháp trên, con đực trong thí nghiệm sốc nhiệt độ xuất hiện chậm và ít nhất. Quần thể nghỉ hoàn toàn vào ngày thứ 8. Lọc và thu trứng nghỉ để bảo quản trong tủ bảo quản (8°C).

Như vậy, cả 3 phương pháp giảm lượng thức ăn, sốc độ mặn và sốc nhiệt độ đều có thể thu được trứng nghỉ của loài luân trùng cỡ nhỏ *P. similis*. Kết quả này phù hợp với những nghiên cứu trước đây của Hoff, F. H. (1987) và Josiannic, G. S. (2003) về

các phương pháp gây sốc để thúc đẩy quá trình tạo trứng nghi của quần thể luân trùng. Kết quả cho thấy, phương pháp bỏ đói đạt hiệu quả cao nhất trong quá trình tạo trứng nghi của luân trùng cỡ L và S. Vì vậy, khi luân trùng đặt trong điều kiện môi trường bất lợi, quần thể ban đầu có sự thay đổi số lượng cá thể theo xu hướng bảo tồn quần thể, bằng cách tạo ra trứng nghi thông qua sinh sản hữu tính.

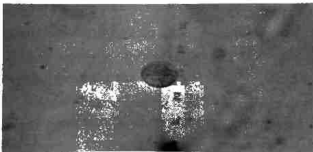
### 3.4. Khôi phục quần thể bằng cách cho trứng nghi bảo quản nở trở lại

Đánh giá khả năng khôi phục quần thể từ trứng nghi là cần thiết để có những đánh giá đầy đủ về khả năng lưu giữ quần thể luân trùng *P. similis* bằng cách tạo trứng nghi. Đưa các mẫu trứng nghi của từng thí nghiệm được bảo quản trong tủ sau 7 ngày bảo quản đưa ra nở: đưa 11 bình thủy tinh 100 ml ở mỗi yếu tố thí nghiệm vào phòng có nhiệt độ 28°C, độ mặn đưa 22‰ và cho ăn với mật độ tảo là  $10.10^6$  tb/ml. Lắc và quan sát sự hình thành quần thể trở lại trong các bình thủy tinh 100 ml thí nghiệm. Kết quả thu được như sau (Bảng 1):

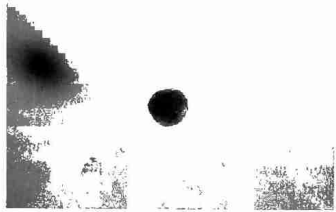
**Bảng 1. Kết quả quá trình cho trứng nghi nở ở từng yếu tố thí nghiệm**

Yếu tố thí nghiệm	Ngày xuất hiện quần thể trở lại	Số nghiệm thức thành công ở mỗi yếu tố	Tỉ lệ thành công (%)
Thức ăn	3	9/11	82
Độ mặn	5	5/11	45
Nhiệt độ	6	2/11	18

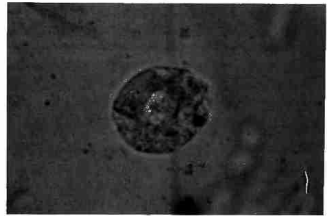
Bảng 1 cho thấy trong ba yếu tố thí nghiệm để hình thành trứng nghi thì phương pháp giảm mật độ thức ăn cho kết quả khôi phục quần thể tốt nhất. Phương pháp này cũng tạo trứng nghi trong thời gian ngắn nhất, quần thể phát triển trở lại cũng sớm nhất với tỉ lệ thành công cao nhất (82%). Do đó, để lưu giữ luân trùng *P. similis* bằng phương pháp tạo trứng nghi nên chọn yếu tố gây sốc bằng thức ăn mang lại hiệu quả cao hơn và dễ thực hiện hơn.



**Ảnh 2. Trứng nghi đem bảo quản (8°C)**



**Ảnh 3. Trứng nghi chuẩn bị nở**



**Ảnh 4. Trứng nghi chuẩn bị hoàn thiện hình thể ban đầu**

## 4. KẾT LUẬN

Trong ba yếu tố gây sốc để tạo trứng nghi là bỏ đói do giảm mật độ thức ăn, sốc độ mặn và nhiệt độ thì yếu tố thức ăn là yếu tố tác động tích cực nhất tới quá trình hình thành trứng nghi: cho tỷ lệ hình thành trứng nghi cao nhất và quần thể phát triển trở lại cũng sớm nhất. Do đó, khi lưu giữ luân trùng *P. similis* bằng phương pháp tạo trứng nghi nên chọn yếu tố gây sốc bằng thức ăn để mang lại hiệu quả cao hơn và dễ thực hiện hơn.

*P. similis* là dòng luân trùng mang những đặc điểm chung giống như các dòng luân trùng khác bên cạnh những ưu thế riêng là kích thước nhỏ, phù hợp cho ương ấu trùng cá biển có kích cỡ miệng nhỏ như cá song. Nghiên cứu này đã tìm ra phương pháp tốt nhất để duy trì quần thể loài *P. similis* trong điều kiện của nước ta. Kết quả này góp phần hoàn thiện quy trình sản xuất của loài luân trùng cỡ nhỏ *P. similis* ở Việt Nam. Lưu giữ giống thành công còn góp phần chủ động trong sản xuất, nuôi sinh khối của loài này cho phù hợp với mùa vụ sản xuất giống cá biển, đặc biệt là ở miền Bắc.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Hagiwara, A., Kotani, T., Snell, T. W., Assavaaree, M., Hirayama, K., 1995. Morphology, reproduction, genetics, and mating behavior of small, tropical marine *Brachionus strains* (Rotifera). J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 194, 25-37.

2. Hoff, F. H., Snell, T. W., 1987. Plankton culture manual. 4<sup>th</sup> Ed. Florida Aqua Farm, Inc., Florida, USA.

3. Okumura, S., 1997. Seed production of groupers. In: Japan. In: Takashima, F., Takeuchi, T., Arimoto, T., Itosu, T., (Eds). Aquaculture in Asia. Tokyo Univ. Fisheries, Tokyo, Japan, pp. 97-102.

4. Wulur, S., Sakakura, Y., Hagiwara, A., 2009. The minute monogonont rotifer *Proales similis* de Beauchamp: culture and feeding to small mouth marine fish larvae. Aquaculture 293, 62-67.

RESEARCHING THE FEASIBILITY OF MAINTAINANCE OF SMALL ROTIFER *Proales similis* BY PRODUCING RESTING EGGS FROM SHOCKING REARING CONDITIONS

Dinh Thi Hanh, Tran The Muu, Do Xuan Hai

Summary

The production of resting eggs of rotifer *Proales similis* is affected mainly by three factors: food, salinity and temperature. This study assessed the efficiency of food, salinity and temperature stress on the production of resting eggs of *P. similis* and the recovery of the populations from resting eggs. Experimental units were 100-ml triangle glass bottles. Each treatment had 11 replicates. In food stress experiment, the algal density was reduced 10 times every two days. In the salinity stress experiment, the salinity was increased immediately 22‰ to 32‰, and subsequently reduced 2‰ every two days. In the temperature stress experiment, the temperature was rapidly reduced from 28°C to 18°C, following by a 2°C decrease every two days. The experiments were ceased when no rotifers were observed in the bottles. Results showed that the resting eggs were obtained after 7, 9 and 8 days in the experiments of food, salinity and temperature stress, respectively. All resting eggs were collected and stored in fridge for 7 days, then were incubated again in 100-ml glass bottle at the suitable conditions: food saturation, salinity of 22‰, and temperature of 28°C. Resting eggs from food stress hatched after three days, the fastest hatching comparing to salinity and temperature shock. Resting eggs from food stress also showed successful hatching of 82%, much higher than the successful rate of resting eggs from salinity (45%) and temperature shock (18%). Therefore, food stress is recommended for producing resting eggs of *P. similis*.

Keywords: Resting eggs, element, stress, affect, *proales similis*, temperature, salinity, food.

Người phản biện: TS. Hà Kỳ

Ngày nhận bài: 27/10/2015

Ngày thông qua phản biện: 27/11/2015

Ngày duyệt đăng: 4/12/2015