

**BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO  
TRƯỜNG ĐẠI HỌC CẦN THƠ  
KHOA THỦY SẢN  
--- o O o ---**

**Đề tài**

**ẢNH HƯỞNG CỦA CHẾ ĐỘ DINH DƯỠNG LÊN CHẤT  
LƯỢNG BỐ MẸ VÀ ẤU TRÙNG CUA BIỂN  
(*Scylla paramamosain*)**

**Mã số đề tài: B2003-31-52**

**Chủ nhiệm đề tài: Ths. Phạm Thị Tuyết Ngân**

**Thời gian thực hiện: 06/2003-12/2005**

**BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO  
TRƯỜNG ĐẠI HỌC CẦN THƠ  
KHOA THỦY SẢN  
-- o O o --**

## **Đề tài**

# **ẢNH HƯỞNG CỦA CHẾ ĐỘ DINH DƯỠNG LÊN CHẤT LƯỢNG BỐ MẸ VÀ ẤU TRÙNG CỦA BIỂN (*Scylla paramamosain*)**

**Mã số đề tài: B2003-31-52**

**Chủ nhiệm đề tài:**  
**Cán bộ tham gia:**

**Ths. Phạm T. Tuyết Ngân**  
Ts. Vũ Ngọc Út  
Ts. Trương Trọng Nghĩa  
Ts. Trần Thị Thanh Hiền  
Ks. Tô Công Tâm  
Ks. Quách Thế Vinh  
Ks. Phạm Trần Nguyên Thảo

**năm 2005**

## LỜI CẢM TẠ

-----o0o-----

Tác giả xin chân thành cảm ơn Bộ Giáo Dục và Đào tạo, Ban Giám Hiệu trường ĐHCT, phòng QLKH và Đào Tạo Sau Đại Học đã cung cấp kinh phí thực hiện đề tài. Xin cảm ơn Ban Chủ Nhiệm Khoa Thủy sản, Lãnh đạo Bộ môn Thủy Sinh Học Ứng Dụng và các bạn đồng nghiệp đã nhiệt tình giúp đỡ trong suốt quá trình thực hiện đề tài này.

Các tác giả

# MỤC LỤC

	Trang
Lời cảm tạ .....	i
Mục lục .....	ii
Danh sách bảng .....	iv
Danh sách hình .....	v
Tóm tắt .....	1
PHẦN 1: MỞ ĐẦU.....	2
PHẦN II: TỔNG QUAN TÀI LIỆU.....	4
2.1. Đặc điểm sinh học của cua biển .....	4
2.1.1 Hình thái cấu tạo và phân loại.....	4
2.1.2 Phân bố.....	5
2.1.3 Vòng đời.....	5
2.1.4 Đặc điểm dinh dưỡng.....	6
2.1.5 Đặc điểm sinh trưởng.....	7
2.1.6 Đặc điểm sinh sản .....	7
2.1.7 Tập tính hoạt động và khả năng thích nghi với điều kiện môi trường.....	9
2.2. Các nghiên cứu sản xuất giống và nuôi cua biển trong và ngoài nước .....	10
2.2.1 Tình hình nghiên cứu trên thế giới.....	10
2.2.2 Tình hình nghiên cứu trong nước.....	12
2.3. Nuôi vỗ .....	13
2.3.1 Hệ thống nuôi.....	13
2.3.2 Nuôi vỗ cua bố mẹ .....	13
2.3.3 Kỹ thuật cắt mắt cua.....	14
2.3.4 Quản lý và chăm sóc cua mang trứng .....	15
2.3.5 Nuôi cua biển ở Việt nam .....	16
PHẦN 3. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU.....	18
3.1 Nội dung nghiên cứu.....	18
3.2 Vật liệu và phương pháp nghiên cứu.....	18
3.2.1 Thời gian và địa điểm nghiên cứu.....	18
3.2.2 Vật liệu nghiên cứu .....	18
3.2.2.1 Vật dụng và thiết bị nghiên cứu .....	18
3.2.2.2 Đối tượng nghiên cứu .....	19
3.2.3 Phương pháp nghiên cứu .....	19
3.2.3.1 Xác định sự biến đổi thành phần dinh dưỡng của buồng trứng cua biển trong suốt quá trình thành thực.....	19
3.2.3.2 Ảnh hưởng của thức ăn tươi sống và chế biến lên chất lượng cua mẹ .....	20
3.2.4 Phương pháp thu thập số liệu.....	25
3.2.4 Phân tích thống kê.....	25
PHẦN 4. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN .....	26
4.1 Xác định sự biến đổi thành phần dinh dưỡng của buồng trứng cua biển trong suốt quá trình thành thực .....	26

4.1.1 Sự thay đổi cấu trúc mô và buồng trứng của cua biển ở các giai đoạn thành thục khác nhau.....	26
4.1.2 Sự thay đổi về hình dạng bên ngoài ở các giai đoạn thành thục.....	28
4.1.3 Hàm lượng dinh dưỡng của buồng trứng cua ở giai đoạn thành thục khác nhau	29
4.2 Ảnh hưởng của thức ăn tươi sống và thức ăn chế biến chế biến lên chất lượng cua mẹ .....	33
PHẦN 5: KẾT LUẬN VÀ ĐỀ XUẤT.....	37
TÀI LIỆU THAM KHẢO.....	38

## DANH SÁCH BẢNG

	Trang
Bảng 3.1: Mô tả tóm tắt các thí nghiệm nuôi vỗ cua mẹ 1, 2 và 3 .....	20
Bảng 4.1: Hình dạng bề ngoài của buồng trứng ở các giai đoạn thành thực ...	27
Bảng 4.2: Cấu tạo mô ở các giai đoạn thành thực khác nhau của buồng trứng.....	27
Bảng 4.3: Tỷ lệ số đo các kích cỡ mai, bụng ở các giai đoạn thành thực.....	29
Bảng 4.4: Các tỉ số thành thực của cua cái và buồng trứng ở các giai đoạn thành thực.....	29
Bảng 4.5: Tổng chất béo (%TL khô) và thành phần chất béo của buồng trứng của ở những giai đoạn thành thực khác nhau.....	29
Bảng 4.6: Hàm lượng acid béo (mg/g TL khô) trong trứng cua ở các giai đoạn thành thực khác nhau.....	30
Bảng 4.7: Hàm lượng vitamin C ở các giai đoạn khác nhau trong suốt quá trình thành thực <i>Scylla paramamosain</i> .....	31
Bảng 4.8: Các thông số về môi trường nước trong thí nghiệm nuôi vỗ cua mẹ 1 và 2	33
Bảng 4.9: Các thông số về môi trường nước trong thí nghiệm nuôi vỗ cua mẹ 3 (thực hiện ở Vĩnh châu).....	33
Bảng 4.10: Thành phần dinh dưỡng của thức ăn cung cấp cho cua mẹ.....	33
Bảng 4.11: Trọng lượng, kích thước và chỉ số thành thực của mẹ .....	33
Bảng 4.12: Lượng thức ăn tiêu thụ và chất lượng của sau thí nghiệm.....	34
Bảng 4.13: Chất lượng trứng và ấu trùng của biển.....	35

## DANH SÁCH HÌNH

	Trang
Hình 2.1. Hình dạng loài cua biển <i>Scylla paramamosain</i> theo phân loại của Estampador (1949) .....	4
Hình 2.2. Vòng đời của cua biển <i>Scylla</i> sp.....	6
Hình 2.3. Cua cái đang mang trứng.....	8
Hình 3.1. Hệ thống bể nuôi vỗ cua mẹ, đo kích thước và chuẩn bị thức ăn ....	23
Hình 4.1. Cấu tạo mô từ giai đoạn 1-5 trong suốt quá trình thành thực .....	26
Hình 4.2. Sự thay đổi hình dạng bụng của cua biển ở các giai đoạn thành thực .....	28
Hình 4.3. Hình dạng buồng trứng khác nhau từ giai đoạn 1-5 .....	28

## TÓM TẮT

Để có đầy đủ giống cua biển nhằm đáp ứng nhu cầu nuôi ở Đồng Bằng Sông Cửu Long hiện nay và để góp phần làm giảm sự khai thác quá mức cua tự nhiên, các thí nghiệm về ảnh hưởng của các chế độ dinh dưỡng lên cua bố mẹ đã được thực hiện tại Khoa Thủy sản, Đại học Cần Thơ. Thành phần hoá học của buồng trứng như chất béo, acid béo và vitamin C ở các giai đoạn thành thực khác nhau của cua đã được xác định. Kết quả cho thấy thành phần chất béo, acid béo và vitamin có xu hướng tăng và sai khác có ý nghĩa giữa các giai đoạn thành thực và tập trung cao nhất ở giai đoạn 4-5. Kích thước của trứng được đo từ giai đoạn chưa thành thực cho đến giai đoạn cuối của quá trình thành thực và sau khi đẻ. Kích thước trứng tăng từ giai đoạn 1 tới giai đoạn 5 được ghi nhận từ:  $20,7 \pm 4,4$  (1);  $38,6 \pm 11,5$  (2);  $62,31 \pm 8,9$  (3);  $107,4 \pm 5,7$  (4) &  $208,1 \pm 13,5$  (5)  $\mu\text{m}$ . Chất béo tăng dần và tập trung cao nhất (29% KL khô) ở giai đoạn 4 và 5 trong suốt quá trình thành thực. Acid béo no và không no tăng cao nhất ở giai đoạn 4 (54,9 và 45,9 mg/g khối lượng khô), acid béo (n-3) và n-3 HUFA cũng tăng cao nhất ở giai đoạn 4 (40,2 và 38,2 mg/g KL khô). Ngược lại, vitamin C, giảm có ý nghĩa trong suốt quá trình thành thực (799,7 - 208,5 mg/g KL khô). Để đáp ứng nhu cầu dinh dưỡng của cua trong điều kiện tự nhiên, một số thí nghiệm được thiết lập liên quan đến ảnh hưởng của chế độ dinh dưỡng lên chất lượng trứng và ấu trùng.

Yêu cầu dinh dưỡng của cua biển trong giai đoạn thành thực lớn hơn các giai đoạn khác. Trong suốt quá trình thành thực, chế độ dinh dưỡng đầy đủ sẽ giúp tích lũy trong trứng và phôi sẽ phát triển bình thường. Ứng dụng kết quả thí nghiệm trên, các thí nghiệm của bố mẹ đã được thiết kế dựa trên các loại khác nhau: 100% thức ăn tươi sống; 50% thức ăn tươi sống + 50% thức ăn chế biến và 100% thức ăn chế biến. Nguồn thức ăn chính cung cấp cho cua mẹ là các loài nhuyễn thể nước lợ, mực, tôm. Những thông số sau đây được ghi nhận: màu trứng, tỉ lệ cua đẻ, sức sinh sản, tỉ lệ thụ tinh, tổng ấu trùng, tỉ lệ sống của cua mẹ... Kết quả cho thấy thức ăn tươi sống cho kết quả tốt nhất, cua đẻ sớm hơn, tỉ lệ sống cao hơn, tỉ lệ đẻ cao hơn và tỉ lệ thụ tinh luôn cao hơn (>80%). Khẩu phần ăn trung bình ở nghiệm thức thức ăn tươi sống luôn cao hơn (gần gấp đôi nghiệm thức thức ăn kết hợp), riêng nghiệm thức thức ăn chế biến gần như cua không ăn, vì vậy chất lượng trứng rất kém trong nghiệm thức này.



## PHẦN 1: MỞ ĐẦU

Đối với nghề nuôi giáp xác, cua biển được coi như là một trong những nguồn hải sản quan trọng trong khu vực Đông Nam Á do kích cỡ lớn, nguồn thức ăn giàu dinh dưỡng và nhu cầu tiêu thụ mạnh (Kathirvel, 1995). Cua biển có tầm kinh tế quan trọng đối với nghề đánh bắt ở vùng Đông Dương. Chúng cũng góp phần làm tăng sản lượng nuôi trồng thủy sản trong vài quốc gia như Việt Nam và Philippines (Johnston & Keenan, 1999). Do tăng trọng nhanh và giá trị kinh tế cao cùng với việc dễ dàng bảo quản sau khi thu hoạch nên cua được xem như đối tượng thay thế tôm ở vùng bờ biển (Overton & Macintosh, 1997). Nhu cầu dinh dưỡng của cua biển ở giai đoạn thành thực cao hơn ở các giai đoạn khác. Chế độ dinh dưỡng đầy đủ trong suốt quá trình thành thực sẽ được tích lũy trong noãn hoàng và phôi sẽ phát triển một cách bình thường. Chất béo là nguồn năng lượng không thay thế được và là nguồn dinh dưỡng thiết yếu mà chỉ có thể tổng hợp được với hàm lượng rất nhỏ, ví dụ như acid béo không no (HUFA) (Chang và O'Connor, 1983; A'Abromo, 1997). Mặt khác, cua biển còn là một loài hải sản có giá trị dinh dưỡng cao và có tiềm năng xuất khẩu lớn. Tuy nhiên, nguồn cua giống hiện nay cung cấp cho các hoạt động nuôi thương phẩm chủ yếu từ tự nhiên, nhưng sản lượng cua tự nhiên đang giảm dần do đánh bắt quá mức (khai thác tiêu thụ trực tiếp, khai thác nguồn giống cho nuôi ao) và do diện tích rừng ngập mặn đã và đang bị thu hẹp đáng kể cho các hoạt động nuôi tôm làm mất đi môi trường sinh sống tốt nhất cho cua. Để đảm bảo nguồn giống cho ương nuôi và giảm bớt áp lực khai thác cua tự nhiên, vấn đề sản xuất giống nhân tạo cua biển phải được quan tâm và phát triển. Tuy nhiên một trong những yếu tố quyết định đến sự thành công của quá trình sản xuất cua giống là sự chủ động nguồn cua bố mẹ cả về chất lượng lẫn số lượng. Hoàn thiện quy trình nuôi vỗ để chủ động được nguồn cua bố mẹ cho sinh sản là một trong những giải pháp hàng đầu nhằm tạo ra nguồn giống đáp ứng nhu cầu nuôi cua ở Đồng Bằng Sông Cửu Long.

Hiện nay, Khoa Thủy sản đã có những biện pháp kỹ thuật cơ bản sản xuất cua giống nhân tạo với tỉ lệ sống từ zoea 1 đến cua 1 đạt từ 10-15% trong hệ thống ương nước trong, nước xanh, nước tuần hoàn có lọc sinh học và kết hợp, nhưng kết quả chưa ổn định (Nghĩa 2001). Một trong những yếu tố có ảnh hưởng quan trọng đến tỉ lệ sống và chất lượng của ấu trùng cua là thức ăn, đặc biệt là các loại acid béo không no (Highly Unsaturated Fatty Acids - HUFA) (Jones và ctv, 1997; Li và ctv, 1999; Djunaidah và ctv, 2003). Vì vậy, mục

đích chính của nghiên cứu là tìm hiểu ảnh hưởng của chế độ dinh dưỡng giàu HUFA và nhu cầu dinh dưỡng của từng giai đoạn phát triển tuyến sinh dục lên khả năng thành thực của bố mẹ và chất lượng ấu trùng sau này.

Mục tiêu chính của đề tài là nghiên cứu ảnh hưởng của các loại thức ăn khác nhau lên khả năng thành thực, đẻ trứng và chất lượng ấu trùng. Để đạt được mục đích này, bước đầu tiên phải xác định được hàm lượng dinh dưỡng ở các giai đoạn thành thực khác nhau của cua trong điều kiện tự nhiên, từ đó đáp ứng nhu cầu đó trong điều kiện nhân tạo. Các bước tiếp theo bao gồm, quan sát thay đổi mô cắt buồng trứng ở các giai đoạn thành thực khác nhau để tìm mối liên quan giữa hình dạng, kích cỡ, màu sắc bên ngoài với các giai đoạn phát triển trứng bên trong. Xác định thành phần dinh dưỡng như hàm lượng đạm thô, chất béo tổng số, hàm lượng HUFA... của thức ăn cung cấp (mực, tôm, nghêu, sò huyết) trước khi quyết định chế độ dinh dưỡng cho cua mẹ.

Từ cơ sở trên, để nâng cao hơn nữa hiệu quả sản xuất giống cua biển nhằm phục vụ cho nghề nuôi cua biển ở Đồng Bằng Sông Cửu Long, đề tài “**Ảnh hưởng của chế độ dinh dưỡng lên chất lượng bố mẹ và ấu trùng của biển *Scylla paramamosain***” đã được thực hiện. Gồm 3 nội dung nghiên cứu chính như sau:

1. Phân tích và xác định sự thay đổi về mô học của buồng trứng ở các giai đoạn thành thực tương quan với những đặc điểm hình thái.
2. Xác định sự biến động hàm lượng và thành phần chất béo, acid béo, vitamin C...trong suốt quá trình thành thực sinh dục.
3. So sánh ảnh hưởng của các loại thức ăn khác nhau lên khả năng thành thực đẻ trứng và chất lượng ấu trùng

## PHẦN 2: TỔNG QUAN TÀI LIỆU

### 2.1. Đặc điểm sinh học của cua biển

#### 2.1.1. Hình thái cấu tạo và phân loại

Theo De Haan (1883), giống *Scylla* là một phần của họ Portunid. *Scylla* sp. được coi như có nguồn gốc ở Tây Thái Bình Dương khoảng 1 triệu năm qua (Gopurenko và ctv., 1999). Bằng phương pháp điện di và hình thái giải phẫu, Keenan và ctv. (1998) đã đi đến kết luận của biển giống *Scylla* có 4 loài phân biệt như sau: *Scylla serrata* (Forsk., 1755), *Scylla paramamosain* (Estampador, 1949), *Scylla olivacea* (Herbst, 1796) và *Scylla tranquebarica* (Fabricius, 1798). Theo đó, loài *Scylla paramamosain* được phân loại theo hệ thống phân loại của Estampador (1949) như sau :

Ngành :	Arthropoda
Ngành phụ:	Crustacea
Lớp:	Malacostraca
Bộ:	Decapoda
Họ :	Portunidae
Giống:	<i>Scylla</i>
Loài:	<i>Scylla paramamosain</i>



Hình 2.1. Hình dạng loài cua biển *Scylla paramamosain* theo phân loại của Estampador (1949)

### 2.1.2. Phân bố

Theo Keenan và ctv. (1998), Gopurenko và ctv. (1999), loài *Scylla paramamosain* được phân bố khắp khu vực biển Thái Bình Dương và Ấn Độ Dương, từ Nam Phi đến Biển Đỏ, từ Okinnawa đến Tahiti và xuống tận miền Bắc nước Úc, Nhật Bản, Nam Trung Quốc: Xiamen, Hong Kong, Singapore, Cambodia...; ở Trung Java: Indonesia và ở Việt Nam chủ yếu là vùng Đồng Bằng Sông Cửu Long.

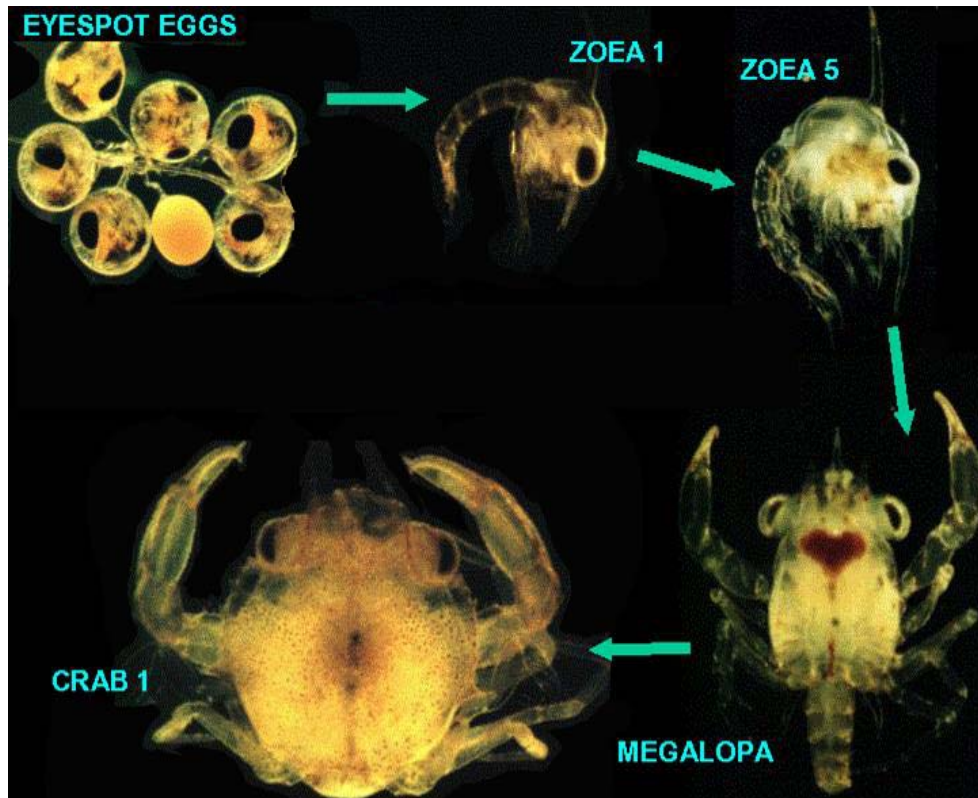
Ở Việt Nam, tại Đồng Bằng Sông Cửu Long theo Keenan và ctv. (1998) có hai loài chủ yếu là *Scylla paramamosain* (cua sen) và *Scylla olivacea* (cua lử), trước đây bị nhầm lẫn là *Scylla serrata* (Hoàng Đức Đạt, 1992; Nguyễn Anh Tuấn và ctv., 1996). Nhưng thực sự loài *Scylla serrata* không được tìm thấy ở Đồng Bằng Sông Cửu Long, cũng như ở Việt Nam. Theo Le Vay và ctv. (2001), loài *Sylla paramamosain* chiếm trên 95% trong quần thể *Scylla*, và loài *Scylla olivacea* chỉ chiếm khoảng 5%.

### 2.1.3. Vòng đời

Ong (1964) lần đầu tiên đã mô tả các giai đoạn của ấu trùng cua biển *Scylla* spp. Theo Sivasubramaniam và Angell (1992), trứng cua nở thành ấu trùng zoea 1 mất 16-17 ngày ở nhiệt độ 23-25°C. Ấu trùng cua sau khi nở là zoea 1 trải qua 4 lần lột xác để biến thái thành zoea 5 trong thời gian 17-20 ngày, mỗi giai đoạn mất 2-3 ngày. Từ zoea 5 biến thái thành megalopa kéo dài trong khoảng thời gian 8-11 ngày. Ấu trùng zoea có tính hướng quang và bơi ngược dòng. Giai đoạn megalopa chỉ lột xác một lần và mất 7-8 ngày để biến thành cua 1 (cua con). Cua con trải qua 16-18 lần lột xác trước khi thành thực và ít nhất khoảng 328-523 ngày. Trước mùa sinh sản, cua di cư ra vùng biển ven bờ lột xác tiền giao vĩ rồi di cư ra biển, trong quá trình di cư, trứng sẽ phát triển và chín dần. Cua ấp trứng trong khoang bụng, cho đến khi nở thành ấu trùng zoea 1 rồi tiếp tục lặp lại vòng đời.

Nhìn chung, chu kỳ sống của các loài cua biển theo Heasman (1980) (được trích dẫn bởi Lee (1992) gồm 4 giai đoạn: giai đoạn ấu trùng, giai đoạn cua con (chiều rộng mai 20-80 mm), giai đoạn tiền trưởng thành (chiều rộng mai 70-150 mm) và giai đoạn trưởng thành (chiều rộng mai 150 mm trở lên).

Đặc biệt, trong quá trình phát triển cùng với sự lột xác, cua có khả năng tái sinh những phần đã mất của cơ thể.



Hình 2.2. Vòng đời của cua biển *Scylla* sp.

Eyepot eggs: trứng xuất hiện điểm mắt; Zoea 1: ấu trùng zoea 1; Zoea 5: ấu trùng zoea 5; Megalopa: ấu trùng megalopa; Crab 1: giai đoạn cua con

Hình chụp: David Mann; Sắp xếp lại: Williams và ctv., 1999.

#### 2.1.4. Đặc điểm dinh dưỡng

Thức ăn tự nhiên của cua chứa 50% nhuyễn thể, 21% giáp xác, 29% các mảnh vụn hữu cơ, ít khi có cá trong ống tiêu hóa của cua. Sheen (2000) cũng cho rằng nhu cầu về thành phần cholesterol trong thức ăn nhằm cải thiện tỉ lệ sống và tăng trưởng đối với cua *Scylla serrata*, vì thế nhu cầu cholesterol trong khẩu phần ăn tối ưu là 0,5%.

Tuy nhiên tính ăn của cua sẽ thay đổi tùy từng giai đoạn phát triển của chúng:

- Giai đoạn ấu trùng: cua thích ăn các loài động vật phù du. Trong điều kiện nuôi cho ăn với nhiều loại thức ăn khác nhau như: tảo, luân trùng, *Artemia* và cả thức ăn viên có kích thước nhỏ.
- Giai đoạn cua con, tiền trưởng thành và trưởng thành: ăn cua nhỏ, cá, xác động vật chết, nhuyễn thể... Cua có tập tính túm ẩn vào ban ngày và kiếm ăn vào ban đêm. Nhu cầu thức ăn của chúng khá lớn nhưng chúng lại có khả năng nhịn đói 10–15 ngày ở trên cạn trong điều kiện ẩm ướt (Hill, 1976).

Trong điều kiện nuôi, nhiệt độ và độ mặn là hai yếu tố có ảnh hưởng lớn đến tính ăn và hoạt động của cua (Manjulatha và Babu, 1998).

#### **2.1.5. Đặc điểm sinh trưởng**

Tuổi thọ trung bình của cua từ 2–4 năm. Qua mỗi lần lột xác, khối lượng cua sẽ tăng lên 20–50%, và kích thước tối đa mà cua có thể đạt được là 19–28 cm, với khối lượng 1–3 kg/con.

Cua biển là loài sinh trưởng không liên tục, được đặc trưng bởi sự gia tăng đột ngột về kích thước và trọng lượng. Cua lột xác để tăng kích thước và quá trình này phụ thuộc rất lớn vào điều kiện dinh dưỡng, môi trường và giai đoạn phát triển của cơ thể. Theo Trĩno và ctv. (1999), khi nuôi chung cua đực và cua cái thì cua đực tăng trưởng tốt hơn cua cái.

Quá trình lột xác của cua mang tính đặc trưng riêng biệt từng loài, thông thường 2–3 ngày/lần. Cua càng lớn thì chu kỳ lột xác càng kéo dài. Đặc biệt, trong quá trình lột xác, cơ thể của chúng có thể tái sinh những phần phụ bộ đã mất. Đối với những con cua bị tổn thương, khi mất phần phụ bộ thì cua có khuynh hướng lột xác sớm hơn (Trần Ngọc Hải và ctv., 1999).

Quá trình tăng trưởng của cua biển còn chịu ảnh hưởng bởi nhiệt độ. Theo Ong (1966), tăng trưởng trung bình của cua *Scylla* ở điều kiện tự nhiên nhanh hơn so với điều kiện ương nuôi trong phòng thí nghiệm, mặc dù chất lượng nước trong phòng thí nghiệm tốt hơn.

#### **2.1.6. Đặc điểm sinh sản**

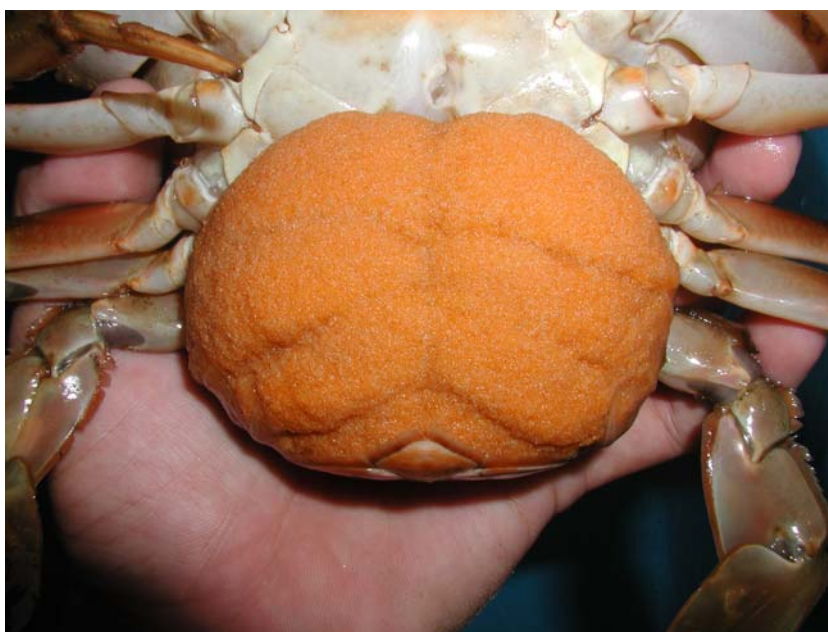
##### **Tuổi thành thực**

Cua biển thành thực sinh dục vào khoảng 1–1,5 tuổi. Lúc này chiều rộng của vỏ khoảng 10 cm và khối lượng thân trên dưới 150 g (Nguyễn Thanh Phương và Trần Ngọc Hải, 2004. Theo Prasad (1989), cua *Scylla paramamosain* chỉ tham gia sinh sản khi chiều rộng mai đạt từ 120–180 mm. Thêm vào đó, không như cua đực, cua cái không bao giờ đạt đến 100% độ thành thực ở bất cứ kích cỡ nào. Theo Le Vay (2001) sự thành thực của cua biển tùy theo từng loài khác nhau.

Theo Fielder và Heasman (1978), nhiệt độ có ảnh hưởng đến sự thành thực của cua. Nếu nhiệt độ nước cao sẽ làm tăng tốc độ tăng trưởng, do đó sẽ rút ngắn thời gian thành thực của cua.

### **Tập tính bắt cặp, đẻ trứng và ấp trứng**

Đối với vùng nhiệt đới cua đẻ quanh năm. Ở Việt Nam, mùa vụ sinh sản chính của cua từ tháng 12 đến tháng 2 năm sau (Hoàng Đức Đạt, 2004). Cua biển là loài có tập tính di cư sinh sản. Tới mùa sinh sản, cua di cư ra vùng biển ven bờ, lột xác tiền giao vĩ. Trước khi đẻ trứng, cua đực và cua cái sẽ bắt cặp với nhau trong thời gian 3-4 ngày, sau đó cua cái lột xác và bắt đầu giao vĩ. Túi tinh của con đực được đưa vào túi chứa tinh của con cái ở giữa góc chân thứ tư và thứ năm. Túi tinh này được giữ trong nhiều tuần để thụ tinh qua nhiều lần sinh sản, tức là một lần giao phối có thể thụ tinh cho cua cái từ 1-3 lần đẻ trứng. Sau đó, khi con cái đẻ trứng thì cùng lúc tinh trùng được giải phóng để thụ tinh cho trứng. Cua đẻ rất khỏe. Một con cái có thể đẻ từ vài trăm ngàn đến 2-3 triệu trứng mỗi năm. Trong một năm cua đẻ từ 2-3 lần. Phần lớn trứng đẻ ra được ấp trong khoang bụng của cua mẹ cho đến khi nở. Trứng cua được ấp ở nơi nước biển có độ mặn cao, nhiệt độ ổn định. Thời gian ấp trứng dài hay ngắn phụ thuộc vào nhiệt độ nước. Nhiệt độ càng cao thời gian ấp trứng càng nhanh. Trong điều kiện thuận lợi, trứng có thể nở đồng loạt khoảng 3-6 giờ.



Hình 2.3. Cua cái đang mang trứng

### **Sự phát triển phôi và các giai đoạn ấu trùng**

Trứng cua mới đẻ có đường kính trung bình 0,3 mm và có màu vàng tươi. Sự phát triển của trứng được phân biệt theo màu sắc: từ vàng tươi sang vàng đậm, chuyển sang xám, cuối cùng chuyển sang đen, lúc này là lúc xuất hiện mầm chân và mắt, sau đó tim bắt đầu đập và các cơ quan khác cũng bắt đầu hình



thành, khi tim đập khoảng 200-240 lần/phút phôi sẽ phá vỡ vỏ và chui ra ngoài, đây là ấu trùng zoea. Khoảng thời gian từ lúc cua cái đẻ cho đến lúc nở ra ấu trùng zoea là 17 ngày (Trương Trọng Nghĩa, 2004).

Theo Hoàng Đức Đạt (2004), ấu trùng zoea mới nở là zoea 1, ấu trùng sẽ bơi lội được ngay do có đôi mắt kép và sắc tố đen. Ấu trùng zoea hầu hết phải trải qua 5 giai đoạn: từ zoea 1 đến zoea 4 mỗi giai đoạn 2-3 ngày, riêng giai đoạn zoea 5 từ 3-4 ngày. Ấu trùng có tính hướng quang và bơi lội ngược dòng, chúng sống phù du, hoạt động nhờ chân hàm 1 và sự co giãn của phân bụng.

Sau giai đoạn zoea 5, ấu trùng lột xác biến thái thành giai đoạn megalopa. Khi chuyển sang megalopa ấu trùng có khuynh hướng chuyển sang sống bám vào vật thể, do đó ở giai đoạn này nền đáy đối với chúng là rất quan trọng vì chúng hoạt động tích cực và ăn tạp. Từ giai đoạn này chúng mất 7-11 ngày để biến thái thành cua con (cua1).

### **2.1.7. Tập tính hoạt động và khả năng thích nghi với điều kiện môi trường**

#### **Môi trường và tập tính sống**

Vòng đời của biển trải qua nhiều giai đoạn, ở mỗi giai đoạn đều có tập tính sống và cư trú khác nhau.

- Giai đoạn ấu trùng zoea và megalopa: theo Warner (1977) ấu trùng sống trôi nổi và nhờ dòng nước đưa vào ven bờ, sau đó biến thái thành cua con.
- Giai đoạn cua con, cua tiền trưởng thành và cua trưởng thành: theo Sivasubramaniam và Angell (1992) trong chu kỳ sống, chúng sống trong vùng rừng nước mặn, cửa sông, nơi có đáy bùn hoặc đất thịt, sống vùi trong bùn vào ban ngày và di chuyển đến vùng triều thấp vào ban đêm để kiếm ăn.
- Giai đoạn thành thực: lúc này cua có tập tính di cư ra vùng nước mặn ven biển để sinh sản.

Nhìn chung, ấu trùng zoea thích hợp với độ mặn từ 25-30‰. Giai đoạn cua con và cua trưởng thành phát triển tốt trong phạm vi 2-38‰. Tuy nhiên trong giai đoạn đẻ trứng, độ mặn cần được duy trì ở 22-32‰. Theo báo cáo của Hyland (1984), cua phân bố trong tự nhiên có liên quan đến dòng chảy với vận tốc 0,06-1,6 m/s.

#### **Địch hại của cua**

Theo Warner (1997, được trích dẫn bởi Hoàng Đức Đạt (2004)), trong tự nhiên tỉ lệ tử vong của cua rất cao và xảy ra trong suốt chu kỳ sống, nguyên nhân là do tập tính ăn lẫn nhau. Giá thể là yếu tố quan trọng, có thể làm giảm đáng kể tỉ



lệ sống của quần đàn, nhất là trong điều kiện ương nuôi. Ngoài ra, còn có rất nhiều loài địch hại khác gây hại đến cua, tùy mỗi giai đoạn cua sẽ có từng loại địch hại khác nhau bao gồm nhiều loài động vật sống trong nước, trên cạn như các loài cá dữ, chim ăn thịt, chuột, rắn,...

## **2.2. Các nghiên cứu sản xuất giống và nuôi cua biển trong và ngoài nước**

### **2.2.1 Tình hình nghiên cứu trên thế giới**

#### **Nghiên cứu ảnh hưởng của thức ăn**

Zeng và Li (1992a) làm thí nghiệm về ảnh hưởng của số lượng và chất lượng trong khẩu phần ăn lên sự phát triển và tỉ lệ sống của ấu trùng cua biển (*Scylla serrata*) nhận thấy rằng luân trùng (*Brachionus plicatilis*) là khẩu phần ăn thích hợp cho sự phát triển của ấu trùng cua biển ở giai đoạn đầu, ở mật độ luân trùng 60 con/ml cho tỉ lệ sống ấu trùng cao nhất ở giai đoạn zoea 3. Khi ấu trùng ở giai đoạn cuối, nếu chỉ cho ăn luân trùng đơn độc sẽ có hiện tượng chậm lột xác và dẫn đến tử vong. Như vậy, luân trùng không thể dùng cho ương nuôi tất cả các giai đoạn ấu trùng cua biển. Mặt khác, ấu trùng cua biển ở giai đoạn zoea 1 được cho ăn ấu trùng *Artemia* thì cho tỉ lệ sống thấp, nhưng ở giai đoạn cuối, việc cung cấp ấu trùng *Artemia* sẽ cho kết quả tốt.

Khi so sánh khẩu phần ăn kết hợp, Zeng và Li (1992a) nhận thấy rằng, ấu trùng cua biển ở giai đoạn đầu được cho ăn bằng luân trùng mật độ cao, đến giai đoạn zoea 2 hoặc zoea 3 thay bằng *Artemia*, hoặc hỗn hợp ở zoea 3 thì cho tỉ lệ sống tốt nhất. Tình trạng thiếu dinh dưỡng trong thời kỳ zoea có ảnh hưởng đến tỉ lệ sống ở giai đoạn megalopa.

Thí nghiệm xác định chế độ cho ăn *Artemia* thích hợp cho ấu trùng cua biển (*Scylla serrata*) được Suprayudi và ctv. (2002) thực hiện. Thí nghiệm 1 gồm 10 nghiệm thức, trong đó có 5 nghiệm thức thức ăn luân trùng được thay thế toàn bộ bởi ấu trùng *Artemia* lần lượt ở giai đoạn từ zoea 1 - zoea 5. Năm nghiệm thức còn lại cũng thực hiện tương tự nhưng luân trùng tiếp tục cho vào cùng với ấu trùng *Artemia*. Thí nghiệm thứ hai gồm 5 nghiệm thức, nhằm xác định mật độ *Artemia* tối ưu. Bốn nghiệm thức được cho ăn ở mật độ *Artemia* khác nhau là 0,5; 1; 1,5 và 4 cá thể/ml, riêng nghiệm thức thứ 5, mật độ *Artemia* được tăng lên theo các giai đoạn phát triển zoea. Kết quả cho thấy, tỉ lệ sống ở giai đoạn zoea 5 cao hơn ở nghiệm thức cung cấp *Artemia* từ giai đoạn zoea 3. Tỉ lệ chết cao của ấu trùng được cho là do hiện tượng ăn nhau (ở nghiệm thức cho ăn *Artemia* mật độ 0,5 cá thể/ml). Mặt khác, khi cung cấp *Artemia* quá sớm và liều lượng nhiều (4 cá thể/ml) gây ra sự thay đổi về hình thái ấu trùng, như

càng, giáp đầu ngực, chân bơi ở giai đoạn zoea 5 sẽ lớn hơn, và chiều dài càng ở giai đoạn zoea 5 sẽ giảm khi mật độ *Artemia* cho ăn giảm. Trong khi đó, tỉ lệ chiều dài càng và giáp đầu ngực có thể sử dụng như dấu hiệu để đoán tỉ lệ sống đến giai đoạn megalopa, ở tỉ lệ 40% sẽ cho tỉ lệ lột xác của megalopa giảm. Theo tác giả, để tránh việc ăn nhau và thức ăn dư thừa trong giai đoạn ấu trùng, *Artemia* cần được cung cấp cho ấu trùng của ở giai đoạn zoea 3 với mật độ là 1,5 cá thể/ml, hoặc có thể tăng tùy thuộc vào giai đoạn zoea.

Khi thực hiện thí nghiệm ương ấu trùng của biển bằng thức ăn luân trùng, Yunus (1992) cho biết, với mật độ của luân trùng cho ăn 60 con/L là yêu cầu để đạt được tỉ lệ sống cao hơn (55%) ở zoea 1 và zoea 2. Mardjono và Arifin (1993) cho rằng, luân trùng di chuyển chậm thích hợp cho ấu trùng của giai đoạn zoea 1 và zoea 2. Từ zoea 3 trở đi, ấu trùng của biển tìm kiếm thức ăn và chúng có thể ăn ấu trùng *Artemia*. Ngay ở giai đoạn megalopa, ấu trùng của có thể ăn *Artemia* 2 ngày tuổi (Basyar, 1994).

Một nghiên cứu khác của Yunus và ctv. (1994) nhằm cải thiện tỉ lệ sống của ấu trùng của biển, đặc biệt là giai đoạn zoea 1 và zoea 2 thông qua việc giàu hóa luân trùng bằng hỗn hợp 10 g dầu gan cá tuyết, 20 g lòng đỏ trứng gà và 5 g men hòa tan trong 100 lít nước, luân trùng được nuôi khoảng 2 giờ. Ấu trùng của được cho ăn luân trùng sau khi giàu hoá với mật độ 15-20 con/ml nước ương. Kết quả cho tỉ lệ sống của zoea 1 (sau 5 ngày thả) là 74,1%.

#### *Nghiên cứu ảnh hưởng của các yếu tố môi trường*

Ảnh hưởng của các yếu tố môi trường như nhiệt độ, độ mặn, sự thiếu ăn lên tỉ lệ sống và phát triển của ấu trùng một số giống loài của biển được nhiều tác giả nghiên cứu, và nhiều nghiên cứu thực nghiệm ương nuôi ấu trùng của với các điều kiện môi trường khác nhau đã được báo cáo. Ong (1964) thực nghiệm ương ấu trùng của biển ở nhiệt độ 24,5-31,5°C và độ mặn 29-33‰; Heasman và Fielder (1983) ương ở nhiệt độ 27°C và độ mặn 27-33‰; Brick (1974) ương ở nhiệt độ 21-23°C và độ 33-34‰. Tuy nhiên, Chen và Jeng (1980) nhận thấy, nhiệt độ càng cao thì thời gian biến thái càng nhanh và khoảng nồng độ muối và nhiệt độ thích hợp nhất là 25-30‰ và 26-30°C. Nếu nhiệt độ lớn hơn 25°C và độ mặn dưới 17,5‰ ấu trùng sẽ chết mặc dù cho ăn đầy đủ. Ngoài ra, theo Marichami và Rajackiam (1991) ương ấu trùng zoea ở nhiệt độ 27-30°C và độ mặn từ 25-30‰ đạt kết quả tốt so với các điều kiện nhiệt độ và độ mặn khác.

Zeng và Li (1992) cho biết, khoảng nhiệt độ từ 25-30°C là tối ưu cho sự phát triển của ấu trùng zoea, tuy nhiên ở giai đoạn ấu trùng đầu chịu đựng tốt ở nhiệt độ thấp hơn, trong khi megalopa có thể sống tốt ở nhiệt độ cao khoảng 32°C.

Cowan (1984) cho rằng, hầu hết các trại giống không gặp trở ngại về việc điều chỉnh độ mặn nước. Nước ương ấu trùng thường có độ mặn trong khoảng 30-33‰. Trong mùa mưa, độ mặn ở những bể bố trí ngoài trời chỉ còn 27‰, độ mặn này nằm trong khoảng chịu đựng được của ấu trùng.

## **2.2.2 Tình hình nghiên cứu trong nước**

### **Nghiên cứu ảnh hưởng của thức ăn**

Thí nghiệm nghiên cứu trên ấu trùng cua biển (*Scylla paramamosain*) cho biết, tảo *Chaetoceros* không là thức ăn tươi sống thích hợp cho zoea 1 trong khi luân trùng có khả năng làm tăng tỉ lệ sống và được xem là loại thức ăn tươi sống đầu tiên. Ấu trùng cua biển bắt đầu ăn ấu trùng *Artemia* giai đoạn 1 từ zoea 2. Khi so sánh giữa thức ăn là *Artemia* giai đoạn 1 chết nhiệt (ở nhiệt độ nước 80°C) hoặc đông lạnh với *Artemia* bung dù tươi sống (chưa tách vỏ), tác giả thấy rằng, tỉ lệ sống giai đoạn zoea 5 - cua 1 đều thấp, và thức ăn *Artemia* bung dù tươi sống (chưa tách vỏ) được xem thích hợp nhất vì chúng ở tình trạng lơ lửng và ít gây ra sự nhiễm bẩn nước. Trong trường hợp thiếu luân trùng, có thể cho ấu trùng cua biển ăn luân trùng chỉ một vài ngày (ngày đầu tiên đến ngày thứ 3), sau đó thay thế bằng *Artemia*. Ở mật độ zoea 1 cao (100 cá thể/L), thức ăn *Artemia* cần gia tăng mật độ tới 20 cá thể/ml.

## **2.3. Nuôi vỗ**

Nuôi vỗ là một trong những khâu quan trọng trong sản xuất giống cua biển.

### **2.3.1. Hệ thống nuôi**

Ở Nhật, bể nuôi vỗ cua bố mẹ được ứng dụng từ những bể nuôi vỗ tôm biển với kích thước của bể ngoài trời là 100 m<sup>3</sup> (Cowan, 1984). Trong khi ở những nước khác như Đài Loan, Úc, Ấn Độ, Malaysia và Việt Nam, người ta thường sử dụng những bể từ 1-2 m<sup>3</sup> đặt trong phòng (Heasman và ctv., 1983; Marichamy và ctv., 1992; Zainoddin, 1991; Hoàng Đức Đạt, 1992). Bên cạnh đó, nuôi vỗ thí nghiệm để cho đẻ trong ao ở những vùng đầm lầy cũng được ghi nhận ở Malaysia (Zainoddin, 1991).

### **2.3.2. Nuôi vỗ cua bố mẹ**

Cua bố mẹ có chiều rộng mai khoảng 9-10 cm trở lên và trọng lượng từ 300-500 g/con thường được tuyển chọn từ tự nhiên để nuôi vỗ. Đối với những cua cái không ôm trứng, người ta thả nuôi chung cua đực và cua cái với mật độ 1-3 con/m<sup>2</sup> để chúng bắt cặp và đẻ trứng. Ở Đài Loan, cua cái đẻ trứng khoảng 4 tháng sau khi giao vĩ (Cowan, 1984), trong khi ở Ấn Độ, chỉ khoảng 4-6 tuần lễ

(Macrichamy, 1991). Đối với những cua được áp dụng phương pháp cắt mắt để cho đẻ, cua cái sẽ đẻ trứng sau khi cắt mắt 21-32 ngày vào mùa đông và chỉ 10-13 ngày vào mùa hè (Heasman và Fielder, 1983). Sự cắt mắt cua sẽ thúc đẩy sự phát triển tuyến sinh dục và có thể rút ngắn quá trình thành thực của cua cái đến 10 ngày (Cowan, 1984; Heasman và ctv., 1983). Heasman (1983) cho rằng áp dụng đúng đắn việc cắt mắt cua sẽ tạo được nguồn cua mang trứng quanh năm. Sự cắt mắt cua cái (phương pháp cắt mắt hai bên) được Heasman bắt đầu áp dụng vào năm 1983.

Áp dụng phương pháp cắt mắt để ép đẻ được tiến hành trước lúc thả cua vào ao hoặc bể nuôi.

### **2.3.3. Kỹ thuật cắt mắt cua**

Cũng như đối với tôm, kỹ thuật cắt mắt cua cái có ảnh hưởng trực tiếp đến kết quả thành thực và sinh sản, rút ngắn thời gian từ lúc giao phối đến khi đẻ. Trước khi cắt mắt, cua được gây mê bằng cách ngâm trong nước biển có 1 ppm chloroform, sục khí nhẹ. Sau 20-30 phút, cua trở nên bất động, cua được đưa ra khỏi nước và một bên mắt trái hoặc phải được kẹp chặt bằng một cây pen hơi nóng (đốt bằng lửa đèn cồn) để cho đến khi toàn bộ cuống mắt này có màu đỏ. Sau đó, phần phía ngoài cuống mắt (nơi bị kẹp) được cắt bỏ bằng kéo. Phương pháp này ngăn chặn sự phóng thích dịch cơ thể sau khi cắt mắt và cũng nhằm khử trùng vết thương. Sau khi cắt mắt, đặt cua vào trong nước biển sạch bình thường, sục khí mạnh. Sau 20-30 phút, cua sẽ hết bị mê (Nghĩa và ctv., 1995).

Cua đẻ trứng 25 ngày sau khi lột xác giao vĩ và 20 ngày sau khi cắt mắt (Hải, 1997). Cua đã cắt mắt đẻ trứng sau 25 ngày thả nuôi, trường hợp cá biệt 5 ngày hoặc 110 ngày (Hải và ctv., 2000), 2-10 ngày (Baylon & Failaman, 1999). Lần đẻ thứ hai thường xảy ra cách lần thứ nhất 14-26 ngày. Sức sinh sản của cua trong lần 2 giảm đi so với lần 1 (Hải, 1997). Cua mẹ sẽ sinh sản và ôm trứng dưới bụng. Kể từ lúc cua đẻ trứng, sau khoảng 10 ngày (có thể 9-11 ngày) (Nghĩa và ctv., 1995) hoặc 10-12 ngày (Đạt, 1995), có khoảng 80-90% trứng nở ra ấu trùng Zoea 1. Tùy theo kích cỡ, một cua mẹ có thể đẻ ra từ 500.000-1.000.000 trứng (Nghĩa và ctv., 1995).

Ở Ấn Độ, trong suốt quá trình nuôi vỗ, bể được che bằng vải đen để ngăn chặn ánh sáng lọt vào và tránh sự rối loạn cơ học (Marichamy và Rajapackiam, 1992). Ở Nhật, những bể đặt ngoài trời cũng được che mát để hạn chế nhiệt độ và sự phát triển của tảo (Cowan, 1984). Tuy nhiên, Heasman (1983) sử dụng chế độ sáng/tối trong khoảng 14/10 giờ trong suốt quá trình nuôi vỗ.

Thức ăn của cua nuôi vỗ là động vật hai mảnh vỏ, tôm, cá. Ở Nhật, người ta thích dùng hai mảnh vỏ tươi sống hơn so với các loại thức ăn khác do nó giúp hạn chế sự nhiễm bẩn môi trường do thức ăn thừa gây ra, hơn nữa, chúng còn có vai trò lọc sinh học (Cowan, 1984). Thức ăn có ảnh hưởng đáng kể đến màu sắc của trứng. Thí nghiệm trên loài cua *Cancer magister* ở California cho thấy: nếu thức ăn cho cua chỉ là mực thì khối trứng có màu trắng nâu. Mặt khác, khi cho cua nuôi vỗ ăn thức ăn bổ sung gồm mực, tôm và vẹm, thì trứng có màu cam bình thường (Paul và ctv., 1983).

Nước biển tự nhiên được sử dụng trong suốt quá trình nuôi vỗ. Ở Úc, nước biển được luân chuyển với vận tốc 500 lít/giờ nhờ một hệ thống lọc tuần hoàn (Heasman và ctv., 1983). Ở Nhật, người ta dùng phương pháp thay nước với tỉ lệ 200%/ngày (Cowan, 1984) trong khi tỉ lệ thay nước chỉ khoảng 30-75% ở những nơi khác (Cowan, 1984; Marichamy và ctv., 1992; Zainoddin, 1992).

Theo nghiên cứu của Hill (1997), khi nuôi vỗ cua cắt mắt trong bể 1 m<sup>3</sup>, cua có thể đẻ trong vòng 5 ngày sau khi cắt mắt và thả nuôi. Tuy nhiên, cũng có trường hợp kéo dài đến 111 ngày mới đẻ và một số con không đẻ. Đẻ trứng không luôn luôn xảy ra vào những ngày trăng kém hay trăng rằm mà bất kỳ ngày nào trong tháng. Cua cái tham gia đẻ trứng thường có kích cỡ 200-300 g. Cua có thể đẻ lại 2-3 lần sau 20-30 ngày so với lần đẻ trước đó. Hiện tượng cua đẻ trứng chỉ thường xảy ra trong điều kiện nuôi vỗ.

Ở Việt Nam, theo Hoàng Đức Đạt (1995), nuôi vỗ cua bố mẹ có thể tiến hành trong ao có diện tích 100-500 m<sup>2</sup> để dễ quản lý và chăm sóc, độ sâu của ao 1,2-1,5 m; mật độ nuôi: 2-5 con/m<sup>2</sup>. Mặt khác, có thể nuôi vỗ trong lồng với kích thước lồng khoảng 3 m x 2 m x 1,2 m, độ sâu khoảng 1,5 m, mật độ nuôi: 2-4 con/m<sup>3</sup>. Ngoài ra, còn có thể nuôi vỗ trong bể xi măng với diện tích bể 4-30 m<sup>2</sup>, cao 1,3 m, có thể hình vuông, hình chữ nhật, hình tròn, mực nước trong bể 0,7-1 m, mật độ nuôi: 2 con/m<sup>3</sup>. Thức ăn của nuôi vỗ là cá, tôm, các loài còng, nhuyễn thể, thực vật thủy sinh..., cho ăn 2-5% khối lượng thân. Thường cho cua ăn vào buổi chiều tối. Không nên để cua đói, thiếu ăn, cua sẽ cắn nhau làm gãy càng, chân, thậm chí ăn nhau. Các yếu tố môi trường: nồng độ muối 25-32‰, pH=7,5-8,5; hàm lượng Oxy hòa tan không dưới 5mg/l; nhiệt độ nước: 27-30°C. Thay nước 20-30%/ngày.

#### **2.3.4. Quản lý và chăm sóc cua mang trứng**

Hầu hết các nghiên cứu đều cho thấy sau khi đẻ, cua đực phải được tách khỏi cua cái để tránh nguy hại cho buồng trứng hoặc tránh hiện tượng ăn nhau. Cua cái mang trứng được chọn lựa để ấp trứng chỉ khi nào chúng đã có khối trứng

màu vàng, chắc và không bị nhiễm bẩn bởi các vi sinh vật khác. Chen (1990) cho rằng việc đẻ trứng của cua cái trong ao có khuynh hướng bị nhiễm động vật nguyên sinh (protozoa) và những sinh vật khác, dễ dẫn đến tỉ lệ nở thấp trong suốt những giai đoạn ương ấu trùng. Trong trường hợp sản xuất giống ở Nhật và Đài Loan, cua mang trứng có phụ bộ bị tổn thương có thể được sử dụng miễn là cua mẹ có khối trứng với chất lượng cao (Cowan, 1984). Tuy nhiên, ở Malaysia, những cua này bị loại bỏ (Zainoddin, 1991).

Dùng formalin 25 ppm để xử lý sự nhiễm nấm của trứng, chúng gây độc cho trứng ngay một ngày sau khi đẻ và chúng cũng độc đối với cua mẹ nếu cua được nuôi giữ trong một thời gian lâu hơn (Hamasaki và Haitai, 1993). Vì thế nên xử lý sự nhiễm nấm bằng formalin ở các giai đoạn đầu của ấu trùng tốt hơn là ở giai đoạn cua mang trứng.

Trong vận chuyển cua cái mang trứng, mặc dù cua mẹ có thể sống một thời gian dài trong không khí ẩm khi ra khỏi nước, nhưng những trứng thụ tinh mà cua mẹ mang bị chết chỉ sau một giờ tiếp xúc với không khí bên ngoài (Chen, 1990). Khi khối trứng có màu nâu đen, cua mẹ được chuyển đến bể riêng cho trứng nở.

## **PHẦN 3: VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU**

### **3.1. Nội dung nghiên cứu**

1. Phân tích và xác định sự thay đổi về mô học của buồng trứng ở các giai đoạn thành thực tương quan với những đặc điểm hình thái.
2. Xác định sự biến động hàm lượng và thành phần chất béo, acid béo, vitamin C...trong suốt quá trình thành thực sinh dục.
3. So sánh ảnh hưởng của các loại thức ăn khác nhau lên khả năng thành thực đẻ trứng và chất lượng ấu trùng.

### **3.2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu**

#### **3.2.1. Thời gian và địa điểm nghiên cứu**

- Thời gian thực hiện đề tài: Các thí nghiệm được thực hiện từ tháng 6/2003 đến tháng 12/2005.
- Địa điểm thực hiện: Bộ môn Thủy sinh học ứng dụng, Khoa Thủy sản, Trường Đại học Cần Thơ và Trại thực nghiệm Vĩnh Châu, Sóc Trăng.

#### **3.2.2. Vật liệu nghiên cứu**

##### **3.2.2.1. Vật dụng và thiết bị nghiên cứu**

- Hệ thống bể thí nghiệm bằng composite với các thể tích khác nhau 2 m<sup>3</sup>, 1 m<sup>3</sup>, 0,5 m<sup>3</sup> và các bể nhựa 2 m<sup>3</sup>, 1 m<sup>3</sup> và 0,5 m<sup>3</sup> dùng chứa đá dăm, cát cho hệ thống lọc sinh học dùng để nuôi vỗ cua mẹ
- Hệ thống bể áp gồm các bể bằng composite với các thể tích khác nhau 100 L, 500 L, các bể lọc chứa đá, cát mịn cho hệ thống lọc tuần hoàn
- Máy Ozone 200 mg để xử lý nước, máy xay sinh tố đa năng để chế biến thức ăn
- Kính lúp điện tử Olympus CH 30 để kiểm tra và đếm trứng cua
- Các dụng cụ phòng thí nghiệm cần thiết khác như cân điện tử, máy đo pH, máy đo độ mặn, và các hoá chất cố định và phân tích TAN, N-NO<sub>2</sub>, N-NO<sub>3</sub> ...
- Nước mặn dùng trong các thí nghiệm có độ mặn 28-30‰ được pha từ nguồn nước mặn 100-150‰ lấy từ khu vực ruộng muối Vĩnh Châu với nước ngọt cung cấp từ nhà máy nước Cần Thơ. Nước mặn 30‰ được xử lý bằng chlorin nồng độ 30 ppm và sục khí liên tục trong 24-48 giờ. Sau đó nước được kiểm tra hàm lượng Chlor còn lại bằng thuốc thử

Octolidin và trung hoà bằng Thiosulfate natri ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ) nếu còn Chlor. Nước để lắng trong thời gian 24 giờ.

### **3.2.2.2. Đối tượng nghiên cứu**

Cua biển *Scylla paramamosain* được thu mua từ các vựa cua biển ở các huyện Ngọc Hiển, Năm Căn, tỉnh Cà Mau; Vĩnh Châu, Sóc Trăng, Bạc Liêu...

### **3.2.3. Phương pháp nghiên cứu**

#### **3.2.3.1. Xác định sự biến đổi hàm lượng và thành phần chất béo, acid béo và vitamin C của buồng trứng trong suốt quá trình thành thực**

Mục đích của công việc này nhằm xác định nhu cầu dinh dưỡng của cua thành thực trong từng giai đoạn khác nhau, mặt khác bằng việc phân tích sự liên quan giữa hình thái bên ngoài và sự phát triển phôi trứng tạo ra mối liên hệ giữa hình thái và sự phát triển giúp phân nào xác định được giai đoạn thành thực thông qua quan sát hình dạng.

#### **Phương pháp thực hiện**

Thu hoạch cua ở tất cả các giai đoạn thành thực khác nhau tại các tỉnh Đồng Bằng Sông Cửu Long. Mỗi cua được đo kích thước và cân trọng lượng, quan sát hình dạng. Mở cua tìm buồng trứng, quan sát màu sắc, cân khối lượng buồng trứng, cắt khoảng 0,5 g để phân tích mô và phần còn lại bảo quản trong tủ lạnh  $-80^\circ\text{C}$  để phân tích dinh dưỡng. Các bước thực hiện như sau:

#### ***Thu thập cua***

Trong thời gian hai năm (2003-2005), tổng cộng có 460 cua biển trưởng thành (dùng để cắt mô và phân tích dinh dưỡng) *S. paramamosain* ở những giai đoạn thành thực khác nhau đã được thu thập ở tỉnh Sóc Trăng, Cà Mau và Bạc Liêu. Chiều rộng mai và khối lượng cơ thể của chúng lần lượt dao động trong khoảng từ 73 đến 150 mm và 93 đến 620 g. Ngoài ra các số đo chiều rộng, chiều dài mai; độ rộng và cao của bụng của từng cua đã được ghi nhận. Chỉ số thành thực con cái được tính theo công thức  $\text{FMI} = \frac{\text{độ rộng nơi lớn nhất của đót bụng thứ 5}}{\text{độ rộng nơi lớn nhất của tấm ngực giữa gốc của đôi chân ngực 5}}$ . Buồng trứng của mỗi cua được mở ra, màu sắc, hình dạng và khối lượng buồng trứng được xác định. Khối lượng buồng trứng của mỗi cua được ghi nhận để tính chỉ số thành thực tuyến sinh dục (GSI). Công thức được tính toán như sau:  $\text{GSI}\% = \frac{\text{khối lượng buồng trứng} \times 100\%}{\text{khối lượng cơ thể}}$ .



## ***Phân tích mô***

Một phần nhỏ của buồng trứng được cắt ra để phân tích mô dựa theo phương pháp của Bell và Lightner (1988), Bộ môn nuôi trồng Thủy sản, Trung tâm Phát triển Nghề cá Đông nam Á (SEAFDEC), Philippine sửa đổi.

Các bước thực hiện như sau:

**1. Xử lý mẫu:** Cắt khoảng 0,5 g trứng cua ngâm 24 giờ trong dung dịch davidson hoặc Boin's. Sau 24 giờ thay bằng cồn 70%. Dung dịch Boin's được chuẩn bị từ 6,3 g Picic acid, 450ml nước cất. Sau đó lưu mẫu cho tới khi cắt. Boin's có màu vàng nên phải thay bằng cồn 70% mỗi ngày cho hết màu vàng.

### **2. Làm tiêu bản:**

a/ *Loại nước:* bằng cồn 70% : 40 phút, cồn 95% 1 : 40 phút, cồn 95% 2: 40 phút, cồn 100% 1 : 40 phút, cồn 100% 2 : 40 phút, 50% Toluen + cồn 100% : 40 phút; Toluen 1 : 40 phút, Toluen 2 : 40 phút

b/ *Tấm Parafin 1* : 40 phút trên Embedding center, *tấm Parafin 2* : 40 phút trên Embedding center.

c/ *Đúc mẫu:* Xếp giấy có hình chữ nhật gấp mẫu ra khỏi Parafin 2 cho vào khuôn 2 đầu giấy. Đúc thành khối sau đó dùng dao cắt giấy, cắt ra 2 miếng vuông. Dùng dao hơ trên đèn cồn để dán mẫu lên miếng gỗ, cắt gọt cho mẫu nhỏ, gọn gàng. Mỗi mẫu làm 2 miếng gỗ để dự trữ nhưng chỉ cắt 1 mẫu. Nếu mẫu trứng cua ở giai đoạn lớn ngâm trong dung dịch làm mềm (Socking Sollution) gồm: ethanol 60% + glycerin theo tỉ lệ: 1 glycerin/ 9 ethanol. Thời gian ngâm từ 20 – 30 phút tùy thuộc mẫu thấy mềm cho vào tủ đông sau khi rửa sạch bằng nước ngọt. Để tủ đông 20 phút có thể bắt đầu cắt được.

**3. Cắt mẫu:** dùng microtome : 6  $\mu$ m, nếu mẫu đạt không bị bể thì dán lên lam

Dùng 1 giọt: albumine nhỏ lên lam, chà đều ra, thêm nước cất vào cho đầy lam, cắt lấy mẫu đã cắt từng đoạn (gọi là phương pháp Step dissection) nằm giữa lam, dùng 2 kim nhọn căng 2 đầu ra trên máy ấm (Slider Warmer) nhiệt độ 39 – 44° C để làm khô lam cứ khoảng 15 – 30 phút để mẫu trên khai, bắt đầu quá trình nhuộm.

**4. Nhuộm mẫu:** bằng xylen, cồn, nước cất, hematoxylin, eosin trong khoảng thời gian từ 45-60 phút. Sau khi nhuộm nhân bắt màu xanh.

5. **Cố định mẫu:** lấy lam ra khỏi dung dịch xylen, chùi xung quanh, nhỏ vào 3 giọt keo EUKITT, để lamel nhẹ nhàng xuống lam tránh có bọt khí, bảo quản mẫu lâu dài trong điều kiện phòng thí nghiệm
6. **Quan sát tiêu bản:** lát cắt mô được quan sát dưới kính hiển vi để xác định các giai đoạn phát triển của trứng dựa theo tác giả (Quinitio, de Pedro & Parado-Esteva, bài đang chờ đăng trong tạp chí thế giới nuôi trồng Thủy sản năm 2006). Mỗi cua đo 30 tế bào trứng và mỗi giai đoạn thành thực đo 20 cua.

### ***Phân tích thành phần sinh hoá***

Phần còn lại của buồng trứng được dùng để phân tích sinh hoá. Thành phần chất béo, acid béo, (FAME = Fatty Acid Methyl Esters) và vitamin C được phân tích tại Phòng thí nghiệm nuôi trồng thủy sản và Trung tâm khảo cứu Artemia thuộc Khoa Khoa học, Đại học Gent, Bỉ.

Tổng chất béo được ly trích dựa theo phương pháp được mô tả bởi Folch và ctv. (1957) sau đó được sửa đổi bởi Ways và Hanahan (1964). Cân khoảng 0,5 g trứng cua để xác định độ ẩm. Sau đó thêm vào 4 mL MeOH, lắc đều trong 1 phút; thêm 8 mL CHCl<sub>3</sub> lắc đều trong 1 phút; rửa bằng dung dịch hoà tan CHCl<sub>3</sub>, MeOH với tỉ lệ 2:1; ly tâm trong 5 phút; đổ lớp trên vào một cốc khác; thêm vào 6mL dung dịch hoà tan, ly tâm 5 phút; đổ lớp trên vào một cốc khác, thêm vào 5 mL dung dịch KCL 0,88%, lắc đều và ly tâm. Dùng pipete hút lớp trên ra, thêm vào 3,75 mL MeOH và nước với tỉ lệ 1:1, để lắng, lắc đều và ly tâm. Dùng pipete hút lấy lớp trên; sấy khô phần ly trích, thêm vào Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>; thu lấy mẫu cho vào cốc đầu tiên, rửa bằng acetone, để khô 30 phút trong bình hút ẩm, làm khô bằng N<sub>2</sub>, để cố định vào bình hút ẩm 30 phút, cân khối lượng cốc + chất béo. Tính khối lượng chất béo.

Thành phần chất béo được phân tích dựa theo Olsen & Henderson (1989). Acid béo được phân tích theo phương pháp của Lepage & Roy (1984) sửa đổi bởi Coutteau và Sorgeloos (1995). Mẫu buồng trứng được rửa sạch bằng nước ngọt trước khi dự trữ trong tủ đông -80°C cho tới khi phân tích thành phần sinh hoá. Mẫu được trữ bằng nước đá khô khi vận chuyển sang Bỉ bằng đường máy bay. Do khối lượng trứng ở giai đoạn 1-3 thấp, để đủ yêu cầu 5 g phân tích sinh hoá, phải dồn chung các mẫu cùng giai đoạn lại. Mỗi giai đoạn phân tích 4 lần lặp lại.

Hàm lượng vitamin C (ascorbic acid) được phân tích bằng phương pháp sắc ký lỏng kỹ thuật cao được mô tả bởi Nelis và ctv. (1997).

### 3.2.3.2. Ảnh hưởng của thức ăn tươi sống và chế biến lên chất lượng của mẹ

Sau khi xác định được sự biến động của tổng và thành phần chất béo; acid béo và vitamin C trong suốt quá trình thành thực của cua tăng lên có ý nghĩa. Vài thí nghiệm của mẹ được bố trí nhằm mục đích tăng các thành phần đó trong khẩu phần ăn của cua trong điều kiện nhân tạo với mục đích tăng chất lượng của mẹ và ấu trùng, góp phần tăng tỉ lệ sống trong quá trình ương. Thí nghiệm được thiết kế với 3 nghiệm thức thức ăn khác nhau: thức ăn tươi sống, thức ăn chế biến và thức ăn kết hợp với mong muốn tìm thấy ảnh hưởng khác biệt của các chế độ ăn này lên chất lượng của mẹ và ấu trùng.

#### Bố trí thí nghiệm

Sau khi có kết quả về sự tương quan giữa hình thái và sự phát triển buồng trứng thông qua phân tích mô học và các tỉ số kích thước bề ngoài, cua được chọn cho thí nghiệm đều phải ở giai đoạn 2, tức giai đoạn nhu cầu về chế độ dinh dưỡng bắt đầu tăng lên, nguồn cua được chọn lọc tại các điểm thu mua tại huyện Năm Căn, Ngọc Hiển tỉnh Cà Mau, cua được chuyên chở về Cần Thơ bằng xe có máy lạnh trong ngày. Cua được giữ trong bể chứa có mực nước cao 20 cm, độ mặn 28‰ cho tới ngày sau bắt đầu bố trí thí nghiệm. Thí nghiệm có 3 nghiệm thức, mỗi nghiệm thức 3 lần lặp lại. Thí nghiệm được lặp lại 2 lần tại Cần Thơ, và 1 lần tại Vĩnh Châu. Các nghiệm thức được tóm tắt trong bảng sau. Các bước tiến hành như dưới đây:

**Bảng 3.1.** Mô tả tóm tắt các thí nghiệm nuôi vỗ của mẹ 1, 2 và 3

<b>Nghiệm thức</b>	<b>Thức ăn cung cấp</b>
A. Thức ăn tươi sống	100% mực, nghêu, tôm, cá tạp, ốc mượn hồn ...
B. Thức ăn kết hợp	50% thức ăn tươi sống + 50% thức ăn chế biến
C. Thức ăn chế biến	100% được làm từ các nguyên liệu mực, gan bò, nghêu, bổ sung vitamin, sữa DHA, men antibio, DHA-Selco, aginate ...

**Bảng 3.2.** Thành phần dinh dưỡng của thức ăn cung cấp cho cua mẹ

Thức ăn	Đạm (%/KL khô)	Chất béo (%/KL khô)	Tro (%/KL khô)	ARA (mg/g KL khô)	EPA (mg/g KL khô)	DHA/EPA (mg/g KL khô)	DHA (mg/g KL khô)
Nghêu	48,5± 0,7	6,3±2,2	5,9±0,3	2,2±0,2	4,6±0,02	1,5±0,2	7,3±0,6
Tôm	75,8± 2,7	15,6±1,3	6,1±0,4	2,3±3,8	1,2±0,2	0,6±0,5	0,7±0,0
Mực	65,2± 14,7	7,1±0,5	5,1±0,2	21,5±3,2	12,4±9,6	3,4±0,4	42,3±0
Chế biến	39,6± 0,4	13,7±2,1	5,2±1,3	1,3±0,3	2,3±0,7	3±0,4	7,0±2,8

***Phương pháp bố trí thí nghiệm của mẹ ở Cần Thơ (Thí nghiệm 1 và 2)***

Cua mẹ được chọn lọc và thu mua tại các vựa cua ở các tỉnh Cà Mau, Bạc Liêu, Sóc Trăng. Chỉ tiêu chọn là cua có chỉ số thành thực của con cái (FMI) đồng đều, cua vừa mới bắt đầu thành thực, giai đoạn 2. Cua sau khi thu mua về được bố trí thí nghiệm ngay trong ngày hôm sau. Các bước thực hiện như sau:

1. Sát trùng cua: Trong điều kiện nuôi trên bể với mật độ dày có thể là nguyên nhân dẫn tới bệnh, vì vậy sát trùng cua bằng formalin nhằm giảm thiểu ký sinh trùng trước khi thả nuôi là một giải pháp tốt. Nồng độ sử dụng trong thí nghiệm là 50-100 ppm.
2. Đánh dấu cua: Cân khối lượng cua bằng cân điện tử Sartorius có độ chính xác 0,1. Đo kích cỡ cua bằng thước đo đồng hồ. Số thứ tự cua, ngày bắt đầu thả nuôi, được đánh dấu và dán trên mai cua bằng keo không thấm nước. Thời gian để đánh dấu mất khoảng 5 phút.
3. Hệ thống nuôi: Hệ thống lọc tuần hoàn, lượng nước trong bể nuôi được thay hoàn toàn 250 L/giờ, bể composite có thể tích 2 m<sup>3</sup>, 1 m chiều sâu, mỗi bể duy trì với mật độ 4 con cua/bể. Nhưng do trong quá trình nuôi có hao hụt do cua ăn nhau; nên thường phải bổ sung thêm cua cho nên tổng số cua trên mỗi bể sẽ lớn hơn 4; nhưng số lượng cua nuôi vỗ duy trì trong bể tối đa không quá 4 con. Lượng nước chảy ra bể lọc sinh học được bơm từ dưới đáy bể. Chất lượng nước được theo dõi 3 ngày/lần. Nhiệt độ được điều chỉnh bằng heater (dụng cụ tăng nhiệt từ 22-32°C) trong mùa đông, tránh dao động lớn. pH được đo bằng dụng cụ đo pH, TAN, NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup> được đo bằng test kit
4. Giá thể: Do đặc tính cua ăn nhau, vì vậy giá thể được cung cấp để tránh hao hụt. Giá thể được sử dụng trong thí nghiệm gồm gói sấp nóc hình tam giác để cua trú, số lượng 1 giá thể/1 cua được bố trí ngẫu nhiên dưới đáy bể, ngoài ra cát mịn cũng được cung cấp làm chỗ cua vùi mình và chứa trứng khi cua đẻ. Cát được chứa trong thau nhựa có kích

thước đường kính 75 cm, sâu 25 cm, bề mặt lớp cát cách vành thau khoảng 4cm. Thau cát trải đều dưới đáy bể (3 thau/bể).

5. Chuẩn bị thức ăn: Thức ăn tươi sống được chuẩn bị hàng ngày trước khi cho ăn. Nghêu được tách vỏ, rửa sạch trước khi cân và cho ăn. Tôm được lột vỏ, mực cắt nhỏ trước khi cho cua ăn. Thức ăn chế biến được chuẩn bị theo công thức: sữa DHA (5 g), mực (45 g), gan bò (5 g), nghêu (30 g), vitamin C (1 g), men Antibio (2 g), DHA-Selco (5 g), tất cả được xay nhuyễn bằng máy xay sinh tố đa năng. Aginate (7 g) được thêm vào dùng làm chất kết dính. Cuối cùng cho thêm Clorua canxi (5-7g/100 ml nước ngọt) vào.
6. Bố trí thí nghiệm: thí nghiệm gồm ba nghiệm thức (mỗi nghiệm thức 3 lần lặp lại) được bố trí với nguồn thức ăn cung cấp khác nhau: (A) 100% thức ăn tươi sống (thay đổi mỗi ngày: mỗi ngày cho ăn 100% hoặc nghêu, mực, tôm, cá...), lượng thức ăn cung cấp được điều chỉnh hàng ngày dao động từ 5-15% khối lượng cơ thể của mẹ tùy theo mức thực của đã ăn trong ngày hôm trước; (B) nghiệm thức kết hợp 50% thức ăn tươi sống + 50% thức ăn chế biến, tổng lượng thức ăn được điều chỉnh từ 5-10%, trong đó thức ăn tươi sống chiếm 50% và thức ăn chế biến chiếm 50% tổng lượng thức ăn cung cấp trong ngày. Do cua có tập tính thích ăn thức ăn tươi sống, nên để dẫn dụ cua ăn thức ăn chế biến, chúng tôi thường cho thức ăn chế biến vào trước thức ăn tươi sống khoảng 1 giờ; (C) nghiệm thức thức ăn chế biến cung cấp 100 % thức ăn chế biến. Lượng thức ăn chế biến thường được điều chỉnh dựa theo lượng thực đã tiêu thụ trong ngày trước đó. Hàm lượng dinh dưỡng thức ăn cung cấp: đạm, chất béo, tro, acid béo...được xác định trước khi cho ăn. Phương pháp phân tích dựa theo Lepage & Roy, 1984 được sửa đổi bởi Coutteau và Sorgeloos, 1995, tại Phòng thí nghiệm chuyên sâu, Đại học Cần Thơ và Khoa Thủy sản, Đại học Cần Thơ.
7. Xác định lượng thức ăn: Cân lượng thức ăn cung cấp hàng ngày (5-10% khối lượng cơ thể, giống nhau cho cả thức ăn tươi sống và chế biến). Thời gian cho ăn vào buổi sáng sớm và buổi tối. Thức ăn thừa được vớt ra và cân lại mỗi ngày. Lượng thức ăn tiêu thụ hàng ngày được tính dựa trên khối lượng cung cấp trừ đi lượng còn thừa. Lượng chất thải cũng được vớt ra mỗi ngày. Vệ sinh bề mặt bể được thực hiện mỗi 3 ngày/lần. Tình trạng cua được quan sát mỗi ngày.



**Hình 3.1.** Hệ thống bể nuôi vỗ cua mẹ, đo kích thước và chuẩn bị thức ăn

Những thông số sau đây được ghi nhận: khẩu phần ăn hàng ngày, lượng thức ăn thừa hàng ngày, trung bình phần trăm thức ăn được tiêu thụ, số lượng cua đẻ, số lượng cua chết, sức sinh sản, tỉ lệ thụ tinh, tổng số ấu trùng nở, chất lượng ấu trùng.

***Phương pháp bố trí thí nghiệm cua mẹ ở Vĩnh Châu (Thí nghiệm 3)***

Một thí nghiệm được thực hiện tại Trại thực nghiệm của Khoa Thủy sản, trường Đại học Cần Thơ, thuộc xã Vĩnh Phước, huyện Vĩnh Châu, tỉnh Sóc Trăng. Thí nghiệm được thực hiện tương tự như ở Cần Thơ, chỉ khác là bố trí trong bể đất, lót bạt nylon giữ nước, diện tích mỗi bể 12 m<sup>2</sup> (3 m x 4 m, sâu 0,4 m), nguồn nước bơm trực tiếp từ biển vào, cho vào bể lắng, xử lý bằng formaline 30 ppm hoặc permanganate kali KMnO<sub>4</sub> nồng độ 5-10 ppm, cho ăn 5-10%/ngày, 2 lần/ngày. Hàng ngày kiểm tra, nếu trứng cua mẹ thành thực, chuyển cua về Cần Thơ, tiếp tục bố trí theo nghiệm thức trong các bể composite, tất cả cua thành thực đều được cắt mắt. Tất cả các thông số môi trường và chất lượng cua mẹ được theo dõi tương tự như thí nghiệm 1 và 2. Mục đích bố trí thí nghiệm ở Vĩnh châu, muốn so sánh sự ảnh hưởng khác

nhau của điều kiện ương như nguồn nước, bể ương, diện tích bể... ở trại Cần thơ và trại Vĩnh châu lên chất lượng của mẹ

### **Phương pháp đánh giá chất lượng của mẹ:**

1. *Khối lượng trứng*: Quan sát tất cả của mỗi buổi sáng, ghi nhận của đẻ mỗi ngày. Của sau khi đẻ được bắt để riêng biệt trong bể ấp, thể tích 100 lít có gắn với hệ thống sục khí và lọc tuần hoàn, sử dụng đèn UV để sát trùng nước trước khi thả của vào. Dùng lưới 100  $\mu\text{m}$  chắn lại trong bể ấp tránh của nở đi vào bể tuần hoàn. Nước trong bể tuần hoàn được dùng đèn UV khử trùng trước khi chảy vào bể ấp. Tốc độ nước chảy qua xấp xỉ 200 lít mỗi giờ. Nhiệt độ được giữ ổn định 28-30°C. Theo dõi của hàng ngày, kiểm tra tỉ lệ thụ tinh của trứng, cân khối lượng của trước và sau khi nở, hiệu số chênh lệch được xác định là khối lượng buồng trứng
2. *Thời gian đẻ trong bể*: Mỗi của mẹ được theo dõi ngày đẻ sau khi được bố trí thí nghiệm nhằm xác định thời gian đẻ khác nhau của từng nghiệm thức.
3. *Sức sinh sản*: Sức sinh sản tương đối và tuyệt đối được xác định bằng công thức: Sức sinh sản tương đối = tổng số trứng/khối lượng cơ thể của; Sức sinh sản tuyệt đối = tổng số trứng của đẻ/l. Tổng số trứng = số trứng 0,01 g x khối lượng buồng trứng/0,01 + trứng rơi ra ngoài. Để xác định tổng số trứng, khoảng 0,01 g trứng được tách ra khỏi buồng trứng, dùng kính lúp soi nổi, đếm hết số trứng chứa trong 0,01 g. Tuy nhiên trong quá trình đẻ trứng nhận thấy trứng của mỗi lần đẻ thường bị rơi ra ngoài, do vậy trong thí nghiệm này tổng số trứng được ghi nhận là tổng số trứng dính trên của, không tính trứng rơi ra ngoài; do vậy số lượng trứng thường thấp hơn thực tế.
4. *Tỉ lệ thụ tinh*: Kiểm tra trứng thụ tinh bằng cách quan sát dưới kính lúp soi nổi, mỗi của kiểm tra 100 trứng, 3 lần lặp lại. Trứng thụ tinh có phôi phân cắt rõ ràng, có màu vàng nhạt, trứng không thụ tinh không phân cắt và có màu sậm.
5. *Phân tích HUFA ấu trùng*: Ấu trùng sau khi nở, thu hoạch bằng lưới 100  $\mu\text{m}$ , rửa sạch bằng nước ngọt trước khi trữ ở nhiệt độ -80°C cho đến khi phân tích hàm lượng HUFA.
6. *Thời gian thí nghiệm*: 3 tháng

### **3.2.4. Phương pháp thu thập số liệu**

#### **Thủy lý hoá:**

- Nhiệt độ được đo 2 lần/ngày vào 8 giờ sáng và 2 giờ chiều bằng nhiệt kế thủy ngân.
- pH (đo bằng máy pH Scan 2, Eutech, Singapore) được đo 2 lần/ngày vào buổi sáng và chiều
- Nồng độ muối: đo 2 lần/ngày bằng salinometer
- TAN, NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup> phân tích bằng test kit (Đức)

### **3.2.5. Phân tích thống kê**

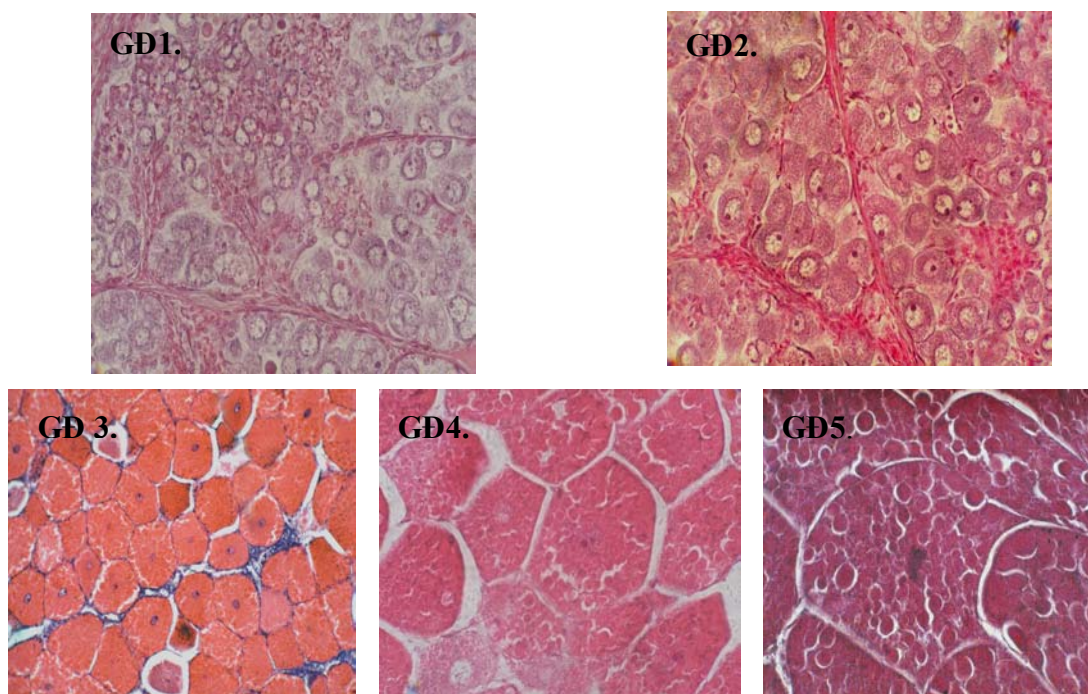
Kết quả phân tích giá trị dinh dưỡng được biểu thị bằng đơn vị mg/g khối lượng khô đối với acid béo và vitamin C, trong khi tổng chất béo và thành phần chất béo được biểu thị bằng % khối lượng khô. Số liệu được xử lý bằng chương trình Excel và xử lý thống kê bằng phần mềm Statistica 6.0. Tất cả số liệu đều được kiểm tra tính đồng nhất và phân phối chuẩn trước khi đưa vào xử lý One-way ANOVA. Sự khác biệt giữa các giai đoạn được kiểm tra bằng Tukey HSD Test ở mức khác biệt có ý nghĩa  $p < 0,05$ .



## PHẦN 4: KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 4.1. Phân tích và xác định sự thay đổi về mô học của buồng trứng ở các giai đoạn thành thục tương quan với những đặc điểm hình thái.

Trứng cua trưởng thành đã được phân ra làm 6 giai đoạn dựa vào màu sắc, đặc điểm mô, kích thước của tế bào trứng và hình dạng bên ngoài của cua như mô tả trong bảng 4.1, bảng 4.2 và hình 4.1. Màu sắc buồng trứng thay đổi từ trong suốt (giai đoạn 1) đến màu cam đậm (giai đoạn 5) trong suốt quá trình thành thục (Hình 4.3). Đường kính trung bình của trứng tăng từ  $16 \pm 3 \mu\text{m}$  ở giai đoạn 1 đến  $190 \pm 22 \mu\text{m}$  ở giai đoạn 5 khi trứng có màu vàng đậm, hoặc cam đậm. Đặc điểm của buồng trứng thay đổi rất lớn từ giai đoạn chưa thành thục cho đến khi hoàn toàn thành thục. Hình dạng của chúng rất khó phát hiện ở giai đoạn 1, kích thước tăng dần lên ở giai đoạn 2, 3, 4 và đặc biệt nở sào nở rộng ở giai đoạn 5. Sau khi đẻ, đặc điểm buồng trứng giống như giai đoạn 2 hoặc 3, lúc này buồng trứng đang phát triển, tuyến sinh dục mỏng, nở sào bắt đầu nở rộng.



**Hình 4.1.** Cấu tạo mô từ giai đoạn 1-5 trong suốt quá trình thành thục

**Bảng 4.1.** Hình dạng bề ngoài của buồng trứng ở các giai đoạn thành thực

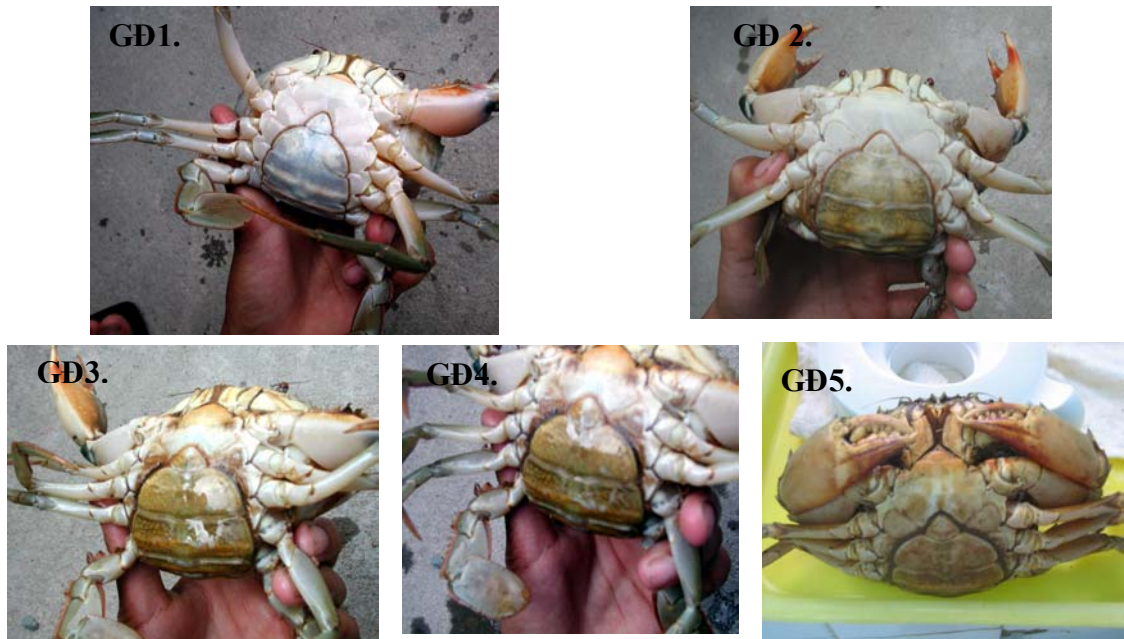
Giai đoạn	Đặc điểm
1	Chưa thành thực; tuyến sinh dục mỏng và trong suốt, khó phân biệt, dễ lẫn lộn với mô
2	Tuyến sinh dục đang phát triển; tuyến sinh dục mỏng, nhưng noãn sào có màu trắng hay cam vàng
3	Đang thành thực; noãn sào nở rộng; màu vàng hay cam nhạt
4	Thành thực; noãn sào tăng kích thước; màu cam nhạt hoặc đậm
5	Thành thực; noãn sào nở rộng chiếm hết diện tích; màu cam đậm
6	Sau đẻ; noãn sào mỏng, giống như giai đoạn 2 và 3

**Bảng 4.2.** Cấu tạo mô ở các các giai đoạn khác nhau của buồng trứng

Giai đoạn buồng trứng	Đặc điểm mô	Kích thước tế bào trứng ( $\mu\text{m}$ )
1	Noãn nguyên bào phân cắt ở nhiều giai đoạn khác nhau, màng tế bào follicle bao bọc xung quanh và giữa các thùy	$15,9 \pm 2,9$
2	Màng tế bào follicle bắt đầu bao quanh trứng; thùy trứng dễ dàng phân biệt được	$60,0 \pm 6,8$
3	Trứng tăng kích thước, màng tế bào follicle bao xung quanh trứng, noãn hoàng bắt đầu xuất hiện	$67,7 \pm 3,9$
4	Giọt noãn hoàng lớn dần và tăng về số lượng	$93,9 \pm 16,9$
5	Giọt noãn hoàng bao phủ tất cả tế bào chất; nhân có kích thước nhỏ hơn; màng tế bào follicle khó thấy	$190,5 \pm 22,0$
6	Noãn nguyên bào, trứng ưa baze và phần còn lại của trứng trưởng thành bị phân huỷ có thể quan sát được	$63,62 \pm 7,92$

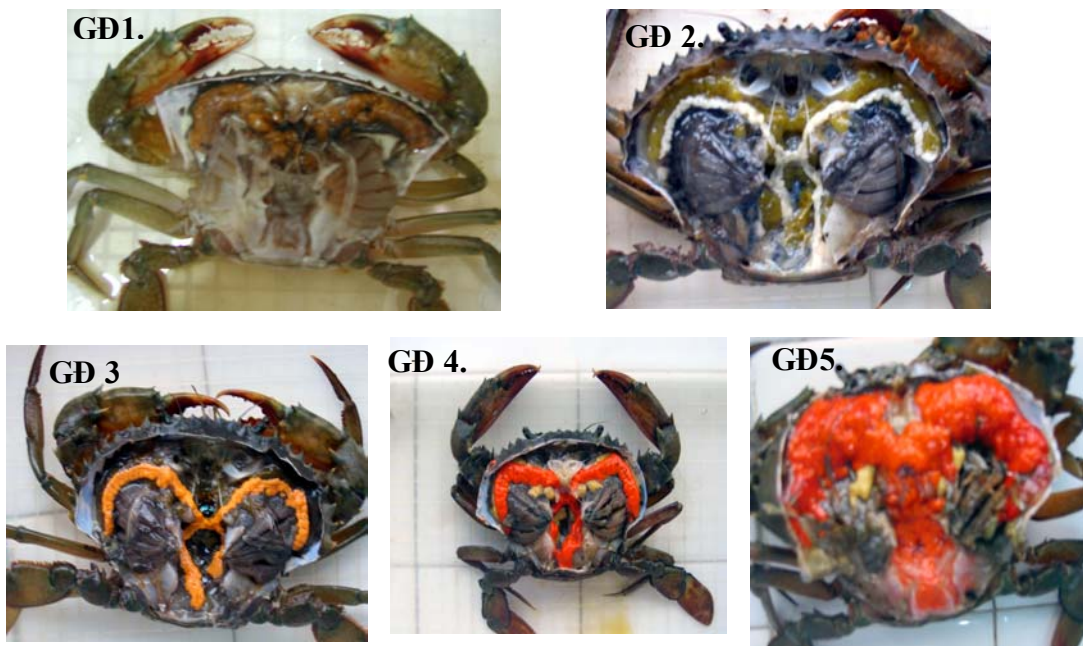
Quan sát tiêu bản mô trên kính hiển vi nhận thấy ở giai đoạn 1 noãn nguyên bào phân cắt ở nhiều giai đoạn khác nhau; ở giai đoạn 2, 3 thùy trứng dễ dàng được phân biệt, giọt noãn hoàng bắt đầu xuất hiện ở giai đoạn 4, 5; kích thước trứng tăng nhanh ở giai đoạn 5.

#### 4.1.2. Sự thay đổi về hình dạng bên ngoài ở các giai đoạn thành thục



**Hình 4.2.** Sự thay đổi hình dạng bụng của cua biển ở các giai đoạn thành thục

Phân tích sự liên hệ giữa cấu trúc mô và hình dạng bên ngoài của cua ở các giai đoạn thành thục khác nhau đã cho thấy một mối tương quan giữa sự phát triển của buồng trứng và hình dạng bên ngoài. Trong bảng 4.3 cho thấy tỉ lệ chiều cao/chiều rộng mai tăng dần từ giai đoạn 1 đến giai đoạn 5 (0,415 - 0,424).



**Hình 4.3.** Hình dạng buồng trứng khác nhau từ giai đoạn 1-5

Tỉ lệ chiều dài bụng/chiều rộng bụng giảm dần từ giai đoạn 1-5 (1,14 - 0,94), sự thay đổi này rõ rệt nhất ở giai đoạn 1 và 2, nhưng sau đó ổn định ở giai đoạn 4 và 5. Đặc biệt các chỉ số thành thực con cái, khối lượng buồng trứng và chỉ số thành thực tuyến sinh dục (Bảng 4.4) tăng lên rõ rệt từ giai đoạn 1-5. Chỉ số thành thực con cái (FMI) tăng từ giai đoạn 1-5 (0,658 - 0,965). Khối lượng buồng trứng tăng nhanh nhất vào cuối giai đoạn 5 (35,27 g). Chỉ số thành thực tuyến sinh dục (GSI) tăng từ 0,04 % ở giai đoạn chưa thành thực đến 9,8 % ở giai đoạn hoàn toàn thành thực.

**Bảng 4.3.** Tỉ lệ số đo các kích cỡ mai, bụng ở các giai đoạn thành thực

Giai đoạn	Chiều cao/ rộng mai	Chiều dài/ rộng mai	Chiều dài bụng/ rộng bụng
1	0,415 ± 0,020	0,700 ± 0,060	1,14 ± 0,08
2	0,416 ± 0,020	0,700 ± 0,018	1,05 ± 0,12
3	0,417 ± 0,023	0,704 ± 0,022	0,97 ± 0,06
4	0,422 ± 0,019	0,701 ± 0,013	0,94 ± 0,05
5	0,424 ± 0,015	0,707 ± 0,022	0,94 ± 0,05

**Bảng 4.4.** Các chỉ số thành thực của con cái và buồng trứng ở các giai đoạn thành thực

Giai đoạn	Chỉ số thành thực con cái (FMI)	KL buồng trứng (g)	Chỉ số thành thực tuyến sinh dục (GSI) (%)
1	0,658 ± 0,064	0,07 ± 0,05	0,04 ± 0,03
2	0,916 ± 0,040	1,09 ± 0,42	0,24 ± 0,15
3	0,933 ± 0,015	2,30 ± 0,47	0,79 ± 0,26
4	0,944 ± 0,058	5,47 ± 2,46	1,79 ± 0,66
5	0,965 ± 0,021	35,27 ± 15,77	9,80 ± 3,84

#### 4.1.3. Hàm lượng dinh dưỡng của buồng trứng của ở các giai đoạn thành thực khác nhau

**Bảng 4.5.** Tổng chất béo (% TL khô) và thành phần chất béo của buồng trứng của ở những giai đoạn thành thực khác nhau

Giai đoạn	1	2	3	4	5	6
Tổng chất béo (% KL khô)	9,3±0,2 <sup>a</sup>	13,1±1,3 <sup>b</sup>	17,8±5,7 <sup>abc</sup>	29,0±2,4 <sup>c</sup>	27,9±1,8 <sup>c</sup>	17,9±2,5 <sup>b</sup>
Không phân cực	6,2±0,6 <sup>a</sup>	9,1±1,2 <sup>ab</sup>	12,9±4,5 <sup>bc</sup>	19,6±2,3 <sup>d</sup>	16,4±1,2 <sup>cd</sup>	13,3±1,8 <sup>bc</sup>
- TAG	0,6±0,2 <sup>a</sup>	7,5±0,9 <sup>ab</sup>	9,9±3,7 <sup>b</sup>	14,4±3,2 <sup>b</sup>	15,0±5,9 <sup>b</sup>	8,3±3,7 <sup>ab</sup>
- CHO+DAG	3,5±0,2 <sup>b</sup>	2,3±0,4 <sup>a</sup>	2,0±0,5 <sup>a</sup>	2,6±0,5 <sup>ab</sup>	1,7±0,2 <sup>a</sup>	2,1±0,7 <sup>a</sup>
Phân cực	3,1±0,4 <sup>a</sup>	4,1±1,0 <sup>a</sup>	4,9±1,2 <sup>a</sup>	9,4±1,0 <sup>b</sup>	11,5±0,8 <sup>b</sup>	4,6±1,6 <sup>a</sup>
- PE+PA	0,8±0,3 <sup>b</sup>	0,4±0,1 <sup>a</sup>	0,6±0,1 <sup>ab</sup>	0,6±0,1 <sup>ab</sup>	0,5±0,1 <sup>ab</sup>	0,5±0,2 <sup>ab</sup>

- PC	1,2±0,3 <sup>a</sup>	2,6±0,7 <sup>a</sup>	3,5±1,2 <sup>a</sup>	7,4±1,0 <sup>b</sup>	10,1±1,0 <sup>c</sup>	3,3±1,3 <sup>a</sup>
------	----------------------	----------------------	----------------------	----------------------	-----------------------	----------------------

Ghi chú: Các trị số trên cùng một hàng với ký tự giống nhau để chỉ không có sự sai biệt có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ );  $n=4$

- TAG - triglycerides; CHO - cholesterol; DAG - diacylglycerols; PE - phosphatidyl ethanolamine; PA - phosphatidyl anisole; PC - phosphatidyl chlorine

Tổng chất béo trong buồng trứng tăng lên theo giai đoạn thành thực và đạt mức cao nhất (29% khối lượng khô) ở giai đoạn 4 và 5 (Bảng 4.5). Sau khi đẻ, tổng chất béo trong buồng trứng giảm còn 17,91% KL khô. Thành phần chất béo cũng tăng tương tự. Quan sát trên chất béo không phân cực nhận thấy hàm lượng chất béo tăng từ từ, bắt đầu giai đoạn 1 (6,2%) và tăng có ý nghĩa ở giai đoạn 4 (19,6%). Trong thành phần của chất béo không phân cực, triglycerides tăng nhiều nhất và quyết định chi phối sự tăng theo quá trình thành thực của loại chất béo này, trong khi hàm lượng của CHO+DAG ổn định hơn. Trong thành phần của chất béo phân cực cho thấy hàm lượng chất béo cũng tăng lên có ý nghĩa ở giai đoạn 4 (9,4%) và đạt cao nhất ở giai đoạn 5 (11,5%), sau đó giảm có ý nghĩa ở giai đoạn 6 và tương đương với giai đoạn 1, 2, và 3. (Bảng 4.5). Hàm lượng PE+PA giảm có ý nghĩa ở giai đoạn 2 so với các giai đoạn còn lại. Trong khi đó PC tăng có ý nghĩa từ giai đoạn 4 (7,4%) và tăng cao nhất ở giai đoạn 5 (10,1%) và khác có ý nghĩa so với giai đoạn 4. Đây cũng là thành phần quyết định chi phối sự tăng theo quá trình thành thực của loại chất béo này.

Hầu hết hàm lượng acid béo (FA) trong trứng tăng từ giai đoạn 1 đến giai đoạn 4, giảm ở giai đoạn 5 và tăng nhẹ trở lại (saturated, monoenoic, (n-3) FA, (n-6) FA, (n-3) HUFA, DHA) (Bảng 4.6). Hàm lượng ARA ổn định từ giai đoạn 1 đến giai đoạn 4, sau đó giảm có ý nghĩa ở giai đoạn 5 và tăng lên ở giai đoạn 6 cùng mức với giai đoạn 1 tới giai đoạn 4. Tỷ lệ DHA/EPA tăng từ giai đoạn 1 tới giai đoạn 4, giảm ở giai đoạn 5 và tăng ở giai đoạn 6 cao tương đương với giai đoạn 4.

**Bảng 4.6. Hàm lượng acid béo (mg/g KL khô) trong trứng của ở các giai đoạn thành thực khác nhau**

Giai đoạn	1	2	3	4	5	6
Saturated FA	16,6±2,1 <sup>a</sup>	30,2±5,7 <sup>ab</sup>	37,9±6,4 <sup>b</sup>	54,9±11,6 <sup>c</sup>	31,4±2,6 <sup>b</sup>	38,7±3,9 <sup>b</sup>
Monoenoic FA	15,2±1,8 <sup>a</sup>	29,5±6,8 <sup>ab</sup>	35,1±7,0 <sup>bc</sup>	45,9±6,3 <sup>c</sup>	30,6±1,9 <sup>b</sup>	42,9±8,7 <sup>bc</sup>
(n-3) FA	11,9±1,7 <sup>a</sup>	21,5±4,1 <sup>ab</sup>	29,8±11,9 <sup>bc</sup>	40,2±4,6 <sup>c</sup>	20,8±2,5 <sup>ab</sup>	23,0±7,1 <sup>ab</sup>
(n-6) FA	10,6±1,1 <sup>ab</sup>	17,3±3,1 <sup>c</sup>	16,6±1,7 <sup>c</sup>	16,3±3,1 <sup>c</sup>	7,7±0,8 <sup>a</sup>	14,8±0,3 <sup>bc</sup>
(n-3) HUFA	10,8±1,5 <sup>a</sup>	21,0±5,7 <sup>b</sup>	22,9±4,7 <sup>b</sup>	38,2±3,8 <sup>c</sup>	19,3±2,8 <sup>ab</sup>	24,5±2,7 <sup>b</sup>
ARA	7,1±0,8 <sup>a</sup>	9,6±1,4 <sup>a</sup>	9,6±1,7 <sup>a</sup>	7,8±1,1 <sup>a</sup>	3,9±0,3 <sup>b</sup>	8,2±1,4 <sup>a</sup>
EPA	5,8±0,9 <sup>a</sup>	9,3±1,2 <sup>ab</sup>	11,1±3,8 <sup>b</sup>	12,6±2,1 <sup>b</sup>	8,2±2,1 <sup>ab</sup>	8,5±0,1 <sup>ab</sup>
DHA	3,5±0,6 <sup>a</sup>	6,8±2,1 <sup>ab</sup>	14,2±4,7 <sup>ab</sup>	17,8±1,5 <sup>b</sup>	8,2±1,1 <sup>cb</sup>	12,1±2,5 <sup>b</sup>

DHA/EPA	0,60	0,73	1,28	1,41	1,00	1,42
---------	------	------	------	------	------	------

Ghi chú:

- Các trị số trên cùng một hàng với ký tự giống nhau để chỉ không có sự sai biệt có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ );  $n=4$
- FA – fatty acids, (n-3) HUFA – (n-3) highly unsaturated fatty acids  $\geq 20:3n-3$ , ARA - arachidonic acid (20:4n-6), EPA - eicosapentaenoic acid (20:5n-3); DHA - docosahexaenoic acid (22:6n-3).

Hàm lượng vitamin C giảm dần trong suốt quá trình thành thực, giai đoạn 4 giảm có ý nghĩa so với các giai đoạn đầu, và giai đoạn 5 và 6 giảm có ý nghĩa so với giai đoạn 4 (Bảng 6).

**Bảng 4.7.** Hàm lượng Vitamin C ở các giai đoạn khác nhau trong suốt quá trình thành thực *Scylla paramamosain*

Giai đoạn	Vitamin C (mg/g KL khô)
1	799,7 ± 19,2 <sup>a</sup>
2	837,4 ± 117,5 <sup>a</sup>
3	793,8 ± 69,3 <sup>a</sup>
4	426,4 ± 8,7 <sup>b</sup>
5	208,5 ± 39,4 <sup>c</sup>
6	307,4 ± 105,2 <sup>c</sup>

Các trị số trên cùng một cột với ký tự giống nhau để chỉ không có sự sai biệt có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ );  $n=4$

### Thảo luận

Sự mô tả về hình thái và mô học của buồng trứng của *S. paramamosain* tương tự như của biển *S. serrata* mà các tác giả khác đã quan sát như Quintio, de Pedro & Parado-Esteba, 2006. Ở các giai đoạn cuối, kích thước của buồng trứng tăng lên rõ rệt, màu sắc chuyển dần sang vàng cam và cam đậm và noãn sào tăng về kích thước do sự tích lũy chất dinh dưỡng. GSI tăng từ giai đoạn 1 đến giai đoạn 5.

Chất béo ở *S. paramamosain* đạt cao nhất ở giai đoạn 4 và 5 hoặc giai đoạn cuối của quá trình thành thực tương tự như báo cáo của Teshima & Kanazawa, 1983 trên đối tượng tôm và cua (Mourente và ctv., 1994). Thành phần phần trăm của chất béo không phân cực duy trì ổn định trong suốt quá trình thành thực. Trong thành phần của chất béo không phân cực, hàm lượng TAG tăng mạnh từ giai đoạn 1 đến giai đoạn 2 chiếm hơn 55% của tổng chất béo, hàm lượng cholesterol và DAG giảm từ 38% xuống thấp hơn 6% ở giai đoạn 5. Trong tất cả các giai đoạn phát triển của buồng trứng, hàm lượng chất béo không phân cực cao hơn chất béo phân cực. Trong thành phần của chất béo



phân cực, PC tích lũy vào cuối quá trình thành thực (36% tổng chất béo), trong khi phần trăm của PE+PA giảm mạnh từ giai đoạn 1 đến giai đoạn 2. Trong suốt quá trình thành thực, buồng trứng trở thành nơi trao đổi chất béo, bao gồm cả sự hình thành chất béo chủ yếu là tổng hợp TAG. Hàm lượng cao và tăng có ý nghĩa của TAG được tìm thấy trong buồng trứng của cua *Uca tangeri* dường như biểu hiện một hoạt động tổng hợp của chất béo không phân cực suốt quá trình thành thực (Mourente và ctv., 1994). Chất béo được tích tụ do sự phát triển của trứng để cung cấp năng lượng thiết yếu cho quá trình tổng hợp để hình thành noãn hoàng (Harrison, 1990).

Nói chung tất cả thành phần acid béo đều tăng dần lên trong quá trình thành thực và tập trung cao nhất ở giai đoạn 4, điều này cho thấy nhu cầu dinh dưỡng của tăng theo giai đoạn thành thực. Khuynh hướng này xảy ra tương tự như ở các loài động vật thủy sản khác như tôm (Wouters, 2001). Acid béo no cũng như các loại acid béo khác đã được tổng hợp trong suốt quá trình thành thực (Clarke, 1982; Chang và O'Connor, 1983). Hoạt động này giải thích sự tăng acid béo no và acid béo mạch đơn. Phần trăm acid béo (n-3) cao trong tất cả các giai đoạn. HUFA không được tổng hợp hoặc tổng hợp với lượng rất nhỏ bằng sự chuyển hoá từ 18:2n-6 và 18: 3n -3 thành C<sub>20</sub> và C<sub>22</sub> HUFA (Mourente, 1996). Chế độ dinh dưỡng tốt trong quá trình thành thực bao gồm đầy đủ các loại thức ăn như động vật hai mảnh vỏ, mực, trùn chỉ, là những thức ăn giàu n-3 HUFA (Middleditch và ctv., 1980; Lytle và ctv., 1990). Sự quan trọng của n-3 HUFA đối với phát triển tuyến sinh dục và sinh sản của loài giáp xác đã được xác định trong nhiều năm qua (Harrison, 1990).

Sự quan trọng của vitamin C (L-ascorbic acid) trong quá trình thành thực và sinh sản của tôm nước mặn và nước ngọt rất được chú ý. Vitamin C tan trong nước. Nó được cho là chất điều chỉnh sự tổng hợp hormon sinh sản trong màng tế bào follicle của buồng trứng (Levine và Morita, 1985). Cavalli (2000) đã chứng minh sự tiêu thụ vitamin C xảy ra do sự phát triển phôi của tôm càng xanh *Macrobrachium rosenbergii*. Tôm *P. californiensis* cho ăn chế độ thấp hoặc không có vitamin C dẫn đến tôm bị tổn thương sau 6 đến 8 tuần, là nguyên nhân dẫn đến bệnh và chết (Lightner và ctv., 1977). Trong nghiên cứu của chúng tôi, hàm lượng vitamin C giảm dần từ giai đoạn 2 và giảm có ý nghĩa bắt đầu từ giai đoạn 4 và thấp nhất ở giai đoạn 5. Điều này cho thấy trong suốt quá trình thành thực, vitamin C đã được tế bào trứng hấp thu cho quá trình phát triển của phôi, điều này phù hợp với các nghiên cứu của những tác giả trên.

## 4.2. Ảnh hưởng của các loại thức ăn tươi sống và chế biến lên chất lượng của mẹ

**Bảng 4.8.** Các thông số về môi trường nước trong thí nghiệm nuôi vỗ cua mẹ đợt 1.

Buổi	Nhiệt độ (°C)	Độ mặn (‰)	pH	TAN (mg/L)	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> (mg/L)	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mg/L)
Sáng	27 ± 2	29 ± 2	7,6 ± 0,2	0,1-0,5	0,2-7	5-10
Chiều	28 ± 2	29 ± 2	7,6 ± 0,2	0,1-0,5	0,2-7	5-10

**Bảng 4.9.** Các thông số về môi trường nước trong thí nghiệm nuôi vỗ cua mẹ đợt 2.

Buổi	Nhiệt độ (°C)	Độ mặn (‰)	pH	TAN (mg/L)	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> (mg/L)	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mg/L)
Sáng	26 ± 2	29 ± 2	7,6 ± 0,2	0,1-0,5	0,2-7	5-10
Chiều	27 ± 2	29 ± 2	7,6 ± 0,2	0,1-0,5	0,2-7	5-10

Hai thí nghiệm này thực hiện trong cùng một trại thực nghiệm, chỉ khác nhau về thời gian. Mọi thông số môi trường giống nhau. Kết quả theo dõi nhiệt độ không thay đổi, biên độ dao động 2°C, vào mùa đông nhiệt độ được ổn định bằng cách sử dụng tăng nhiệt. Do bố trí tất cả các nghiệm thức trong cùng một hệ thống lọc tuần hoàn, nên các thông số khác về môi trường không có biến động giữa các nghiệm thức. Nồng độ muối, pH, TAN, NO<sub>2</sub>, NO<sub>3</sub> nằm trong khoảng thích hợp.

**Bảng 4.10.** Các thông số về môi trường nước trong thí nghiệm nuôi vỗ cua mẹ 3 (thực hiện ở Vĩnh Châu).

Buổi	Nhiệt độ (°C)	Độ mặn (‰)	pH	TAN (mg/L)	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> (mg/L)
Sáng	25,6 ± 0,5	6-18	7,6 ± 0,4	0,4-0,9	0,3-7
Chiều	27,5 ± 0,5	6-18	7,7 ± 0,4	0,4-0,9	0,2-7

Do trong điều kiện ở trại Vĩnh Châu không sử dụng dụng cụ tăng nhiệt được, nên nhiệt độ khá biến động (25,6-27,5°C). Nồng độ muối dao động khá lớn (6-18‰), các thông số môi trường khác đều nằm trong khoảng thích hợp. Biên độ dao động độ mặn ở Vĩnh châu cao (6-18) là do phụ thuộc vào thời tiết vào đầu thí nghiệm lúc mùa mưa chưa kết thúc, nên độ mặn chỉ khoảng 8‰; sau đó độ mặn tăng dần khi hết mưa.

Trước khi cho ăn, các thức ăn tươi sống cũng như thức ăn chế biến đều được xác định thành phần dinh dưỡng. Hàm lượng đạm trong mực và tôm khá cao 65,5 và 75,8%, trong khi trong nghêu và thức ăn chế biến thấp hơn 48,5 và 39,6%. Hàm lượng EPA và DHA trong mực khá cao (21,5 và 42,3 mg), trong khi ở tôm và



ngheu thấp hơn rất nhiều. Thức ăn chế biến có hàm lượng chất béo chiếm 13,7% và đạm thô 39,6%.

**Bảng 4.11.** Khối lượng ban đầu, kích thước và chỉ số thành thực của mẹ

TN	NT	Khối lượng (g)	Rộng mai (mm)	Chỉ số TT con cái	Chết %	Đẻ %	Thời gian đẻ (ngày)
1	A	387,0 ± 87,6	126,5 ± 8,3	-	20	60	48,5 ± 7,5
	B	404,5 ± 74,1	127,0 ± 7,3	-	40	53	48,5 ± 12,0
	C	375,9 ± 70,1	126,6 ± 7,6	-	53,9	27	50,3 ± 5,5
2	A	265,5 ± 53,2	109,9 ± 7,5	0,92 ± 0,06	40	40	55,2 ± 9,5
	B	267,1 ± 68,0	111,5 ± 8,1	0,93 ± 0,04	25	41	66,4 ± 11,6
	C	207,1 ± 51,4	103,3 ± 8,4	0,92 ± 0,03	33,3	13	61,5 ± 0,7
3	A	376,1 ± 46,6	120,5 ± 8,9	0,95 ± 0,03	44,4	55,6	72,1 ± 12,3
	B	302,3 ± 95,4	117,7 ± 8,3	0,94 ± 0,03	47,6	4,8	95
	C	303,1 ± 59,7	116,1 ± 7,3	0,95 ± 0,03	79	3,45	90

Bảng 4.11 cho thấy khối lượng của trung bình ở thí nghiệm 1 dao động từ 375 - 404 g, thí nghiệm 2 từ 207 - 267 g và thí nghiệm 3 từ 302 - 303,1 g. Tương tự, chiều dài mai trong thí nghiệm 1, 2 và 3 dao động từ 126-127, 103-111 và 116-120 mm. Hệ số thành thực trong cả 3 thí nghiệm tương đương nhau 0,92 - 0,95, cho thấy cỡ của bố trí thí nghiệm có độ thành thực tương đối đồng đều. Tỷ lệ hao hụt thường thấp nhất ở nghiệm thức thức ăn tươi sống và cao nhất ở nghiệm thức thức ăn chế biến. Tỷ lệ đẻ cao nhất ở nghiệm thức thức ăn tươi sống và thấp nhất ở nghiệm thức thức ăn chế biến. Thời gian lưu trong bể ở nghiệm thức thức ăn tươi sống thấp hơn 2 nghiệm thức còn lại.

**Bảng 4. 12.** Khẩu phần ăn và chất lượng của sau thí nghiệm

TN	NT	Khẩu phần ăn (% KL cơ thể)	KL trứng đẻ (g)	Sức sinh sản tương đối (số trứng/kg)
1	A	9,0 ± 0,6	53,1 ± 32,2	6,0x10 <sup>6</sup> ± 2,7x10 <sup>6</sup>
	B	4,6 ± 0,2	72,0 ± 23,8	7,5x10 <sup>6</sup> ± 2,7x10 <sup>6</sup>
	C	0	54,2 ± 24,1	3,6x10 <sup>6</sup> ± 7,0x10 <sup>5</sup>
2	A	5,3 ± 1,8	33,5 ± 16,9	4,1x10 <sup>6</sup> ± 3,8x10 <sup>6</sup>
	B	3,4 ± 0,5	24,7 ± 8,9	3,5x10 <sup>6</sup> ± 1,0x10 <sup>6</sup>
	C	1,0 ± 1,3	9,9 ± 1,2	6,8x10 <sup>5</sup> ± 3,8x10 <sup>4</sup>
3	A	-	56,9 ± 26,4	8,1x10 <sup>6</sup> ± 2,5x10 <sup>6</sup>
	B	-	49,7	3,6x10 <sup>6</sup>
	C	-	46,9	5,7x10 <sup>3</sup>

Bảng 4.12. cho thấy lượng thức ăn tiêu thụ trong nghiệm thức thức ăn tươi sống luôn cao hơn 2 nghiệm thức còn lại. Cua gần như không ăn thức ăn chế biến trong thí nghiệm 1, trong nghiệm thức thức ăn kết hợp bao giờ của cũng ăn hết

thức ăn tự nhiên rồi mới ăn thức ăn chế biến. Do đó, chúng tôi thường cho thức ăn chế biến vào bể trước khoảng 1 giờ trước khi cho thức ăn tự nhiên. Khối lượng buồng trứng ở nghiệm thức thức ăn chế biến trong thí nghiệm 2 và 3 thấp hơn rất nhiều so với thí nghiệm 1. Sức sinh sản tuyệt đối ở nghiệm thức thức ăn chế biến cũng thấp hơn nhiều trong thí nghiệm 2. Sức sinh sản tương đối trong thí nghiệm 1 ở nghiệm thức thức ăn tươi sống và kết hợp cao gấp đôi nghiệm thức thức ăn chế biến. Ở thí nghiệm 2 và 3, sức sinh sản tương đối ở nghiệm thức thức ăn tươi sống luôn cao hơn nghiệm thức thức ăn kết hợp và thấp nhất ở nghiệm thức thức ăn chế biến. Trong bảng 4.13, tỉ lệ thụ tinh khác biệt rõ rệt nhất giữa 3 nghiệm thức và tương đương nhau qua 3 lần lặp lại. Nghiệm thức cho ăn thức ăn tươi sống luôn cao hơn 80% so với nghiệm thức cho ăn kết hợp (57-59%) và thấp nhất ở nghiệm thức thức ăn chế biến (29-32%). Số lượng ấu trùng cao nhất ở nghiệm thức thức ăn tươi sống và thấp hơn ở nghiệm thức thức ăn kết hợp.

**Bảng 4.13.** Chất lượng trứng và ấu trùng của biển.

TN	NT	Tổng số trứng/cá thể	Tỉ lệ thụ tinh (%)	Tổng số ấu trùng	HUFA (mg/g KL khô)
1	A	$2,1 \times 10^6 \pm 7,3 \times 10^5$	$81,9 \pm 12,1$	$9,7 \times 10^5$	28,4
	B	$2,8 \times 10^6 \pm 1,0 \times 10^6$	$57,3 \pm 16,6$	$4,6 \times 10^5$	26,0
	C	$1,7 \times 10^6 \pm 4,6 \times 10^5$	$32,1 \pm 8,8$	-	-
2	A	$1,2 \times 10^6 \pm 6 \times 10^5$	$84,6 \pm 6,4$	$1,2 \times 10^6 \pm 1,5 \times 10^5$	28,2
	B	$1,3 \times 10^6 \pm 8,4 \times 10^5$	$59,2 \pm 37,9$	-	-
	C	$1,4 \times 10^5 \pm 8 \times 10^3$	$29,0 \pm 12,8$	-	-
3	A	$3,1 \times 10^6 \pm 1 \times 10^6$	$81,4 \pm 14,2$	-	-
	B	$1,3 \times 10^6$	-	-	-
	C	-	-	-	-

### Thảo luận

Theo De Culuwé và ctv. (1995), số lượng và chất lượng thức ăn quyết định quan trọng đến chất lượng trứng và ấu trùng. Vì vậy có rất nhiều nghiên cứu về liên quan giữa chế độ dinh dưỡng của bố mẹ và thành phần dinh dưỡng trứng và ấu trùng (Furutia và ctv., 2000, Millamena và Quintio, 2000). Trong 3 thí nghiệm của chúng tôi, tỉ lệ hao hụt luôn cao nhất ở nghiệm thức cho ăn thức ăn chế biến, thực tế cho thấy cua gần như không ăn thức ăn chế biến nhưng khi đói chúng lại ăn thịt đồng loại. Hầu như tất cả cua chết đều trong tình trạng giống nhau là bị ăn thịt hết nửa thân mình, những cua yếu sẽ bị ăn thịt trước. Một vấn đề được đặt ra là làm sao để cua thích ăn thức ăn chế biến. Chúng tôi thường tập cho cua ăn thức ăn chế biến khi mới bố trí thí nghiệm, tuy nhiên chúng chỉ ăn trong thời gian đầu sau đó ăn ít dần, có thể do bị nhốt trong bể, không gian hẹp, cua ít di chuyển nên không tiêu tốn năng lượng nhiều, nên dần trở nên ít hoạt động và ăn ít hơn.

Ngay cả trong điều kiện nuôi bể rộng hơn 12 m<sup>3</sup> ở Vĩnh Châu cũng có kết quả tương tự. Chúng tôi ghi nhận một ít khác biệt, do ở Vĩnh Châu không có máy xay sinh tố đa năng nên chúng tôi dùng máy xay sinh tố thường để chế biến thức ăn, nhiệt độ thường tăng cao khoảng 60°C, mùi thức ăn tươi sống mất đi, nên cua không thích ăn. Dựa theo kết quả phân tích hàm lượng dinh dưỡng của thức ăn cung cấp cho cua, nhận thấy mực chứa DHA và EPA cao nhất, trong khi đó Levine và Sulkin (1984) cho rằng hàm lượng EPA đầy đủ sẽ cần thiết cho sự phát triển của ấu trùng.

Theo kết quả thí nghiệm của Churchill (2003), màu sắc trứng không ảnh hưởng đến tỉ lệ nở của trứng, thời gian sinh sản và kích thước của cua. Trong thí nghiệm của chúng tôi, màu sắc trứng đã được ghi nhận, cua ăn thức ăn tươi sống để trứng màu vàng đậm hoặc cam, trong khi ở nghiệm thức thức ăn chế biến màu sắc trứng nhạt hơn, thường có màu vàng nhạt. Thời gian trứng nở khoảng sau 48 giờ ấp. Chúng tôi thấy rằng thời gian nở của trứng cũng không liên quan đến màu sắc trứng, kích thước con cái, sức sinh sản hoặc thời gian cua mẹ được giữ trong bể trước khi đẻ. Kết quả này tương tự như kết quả nghiên cứu của tác giả trên. Phần lớn cua đẻ nhiều hơn ở nghiệm thức thức ăn tự nhiên và thời gian nuôi trong bể trước khi đẻ cũng ngắn hơn. Điều này nói lên rằng cua ăn đầy đủ dinh dưỡng sẽ có ảnh hưởng tốt đến chất lượng của mẹ. Mặt khác tỉ lệ thụ tinh luôn cao hơn ở nghiệm thức thức ăn tự nhiên chỉ ra rằng cua ăn đầy đủ chất lượng trứng sẽ tốt hơn.

Áp dụng điều này trong thực tế sản xuất tại Bộ môn Thủy sinh học ứng dụng, Khoa Thủy sản, thường chọn mua cua ở giai đoạn thành thực 4-5, nuôi vỗ tại trại cua với các thức ăn giàu chất dinh dưỡng như mực, tôm, nghêu... để cung cấp đầy đủ dưỡng chất. Kết quả cho thấy tỉ lệ sống rất cao, có thể đạt từ 10-15%. Kết quả phân tích nhu cầu dinh dưỡng cua cho thấy ở giai đoạn 4-5, nhu cầu này tăng cao nhất, vì vậy nếu cua mẹ được cung cấp đầy đủ dinh dưỡng ở giai đoạn này thì chất lượng ấu trùng sẽ được cải thiện. Cua được nuôi vỗ trong điều kiện nhân tạo trên 3 tháng cho kết quả không tốt bằng chọn mua ngoài tự nhiên (giai đoạn 4-5) về cho đẻ, có thể khả năng chọn lọc ngoài tự nhiên nhiều hơn và không tránh khỏi vấn đề bệnh luôn xảy ra trong điều kiện nuôi nhân tạo.

## PHẦN 5: KẾT LUẬN VÀ ĐỀ XUẤT

### **Kết luận:**

- Bằng phương pháp phân tích mô của buồng trứng kết hợp với các số đo và hình dạng bên ngoài cho thấy có mối liên quan giữa các giai đoạn thành thục và hình dạng bề ngoài để có thể giúp chọn được cua cho đẻ trong điều kiện nhân tạo.
- Hàm lượng và thành phần chất béo; hàm lượng acid béo của cua mẹ tăng lên có ý nghĩa trong suốt quá trình thành thục và tích lũy cao nhất ở giai đoạn 4-5, sau khi đẻ các chỉ số này giảm xuống đáng kể.
- Hàm lượng vitamin C giảm đáng kể trong suốt quá trình thành thục.
- Thức ăn thích hợp cho cua mẹ là các loại thức ăn tươi sống không qua chế biến như mực, tôm, nghêu, ... và cua ăn nhiều chỉ trong 2 tuần lễ đầu, sau đó sẽ giảm dần theo thời gian.

### **Đề xuất:**

- Nguồn cua mẹ tốt nhất nên chọn lọc ngoài tự nhiên ở giai đoạn thành thục 4-5, nuôi vỗ bằng các loại thức ăn tươi sống giàu dinh dưỡng và đa dạng sẽ cho kết quả chất lượng ấu trùng tốt nhất.
- Chế độ ăn thích hợp cho cua mẹ là các loại thức ăn tươi sống, phổ thức ăn càng rộng càng tốt. Nên chọn cua thành thục ở giai đoạn 4-5 để nuôi vỗ trong điều kiện nhân tạo sẽ cho kết quả tốt nhất.
- Tiếp tục nghiên cứu loại thức ăn thích hợp của cua trong điều kiện nuôi nhân tạo.
- Tìm hiểu và cách phòng trị bệnh rụng noãn, còng cua thường xảy ra trong các bể nuôi mặc dù có vệ sinh bể thường xuyên.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Baylon, J.C. and Failaman, A.N. (1999). Broodstock management and larval rearing protocols for the mudcrab, *Scylla serrata* (Keenan et al., 1998) developed at Visayas University Philippines hatchery. In: 2001 Workshop on mud crab rearing, ecology and fisheries, Cantho University, Vietnam 8-10<sup>th</sup> January 2001.
- Bell T. A. & Lightner D.V. (1988) A Handbook of Normal Penaeid Shrimp Histology. World Aquaculture. Soc., Baton Rouge, LA; Allen Press, Inc. Lawrence, KS, USA. 114 pp.
- Brick R.W., 1974. Effect of water quality, antibiotics, phytoplankton and food on survival and development of larvae of *Scylla serrata* (Crustacea: Portunidae). Aquaculture 3, 231-244.
- Cavalli R.O. (2000) Broodstock nutrition and offspring quality of the freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* (de Man) PhD dissertation. Faculty of the Applied Biological Sciences, Gent University, Gent, Belgium. P 243
- Chang, E., O'Connor, J., 1983. Metabolism and transport of carbohydrates and lipids. In: Mantel, H. The Biology of Crustacea, vol.5, Academic Press, New York, pp. 263-287.
- Chen, L. C., 1990. Aquaculture in Taiwan: Fishing News Books.
- Cheng H. C., Jeng K. H., 1980. Study on the larval rearing of mud crab *Scylla serrata*. China Fisheries Monthly 329, 3-8.
- Churchill G. J., 2003. An investigation into the captive spawning, egg characteristics and egg quality of the mud crab (*Scylla serrata*) in South Africa. Luận văn tốt nghiệp cao học, Đại học Rhodes
- Clark, A., 1982. Lipid synthesis and reproduction in the polar shrimp *Chorismus antaticus*. Mar. Ecology. Progress. Sec. 9, 81-90
- Coutteau P., Geuden L., Camara M.R., Bergot, P. & Sorgeloos P. (1997) Review on the dietary effects of phospholipids in fish and crustacean larviculture. Aquaculture 155, 149-164.
- Cowan, L. 1984. Crab farming in Japan, Taiwan, and the Philippines, Queensland department of industries.
- D'Abramo, L. R., 1997. Triacylglycerols and fatty acids. In: Dabramo, L.R., Conklin, D.E., Akiyama, D.M., crustacean Nutrition. World Aquaculture Society, Baton Rouge, LA, pp. 71-84.
- De Caluwe', J., Lavens, P. and Sorgeloos, P., 1995. The influence of *Macrobrachium rosenbergii* broodstock diet on egg and larval characteristics. Larvi'95 – Shellfish

- Larviculture Symposium. European aquaculture society, special Publication No. 24, Gent, Belgium. 1995.
- Djunaidah, I. S., Wille, M., Kontara, E. K., Sorgeloos, P., 2003. Reproductive performance and offspring quality in mud crab (*Scylla paramamosain*) broodstock feed different diets. *Aquaculture International* 11 (1-2), 3-15.
- Furutia, H., Tanaka, H., Yamamoto, T., Shiraishi, M. and Takeuchi, T., 2000. Effects of n-3 HU FA levels in broodstock diet on the reproductive performance and egg and larval quality the Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Aquaculture*, 187, pp. 387-398.
- Jones, D. A., Jule, A. B. and Holland, L., 1997. Larval nutrition. IN: crustacean Nutrition. *Advances in World Aquaculture*. Volume 6. Eds. D' Abramo, L.R., Conklin, D. E. and Akiyama, D. M. và ctv
- Hai, T.N., 1997. Studies some aspects of production of mud crab, *Scylla serrata* (Forsk.).
- Hai, T.N.; Hassan, A.; Law, A.T.; Shazili, N.A. (2000). Some aspects on maturation and spawning performance of mud crab (*Scylla* sp.) in captive conditions. In: 2001 Workshop on mud crab rearing, ecology and fisheries, Cantho University, Vietnam 8-10<sup>th</sup> January 2001.
- Harrison, K. E., 1990. The role of nutrition in maturation, reproduction and embryonic development of decapod crustaceans: a review, *J. Shellfish Res.* 9, 1-28.
- Heasman, M. P and D. R. Fielder. 1983. Laboratory spawning and mass larval rearing of the mangrove crab *Scylla serrata*, from first zoea to first crab stage. *Aquaculture*, 34: 303-326.
- Heasman, M.P. and Fielder, D.R. (1983). Laboratory spawning and mass rearing of the mangrove crab, *Scylla serrata* (Forsk.), from first Zoea to first crab stage. p. 303-316 In: *Aquaculture*, 34, Elsevier Science Publisher B.V., Amsterdam.
- Hill, B.J. 1976. Natural food, Foregut clearance rate and activity of the crab *Scylla serrata*. *Marine Biology*, 34: 109-116.
- Hill, B., J., 1997. Abundance, breeding and growth of the crab *Scylla serrata* in two system. *Transactions of the Royal society of South Africa*, 44, Part 1. June 1979.
- Hoàng Đức Đạt. 2004. Kỹ thuật nuôi cua biển. Nhà xuất bản Nông nghiệp. 87 trang.
- Hoàng Đức Đạt (1992). Sinh học và nuôi cua biển. Tập huấn nuôi trồng thủy sản ở Đồng Bằng Sông Cửu Long, Việt Nam, 20 trang.
- Hoàng Đức Đạt. Kỹ thuật nuôi cua biển. Nhà xuất bản Nông Nghiệp, TP. Hồ Chí Minh 1995.

- Keenan and A. Blackshaw (Editors), 1999. Mud crab aquaculture and biology. Proceedings of an International Scientific Forum held in Darwin, Australia, 21-24 April 1997. ACIAR Proceedings No.78, 216 p.
- Keenan and A. Blackshaw (Editors), 1999. Mud crab aquaculture and biology. Proceedings of an International Scientific Forum held in Darwin, Australia, 21-24 April 1997. ACIAR Proceedings No.78, 216 p.
- Keenan, C.P. (1999). The fourth species of *Scylla*. p. 48-58 In: C.P.
- Jayamanne, S. C. and Jinadasa, J., 1991. Food and feeding habits of the mud crab, *Scylla serrata* Forskal inhabiting the west coasts of Sri Lanka. Vidyodaya journal of science. 3, 61-70.
- Le Vay, L. 2001. Ecology and management of mud crab *Scylla* Spp. Asian Fisheries Science, pp: 101-111.
- Le Vay, L. Ecology and stock assessment of *Scylla* sp.
- Lee, C. (1992). A brief overview of the ecology and fisheries of the mud crab, *Scylla serrata*, in Queensland. p. 65-70 In: Report of the seminar on the mud crab culture and trade held at Surat Thani, Thailand, November 5-8, 1991 (Edited by Angell C.A., 1992; 246pages).
- Levine, D. M., Sulkin, S.D., (1984). Ingestion and assimilation of microencapsulated diets by brachyuran crab larvae. Marine Biology letters 5, 147-155.
- Levine M. & Morita K. (1985) Ascorbic acid in endocrine systems. Vitamins and Hormones 42, 1-64
- Li, S., Zeng, C., Tang, H., Wang, G., Lin, Q., 1999. Investigations into the reproductive and larval culture biology of the mud crab, *Scylla paramamosain*: A research overview. In Keenan, C.P., Blackshaw, A. (Eds). Mud crab Aquaculture and Biology. Proceedings of an International Scientific Forum. Darwin, Australia, 21-24 April 1997. ACIAR Proceeding No. 78, 121-124.
- Lightner D.V., Colbin L.B., Brandt C. & Donald D.A. (1977) Black death, a disease syndrome related to a dietary deficiency of ascorbic acid. Proceedings of the World Mariculture Society 8, 611-623.
- Manjulatha, C. and Babu, D.E. (1998). Phenomenon of moulting and growth in the mud crab *Scylla serrata* (Forsk.) and *Scylla oceanica* (Dana) cultured in the ponds and laboratory. p. 76-81 In: Technological advancements in fisheries 1998, edited by M. Shahul Hameed & B. Madhusoodana Kurup - Cochin University of Science and technology.
- Marichamy, R and S. Rajapackiam. 1991. Experiments on larval rearing and seed production of the mud crab *Scylla serrata* (Forsk.). In Angell, C.A. (ed) BOBP:

- Madras (India), pp:135-141. (Report of the seminar on the mud crab culture and trade held at Surat Thani, Thailand, November 5-8, 1991).
- Middleditch, B. S., Missler, S.R., Hines, H. B., Mc Vey, J.B., Brown, A., Ward, D., G., Lawrence, A. L., 1980. Metabolic profiles of penaeid shrimp: dietary lipid and ovarian maturation, J. chromatogr. 195, 359-368. và CTV, 1980, Lytle & CTV
- Millamena, O.M and Qunitio, E. T., 2000. The effects of diets on the reproductive performance of eyestalk ablated and intact mud crab *Scylla serrata*. Aquaculture, 181, pp. 81-90.
- Moriarty, D.J.W. 1997. The role of microorganisms in Aquaculture ponds. Aquaculture, 151: 333-349.
- Mourente, G., 1996. In vitro metabolism of C-14-polyunsaturated fatty acids in mid gut gland and ovary cells from *Penaeus kerathurus* Forskal at the beginning of sexual maturation. Comp. Biochem. Physiology. 115B, 255-266.
- Nghia T.T., Wille, M. and Sorgeloos, P. 2001. Overview of larval rearing techniques for the mud crab (*Scylla paramamosain*), with special attention to the nutritional aspects in the Mekong Delta, Vietnam. In 2001 workshop on mud crab culture, ecology and fisheries, pp. 13-14. University of Cantho.
- Nguyễn Anh Tuấn và Nguyễn Thanh Phương. 1994. Cẩm nang kỹ thuật nuôi thủy sản nước lợ. Nhà xuất bản nông nghiệp, Hà Nội.
- Nguyễn Thanh Phương và Trần Ngọc Hải. 2004. Giáo trình kỹ thuật sản xuất giống và nuôi giáp xác. Tủ sách Đại Học Cần Thơ. 102 trang
- Nguyễn Anh Tuấn, Nguyễn Thanh Phương và ctv. (1994). Cẩm nang kỹ thuật nuôi thủy sản nước lợ. Nhà xuất bản Nông Nghiệp, Hà Nội 1994, 180 trang.
- Nguyen Anh Tuan, Tran Ngoc Hai, Tran Thi Thanh Hien and Le Quang Minh. 1996. Culture of mud crabs in the Mekong Delta, Vietnam. Manuscript, College of Aquaculture, Cantho University, 8pp.
- Nguyễn Thanh Phương. 1999. Giáo trình chuyên môn “Kỹ thuật nuôi hải sản”.
- Nguyễn Thị Ngọc Diễm. 2000. Thực nghiệm ương ấu trùng cua biển (*Scylla paramamosain*) trong môi trường nước xanh. Luận văn tốt nghiệp.
- Ong, K.S. (1964). The early developmental stages of *Scylla serrata* Forskal (Crustacea: Portunidae) reared in the laboratory. p. 429-443 In: Indo-Pacific Fishery Council, 11 (2).
- Ong, K. S., 1966. Observation of the postlarval life history of *Scylla serrata* Forskal reared in the laboratory. Malasian Agriculture Journal 45 (4), 429-443.



- Oseni M. Millamena, Emilia Qunitio, 2000. The effect of diets on reproductive performance of eyestalk ablated and intact mud crab *Scylla serrata*. In: Aquaculture 181 (81-90)
- Overton J. L., Macintosh D.J. & Thorpe R.S. (1997) Multivariable analysis of the mud crab *Scylla serrata* from four locations in Southeast Asia. Marine Biology 128, 55-62.
- Prasad, P.N.; Neelakantan, B (1989). Maturity and breeding of the mud crab, *Scylla serrata* (Forsk.) (Decapoda: Brachyura: Portunidae). p. 341-349 In: Proc. Indian Acad. Sci. (ANIM. SCI.) Volume 98, Number 5, 1989.
- Sheen, S.S., 2000. Dietary cholesterol requirement of juvenile mud crab *Scylla serrata*. Aquaculture 189. 277-285.
- Sivasubramaniam, K; Angell, C. (1992). A review of the culture, marketing and resources of the mud crab (*Scylla serrata*) in the Bay of Bengal region. p. 5-12 In: Report of the seminar on the mud crab culture and trade held at Surat Thani, Thailand, November 5-8, 1991 (Edited by Angell C.A., 1992; 246 pages).
- Suprayudi, M. A., T. Takeuchi, K. Hamasaki and J. Hirokawa 2002. Effect of *Artemia* feeding schedule and density on the survival and development of larval mud crab *Scylla serrata*. Fisheries Science, vol. 68, no. 6; pp. 1295-1303.
- Teshima, S. and Kanazawa, A., 1983. Variation in lipid composition during the ovarian maturation of prawn. Nippon Suisan Gakkaishi, 49: 957-962.
- Trần Ngọc Hải và Trương Trọng Nghĩa. 2004. Ảnh hưởng của mật độ ương lên sự phát triển của ấu trùng cua biển (*Scylla paramamosain*) trong mô hình nước xanh. Tạp chí khoa học Đại Học Cần Thơ. Trang 187-192.
- Trần Ngọc Hải, Nguyễn Thanh Phương và Trương Trọng Nghĩa, 1999. Bài giảng kỹ thuật sản xuất giống thủy sản nước lợ. Khoa Thủy sản. 125 trang
- Trần Thị Hồng Hạnh, 2003. Tìm hiểu một số biện pháp kỹ thuật nâng cao hiệu quả ương giống cua *Scylla paramamosain*. Luận văn thạc sĩ.
- Trần Ngọc Hải, 1999. Giáo trình chuyên môn “Kỹ thuật sản xuất giống nước lợ”.
- Trần Tấn Lực. 2000. Sử dụng chế phẩm sinh học (probiotics) trong ương nuôi tôm sú (*Penaeus monodon*). Tiểu luận tốt nghiệp.
- Trĩno, A.T, O.M. Millamena and C. Keenan. 1998. Commercial evaluation of monosex pond culture of the mudcrab *Scylla* species at three stocking densities in the Philippines. Aquaculture 174: 109-118.
- Trĩno, A.T.; Millamena, O.M. and Keenan, C.P. (1999). Monosex culture of the mud crab (*Scylla serrata*) at three stocking densities with *Gracilaria* as crab shelter. p. 61-66 In: C.P.

- Truong Trọng Nghĩa. 2003. Optimization of mud crab (*Scylla paramamosain*) larviculture in Vietnam. 134 pp.
- Williams, G. R., Wood, J., Daliiston, B., Shelley, C. C., Kuo, C. M., 1999. Mud crab (*Scylla serrata*) megalopae larvae exhibit high survival rates on Artemia based diets. In: Keenan, C.P., Blackshaw, A. (Eds.). Mud crab Aquaculture and Biology. Proceedings of an International Scientific forum. Darwin, Australia, 21-24 April 1997. ACIAR proceeding No., 78, 131-140.
- Wouters R., Ce'sar Molina, Patriack Levens, Jorge calderon. 2001. Lipid composition & vitamin content of wild female *Litopenaeus vannamei* in different stages of sexual maturation. In aquaculture 198, 307-323.
- Yunus, T, L. Ahmad, Rusdi, and D.Makatutu. 1994a. Experiments on larval rearing of the mangrove crab, *Scylla serrata*, at different salinities, Research Journal on Coastal Aquaculture, 10 (3): 31-38.
- Zeng, C and S. Li. 1992. Experimental ecology study on the larvae of the mud crab *Scylla serrata*. Effects of diets on survival and development of larvae. Transaction of Chinese Crustacean Society. 3: 85-94 (in Chinese).