



DOI:10.22144/ctu.jvn.2019.077

**ẢNH HƯỞNG CỦA CO<sub>2</sub> LÊN TỈ LỆ SỐNG, TĂNG TRƯỞNG, ENZYME TIÊU HÓA VÀ GLUCOSE CỦA TÔM THẺ CHÂN TRẮNG (*Litopenaeus vannamei* BOONE, 1931) GIAI ĐOẠN TÔM BỘT ĐẾN TÔM GIỐNG**

Đỗ Văn Bước<sup>1\*</sup>, Đỗ Thị Thanh Hương<sup>1</sup>, Châu Tài Tào<sup>1</sup>, Trần Ngọc Hải<sup>1</sup>, Atsushi Ishimatsu<sup>1,2</sup> và Nguyễn Thanh Phương<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Khoa Thủy sản, Trường Đại học Cần Thơ

<sup>2</sup>Trường Đại học Nagasaki, Nhật Bản

\*Người chịu trách nhiệm về bài viết: Đỗ Văn Bước (email: dovanbuoc@gmail.com)

**ABSTRACT**

This study was carried out to determine the effects of CO<sub>2</sub> on survival, growth, digestive enzyme activity and glucose concentration of white leg shrimp from 15-day postlarvae to juvenile stage. The study was designed using a completely randomized with 4-CO<sub>2</sub> treatments including 2.32, 7.81, 19.0 and 45.6 mg/L equal to pH of 8.1, 7.6, 7.2 and 6.8, respectively. Postlarvae of 0.019 g and 1.20 cm length were stocked at the density of 100 ind./200-L tank. After 45 days, the survival rate of shrimp in control treatment (2.32 mg/L CO<sub>2</sub> or pH=8.1) was 70.0%, and the lowest survival rate occurred in the CO<sub>2</sub> treatment of 45.6 mg/L (28.3%). The lowest final individual weight and length in CO<sub>2</sub> concentration of 45.6 mg/L were 1.09 g and 4.69 cm. The lowest enzyme activities were in CO<sub>2</sub> treatment of 45.6 mg/L. Glucose concentration was highest in 37.5 mg/100 mL. The high CO<sub>2</sub> concentration will adversely affect growth, survival rate, reduce some digestive enzymes and increase glucose concentration in hemolymph of white leg shrimp.

**TÓM TẮT**

Nghiên cứu được thực hiện nhằm đánh giá ảnh hưởng của CO<sub>2</sub> lên tỉ lệ sống, tăng trưởng, hoạt tính enzyme tiêu hóa và glucose của tôm thẻ chân trắng giai đoạn bột (postlarvae 15) đến tôm giống. Nghiên cứu gồm 4 nghiệm thức hàm lượng CO<sub>2</sub> là 2,32; 7,81; 19,02 và 45,6 mg/L tương ứng với các mức pH là 8,1; 7,6; 7,2 và 6,8; và được lặp lại 3 lần. Tôm có kích cỡ ban đầu là 0,019 g/con và 1,20 cm/con được ương trong bể 200 L, mật độ 100 con/bể và độ mặn 15‰. Sau 45 ngày, tỉ lệ sống ở nghiệm thức đối chứng cao nhất là 70,0%, và thấp nhất ở nghiệm thức CO<sub>2</sub> là 45,6 mg/L (28,3%). Tăng trưởng của tôm thấp nhất ở nghiệm thức CO<sub>2</sub> là 45,6 mg/L lần lượt là 1,09 g/con và 4,69 cm/con. Hoạt tính enzyme tiêu hóa thấp nhất ở nghiệm thức CO<sub>2</sub> là 45,6 mg/L. Hàm lượng glucose cao nhất ở nghiệm thức CO<sub>2</sub> là 45,6 mg/L (37,5 mg/100 mL). Hàm lượng CO<sub>2</sub> cao sẽ gây ảnh hưởng bất lợi đến tăng trưởng, tỉ lệ sống, giảm hoạt tính một số enzyme tiêu hóa và tăng hàm lượng glucose trong máu của tôm thẻ chân trắng.

**Thông tin chung:**

Ngày nhận bài: 08/04/2019

Ngày nhận bài sửa: 10/06/2019

Ngày duyệt đăng: 28/06/2019

**Title:**

Effects of elevated CO<sub>2</sub> on survival, growth, digestive enzymes and glucose concentration of white leg shrimp (*Litopenaeus vannamei* Boone, 1931) from postlarvae 15 to juvenile stage

**Từ khóa:**

CO<sub>2</sub>, tăng trưởng, tôm thẻ chân trắng, tỉ lệ sống

**Keywords:**

CO<sub>2</sub>, growth, *Litopenaeus vannamei*, survival

Trích dẫn: Đỗ Văn Bước, Đỗ Thị Thanh Hương, Châu Tài Tào, Trần Ngọc Hải, Atsushi Ishimatsu và Nguyễn Thanh Phương, 2019. Ảnh hưởng của CO<sub>2</sub> lên tỉ lệ sống, tăng trưởng, enzyme tiêu hóa và glucose của tôm thẻ chân trắng (*Litopenaeus vannamei* Boone, 1931) giai đoạn tôm bột đến tôm giống. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. 55(3B): 58-66.

## 1 GIỚI THIỆU

Tôm thẻ chân trắng (*Litopenaeus vannamei*) có nguồn gốc từ bờ biển phía Tây Thái Bình Dương, Châu Mỹ Latin, nơi nhiệt độ nước thường trên 20°C trong suốt cả năm (Liao and Chien, 2011). Tôm thẻ chân trắng được di nhập vào Việt Nam khoảng năm 2001 nhưng đến 2008 đối tượng này mới chính thức được nuôi rộng rãi ở các tỉnh Nam Bộ (Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn, 2008), diện tích và sản lượng nuôi theo đó không ngừng tăng lên hàng năm. Tuy nhiên, nghề nuôi tôm nước lợ cũng bị thiệt hại thường xuyên. Theo Cục Thú y (2017), diện tích bị thiệt hại do biến đổi môi trường, thời tiết chiếm đến 41,3% tổng diện tích tôm nuôi bị thiệt hại. Môi trường nước biển đổi bất thường có nguyên nhân của biến đổi khí hậu; các yếu tố như nhiệt độ, pH, độ mặn thay đổi nhiều làm ảnh hưởng đến sinh trưởng và phát triển của tôm. Một trong những yếu tố môi trường nước liên quan đến biến đổi khí hậu trong hiện tại và tương lai là sự gia tăng khí CO<sub>2</sub> trong nước. Theo Turley and Gattuso (2012) thì phát thải CO<sub>2</sub> vào khí quyển và được hấp thu vào đại dương đang làm thay đổi tính chất hóa học nước biển, và được gọi là sự a-xít hóa đại dương. Hàm lượng CO<sub>2</sub> trong khí quyển cao sẽ bị khuếch vào trong nước biển, dẫn đến pH bề mặt nước biển giảm từ 0,3-0,5 năm 2100 và giảm xuống từ 0,8-1,4 năm 2300 (Caldeira and Wickett, 2005). Kaniewska *et al.* (2012) cho rằng hàm lượng CO<sub>2</sub> gia tăng trong nước biển sẽ gây ra các tác động tiêu cực lâu dài đến tăng trưởng, sinh sản và tỉ lệ sống của một số loài thủy sản. Ở giáp xác, quá trình sinh trưởng và phát triển cũng bị ảnh hưởng đáng kể khi hàm lượng CO<sub>2</sub> trong nước tăng cao. Tôm chỉ (*Pandalus borealis*) nuôi thí nghiệm ở pH=7,6 thì tỉ lệ sống ấu trùng không giảm sau 5 tuần nhưng thời gian phát triển của giai đoạn zoea chậm đáng kể (Bechmann *et al.*, 2011). Tôm sú (*Penaeus monodon*) và tôm trắng (*Penaeus occidentalis*) tăng trưởng giảm khi tiếp xúc với môi trường nước có CO<sub>2</sub> tăng cao tương ứng với pH giảm từ 7,9 đến 6,4 (Wickins, 1984). Ngoài ra, hàm lượng CO<sub>2</sub> tăng cao trong nước có thể gây ảnh hưởng đến sự phát triển của các loài thủy sản bằng cách thay đổi hoạt động của enzyme hoặc ức chế tổng hợp protein dẫn đến tăng trưởng chậm và giảm hoạt động trao đổi chất (Kurihara *et al.*, 2004). Bên cạnh, trong ao nuôi tôm thâm canh, hàm lượng CO<sub>2</sub> trong nước thấp ở giai đoạn đầu, đến cuối giai đoạn hàm lượng CO<sub>2</sub> tăng lên chủ yếu là do hô hấp của các sinh vật, đạt đến 29,7 mg/L làm ảnh hưởng bất

lợi cho tôm (Khan *et al.*, 2015). Hàm lượng CO<sub>2</sub> tăng chủ yếu do quá trình hô hấp của sinh vật và phân hủy chất hữu cơ trong môi trường nuôi (Furtado *et al.*, 2017) dẫn đến tích lũy CO<sub>2</sub> và làm giảm độ pH của nước (Furtado *et al.*, 2011). Theo Wyk and Scarpa (1999) thì hàm lượng CO<sub>2</sub> tối ưu cho tôm phát triển là dưới 5 mg/L; hàm lượng CO<sub>2</sub> vượt quá 20 mg/L dẫn đến sự bài tiết CO<sub>2</sub> ở mang tôm bị cản trở làm giảm pH máu, ảnh hưởng bất lợi đến vận chuyển oxy trong máu, giảm oxy ở mô và gia tăng quá trình hô hấp; hàm lượng trên 60 mg/L có thể gây chết tôm. Các nghiên cứu ảnh hưởng của CO<sub>2</sub> lên thủy sản đã được thực hiện tương đối nhiều, đặc biệt trên cá. Tuy nhiên, đối với tôm thẻ chân trắng chưa nhiều công bố về ảnh hưởng của CO<sub>2</sub> cao lên sự phát triển của tôm.

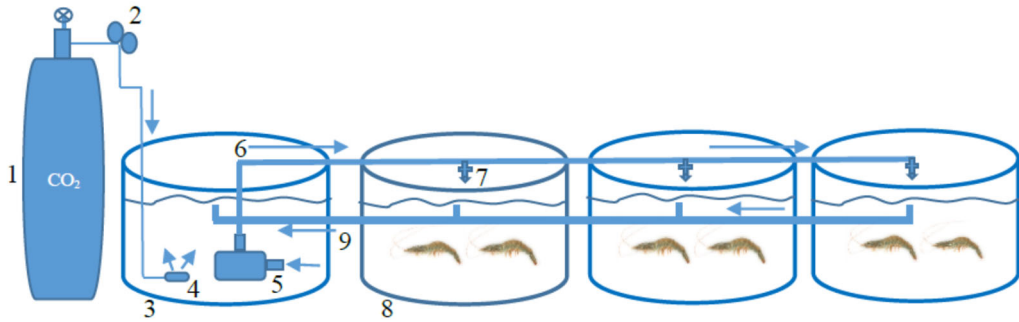
## 2 VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1 Vật liệu

Hệ thống thí nghiệm gồm các bể nhựa 250 L (chứa 200 L nước thí nghiệm). Nước thí nghiệm có độ mặn 15‰ được xử lý bằng chlorine 50 g/m<sup>3</sup> và sục khí mạnh để loại chlorine thừa; dùng NaHCO<sub>3</sub> nâng độ kiềm nước đạt 140 mgCaCO<sub>3</sub>/L; pH nước 8,0-8,1; và bơm qua túi lọc 5 μm trước khi sử dụng. Tôm thí nghiệm có kích cỡ PL<sub>15</sub> (postlarvae 15 ngày tuổi) được mua từ trại sản xuất giống ở thành phố Cần Thơ; chọn tôm khỏe, kích cỡ đồng đều và thuần 3 ngày trong nước có độ mặn 15‰ (nước chuẩn bị thí nghiệm) trước khi bố trí thí nghiệm.

### 2.2 Bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm được thiết kế dựa theo kịch bản của sự a-xít hóa đại dương, hàm lượng CO<sub>2</sub> khuếch tán vào trong nước biển làm giảm pH của nước, dự đoán đến năm 2100 pH nước biển giảm tương đương pH=7,6 và giảm xuống pH=7,2 đến 6,8 vào năm 2300. Thí nghiệm gồm 3 nghiệm thức được sục khí CO<sub>2</sub> với hàm lượng CO<sub>2</sub> gồm 45,6 mg/L (tương đương pH=6,8), 19,02 mg/L (pH=7,2), 7,81 mg/L (pH=7,6) và nghiệm thức đối chứng (không sục khí CO<sub>2</sub>) 2,32 mg/L (pH=8,1). Mỗi nghiệm thức có 4 bể trong đó 3 bể ương tôm và 1 bể sục khí CO<sub>2</sub>. Khí CO<sub>2</sub> được sục nhẹ vào bể không có tôm, sau đó bơm nước vào các bể ương tôm và nước được quay lại bể có sục khí CO<sub>2</sub> (theo hệ thống tuần hoàn), điều chỉnh lượng CO<sub>2</sub> vào trong nước sao cho 3 bể ương đạt hàm lượng CO<sub>2</sub> phù hợp cho từng nghiệm thức (tương đương từng mức pH) (Hình 1).



**Hình 1:** Sơ đồ minh họa thiết kế thí nghiệm trong đó: (1) Bình CO<sub>2</sub>; (2) Đồng hồ đo áp suất và van điều tiết CO<sub>2</sub>; (3) Bể sục khí CO<sub>2</sub> điều chỉnh pH; (4) Đá bọt khuếch tán CO<sub>2</sub> vào trong nước; (5) Máy bơm chìm; (6) Ống dẫn nước vào bể ương; (7) Van điều chỉnh dòng chảy nước vào bể; (8) Bể ương có thể tích nước 200 L; (9) Đường ống đưa nước từ bể ương vào bể (3)

Tôm được bố trí vào các bể thí nghiệm với mật độ 100 tôm/bể, mỗi nghiệm thức được lặp lại 3 lần. Các bể thí nghiệm được sục khí liên tục; thay 30% nước bể ương hàng tuần bằng nước có cùng hàm lượng CO<sub>2</sub>. Tôm được cho ăn thức ăn viên công nghiệp hiệu Grobest với khẩu phần 10-15% khối lượng thân/ngày; cho tôm ăn 4 lần vào lúc 7 giờ, 11 giờ, 15 giờ và 21 giờ; thức ăn dư thừa được loại bỏ mỗi ngày nhằm hạn chế ô nhiễm nước. Trong thời gian thí nghiệm đo các chỉ tiêu môi trường nước 2 lần/ngày gồm nhiệt độ, pH và oxy (sử dụng máy WTW Multi 3420 của Đức); các chỉ tiêu N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, TAN và độ kiềm đo 2 lần/tuần (sử dụng test kit Sera của Đức); hàm lượng CO<sub>2</sub> được kiểm tra 2-3 lần/tuần (sử dụng máy OxyGuard Pacific của Đan Mạch). Sau 45 ngày thí nghiệm, tôm được phân tích các enzyme tiêu hóa (trypsin, chymotrypsin và amylase) và glucose trong máu.

**2.3 Phương pháp đánh giá và phân tích mẫu**

Thu ngẫu nhiên 10 tôm/bể để đo chiều dài và khối lượng tôm khi bắt đầu thí nghiệm và sau 15, 30, 45 ngày nuôi. Khi kết thúc thí nghiệm (45 ngày) chọn ngẫu nhiên 3 tôm/bể để thu mẫu máu. Chuẩn bị ống tiêm có tráng một lớp chất chống đông máu (heparin) để lấy máu tôm cho vào ống eppendorf (lấy 40-50 µL máu), và mẫu được trữ lạnh ở nhiệt độ -80°C. Hàm lượng glucose trong máu tôm được xác định bằng phương pháp Hugget and Nixon (1957). Thu mẫu ruột và dạ dày tôm để phân tích enzyme trypsin (sử dụng phương pháp của Tseng *et al.*, 1982), enzyme chymotrypsin (sử dụng phương pháp của Worthington, 1982), enzyme amylase (sử dụng phương pháp của Bernfeld, 1951) và protein (sử dụng phương pháp của Bradford, 1976).

Tăng trưởng theo ngày về khối lượng, DWG (g/ngày):  $DWG=(W_2-W_1)/T$

Tăng trưởng khối lượng tương đối, SGR (%/ngày):  $SGR(\%) = 100x(\ln W_2 - \ln W_1)/T$

Tăng trưởng theo ngày về chiều dài, DLG (cm/ngày):  $DLG=(L_2-L_1)/T$

Tỉ lệ sống, SR (%):  $SR=100x(N_2-N_1)$

Trong đó:

W<sub>1</sub>: khối lượng tôm ban đầu (g); W<sub>2</sub>: khối lượng của tôm lúc thu mẫu (g); L<sub>1</sub>: chiều dài tôm ban đầu (cm); L<sub>2</sub>: chiều dài tôm lúc thu mẫu (cm); T: số ngày nuôi (ngày); N<sub>1</sub>: số lượng tôm ban đầu (con); và N<sub>2</sub>: số lượng tôm tại thời điểm kết thúc (con).

**2.4 Phương pháp xử lý số liệu**

Các số liệu thu thập được tính toán giá trị trung bình, sai số chuẩn, so sánh sự khác biệt giữa các nghiệm thức áp dụng phương pháp ANOVA một nhân tố bằng phép thử Duncan ( $p<0,05$ ) sử dụng phần mềm SPSS 18.0.

**3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN**

**3.1 Biến động các yếu tố môi trường nước**

Biến động các yếu tố môi trường trong thời gian thí nghiệm được trình bày ở Bảng 1. Các yếu tố môi trường ở các nghiệm thức thí nghiệm dao động trong khoảng thích hợp cho tôm phát triển. Hàm lượng CO<sub>2</sub> và pH trong nước tương đối ổn định theo từng nghiệm thức. Nhiệt độ nước trung bình ở các nghiệm thức trong thời gian nuôi 28,1-29,2°C. Hàm lượng oxy hòa tan trung bình của các nghiệm thức ổn định 7,00-7,28 mg/L. Độ kiềm trung bình được giữ ổn định 135-140 mgCaCO<sub>3</sub>/L. Theo Boyd (1998) thì khoảng nhiệt độ thích hợp cho nhiều loài tôm nuôi từ 25-30°C và Ponce-Palafox *et al.* (1997) cũng cho rằng tỉ lệ sống và tăng trưởng của tôm thẻ chân trắng tốt nhất trong khoảng nhiệt độ 28-30°C. Nonwachai *et al.* (2011) cho rằng oxy hòa tan trong ao nuôi thẻ chân trắng cần lớn hơn 4 mg/L. Ebeling *et al.* (2006)

cho rằng độ kiềm thích hợp cho tôm trong khoảng 100-150 mgCaCO<sub>3</sub>/L hay Boyd and Tucker (1998) đề xuất độ kiềm ao nuôi trên 75 mgCaCO<sub>3</sub>/L là phù hợp. Như vậy, nhiệt độ, oxy hoà tan và độ kiềm nước ở các bể thí nghiệm phù hợp cho sự phát triển của tôm thẻ chân trắng. Nồng độ N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup> ở các nghiệm thức dao động trong khoảng từ 1,33-1,50 mg/L, thấp nhất ở nghiệm thức pH=6,8 là 1,33±0,83 mg/L và cao nhất ở nghiệm thức pH=7,2 là 1,50±1,07 mg/L. Hàm lượng TAN trung bình của các nghiệm thức từ

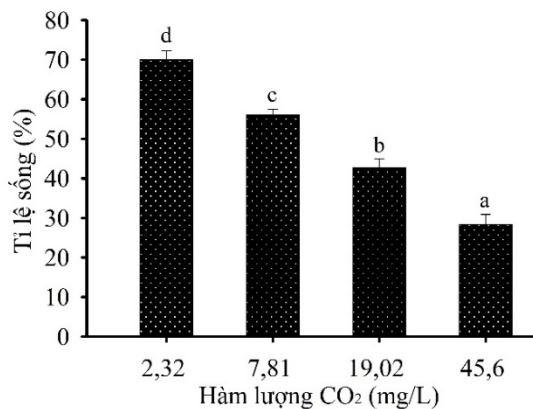
0,19-0,32 mg/L. Theo Lin and Chen (2003), tôm thẻ chân trắng nuôi độ mặn 15‰ thì nồng độ N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup> an toàn khi không vượt 7,65 mg/L; Ramirez-Rochin *et al.* (2017) cho rằng ở độ mặn 2‰ thì N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup> an toàn không quá 1,24 mg/L. Hàm lượng TAN an toàn cho tôm thẻ chân trắng không quá 2,44 mg/L ở độ mặn 15‰ (Lin and Chen, 2001). Như vậy, trong thời gian thí nghiệm thì hàm lượng N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup> và TAN đều trong giới hạn thích hợp cho sinh trưởng và phát triển bình thường của tôm.

**Bảng 1: Các yếu tố môi trường nước trong thí nghiệm**

Yếu tố môi trường		Nghiệm thức CO <sub>2</sub> (mg/L)			
		2,32	7,81	19,02	45,6
Nhiệt độ (°C)	Sáng	28,1±0,37	28,3±0,35	28,2±0,34	28,2±0,33
	Chiều	29,1±0,45	29,2±0,41	29,2±0,39	29,2±0,39
pH	Sáng	8,13±0,05	7,63±0,07	7,23±0,06	6,84±0,04
	Chiều	8,14±0,08	7,64±0,05	7,24±0,07	6,83±0,05
Oxy (mg/L)	Sáng	7,28±0,13	7,08±0,32	7,03±0,21	7,08±0,19
	Chiều	7,11±0,16	7,00±0,22	7,09±0,17	7,05±0,15
Độ mặn (‰)		15,2±0,42	15,0±0,00	15,3±0,48	15,2±0,42
Độ kiềm (mg/L)		137±5,73	135±8,60	137±8,60	140±5,73
CO <sub>2</sub> (mg/L)		2,32±0,12	7,81±0,58	19,02±1,44	45,6±2,42
N-NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> (mg/L)		1,40±1,13	1,35±1,10	1,50±1,07	1,33±0,83
TAN (mg/L)		0,21±0,17	0,19±0,17	0,32±0,24	0,31±0,20

**3.2 Tỷ lệ sống**

Tỷ lệ sống của tôm sau 45 ngày nuôi khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ) giữa các nghiệm thức thí nghiệm. Tỷ lệ sống cao nhất ở nghiệm thức 2,32 mgCO<sub>2</sub>/L (pH=8,1) là 70,0±2,31% và ở nghiệm thức có sục khí CO<sub>2</sub> (pH thấp) tỷ lệ sống tôm giảm dần, ở nghiệm thức 7,81 mgCO<sub>2</sub>/L (pH=7,6) tỷ lệ sống là 56,0±1,53%, nghiệm thức 19,02 mgCO<sub>2</sub>/L (pH=7,2) là 42,7±2,19%, và thấp nhất là nghiệm thức 45,6 mgCO<sub>2</sub>/L (pH=6,8) là 28,33±2,60% (Hình 2). Như vậy, hàm lượng CO<sub>2</sub> trong nước càng cao thì tỷ lệ sống tôm càng giảm. Một số thí nghiệm dựa theo kịch bản a-xít hóa đại dương về quá trình tăng hàm lượng CO<sub>2</sub> trong nước cho thấy tôm *Upogebia deltaura* khi sống trong môi trường pH=6,7 (hàm lượng CO<sub>2</sub> cao) thì sau 35 ngày nuôi tôm chết hoàn toàn (Donohue *et al.*, 2012). Tương tự, tôm *Palaemon pacificus* nuôi ở pH=7,64 có tỷ lệ sống giảm đáng kể so với đối chứng (Kurihara *et al.*, 2008). Ở của *Paralithodes camtschaticus* và của *Chionoecetes bairdi* thì tỷ lệ sống giảm khi nuôi trong môi trường pH thấp và tỷ lệ chết 100% xảy ra sau 95 ngày ở pH=7,5 (Long *et al.*, 2013). Tuy nhiên, loài *Gammarus locusta* (thuộc nhóm giáp xác) trưởng thành thì tỷ lệ sống bị ảnh hưởng không đáng kể khi sống trong môi trường nước có pH giảm 0,5 đơn vị so với nước biển (Hauton *et al.*, 2009).



**Hình 2: Tỷ lệ sống của tôm thẻ chân trắng sau 45 ngày ở hàm lượng CO<sub>2</sub> (pH) khác nhau**

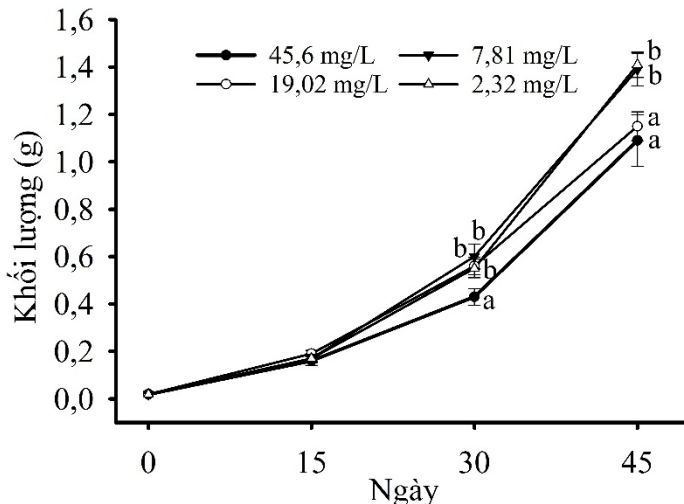
Chữ cái khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ) giữa các nghiệm thức

**3.3 Tăng trưởng**

Khối lượng ban đầu của tôm khi bắt đầu thí nghiệm là 0,019 g/con và khác biệt không có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức ( $p > 0,05$ ). Khối lượng của tôm sau 15 ngày nuôi khác biệt không có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức ( $p > 0,05$ ) từ 0,16±0,019 g/con đến 0,19±0,014 g/con. Tuy nhiên, sau 30 ngày nuôi thì khối lượng tôm ở các nghiệm thức có khác biệt, khối lượng thấp nhất ở nghiệm thức 45,6 mgCO<sub>2</sub>/L (pH=6,8) (0,43±0,04 g/con)

khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các nghiệm thức có hàm lượng CO<sub>2</sub> thấp hơn ( $p < 0,05$ ); nghiệm thức có khối lượng tôm cao nhất là 7,81 mgCO<sub>2</sub>/L (pH=7,6) (0,60±0,05 g/con) và khác biệt không có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức 2,32 mgCO<sub>2</sub>/L (pH=8,1) (0,55±0,04 g/con) và 19,02 mgCO<sub>2</sub>/L (pH=7,2) (0,56±0,04 g/con). Kết thúc nghiệm (sau

45 ngày) thì khối lượng tôm ở nghiệm thức 2,32 mgCO<sub>2</sub>/L (pH=8,1) đạt cao nhất (1,41±0,05 g/con) khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ) so với nghiệm thức 19,02 mgCO<sub>2</sub>/L (pH=7,2) (1,15±0,06 g/con) và 45,6 mgCO<sub>2</sub>/L (pH=6,8) (1,09±0,11 g/con) nhưng khác biệt không có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ) so với nghiệm thức còn lại (Hình 3).



**Hình 3: Khối lượng tôm sau 15, 30 và 45 ngày nuôi ở hàm lượng CO<sub>2</sub> (pH) khác nhau**

Chữ cái giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ) giữa các nghiệm thức

Kết quả Bảng 2 cho thấy tăng trưởng tuyệt đối (DWG) và tương đối (SGR) về khối lượng của tôm sau 45 ngày nuôi cao nhất ở nghiệm thức 2,32 mgCO<sub>2</sub>/L (pH=8,1) lần lượt là 0,031±0,001 g/ngày và 9,23±0,09%/ngày, khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ) so với nghiệm thức 19,02 mgCO<sub>2</sub>/L (pH=7,2) và 45,6 mgCO<sub>2</sub>/L (pH=6,8) (thấp nhất lần lượt là 0,024±0,002 g/ngày và 8,09±0,22%/ngày) nhưng khác biệt không có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ) so với nghiệm thức 7,81 mgCO<sub>2</sub>/L (pH=7,6).

**Bảng 2: Tăng trưởng ngày (DWG) và tăng trưởng tương đối (SGR) của tôm sau 45 ngày nuôi ở hàm lượng CO<sub>2</sub> khác nhau**

Nghiệm thức CO <sub>2</sub> (mg/L)	Chỉ tiêu	
	DWG (g/ngày)	SGR <sub>w</sub> (%/ngày)
2,32	0,031±0,001 <sup>b</sup>	9,23±0,09 <sup>c</sup>
7,81	0,030±0,002 <sup>b</sup>	9,06±0,12 <sup>bc</sup>
19,02	0,025±0,001 <sup>a</sup>	8,69±0,14 <sup>b</sup>
45,6	0,024±0,002 <sup>a</sup>	8,09±0,22 <sup>a</sup>

Các giá trị trong cùng một cột có chữ cái (a, b, c) giống nhau thể hiện khác biệt không có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ).

Giảm sự tăng trưởng của tôm hay giáp xác có thể do giảm quá trình chuyển hóa trao đổi chất, giảm hiệu quả sử dụng thức ăn khi tiếp xúc với nước có hàm lượng CO<sub>2</sub> cao. Theo Kurihara *et al.* (2008) ở tôm *P. pacificus* khi hàm lượng CO<sub>2</sub> tăng cao vượt

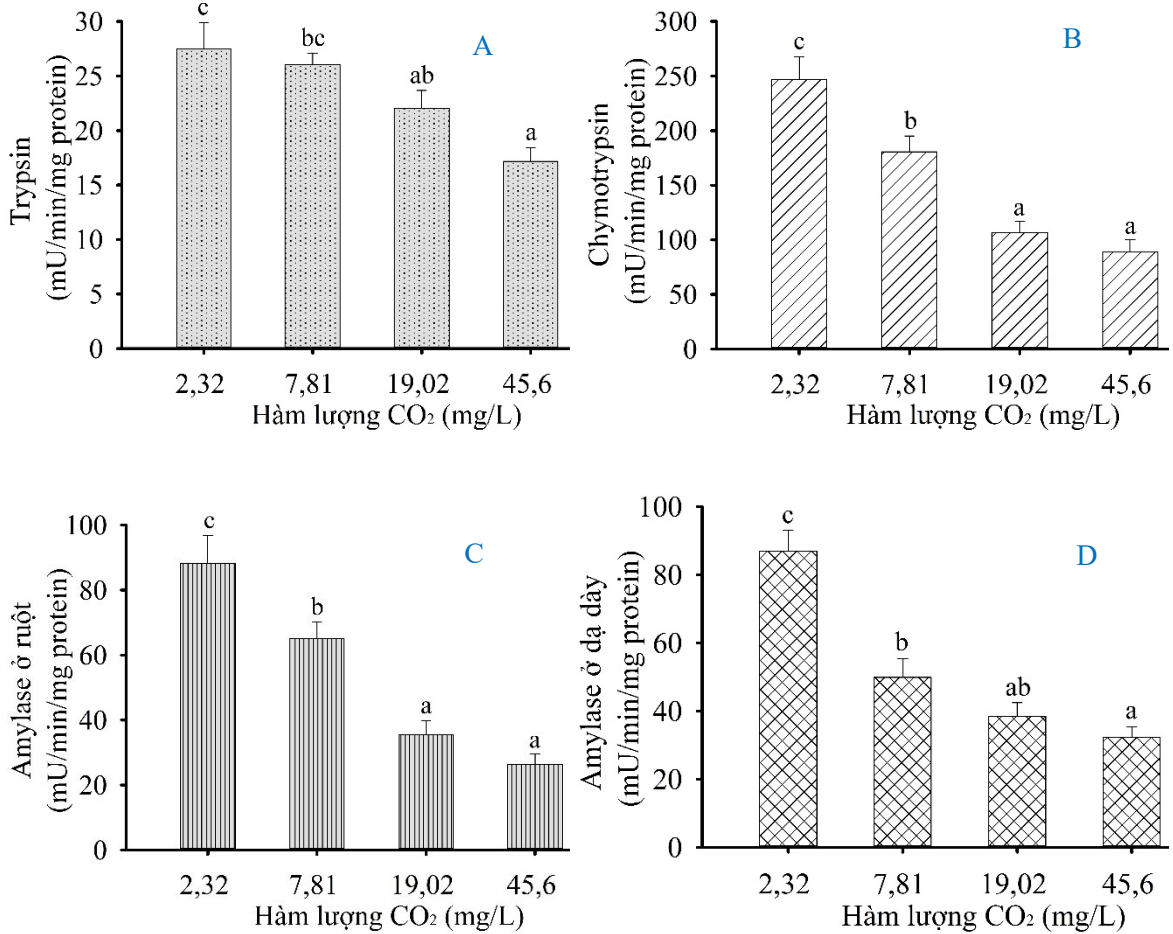
ngưỡng thích hợp sẽ ảnh hưởng đến dịch nội bào và ngoại bào trong việc cân bằng a-xít-ba-zơ làm bất lợi đến quá trình trao đổi chất của tôm. Mặt khác, khi sống trong môi trường CO<sub>2</sub> cao thời gian dài sẽ tiêu tốn nhiều năng lượng cho việc điều hòa a-xít-ba-zơ và quá trình hô hấp (tăng cường độ hô hấp) dẫn đến thiếu năng lượng cho quá trình trao đổi để phát triển ở động vật. Bên cạnh, quá trình tiêu hóa, hấp thụ chất dinh dưỡng từ ruột và sự đồng hóa chất dinh dưỡng cũng bị suy giảm khi tôm tiếp xúc với hàm lượng CO<sub>2</sub> cao trong nước. Wickins (1984) cho rằng ở tôm he (Penaeid), tăng trưởng tôm giảm khi pH giảm xuống dưới 7,4. Cua *P. camtschaticus* và *Chionoecetes bairdi* thì mặc dù hình thái cua không bị ảnh hưởng bởi pH giảm nhưng cả hai loài đều phát triển chậm hơn khi nuôi trong môi trường CO<sub>2</sub> cao (pH thấp) (Long *et al.*, 2013). Ngoài ra, ở nhím biển tăng trưởng giảm khi nuôi trong nước biển pH giảm (tăng CO<sub>2</sub>) (Shirayama and Thornton, 2005). Như vậy, tôm thẻ chân trắng cũng như các loại giáp xác khác, tăng trưởng giảm khi nuôi trong môi trường nước có hàm lượng CO<sub>2</sub> cao.

### 3.4 Hoạt tính enzym tiêu hóa

Hoạt tính enzyme tiêu hóa trypsin, chymotrypsin và amylase ở ruột tôm giảm khi tiếp xúc với môi trường nước có hàm lượng CO<sub>2</sub> cao (pH thấp). Hoạt tính enzyme trypsin và chymotrypsin thấp nhất ở nghiệm thức 45,6 mgCO<sub>2</sub>/L (pH=6,8) lần lượt là

17,2±1,27 mU/min/mg protein và 89,0±11,2 mU/min/mg protein, khác biệt không có ý nghĩa thống kê ( $p>0,05$ ) so với nghiệm thức 19,02 mgCO<sub>2</sub>/L (pH=7,2) (lần lượt là 22,0±1,65 mU/min/mg protein và 107±10,1 mU/min/mg protein), nhưng khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p<0,05$ ) so với nghiệm thức 7,81 mgCO<sub>2</sub>/L (pH=7,6) và 2,32 mgCO<sub>2</sub>/L (pH=8,1) (cao nhất lần lượt là 27,5±2,45 mU/min/mg protein và 247±20,2 mU/min/mg protein) (Hình 4). Hoạt tính enzyme

amylase ở ruột tôm thấp nhất ở nghiệm thức 45,6 mgCO<sub>2</sub>/L (pH=6,8) (26,4±3,05 mU/min/mg protein) và 19,02 mgCO<sub>2</sub>/L (pH=7,2) (35,4±4,34 mU/min/mg protein), khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p<0,05$ ) so với hai nghiệm thức còn lại; ở nghiệm thức 2,32 mgCO<sub>2</sub>/L (pH=8,1) hoạt tính amylase cao nhất là 88,3±8,51 mU/min/mg protein và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức khác ( $p<0,05$ ) (Hình 4).



**Hình 4: Hoạt tính enzyme tiêu hóa (A) trypsin, (B) chymotrypsin, (C) amylase ở ruột và (D) amylase ở dạ dày của tôm thẻ chân trắng sau 45 ngày nuôi ở hàm lượng CO<sub>2</sub> (pH) khác nhau**

*Chữ cái giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ( $p>0,05$ ) giữa các nghiệm thức*

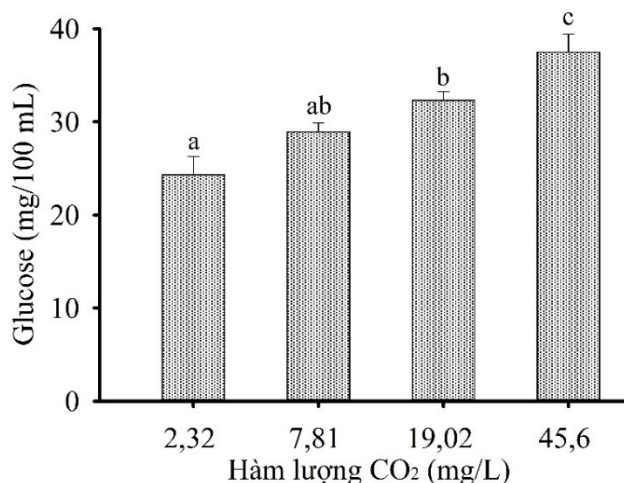
Tương tự như hoạt tính enzyme amylase ở ruột, hoạt tính amylase ở dạ dày tôm giảm khi tiếp xúc hàm lượng CO<sub>2</sub> cao. Nghiệm thức 2,32 mgCO<sub>2</sub>/L (pH=8,1) hoạt tính enzyme amylase cao nhất (86,9±6,52 mU/min/mg protein) khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p<0,05$ ) so với nghiệm thức còn lại, trong khi hoạt tính enzyme amylase giảm thấp nhất (32,26±3,07 mU/min/mg protein) ở nghiệm thức 45,6 mgCO<sub>2</sub>/L (pH=6,8) và khác biệt không có ý nghĩa thống kê ( $p>0,05$ ) so với nghiệm thức 19,02 mgCO<sub>2</sub>/L (pH=7,2) (38,4±4,06 mU/min/mg

protein) (Hình 3). Theo Fox and Brown (1994) thì enzyme tiêu hóa đóng vai trò quan trọng trong việc thực hiện phân hủy, tiêu hóa thức ăn cung cấp a-xít amin và các chất dinh dưỡng cần thiết cho tăng trưởng, vận động của sinh vật. Bên cạnh, các điều kiện môi trường khác nhau có thể ảnh hưởng đến hoạt động của các enzyme tiêu hóa (Duarte *et al.*, 2015). Theo Kurihara *et al.* (2004) thì hàm lượng CO<sub>2</sub> tăng cao trong nước có thể gây ức chế hoạt động của enzyme và tổng hợp protein dẫn đến tăng trưởng chậm và giảm hoạt động trao đổi chất ở một

số loài thủy sản. Appelhans *et al.* (2012) cho rằng hàm lượng CO<sub>2</sub> cao trong nước làm tỉ lệ tiêu thụ thức ăn giảm 41% ở cua *Carcinus maenas*. Động vật không xương sống trong môi trường có mức CO<sub>2</sub> cao làm tốc độ trao đổi chất bị suy giảm, tỉ lệ trao đổi ion và tổng hợp protein giảm, từ đó làm thay đổi trạng thái cân bằng trao đổi chất và làm chậm sự tăng trưởng (Portner *et al.*, 2005). Ngoài ra, ở cá, hoạt tính enzyme tiêu hóa của ấu trùng cá bơn *Solea senegalensis* cũng bị ảnh hưởng bởi hàm lượng CO<sub>2</sub> cao trong nước, làm giảm hoạt động của các enzyme tiêu hóa (giảm 26,1% đối với trypsin và 74,5% đối với amylase) (Pimentel *et al.*, 2015). Như vậy, khi tôm sống trong điều kiện có hàm lượng CO<sub>2</sub> cao (pH thấp) thì hoạt tính enzyme tiêu hóa giảm dẫn đến tốc độ tăng trưởng tôm thấp hơn so với nước có hàm lượng CO<sub>2</sub> thấp.

### 3.5 Hàm lượng glucose

Hàm lượng glucose trong huyết tương của tôm ở các nghiệm thức dao động từ 24,3±1,97 mg/100 mL đến 37,5±1,91 mg/100 mL, hàm lượng glucose tăng lên khi CO<sub>2</sub> tăng (pH giảm). Hàm lượng glucose cao nhất là 37,5±1,91 mg/100 mL ở nghiệm thức 45,6 mgCO<sub>2</sub>/L (pH=6,8) khác biệt có ý nghĩa thống kê so với 3 nghiệm thức còn lại ( $p < 0,05$ ). Ở nghiệm thức 2,32 mgCO<sub>2</sub>/L (pH=8,1) thì hàm lượng glucose trong huyết tương là 24,3±1,97 mg/100 mL, thấp nhất trong các nghiệm thức và khác biệt không có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ) so với nghiệm thức 7,81 mgCO<sub>2</sub>/L (pH=7,6) (28,9±0,98 mg/100 mL) nhưng khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ) so với nghiệm thức 19,02 mgCO<sub>2</sub>/L (pH=7,2) và 45,6 mgCO<sub>2</sub>/L (pH=6,8) (Hình 5).



**Hình 5: Hàm lượng glucose của tôm sau 45 ngày nuôi ở hàm lượng CO<sub>2</sub> (pH) khác nhau**

Chỉ cái giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ) giữa các nghiệm thức

Nồng độ glucose trong máu của động vật giáp xác được kiểm soát bởi hyperglycemic hormone, được giải phóng từ trung tâm thần kinh mắt; khi giáp xác tiếp xúc với một số tác nhân gây bất lợi dẫn đến stress sẽ làm gia tăng hyperglycemic hormone dẫn đến tăng đường huyết (Lorenzon, 2005). Ở tôm sú (*Penaeus monodon*), pH=8,5 giảm xuống còn 5,9 do tăng CO<sub>2</sub> vào trong nước gây ra sự gia tăng nhanh chóng nồng độ glucose trong máu từ 1,1 đến 2,3 mmol/L. Ngược lại, giảm pH của nước từ 8,3 xuống 5,9 với H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> không dẫn đến sự thay đổi đáng kể về nồng độ glucose trong máu (Hall and Ham, 1998). Khi tôm bị stress thì đường huyết tăng lên được sử dụng như một nguồn năng lượng nhanh chóng (Claybrook, 1983). Theo Li and Chen (2008), pH thấp và stress cao làm giảm sức đề kháng của tôm thẻ chân trắng và giảm một số chỉ số đáp ứng miễn dịch. Như vậy, nồng độ glucose trong máu tôm thẻ chân trắng gia tăng góp phần gây ảnh hưởng bất lợi

đến quá trình sinh trưởng tôm trong thời gian thí nghiệm.

### 4 KẾT LUẬN

Tỉ lệ sống của tôm thẻ chân trắng giảm khi sống trong môi trường nước có hàm lượng CO<sub>2</sub> cao (pH thấp). Bên cạnh đó, hàm lượng CO<sub>2</sub> càng cao dẫn đến tăng trưởng tôm càng chậm so với nước có hàm lượng CO<sub>2</sub> thấp. Hàm lượng glucose trong máu tôm tăng khi tôm sống ở môi trường nước có hàm lượng CO<sub>2</sub> cao. Hoạt tính enzyme tiêu hóa (trypsin, chymotrypsin, amylase ở ruột và amylase ở dạ dày) càng giảm khi hàm lượng CO<sub>2</sub> trong nước càng cao. Hàm lượng CO<sub>2</sub> trong nước nhỏ hơn 7,8 mg/L phù hợp cho việc ương tôm thẻ chân trắng.

### LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được Dự án TC thuộc Cơ quan Hợp tác Quốc tế Nhật Bản (JICA) tài trợ.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Appelhans, Y.S., Thomsen, J., Pansch, C., Melzner, F. and Wahl, M., 2012. Sour times: Seawater acidification effects on growth, feeding behaviour and acid-base status of *Asterias rubens* and *Carcinus maenas*. *Marine Ecology Progress Series*, 459: 85-97.
- Bechmann, R.K., Taban, I.C., Westerlund, S., Godal, B.F., Arnberg, M., Vingen, S. and Baussant, T., 2011. Effects of ocean acidification on early life stages of shrimp (*Pandalus borealis*) and mussel (*Mytilus edulis*). *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 74(7-9): 424-438.
- Bernfeld, P., 1951. Enzymes of starch degradation and synthesis. *Advan. Enzymol.* 12: 379-428.
- Boyd, C.E., Tucker, C.S., 1998. Pond aquaculture water quality management. Kluwer Academic Publishers, Boston, MA., 700 pages.
- Boyd, C.E., 1998. Water quality for pond aquaculture. Research and Development Series No 43. International Center for Aquaculture and Aquatic Environments, Alabama Agriculture Experiment Station, Auburn University, 37 pages.
- Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn, 2008. Chỉ thị số 228/2008/CT-BNN, ngày 25/01/2008 của Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn về phát triển nuôi tôm chân trắng ở các tỉnh Nam bộ.
- Bradford M.M., 1976. A rapid sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.*, 72: 248-254.
- Caldeira, K., and Wickett, M. E., 2005. Ocean model predictions of chemistry changes from carbon dioxide emissions to the atmosphere and ocean. *Journal of Geophysical Research*, 110: 1-12.
- Claybrook, D.L., 1983. Nitrogen metabolism. In: Mantel, L.H. (Ed.). *The biology of Crustacea: 5. Internal anatomy and physiological regulation. The biology of Crustacea*, pp. 163-213.
- Cục Thú y, 2017. Báo cáo chuyên đề Tổng kết công tác Thú y năm 2017 và kế hoạch năm 2018. 13 trang.
- Donohue, P.J.C., Calosi, P., Bates, A.H., Laverock, B., Rastrick, S., Mark, F. C. and Widdicombe, S., 2012. Impact of exposure to elevated pCO<sub>2</sub> on the physiology and behaviour of an important ecosystem engineer, the burrowing shrimp *Upogebia deltaura*. *Aquatic Biology*, 15(1): 73-86.
- Duarte, S., Bemquerer, M., and Araujo, F.G., 2015. Enzymatic activity in the gastrointestinal tract of *Pimelodus maculatus* (Teleostei, Siluriformes) in two neotropical reservoirs with different trophic conditions. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 58: 605-612.
- Ebeling, J.M., Timmons, M.B. and Bisogni, J.J., 2006. Engineering analysis of the stoichiometry of photoautotrophic, autotrophic, and heterotrophic removal of ammonia-nitrogen in aquaculture systems. *Aquaculture*, 257(1-4): 346-358.
- Fox, C., Brown, H.J. and Briggs, M., 1994. The nutrition of prawns and shrimp in aquaculture - a review of recent research. In: Muir, J.F., Ronald, R.J. (Eds.). *Recent Advances in Aquaculture*, Vol. V. Blackwell, Oxford, pp. 131-206.
- Furtado, P.S., Gaona, C.A.P., Serra, F.P., Poersch, L.H. and Wasielesky, W., 2017. Acute toxicity of carbon dioxide to juvenile marine shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone 1931). *Marine and Freshwater Behaviour and Physiology*, 50(4): 293-301.
- Furtado, P.S., Poersch, L.H. and Wasielesky, W.Jr., 2011. Effect of calcium hydroxide, carbonate and sodium bicarbonate on water quality and zootechnical performance of shrimp *Litopenaeus vannamei* reared in bioflocs technology (BFT) systems. *Aquaculture*, 321(1-2): 130-135.
- Hall, M.R. and Ham, E.H., 1998. The Effects of different types of stress on blood glucose in the Giant Tiger Prawn *Penaeus monodon*. *Journal of the World Aquaculture Society*, 29(3): 290-299.
- Huggett, A.St.G. and Nixon, D.A., 1957. Enzymic determination of blood glucose. *Biochem. J.*, 66: 12.
- Kurihara, H., Shimode, S. and Shirayama, Y., 2004. Sub-lethal effects of elevated concentration of CO<sub>2</sub> on Planktonic Copepods and Sea Urchins. *Journal of Oceanography*, 60: 743-750.
- Hauton, C., Tyrrell, T. and Williams, J., 2009. The subtle effects of sea water acidification on the amphipod *Gammarus locusta*. *Biogeosciences*, 6(8): 1479-1489.
- Kaniewska, P., Campbell, P.R., Kline, D.I., Rodriguez-Lanetty, M., Miller, D.J., Dove, S. and Hoegh-Guldberg, O., 2012. Major cellular and physiological impacts of ocean acidification on a reef building coral. *PloS One*, 7(4): e34659, doi:10.1371/journal.pone.0034659.
- Khan, S.N.A., Nazer, A.M. and Raveendran, S., 2015. Water quality management of diamond aqua farm, Mallipattinam, Thanjavur District, Tamil Nadu, India. *International Journal of Pure and Applied Zoology*, 3(2): 197-203.
- Kurihara, H., Matsui, M., Furukawa, H., Hayashi, M. and Ishimatsu, A., 2008. Long-term effects of predicted future seawater CO<sub>2</sub> conditions on the survival and growth of the marine shrimp *Palaemon pacificus*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 367(1): 41-46.
- Li, C.C. and Chen, J.C., 2008. The immune response of white shrimp *Litopenaeus vannamei* and its susceptibility to *Vibrio alginolyticus* under low and high pH stress. *Fish and Shellfish Immunology*, 25(6): 701-709.
- Liao, I.C. and Chien, Y-H., 2011. The Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, in Asia: The world's most widely cultured alien crustacean. In: Galil, B.S. et al. (Eds.). *In the wrong place -*



- alien marine crustaceans: Distribution, biology and impacts. *Invading Nature - Springer Series in Invasion Ecology*, 6: 489-519.
- Lin, Y.C. and Chen, J.C. 2001. Acute toxicity of ammonia on *Litopenaeus vannamei* juveniles at different salinity levels. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 259(1): 109-119.
- Lin, Y.C. and Chen, J.C., 2003. Acute toxicity of nitrite on *Litopenaeus vannamei* juveniles at different salinity levels. *Aquaculture*, 224(1-4): 193-201.
- Long, W.C., Swiney, K.M., Harris, C., Page, H.N. and Foy, R.J., 2013. Effects of ocean acidification on juvenile Red King Crab (*Paralithodes camtschaticus*) and Tanner Crab (*Chionoecetes bairdi*) growth, condition, calcification, and survival. *PloS One*, 8(4), e60959, doi:10.1371/journal.pone.0060959.
- Lorenzon, S., 2005. Hyperglycemic stress response in Crustacea. *Invertebrate Survival Journal*, 2: 132-141.
- Nonwachai, T., Purivirojkul, W., Chuchird, N. and Limsuwan, C., 2011. Effects of dissolved oxygen levels on growth, survival and immune response of juvenile pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Journal of Fisheries and Environment*, 35(3): 1-10.
- Pimentel, M.S., Faleiro, F., Diniz, M., Machado, J., Pousao-Ferreira, P., Peck, M.A. and Rosa, R., 2015. Oxidative stress and digestive enzyme activity of flatfish larvae in a changing ocean. *Plos One*, 10(7): 1-18.
- Ponce-Palafox, J., Martinez-Palacios, C.A. and Ross, L.G., 1997. The effects of salinity and temperature on the growth and survival rates of juvenile white shrimp, *Penaeus vannamei*, Boone, 1931. *Aquaculture*, 157(1-2): 107-115.
- Portner, H.O., Langenbuch, M. and Michaelidis, B., 2005. Synergistic effects of temperature extremes, hypoxia, and increases in CO<sub>2</sub> on marine animals: From Earth history to global change. *Journal of Geophysical Research*, 110(C9): C09S10, doi:10.1029/2004JC00256.
- Ramirez-Rochin, J., Frias-Espeticueta, M.G., Fierro-Sanudo, J.F., Alarcon-Silvas, S.G., Fregoso-Lopez, M.G. and Paez-Osuna, F., 2017. Acute toxicity of nitrite on white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) juveniles in low-salinity water. *Aquaculture Research*, 48(5): 2337-2343.
- Shirayama, Y. and Thornton, H., 2005. Effect of increased atmospheric CO<sub>2</sub> on shallow water marine benthos. *Journal of Geophysical Research*, 110(C9): C09S08, doi:10.1029/2004JC002618.
- Tseng, H.C., Grendell, J.H. and Rothman, S.S., 1982. Food, deodenal extracts, and enzyme secretion by the pancreas. *American Journal of Physiology*, 243: 304-312.
- Turley, C. and Gattuso, J.P., 2012. Future biological and ecosystem impacts of ocean acidification and their socioeconomic-policy implications. *Current Opinion in Environmental Sustainability*, 4(3): 278-286.
- Wickins, J.F., 1984. The effect of hypercapnic sea water on growth and mineralization in Penaeid prawns. *Aquaculture*, 41: 37-48.
- Worthington, T.M., 1982. Enzymes and related biochemicals. *Biochemical Products Division, Worthington Diagnostic System, Freehold, NJ, USA*, pp. 215-226.
- Wyk, P.V. and Scarpa, J., 1999. Water quality and management. In: Wyk, P.V., Davis-Hodkins, M., Laramore, R., Main, K.L., Mountain, J. and Scarpa, J. (Eds.). *Farming marine shrimp in recirculating freshwater systems*. Florida Department of Agriculture and Consumer Services, Tallahassee, pp. 141-162.