

## EFFECT OF OCEAN ACIDIFICATION ON GROWTH AND OXYGEN CONSUMPTION OF FALSE CLOWNFISH *Amphiprion ocellaris*

Nguyen Thi Hai Thanh<sup>1\*</sup>, Pham Phuong Linh<sup>1</sup>, Do Huy Hoang<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Nha Trang University, <sup>2</sup>Institute of Oceanography

ARTICLE INFO	ABSTRACT
<p><b>Received:</b> 12/10/2021</p> <p><b>Revised:</b> 28/01/2022</p> <p><b>Published:</b> 28/01/2022</p>	<p>There is widespread concern that increase of CO<sub>2</sub> levels affects essential physiological processes of many aquatic organisms, impact on marine diversity and ecosystem function. Yet the ability for coral reef fish at early life stage to adjust their growth, size-based hierarchies and metabolic rate to elevated CO<sub>2</sub> concentrations are limited. In this study, newly settling juvenile clownfish <i>Amphiprion ocellaris</i> were ranked, tagged and exposed to three different ocean acidification scenarios: control (present condition, PCO<sub>2</sub>403 μatm, pH 8.0), moderate acidification (PCO<sub>2</sub>806 μatm, pH 7.7), and high acidification (PCO<sub>2</sub>1445 μatm, pH 7.4). Fish growth (body weight and total length), size-based hierarchies and oxygen consumption were measured at the half and the end of 38 days of the experiment. Our results suggest juvenile <i>A. ocellaris</i> are tolerant of moderate increases in environmental CO<sub>2</sub>, but further acidification of the ocean have a significant effect on growth and initially induced the changes in relative size of a fish in rank. Energy cost for maintaining homeostasis in juvenile coral reef fish under ocean acidification might not result in an increase of the metabolic rate.</p>
<p><b>KEYWORDS</b></p> <p>Climate change</p> <p>Ocean acidification</p> <p>Clownfish</p> <p>Growth</p> <p>Oxygen consumption</p>	

## ẢNH HƯỞNG CỦA AXIT HÓA ĐẠI DƯƠNG LÊN SINH TRƯỞNG VÀ TỐC ĐỘ TIÊU HAO OXY CỦA CÁ KHOANG CỔ CAM *Amphiprion ocellaris*

Nguyễn Thị Hải Thanh<sup>1\*</sup>, Phạm Phương Linh<sup>1</sup>, Đỗ Hữu Hoàng<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Trường Đại học Nha Trang, <sup>2</sup>Viện Hải Dương học

THÔNG TIN BÀI BÁO	TÓM TẮT
<p><b>Ngày nhận bài:</b> 12/10/2021</p> <p><b>Ngày hoàn thiện:</b> 28/01/2022</p> <p><b>Ngày đăng:</b> 28/01/2022</p>	<p>Nồng độ CO<sub>2</sub> gia tăng ảnh hưởng đến các quá trình sinh lý thiết yếu của nhiều sinh vật dưới nước, tác động tới đa dạng sinh học và chức năng của hệ sinh thái. Tuy nhiên, khả năng điều chỉnh tốc độ tăng trưởng, cấu trúc đàn và tốc độ trao đổi chất nhằm thích nghi với nồng độ CO<sub>2</sub> cao của cá rạn san hô ở giai đoạn đầu đời vẫn còn nhiều hạn chế. Trong nghiên cứu này, cá hề cam <i>Amphiprion ocellaris</i> trong giai đoạn định cư được xếp hạng, đánh dấu và tiếp xúc với các mức axit hóa đại dương: mức đối chứng (PCO<sub>2</sub>403 μatm, pH 8,0), axit hóa vừa phải (PCO<sub>2</sub>806 μatm, pH 7,7) và axit hóa cao (PCO<sub>2</sub> 1445 μatm, pH 7,4). Sự tăng trưởng của cá (khối lượng và chiều dài toàn thân), xếp hạng cá và mức tiêu hao oxy được đo ở thời điểm giữa và cuối của thí nghiệm. Kết quả của chúng tôi chỉ ra rằng, cá con <i>A. ocellaris</i> có khả năng chịu được sự gia tăng ở mức vừa phải của nồng độ CO<sub>2</sub>, nhưng sự axit hóa hơn nữa của đại dương, có ảnh hưởng đáng kể đến sự sinh trưởng và bước đầu cảm ứng sự thay đổi thứ tự xếp hạng của cá trong quần thể. Chi phí năng lượng để duy trì cân bằng nội môi của cá rạn san hô ở giai đoạn phát triển sớm trong điều kiện axit hóa đại dương có thể không làm tăng tốc độ trao đổi chất.</p>
<p><b>TỪ KHÓA</b></p> <p>Biến đổi khí hậu</p> <p>Axit hóa đại dương</p> <p>Cá khoang cổ</p> <p>Sinh trưởng</p> <p>Tiêu hao oxy</p>	

DOI: <https://doi.org/10.34238/tnu-jst.5145>

\* Corresponding author. Email: thanhnth@ntu.edu.vn

## 1. Giới thiệu

Biến đổi khí hậu (BĐKH) đã và đang trở thành mối đe dọa cho đa dạng sinh học và các hệ sinh thái. Đại dương, với sự hấp thụ hơn 93% nhiệt lượng của Trái đất và khoảng 25% khí thải CO<sub>2</sub>, là nơi chịu ảnh hưởng nhiều nhất của BĐKH [1]. Sự hấp thụ CO<sub>2</sub> từ khí quyển vào bề mặt đại dương làm tăng nồng độ bicarbonat (HCO<sub>3</sub><sup>2-</sup>), và giảm nồng độ carbonate (CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>), dẫn đến sự giảm của pH đại dương, gây nên sự axit hoá đại dương (Ocean acidification - OA). Kịch bản biến đổi khí hậu của Ủy ban Liên chính phủ về biến đổi khí hậu ước tính rằng, với lượng khí thải CO<sub>2</sub> hiện nay đã làm giảm 0,1 đơn vị pH đại dương so với thời kỳ tiền công nghiệp. pH đại dương dự báo sẽ giảm thêm 0,3-0,4 đơn vị vào cuối thế kỷ này và giảm hơn 0,2 đơn vị trong 200-300 năm tiếp theo [1]. Axit hóa đại dương là một trong những mối đe dọa nghiêm trọng nhất đối với các sinh vật biển và chức năng của hệ sinh thái [2]. Tuy nhiên, mức độ phản ứng và ảnh hưởng của OA là khác nhau giữa các nhóm sinh vật, trong các giai đoạn phát triển, trong đó nhóm sinh vật biển có cấu trúc vỏ và bộ xương từ canxi được cho là bị ảnh hưởng bất lợi nhiều nhất [2].

Cá được xem là nhóm sinh vật ít nhạy cảm hơn với sự thay đổi của nồng độ carbonate nước biển do khả năng tự điều hòa cân bằng axit-bazo nội môi [3]. Tuy nhiên, cơ chế điều hòa này chưa phát triển hoàn thiện ở giai đoạn phát triển sớm, do đó cá con trở thành đối tượng dễ bị tổn thương bởi sự gia tăng của nồng độ CO<sub>2</sub> trong nước biển [4]. Các hiệu ứng dưới ngưỡng gây chết (sublethal effects) cũng đã ghi nhận khi ấu trùng và cá con tiếp xúc với nồng độ CO<sub>2</sub> cao trong nước nuôi [2].

Cá khoang cổ gồm 28 loài thuộc chi *Amphiprion* và *Premnas*, sống cộng sinh bắt buộc với hải quỳ trong các rạn san hô nhiệt đới và cận nhiệt [5]. Trong tự nhiên, cá khoang cổ sống với hải quỳ trong cấu trúc bầy đàn với trật tự rất nghiêm ngặt về kích thước, gồm một con cái có kích thước lớn nhất, theo sau là con đực với kích thước nhỏ hơn và 0-8 cá thể không sinh sản với kích thước nhỏ dần [6]. Ấu trùng của các loài này có giai đoạn sống trôi nổi (từ 11-15 ngày), sau đó trở về môi trường sống đáy nhằm tìm kiếm vật chủ hải quỳ và định cư [5]. Khả năng nhận biết các tín hiệu hoá học giúp chúng phát hiện và định vị vật chủ thích hợp để cộng sinh trong rạn san hô [5]. Tuy nhiên, nồng độ CO<sub>2</sub> cao trong nước biển đã gây nên các tổn thương khứu giác của cá khoang cổ, dẫn đến các rối loạn hành vi, như tăng mức độ táo bạo, tăng vận động, mất khả năng phát hiện kẻ thù và định vị các sinh cảnh thuận lợi trong rạn san hô, ảnh hưởng đến tỷ lệ sống và sinh trưởng của cá khoang cổ [7]. Ở mức CO<sub>2</sub> và nhiệt độ cao, cá con *A. percula* giảm khả năng tiêu thụ thức ăn và hoạt động kiếm mồi, do vậy mức sinh trưởng giảm. Sinh trưởng trong nước biển có lượng CO<sub>2</sub> hòa tan cao làm giảm chiều dài (9%) và khối lượng của cá con *A. percula* [6].

Tốc độ tiêu thụ oxy ( $\dot{M}O_2$ ) là thông số đầu vào của quá trình trao đổi chất hiếu khí, phản ánh nhu cầu năng lượng và sự sản sinh ATP [8]. Trong điều kiện OA, cá phải điều chỉnh nồng độ HCO<sub>3</sub> bên trong nhằm duy trì cân bằng nội môi, điều này có ảnh hưởng tới hoạt động của các kênh điều hòa ion cần năng lượng ATP [3]. Sự điều chỉnh nhằm duy trì cân bằng axit-bazo trong điều kiện nồng độ CO<sub>2</sub> cao được cho làm tăng tốc độ trao đổi chất, giảm tỷ lệ sống, sức sinh sản, sinh trưởng và phát triển của cá [3]. Mặc dù vậy, cho tới thời điểm hiện tại, các nghiên cứu chỉ ra sự đa dạng trong phản ứng trao đổi chất của cá đối với sự thay đổi nồng độ CO<sub>2</sub> trong nước nuôi, từ giảm [7] tới tăng [3] hoặc không thay đổi tốc độ trao đổi chất [9], [10]. Trong khi đó, các nghiên cứu về mức tiêu hao oxy trên cá khoang cổ ở giai đoạn định cư (newly settling juvenile) và sự liên hệ với khả năng sinh trưởng trong điều kiện OA còn nhiều hạn chế. Trong nghiên cứu này, chúng tôi đánh giá khả năng thích nghi của cá con *A. ocellaris* ở giai đoạn định cư với nồng độ CO<sub>2</sub> cao trong nước biển, thông qua khả năng sinh trưởng, sự phân cấp đàn và tốc độ trao đổi chất (qua tốc độ tiêu hao oxy) của cá con.

## 2. Phương pháp nghiên cứu

### 2.1. Nuôi cá bố mẹ, ấp nở và chăm sóc cá con *A. ocellaris*

Các cặp cá bố mẹ *A. ocellaris* được thu tại vùng biển Nha Trang – Khánh Hòa, được nuôi trong các bể kính 70 L có đặt một chậu hoa làm giá thể. Cá được ăn bằng thức ăn sống là hỗn hợp trộn giữa tôm, mực, hào, bổ sung thêm thức ăn công nghiệp và vitamin. Sau 6 tháng nuôi trong phòng thí nghiệm, cá bắt đầu đẻ trứng. Các thông số môi trường trong bể nuôi cá bố mẹ (nhiệt độ, oxy hòa tan, pH, độ mặn, nitrate, amoniac và phosphate) được duy trì ổn định trong suốt thời gian thí nghiệm [11]. Ấu thể *A. ocellaris* được ăn luân trùng *Brachionus* sp. và tảo từ ngày thứ 1, *Artemia* sp. mới nở được đưa vào từ ngày thứ 5, cho tới khi ấu trùng chỉ được cho ăn *Artemia* với mật độ 5 cá thể/ml. Cá từ sau khi nở tới giai đoạn xuống đáy (11-15 ngày tuổi) sẽ được nuôi các bể 160L của hệ thống bán tuần hoàn [11].

## 2.2. Mô phỏng axit hóa đại dương trong phòng thí nghiệm

Sự thay đổi pH nước biển trong tương lai, bao gồm pH 7,7 (tương đương với mức  $PCO_2$  806  $\pm$ 85  $\mu$ atm, kích bản xấu của biển đổi khí hậu cuối thế kỷ 21) và pH 7,4 (tương đương với mức  $PCO_2$  1447  $\pm$ 123  $\mu$ atm, kích bản xấu của biển đổi khí hậu cuối thế kỷ 22) [1]. Sự thay đổi này được mô phỏng bằng hệ thống tự động hòa tan khí  $CO_2$  vào nước biển thông qua bộ điều khiển pH (pH controller) [12]. Giá trị pH được kiểm tra hằng ngày bằng đầu dò pH (HQ40D – HACH), hiệu chỉnh lại bằng phương pháp đo quang học, sử dụng chất nhuộm màu m-cresol; độ kiềm tổng được hiệu chỉnh 2 lần mỗi tuần [12]. Độ muối được kiểm soát và duy trì ở 31-32 ppt, nhiệt độ được duy trì ở 30 - 31°C. Các thông số môi trường của các nghiệm thức xử lý  $CO_2$  được trình bày trong Bảng 1.

**Bảng 1.** Các thông số môi trường trong các nghiệm thức xử lý  $CO_2$ . Nhiệt độ, độ muối và pH được đo hằng ngày; độ kiềm được đo 2 lần một tuần.  $PCO_2$  được tính tự động bằng phần mềm  $CO_2SYS$ . Giá trị của các thông số là giá trị trung bình  $\pm$  độ lệch chuẩn

Nghiệm thức $CO_2$	Nhiệt độ (°C)	Độ muối (ppt)	pH tổng số	Độ kiềm tổng số ( $\mu$ mol $kg^{-1}$ )	$pCO_2$ (uatm)
Đối chứng	30,5 $\pm$ 0,7	31,8 $\pm$ 0,5	7,96 $\pm$ 0,02	1911 $\pm$ 123	403 $\pm$ 67
Mức trung bình	30,6 $\pm$ 0,6	31,1 $\pm$ 0,3	7,66 $\pm$ 0,03	1721 $\pm$ 117	806 $\pm$ 85
Mức cao	30,6 $\pm$ 0,6	31,1 $\pm$ 0,3	7,41 $\pm$ 0,02	1658 $\pm$ 109	1447 $\pm$ 123

## 2.3. Bố trí thí nghiệm nghiên cứu ảnh hưởng của axit hóa đại dương lên sinh trưởng và hô hấp của cá con *A. ocellaris*

Cá con *A. ocellaris* ở giai đoạn xuống đáy (15 ngày tuổi) được chia vào các nghiệm thức có được xử lý  $CO_2$  ở các mức nồng độ: mức trung bình  $PCO_2 = 403 \pm 67$   $\mu$ atm và pH đối chứng ( $PCO_2 = 403 \pm 67$   $\mu$ atm). Do sự phân cấp về cấu trúc bày đàn theo kích thước ngay ở giai đoạn xuống đáy [11], [13], cá con *A. ocellaris* được phân nhóm theo khối lượng và kích thước, 6 cá thể được lựa chọn, trong đó 2 con cỡ lớn (hạng L), 3 con cỡ trung bình (hạng M) và 1 con cỡ nhỏ (hạng S). Cá được đánh dấu mã vạch (ID) nhằm theo dõi sự sinh trưởng và mức độ tiêu hao oxy của từng cá thể trong suốt quá trình thí nghiệm. Cá được nuôi trong các bể tròn thể tích 10 L, mỗi nghiệm thức lặp lại 5 lần. Thức ăn của cá con là ấu trùng *Artemia* mới nở, mật độ thức ăn theo công thức hạn chế là 100 con/L, cho cá ăn vào 9h mỗi buổi sáng. Thí nghiệm kéo dài 38 ngày, cá được theo dõi tốc độ sinh trưởng và kiểm tra sự tiêu hao oxy vào ngày thứ 18 (cá 33 ngày tuổi) và ngày thứ 38 (cá 53 ngày tuổi).

## 2.4. Cân khối lượng ướt và đánh dấu cá con *Amphiprion ocellaris*

Cá con *A. ocellaris* được cân khối lượng, đo kích thước bằng quy trình cân khối lượng ướt không gây hại cho ấu thể [14]. Cá sau khi gây mê hoàn toàn bằng MS-222 được chụp hình bằng camera L3CMO kết nối với kính soi nổi Olympus SZ61. Kích thước của cá con được tính bằng chiều dài toàn thân, được đo đặc vào ngày đầu tiên của thí nghiệm (cá con 15 ngày tuổi) và ngày kết thúc thí nghiệm (cá con 53 ngày tuổi) trên phần mềm ImageJ. Cá con được đánh dấu bằng bộ

kit Tag (Visible Implant Elastomer Tags) (Northwest Marine Technology; [www.nmt.com](http://www.nmt.com)) phù hợp với cá nhỏ. Vết đánh dấu được tiêm ngay dưới lớp biểu bì, ở vị trí dưới vây lưng [11].

### 2.5. Đo tiêu hao oxy của cá con trong hệ thống kín

Quy trình đo tiêu hao oxy của cá con *A. ocellaris* được thực hiện trên hệ thống kín máy đo oxy quang học FireSting-O<sub>2</sub> (Pyroscience). Mỗi con cá lần lượt được xác định sự tiêu hao oxy bằng cách đưa cá vào ống đo oxy. Biến động của nồng độ oxy trong nước được ghi lại liên tục theo thời gian (mgO<sub>2</sub>L<sup>-1</sup>s<sup>-1</sup>). Sự tiêu hao oxy của cá được tính bằng độ giảm oxy trong ống đo theo thời gian sau khi đã loại trừ sự tiêu hao oxy trong ống do vi khuẩn và sự hao hụt oxy tự nhiên [15]. Sau khi đo tiêu hao oxy, cá được gây mê để xác định khối lượng và đo kích thước. Sự tiêu hao oxy của cá được xác định bằng công thức sau:  $MO_2(\text{mgg}^{-1}.\text{h}^{-1}) = (\Delta DO_T - \Delta DO_B) * BW^{-1} * 3600 * V$ . Trong đó,  $\Delta DO_T$  và  $\Delta DO_B$  là độ giảm nồng độ oxy trên mỗi giây trong ống đo oxy chứa cá con và ống đối chứng (mgO<sub>2</sub>L<sup>-1</sup>s<sup>-1</sup>); BW: Khối lượng ướt của cá (g) V: Thể tích ống đo oxy (L) và 3600 là hệ số chuyển đổi thời gian từ giây (s) sang giờ (h).

### 2.6. Phân tích số liệu

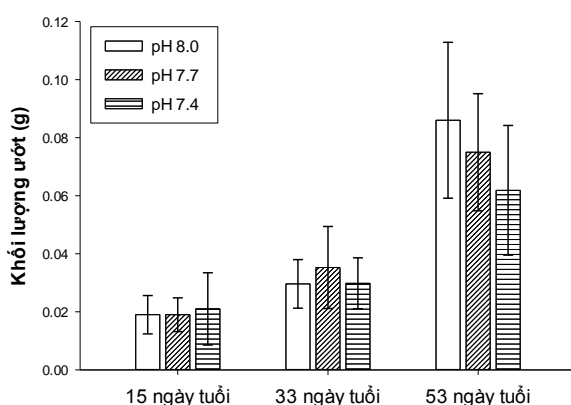
Để kiểm tra ảnh hưởng của pH nước nuôi tới khả năng sinh trưởng của cá con *A. ocellaris* theo thời gian, mô hình hiệu ứng hỗn hợp tuyến tính (Linear mixed effect model) tái đo lường (repeated measurement) thực hiện trên nền thống kê R ([www.r-project.org](http://www.r-project.org)). Độ lặp lại của các bề thí nghiệm được xem như yếu tố ngẫu nhiên (random effect), trong khi đó xếp hạng cá (size L, M, S); tuổi của cá, nghiệm thức được xem như các yếu tố cố định (fixed effects). Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các yếu tố sau đó được kiểm định lại bằng phân tích hậu định Emmeans cho mô hình tuyến tính hỗn hợp. Tiêu hao oxy của cá con *A. ocellaris* trong các nghiệm thức xử lý CO<sub>2</sub> theo thời gian được phân tích bằng phương sai hai nhân tố (Two ways ANOVA).

## 3. Kết quả và bàn luận

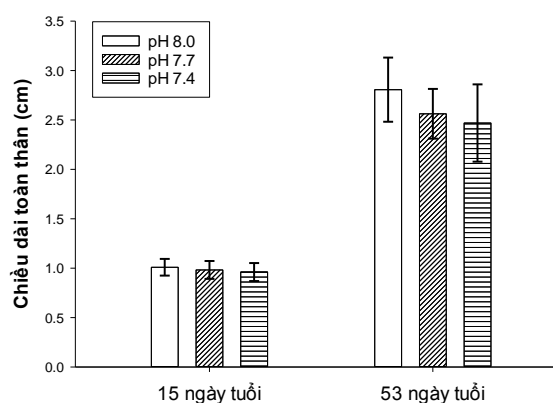
### 3.1. Sinh trưởng của cá con *Amphiprion ocellaris* trong môi trường nước nuôi axit

#### 3.1.1. Sinh trưởng của cá con *A. ocellaris* trong môi trường nước nuôi axit

Khối lượng của cá con *A. ocellaris* theo ngày tuổi trong các xếp hạng ở các nghiệm thức được biểu diễn trong Hình 1. Khối lượng cá con có sự khác biệt đáng kể theo ngày tuổi, trong các xếp hạng cá (Age,  $p < 0,001$ ; Rank,  $p < 0,001$ ), nhưng không khác biệt giữa các nghiệm thức pH (Treatment,  $p > 0,05$ ). Có sự tương tác giữa ngày tuổi của cá con với khối lượng của các xếp hạng cá con (Age+Rank,  $p < 0,05$ ), tuy nhiên không có sự tương tác nào giữa tuổi của cá với nghiệm thức CO<sub>2</sub> (Age+Treatment,  $p > 0,05$ ) hay là sự tương tác giữa xếp hạng của cá với nghiệm thức CO<sub>2</sub>, và giữa ngày tuổi, xếp hạng và nghiệm thức CO<sub>2</sub> (Rank+Treatment,  $p > 0,05$ ; Age+Rank+Treatment,  $p > 0,05$  – phụ lục I.1). Phân tích riêng rẽ từng giai đoạn, chúng tôi nhận thấy khối lượng cá con ở giai đoạn đầu thí nghiệm, sau 18 ngày nuôi trong nước axit (cá con *A. ocellaris* ngày tuổi 33) chưa có sự khác biệt đáng kể so với cá con nuôi trong nước biển thông thường ( $p = 0,256 > 0,05$  – phụ lục I.3). Tuy nhiên tới giai đoạn sau của thí nghiệm (cá con 53 ngày tuổi), khối lượng trung bình của cá con nuôi trong môi trường nước axit có khác biệt đáng kể so với đối chứng ( $p = 0,049 < 0,05$  – phụ lục I.4). Cá nuôi ở pH 7,4 là 0,062g  $\pm$  0,02, bằng 82,4% so với cá con nuôi ở pH 7,7 (khối lượng 0,075g  $\pm$  0,022) và chỉ bằng 71,9% so với lô đối chứng (pH 8,0 – khối lượng 0,086g  $\pm$  0,026). Sự khác biệt về khối lượng của cá con ở pH 7,4 so với pH 8,0 là có ý nghĩa thống kê (DC-EX,  $p = 0,049 < 0,05$  – phụ lục I.4), trong khi không có sự khác biệt giữa cá con nuôi ở pH 7,7 với pH nước biển thông thường, hoặc là giữa pH 7,7 với pH 7,4 (DC-TN,  $p = 0,66 > 0,05$  và TN-EX,  $p = 0,25 > 0,05$  – phụ lục I.4).



**Hình 1.** Khối lượng theo ngày tuổi của cá con *A. ocellaris* trong môi trường nước nuôi axit



**Hình 2.** Chiều dài toàn thân theo ngày tuổi của cá con *A. ocellaris* trong môi trường nước nuôi axit

Chiều dài toàn thân của cá con *A. ocellaris* (Hình 2) có xu hướng thay đổi tương tự như khối lượng: Không có sự tương tác về chiều dài toàn thân giữa các xếp hạng cá với ngày tuổi và giữa các nghiệm thức pH (Age+Rank+Treatment,  $p=0,098 > 0,05$ , phụ lục II.1), nhưng ở thời điểm cuối của thí nghiệm, có sự khác biệt giữa các nghiệm thức cá con ở pH 7,4 so với pH 8,0 (DC-EX  $p=0,0096 < 0,05$  – phụ lục II.3).

Khối lượng và chiều dài toàn thân của cá con *A. ocellaris* ở nồng độ  $CO_2$  cao ( $PCO_2 = 1447 \pm 123 \mu atm$ ), tại thời điểm kết thúc thí nghiệm thấp hơn đáng kể so với lô đối chứng, cho thấy ảnh hưởng của nước nuôi axit đối với sinh trưởng của cá con. Sự ảnh hưởng này cũng được ghi nhận trong các nghiên cứu trước đó về cá biển [6], [9], [16]. Cá con *A. melanopus* của các cặp cá bố mẹ nuôi trong nước biển thông thường, sau 40 ngày nuôi trong nước biển giàu  $CO_2$  ( $PCO_2 = 1000 \mu atm$ ) có chiều dài tiêu chuẩn, cân nặng và hệ số sinh trưởng giảm đáng kể so với lô đối chứng [16]. Cá con *A. percula* giảm 9% chiều dài tiêu chuẩn và 11% cân nặng so với lô đối chứng sau 50 ngày nuôi trong nước nuôi axit [11].

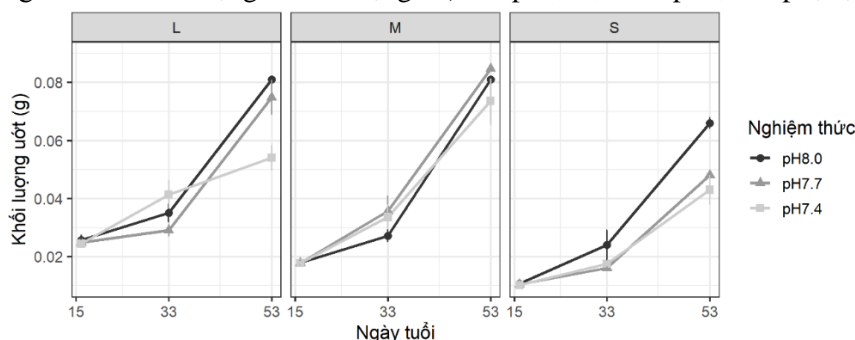
Sự giảm khối lượng và chiều dài tổng số của cá con *A. ocellaris* 53 ngày tuổi trong nghiên cứu của chúng tôi đối lập với sự tăng về chiều dài và khối lượng của ấu thể *A. percula* 11 ngày tuổi trong nước nuôi có nồng độ  $CO_2$  cao [7]. Tuy nhiên, các thí nghiệm này đều tiến hành trên giai đoạn ấu thể, là thời điểm cá được cung cấp thức ăn liên tục và theo nhu cầu. Nguồn thức ăn dồi dào cho phép chúng vượt qua các tác động bất lợi đến sinh trưởng của việc tăng nồng độ  $CO_2$  [16]. Ngược lại, cá con trong nghiên cứu của chúng tôi chỉ được cho ăn khẩu phần ăn hạn chế trong ngày. Việc giảm khả năng tiếp cận với nguồn thức ăn của cá con so với giai đoạn ấu thể có thể khiến cho tác động của việc tăng nồng độ  $CO_2$  đến sinh trưởng trở nên rõ ràng hơn [4].

### 3.1.2. Sự phân cấp trong đàn *A. ocellaris* trong các nghiệm thức axit hóa

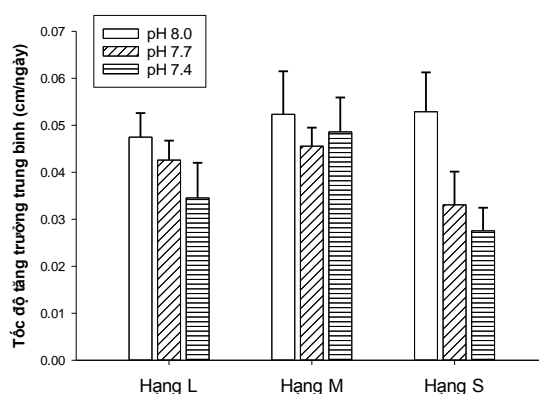
Sự phân cấp về khối lượng và chiều dài toàn thân đã bắt đầu ở thời điểm cá con *A. ocellaris* 15 ngày tuổi ( $p < 0,05$  – phụ lục I.2 và II.2). Khối lượng của các xếp hạng cá (L, M và S) đều tăng theo ngày tuổi (Hình 3). Trong suốt thời gian thí nghiệm, khối lượng của các xếp hạng cá khác biệt có ý nghĩa thống kê theo ngày tuổi (Age+Rank,  $p < 0,05$ ), nhưng không khác biệt giữa các nghiệm thức pH (Rank+Treatment,  $p > 0,05$ ). Tương tự, tốc độ tăng trưởng về khối lượng của các xếp hạng cá không khác biệt theo thời gian và giữa các nghiệm thức pH (Age+Rank+Age,  $p = 0,5479 > 0,05$  - phụ lục III.1).

Đối với chiều dài toàn thân, một số xếp hạng cá con *A. ocellaris* có sự thay đổi theo nghiệm thức xử lý  $CO_2$ : cá lớn (hạng L) và cá nhỏ (hạng S) đều có xu hướng tăng trưởng chậm hơn khi nuôi trong nước nuôi axit (pH 7,7 và pH 7,4 so với đối chứng pH 8,0 - Hình 4); cá trung bình tăng trưởng tương đối đồng đều ở cả 3 nghiệm thức pH - Hình 4). Trong môi trường nước biển đối

chúng và xử lý CO<sub>2</sub> ở mức trung bình, tốc độ tăng trưởng của các xếp hạng cá không có sự chênh lệch đáng kể ( $p > 0,05$  – phụ lục III.2); trong khi đó, ở mức cao ( $PCO_2 1445 \mu\text{atm}$ ), cá hạng M có tốc độ tăng trưởng nhanh hơn cá hạng L và cá hạng S (M-L  $p < 0,01$ ; M-S,  $p < 0,01$  – phụ lục III.2).



**Hình 3.** Khối lượng theo ngày tuổi của các xếp hạng cá con *A. ocellaris* nuôi trong các môi trường pH



**Hình 4.** Tốc độ tăng trưởng chiều dài toàn thân của các xếp hạng cá con *A. ocellaris* trong các môi trường pH

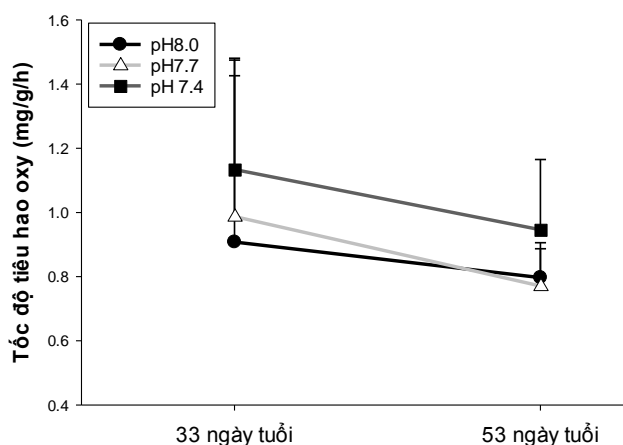
Như vậy, khối lượng và chiều dài toàn thân của các xếp hạng cá con trong nghiên cứu của chúng tôi không phụ thuộc vào điều kiện pH môi trường nước nuôi. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của McMahan và cộng sự (2019), nồng độ CO<sub>2</sub> theo kịch bản mức trung bình ( $PCO_2 806 \mu\text{atm}$ ) kết hợp với chế độ dinh dưỡng hạn chế làm giảm chiều dài và khối lượng của cá con *A. percula*, nhưng không ảnh hưởng tới kích thước tương đối của các xếp hạng cá [11]. Điều này chứng tỏ tính tương đối bền vững về cấp bậc xã hội của loài cá khoang cổ *A. percula* với sự thay đổi của điều kiện môi trường [6]. Trong tự nhiên, quần thể cá khoang cổ *A. percula* sống chung hải quỳ, với trật tự cấu trúc bầy đàn về khối lượng được duy trì hết sức chặt chẽ; cấu trúc này chỉ thay đổi khi một cá thể tại xếp hạng của nó bị biến mất, cá thể ở xếp hạng bên cạnh được phép lớn lên để thay thế cho xếp hạng đã mất đi [13].

Tuy nhiên, trong môi trường xử lý CO<sub>2</sub> mức cao ( $pCO_2 1447 \mu\text{atm}$ ), nghiên cứu của chúng tôi cũng chỉ ra tốc độ tăng trưởng chiều dài toàn thân của cá con hạng M cao hơn đáng kể so cá hạng L và S. Nếu kéo dài thời gian thí nghiệm, rất có thể tính bền vững tương đối của trật tự xếp hạng trong quần đàn sẽ bị thay đổi. Theo Phạm Phương Linh và cộng sự, điều kiện nhiệt độ cao (32°C) cảm ứng sự phân cấp của quần đàn *A. ocellaris* qua tăng sự biến động về hệ số sinh trưởng [17]. Xếp hạng của cá con *A. ocellaris* phụ thuộc vào vật chủ hải quỳ, khi vật chủ ưa thích bị thay đổi, các xếp hạng cá cũng sẽ bị biến động theo [11].

### 3.2. Tiêu hao oxy của cá con *Amphiprion ocellaris* trong môi trường nước nuôi axit

Tại thời điểm 33 ngày tuổi, cá con *A. ocellaris* nuôi trong nước biển thông thường có tốc độ tiêu hao oxy trung bình là  $0,91 \pm 0,51 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ , thấp hơn không đáng kể so với mức hô hấp của

cá nuôi trong pH 7,7 là  $0,98 \pm 0,48 \text{ mg.g}^{-1}.\text{h}^{-1}$  và pH 7,4 là  $1,13 \pm 0,35 \text{ mg.g}^{-1}.\text{h}^{-1}$  (Hình 5). Cá con tại thời điểm 53 ngày tuổi có mức tiêu thụ oxy thấp hơn so với cá con 33 ngày tuổi, đạt mức  $0,79 \pm 0,09 \text{ mg.g}^{-1}.\text{h}^{-1}$ ,  $0,77 \pm 0,13 \text{ mg.g}^{-1}.\text{h}^{-1}$  và  $0,94 \pm 0,22 \text{ mg.g}^{-1}.\text{h}^{-1}$  tương ứng ở các nghiệm thức đối chứng, pH 7,7 và pH 7,4. Tuy nhiên, mức tiêu thụ oxy của cá con không khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa ngày tuổi của cá và giữa các nghiệm thức xử lý  $\text{CO}_2$ ; đồng thời không có tương tác giữa tuổi của cá với nghiệm thức xử lý  $\text{CO}_2$  ( $p > 0,05$  – phụ lục IV).



**Hình 5.** Tiêu hao oxy theo độ tuổi của cá con *A. ocellaris* trong môi trường nước nuôi axit

Như vậy, nghiên cứu chỉ ra sự tăng của nồng độ  $\text{CO}_2$  trong môi trường nước nuôi không ảnh hưởng tới sự tiêu hao oxy của cá con *A. ocellaris*, kết quả này tương đồng với nhiều nghiên cứu trước đó trên cá biển [8], [10], [18]. Cá rạn san hô *Acanthochromis polyacanthus* có mức hô hấp (chênh lệch giữa mức tiêu hao oxy tối đa  $\text{MO}_{2\text{Max}}$  và tiêu hao oxy lúc nghỉ  $\text{MO}_{2\text{Rest}}$ ) không khác biệt so với đối chứng khi nuôi trong nước biển giàu  $\text{CO}_2$ , mặc dù nhiệt độ tăng làm giảm đáng kể mức hô hấp của cá [18]. Mức độ vận động cao của cá con *A. polyacanthus* nuôi trong điều kiện giàu  $\text{CO}_2$  không dẫn tới sự khác biệt về tốc độ tiêu hao oxy so với nhóm đối chứng [9]. Nghiên cứu của Okomoda và cộng sự cũng chỉ ra sự không khác biệt về mức tiêu thụ oxy trên cá mú hoa nâu *Ephinephelus fuscoguttatus* trong nước biển axit so với nước biển thông thường [10].

Sự gia tăng chi phí năng lượng cho việc điều hòa axit – bazơ trong môi trường có nồng độ  $\text{CO}_2$  cao được dự đoán là sẽ làm tăng quá trình trao đổi chất, giảm sinh trưởng và phát triển của cá [8]. Nghiên cứu của chúng tôi chỉ ra tác động của nồng độ cao  $\text{CO}_2$  trong nước nuôi làm giảm khối lượng và chiều dài toàn thân của cá con *A. ocellaris*, nhưng ảnh hưởng không đáng kể tới tốc độ tiêu hao oxy – thông số đầu vào của quá trình trao đổi chất. Sự gián đoạn này cũng được tìm thấy ở cá con *A. polyacanthus* nuôi trong nước biển có nồng độ  $\text{CO}_2$  cao, cá tăng mức độ vận động, nhưng không tăng mức tiêu hao oxy [9]. Sự khác biệt về mặt sinh trưởng của cá có quan hệ với hiệu quả của hoạt động tiêu hóa [4]. Ở mức  $\text{PCO}_2$  cao, hoạt độ của các enzyme tiêu hóa (amylase, trypsin, phosphatase kiềm và aminopeptidase N) có xu hướng giảm. Có thể vì vậy, hiệu quả tích lũy năng lượng là thấp hơn ở các nhóm cá con nuôi trong nghiệm thức  $\text{PCO}_2$  cao, dẫn tới sinh trưởng giảm. Hơn nữa, mức tiêu hao oxy cao được cho là có lợi trong điều kiện thức ăn dồi dào, nhưng ít có tác dụng trong điều kiện nguồn thức ăn hạn chế [18]. Trong thí nghiệm của chúng tôi, cá con *A. ocellaris* được ăn bằng chế độ thức ăn hạn chế, có thể vì vậy đã không quan sát được các thay đổi đáng kể về mức độ trao đổi chất.

#### 4. Kết luận

Trong môi trường nước nuôi giàu  $\text{CO}_2$ , cá con *A. ocellaris* ở giai đoạn định cư có khả năng chịu được sự gia tăng ở mức vừa phải của nồng độ  $\text{CO}_2$ . Tuy nhiên, sự axit hóa hơn nữa của đại

đương làm giảm đáng kể khối lượng, chiều dài toàn thân của cá con và cảm ứng sự thay đổi trật tự các xếp hạng cá dựa trên kích thước. Chi phí năng lượng để duy trì cân bằng nội môi của cá rạn san hô ở giai đoạn phát triển sớm trong điều kiện axit hóa đại dương không làm tăng tốc độ trao đổi chất của cá.

### Lời cảm ơn

Nghiên cứu được tài trợ bởi Đại học Nha Trang, thông qua đề tài cấp Trường, mã số TR2020-13-13.

### TÀI LIỆU THAM KHẢO/ REFERENCES

- [1] IPCC, *Six assessment report, Regional fact sheet - Asian*, pp. 8-9, 2021.
- [2] C. Cattano, F. Giomi, and M. Milazzo, "Effects of ocean acidification on embryonic respiration and development of a temperate wrasse living along a natural CO<sub>2</sub> gradient," *Conserv. Physiol.*, vol. 4, no. 1, pp. cov073-cov073, 2016.
- [3] R. M. Heuer and M. Grosell, "Physiological impacts of elevated carbon dioxide and ocean acidification on fish," *Am. J. Physiol. Integr. Comp. Physiol.*, vol. 307, no. 9, pp. R1061-R1084, 2014.
- [4] L. Cominassi *et al.*, "Food availability modulates the combined effects of ocean acidification and warming on fish growth," *Sci. Rep.*, vol. 10, no. 1, p. 2338, 2020.
- [5] D. G. Fautin and G. R. Allen, *Anemone Fishes and their Host Anemones: a guide for aquarists and divers*. Perth, WA: Western Australian Museum, 1997.
- [6] S. J. McMahon, P. L. Munday, M. Y. L. Wong, and J. M. Donelson, "Elevated CO<sub>2</sub> and food ration affect growth but not the size-based hierarchy of a reef fish," *Sci. Rep.*, vol. 9, no. 1, p. 19706, 2019.
- [7] P. L. Munday, V. Hernaman, D. L. Dixson, and S. R. Thorrold, "Effect of ocean acidification on otolith development in larvae of a tropical marine fish," *Biogeosciences*, vol. 8, no. 6, pp. 1631-1641, 2011.
- [8] S. Lefevre, "Effects of high CO<sub>2</sub> on oxygen consumption rates, aerobic scope and swimming performance," in *Carbon Dioxide*, vol. 37, M. Grosell, P. L. Munday, A. P. Farrell, and C. J. B. T.-F. P. Brauner, Eds. Academic Press, 2019, pp. 195-244.
- [9] J. Sundin, M. Amcoff, F. Mateos-González, G. D. Raby, and T. D. Clark, "Long-term acclimation to near-future ocean acidification has negligible effects on energetic attributes in a juvenile coral reef fish," *Oecologia*, vol. 190, no. 3, pp. 689-702, 2019.
- [10] V. T. Okomoda *et al.*, "Environmental effects on the oxygen consumption rate in juvenile *Epinephelus fuscoguttatus* (Forsskal, 1775)," *Fish Physiol. Biochem.*, vol. 46, no. 4, pp. 1497-1505, 2020.
- [11] H. -T. T. Nguyen, A. -N. T. Tran, L. T. L. Ha, D. N. Ngo, B. T. Dang, and A. J. Geffen, "Host choice and fitness of anemonefish *Amphiprion ocellaris* (Perciformes: Pomacentridae) living with host anemones (Anthozoa: Actiniaria) in captive conditions," *J. Fish Biol.*, vol. 94, no. 6, pp. 937-947, 2019.
- [12] E. Sperfeld, A. Mangor-Jensen, and P. Dalpadado, "Effect of increasing sea water pCO<sub>2</sub> on the northern Atlantic krill species *Nyctiphanes couchii*," *Mar. Biol.*, vol. 161, no. 10, pp. 2359-2370, 2014.
- [13] E. Iwata, Y. Nagai, M. Hyoudou, and H. Sasaki, "Social Environment and Sex Differentiation in the False Clown Anemonefish, *Amphiprion ocellaris*," *Zoolog. Sci.*, vol. 25, no. 2, pp. 123-128, 2008.
- [14] S. Krejszefz *et al.*, "Procedure for harmless estimation of fish larvae weight," *Ital. J. Anim. Sci.*, vol. 12, no. 2, pp. 270-274, 2013.
- [15] T. Norin, S. C. Mills, A. Crespel, D. Cortese, S. S. Killen, and R. Beldade, "Anemone bleaching increases the metabolic demands of symbiont anemonefish," *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.*, vol. 285, no. 1876, p. 20180282, 2018.
- [16] G. M. Miller, S. -A. Watson, J. M. Donelson, M. I. McCormick, and P. L. Munday, "Parental environment mediates impacts of increased carbon dioxide on a coral reef fish," *Nat. Clim. Chang.*, vol. 2, no. 12, pp. 858-861, 2012.
- [17] L. P. Pham, A. -E. O. Jordal, M. V. Nguyen, and I. Rønnestad, "Food intake, growth, and expression of neuropeptides regulating appetite in clown anemonefish (*Amphiprion ocellaris*) exposed to predicted climate changes," *Gen. Comp. Endocrinol.*, vol. 304, p. 113719, 2021.
- [18] T. D. Laubenstein, J. L. Rummer, M. I. McCormick, and P. L. Munday, "A negative correlation between behavioural and physiological performance under ocean acidification and warming," *Sci. Rep.*, vol. 9, no. 1, p. 4265, 2019.