

ẢNH HƯỞNG CỦA LIỀU LƯỢNG HORMONE GnRHa VÀ DHA Selco BỔ SUNG VÀO THỨC ĂN ĐẾN KÍCH THÍCH QUÁ TRÌNH THÀNH THỰC SỚM Ở CÁ SONG DA BẢO (*Plectropomus leopardus* Laepède, 1802)

Nguyễn Anh Hiếu^{1,*}, Phạm Quốc Hùng², Nguyễn Hữu Ninh³, Nguyễn Văn Hùng⁴

¹ Viện Nuôi trồng Thủy sản, Trường Đại học Nha Trang

² Trường Đại học Nha Trang

³ Vụ Khoa học, Công nghệ và Môi trường, Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn

⁴ Viện Nghiên cứu Nuôi trồng thủy sản III

*Email: nahieu.most@gmail.com

TÓM TẮT

Nghiên cứu này được thực hiện với 2 thí nghiệm nhằm mục đích đánh giá hiệu quả của việc áp dụng 2 phương pháp kích thích thúc đẩy quá trình thành thực sớm ở cá song da bảo (*Plectropomus leopardus*) bố mẹ gồm cấy hormone GnRHa và bổ sung DHA Selco vào thức ăn ngay sau khi kết thúc mùa vụ sinh sản. Thí nghiệm 1 được bố trí với 4 nghiệm thức tương ứng với 3 liều lượng hormone GnRHa (25, 50, 70 µg/kg) và nghiệm thức đối chứng (không có hormone). Thí nghiệm 2 được bố trí với 1 nghiệm thức thí nghiệm (có bổ sung DHA Selco vào thức ăn) và một nghiệm thức đối chứng (không bổ sung DHA Selco). Các thí nghiệm được bố trí bằng phương pháp ngẫu nhiên hoàn toàn (CRD). Kết quả cho thấy, kích thích cá song da bảo bằng phương pháp cấy hormone GnRHa đã thúc đẩy thời gian thành thực sớm hơn bình thường, với tỷ lệ thành thực >40%. Kết quả cũng chỉ ra rằng, kích thích ở liều 25 hoặc 50 µg/kg đã giảm tỷ lệ dị hình so với ở liều 75 µg/kg. Ngược lại, tỷ lệ thành thực của cá bố mẹ ở lô đối chứng thấp (13,3%), nhưng không tham gia sinh sản. Ở thí nghiệm 2, bổ sung axit béo không no DHA vào thức ăn kết hợp kích thích bằng hormone GnRHa ở liều 50 µg/kg đã thúc đẩy thời gian thành thực sớm lên đến 70%, đạt tỷ lệ đẻ 87,5% và nâng cao tỷ lệ sống của ấu trùng 5 ngày tuổi.

Từ khoá: DHA Selco, hormone GnRHa, thành thực, cá song da bảo.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cá song da bảo *Plectropomus leopardus* (Laepède, 1802) là loài cá dữ ăn thịt trong số các loài phân bố ở rạn san hô, phân bố chủ yếu từ Tây Thái Bình Dương đến Đông Phi và Biển Đỏ [1], cá có giá trị kinh tế cao, có triển vọng trong nuôi trồng thủy sản [2]. Loài này đã trở thành một trong những giống cá song quan trọng với triển vọng thị trường rộng lớn và cũng là một trong 10 loài cá được ưa chuộng nhiều nhất ở Đông Nam Á [3]. Để phát triển thành đối tượng thương mại, kiến thức về sinh học, sinh sản của loài cá này là điều cần thiết để quản lý phát triển bền vững, nhưng thông tin về loài này vẫn còn hạn chế. Hầu hết các loài cá song đều có khả năng thay đổi giới

tính, số lượng con đực ít hơn so với con cái trong quần đàn, phù hợp với quá trình chuyển đổi giới tính [3]. Sembiring và cs (2013) [4] cho rằng, sự thành công của sản xuất giống cá song phụ thuộc vào nguồn cá bố mẹ đủ tiêu chuẩn. Giống như các loài cá song khác, cá song da bảo cũng là loài lưỡng tính. Theo Melianawati và cs. (2013) [2], việc cho sinh sản thành công loài cá có giá trị kinh tế này vẫn còn một số vấn đề cần khắc phục để nâng cao tỷ lệ sống của ấu trùng và cải thiện chất lượng đàn cá bố mẹ.

Việc sử dụng hormone để thúc đẩy sự thành thực sớm ở cá cái và việc chuyển đổi giới tính thành đực hóa diễn ra nhanh hơn. Tỷ lệ thụ tinh của cá song da bảo thế hệ đầu tiên từ cá bố mẹ tự

nhiên trong bể nuôi tương đối thấp (10 – 35%) do chức năng sản xuất tinh trùng của con đực kém đã làm giảm mức độ thụ tinh cho trứng. Bằng việc áp dụng hormone 17a-MT đã tăng tỷ lệ thụ tinh và nở trứng lên đáng kể [4]. Nghiên cứu khác, dựa trên sự phát triển của tuyến sinh dục quan sát được, chiều dài và khối lượng khi trưởng thành lần đầu tương ứng là 37,7 cm và 759 g, mùa vụ sinh sản xảy ra vào khoảng từ tháng 9 - 4, với mùa sinh sản chính vào tháng 11 và 12 [5]. Cá song da báo được cho là sẽ sinh sản vào thời điểm trăng non trong suốt tháng 9 - 11 ở vùng biển Ấn Độ Dương, Thái Bình Dương, bao gồm cả quần đảo Takabonerate [6].

Nghiên cứu của Muzaki và cs (2022) [7] cho rằng, khi tiến hành sản xuất giống cá song da báo, cần giảm dần sự phụ thuộc và nguồn cá bố mẹ khai thác tự nhiên, thay vào đó là nuôi chủ động hoàn toàn trong điều kiện nhân tạo để thực hiện chương trình nhân giống chọn lọc. Thành phần lipid và axit béo trong chế độ ăn của cá bố mẹ đã được xác định là các yếu tố dinh dưỡng chính quyết định khả năng sinh sản thành công và sự sống còn của cá cái. Ở một số loài cá, quá trình tổng hợp và chuyển hóa axit béo không bão hòa trong chế độ ăn vào trứng diễn ra rất thuận lợi, ngay cả trong suốt mùa sinh sản [8]. DHA Selco là một sản phẩm thương mại thường được sử dụng trong quá trình làm giàu thức ăn tươi sống làm thức ăn cho ấu trùng cá biển. Đây là một axit béo không no, có vai trò cung cấp năng lượng cho quá trình trao đổi chất [9].

Mặc dù vậy, cho đến nay vẫn chưa có thức ăn công nghiệp chuyên dụng cho cá song da báo do thông tin hạn chế về nhu cầu dinh dưỡng. Những thông tin về yêu cầu dinh dưỡng của chúng cần được làm sáng tỏ. Chế độ dinh dưỡng và quản lý nuôi vỗ cá bố mẹ có thể ảnh hưởng đến chất lượng giao tử, từ đó ảnh hưởng đến chất lượng đàn giống. Cần có kế hoạch an toàn sinh học và quản lý sức khỏe không chỉ cá bố mẹ, cả ấu trùng và cá con và để có được đàn giống chất lượng. Sự phát triển và khả năng sinh sản của tuyến sinh dục bị ảnh hưởng bởi một số chất dinh dưỡng thiết yếu trong khẩu phần như các axit amin và các axit béo không no, đặc biệt quan trọng ở những loài sinh sản liên tục trong thời gian sinh sản ngắn [8].

Mục đích của nghiên cứu này nhằm đánh giá ảnh hưởng của liều lượng cấy hormone GnRHa và bổ sung axit béo không no docosahexaenoic axit (DHA) vào khẩu phần ăn nuôi vỗ nhằm kích thích quá trình thành thực sớm ở cá song da báo bố mẹ phục vụ sản xuất giống trái vụ.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguồn cá bố mẹ đưa vào thí nghiệm

Cá bố mẹ có nguồn gốc từ tự nhiên và đã được thuần dưỡng trước khi chuyển sang bể thí nghiệm. Chọn những cá thể khỏe mạnh, cân đối, màu sắc tự nhiên và không có dấu hiệu bệnh lý. Khối lượng trung bình 2,0 - 3,0 kg/con và được chuyển về Trung tâm Nghiên cứu và Phát triển nuôi biển Nha Trang (Viện Nghiên cứu Nuôi trồng thủy sản III) để thí nghiệm nuôi vỗ thành thực. Cá được nuôi trong các bể có thể tích 15 m³, mật độ nuôi 2 kg/m³. Tổng số lượng cá bố mẹ sử dụng trong nghiên cứu này là 180 con gồm 2 thí nghiệm. Mùa vụ sinh sản chính của cá song da báo tại địa bàn nghiên cứu từ tháng 3 - 6 hàng năm, tháng 9 là thời điểm kết thúc đợt sinh sản đầu tiên. Vì vậy, các thí nghiệm này được tiến hành từ tháng 10 để thúc đẩy quá trình thành thực sớm của cá.

2.2. Thiết kế thí nghiệm

2.2.1. Thí nghiệm 1: Sử dụng hormone GnRHa kích thích cá bố mẹ thành thực sớm

Cá được bố trí nuôi trong 4 bể có thể tích 15 m³ tương ứng với 4 nghiệm thức với mật độ nuôi 2 con/m³, cá được đánh dấu bằng phương pháp PIT tag (phương pháp mã vạch) (Hình 1). Mỗi nghiệm thức thí nghiệm là 30 con (tổng cá thí nghiệm 120 con). Cá bố mẹ được cho ăn thức ăn cá tạp tươi như: Cá mồi, cá ngán, cá sơn, cá nục, ... được bỏ vảy, đầu, ruột, rửa sạch, cắt khúc cho vừa cỡ miệng. Lượng cho ăn hàng ngày thỏa mãn nhu cầu (cho ăn đến có dấu hiệu bắt mồi chậm hoặc không bắt mồi).

Nghiệm thức 1: GnRHa với liều lượng 25 µg/kg.

Nghiệm thức 2: GnRHa với liều lượng 50 µg/kg.

Nghiệm thức 3: GnRHa với liều lượng 75 µg/kg.

Nghiệm thức 4: Dùng viên nang giả không chứa GnRHa (nghiệm thức đối chứng)



Hình 1. PIT tag đánh dấu cá bố mẹ thí nghiệm

Định kỳ 15 ngày kiểm tra mức độ thành thực của cá bằng cách dùng que thăm trứng sau khi đã gây mê. Thời gian thí nghiệm từ tháng 10/2021 (thời điểm kết thúc mùa sinh sản) đến tháng 2/2022 (thời điểm bắt đầu mùa sinh sản chính).

2.2.2. Thí nghiệm 2: Ảnh hưởng của DHA Selco bổ sung vào thức ăn lên chất lượng cá bố mẹ

Thí nghiệm được bố trí với 2 nghiệm thức nuôi trong các bể có thể tích 15 m^3 với mật độ nuôi 2 con/ m^3 . Thức ăn sử dụng nuôi vỗ cá bố mẹ là các loại thức ăn tươi (như mô tả ở thí nghiệm 1). Cá thí nghiệm được cấy viên nang có chứa hormone GnRHa ở liều $50 \mu\text{g/kg}$ (kế thừa kết quả thí nghiệm 1). Sử dụng bột gelatin để tăng sinh khối DHA Selco, sau đó chia đều và đưa vào thức ăn (cá tạp) trước khi cho ăn (xác định lượng DHA Selco cần phối trộn, chuyển lượng DHA Selco vào máy xay bổ sung nước sạch bằng 10% khối lượng gelatin cần tăng sinh khối, xay hỗn hợp trên khoảng 2 – 3 phút, trộn đều hỗn hợp lên bề mặt của gelatin và dùng máy trộn đều, sau đó chia đều hỗn hợp trên và đưa vào thức ăn). Hàng ngày, cho cá bố mẹ ăn vào buổi sáng với tỷ lệ thức ăn từ 5 – 7% khối lượng thân. Định kỳ 5 ngày/lần cho ăn các loại vitamin E, B complex, C từ 100 – 150 mg/kg thức ăn. Thời gian thí nghiệm từ tháng 10/2022 (thời điểm kết thúc mùa sinh sản) đến tháng 2/2023 (thời điểm bắt đầu mùa sinh sản chính):

Nghiệm thức 1: Thức ăn bổ sung DHA Selco ($2\%/ \text{kg}$ thức ăn).

Nghiệm thức 2: Thức ăn không bổ sung DHA Selco (Đối chứng).

Tỷ lệ đực: cái của cá ở các thí nghiệm là 1 : 1. Các chỉ tiêu đánh giá ở cả 2 thí nghiệm gồm: Tỷ lệ thành thực, sức sinh sản thực tế, tỷ lệ thụ tinh, tỷ lệ nở và tỷ lệ sống của ấu trùng 5 ngày tuổi.

2.3. Phương pháp tuyển chọn cá bố mẹ và kích thích sinh sản ở cả 2 thí nghiệm

Định kỳ thu kiểm tra mức độ thành thực của cá bằng phương pháp Biopsy sau khi đã gây mê cá bằng AQUIS® Elanco Việt Nam (phương pháp gây mê nhẹ từ 5 – 10 ml AQUIS® cho 1 m^3). Đo đường kính trứng, ấu trùng qua kính hiển vi và quan sát đánh giá chất lượng trứng và tinh trùng dưới kính hiển vi kỹ thuật số (VHX-F, Keyence). Cá cái thành thực có đường kính trứng khoảng 0,45 mm, trứng tròn đều, cá đực vuốt nhẹ dọc theo lườn bụng có tinh màu trắng, đặc, tan nhanh trong nước, tinh trùng phân bố đều và hoạt động nhanh. Tiêm kích dục tố HCG với liều lượng 500 UI/kg cá cái (lần 1), 1.000 UI/kg cá cái (lần 2) cách nhau 24 giờ, cá đực tiêm 1 liều duy nhất cùng với liều thứ 2 của cá cái (500 UI/kg cá đực) theo phương pháp đã được mô tả bởi Kobayashi (2022) [10]. Sau khi tiêm hormone, tiến hành kích nước vào ra để tạo

dòng chảy tự nhiên và che bạt kín, tránh ánh sáng đột ngột trong khi cá đẻ. Mỗi nghiệm thức nuôi vô thành thực được tuyển chọn ngẫu nhiên 3 cặp cá bố mẹ theo lệ đực cái 1: 1 cho sinh sản. Trứng cá song da báo được kiểm tra dưới kính hiển vi 30 phút sau khi đẻ để đánh giá sự thụ tinh qua phân chia tế bào, trứng thụ tinh được bố trí trong các bể nhựa 500 L/bể, nhiệt độ ấp trứng 28 - 29°C và độ mặn là 32‰. Sục khí liên tục để đảm bảo hàm lượng oxy hòa tan trong nước > 5,0 mg/L. Theo dõi các yếu tố môi trường trong quá trình ấp trứng.

2.4. Phương pháp đánh giá các chỉ tiêu nghiên cứu

2.4.1. Sức sinh sản thực tế (SSTT)

$$SSTT \text{ (số trứng/kg cá cái)} = \frac{\text{Tổng số trứng thu được}}{\text{Tổng khối lượng cá cái đẻ}}$$

2.4.2. Thời gian phát triển phôi

Trứng thụ tinh được lấy mẫu ngẫu nhiên 3 mẫu (ít nhất 30 trứng/mẫu) ở mỗi nghiệm thức để theo dõi. Quá trình phát triển của phôi được theo dõi liên tục dưới kính hiển vi kỹ thuật số (VHX-F, Keyence). Thời gian phát triển phôi được tính từ lúc trứng thụ tinh đến khi trứng nở.

2.4.3. Tỷ lệ thụ tinh (%) (TLTT)

Ngay sau khi cá đẻ, dùng vợt vớt trứng cho vào 3 bình thủy tinh 2 lít (100 trứng/bình), sau 2 giờ đếm số trứng thụ tinh, lặp lại 3 lần và được tính theo công thức:

$$TLTT \text{ (%) } = \frac{\text{Số trứng thụ tinh}}{\text{Số trứng theo dõi}} \times 100$$

2.4.4. Tỷ lệ nở (%) (TLN)

Cho trứng đã thụ tinh vào 3 bình thủy tinh (100 trứng/2 L/bình), sục khí nhẹ. Sau khi trứng nở hoàn toàn, đếm số ấu trùng trong mỗi bình, lặp lại 3 lần và được tính theo công thức:

$$TLN \text{ (%) } = \frac{\text{Số ấu trùng cá nở}}{\text{Số trứng thụ tinh}} \times 100$$

2.4.5. Tốc độ tăng trưởng

Sử dụng kính hiển vi kỹ thuật số (VHX-F) để đo chiều dài của ấu trùng cá. Chiều dài toàn thân, được tính từ miệng cá đến cuối vây đuôi; khối lượng được xác định bằng cân phân tích có độ chính xác 0,001 g. Tốc độ sinh trưởng đặc trưng (*specific growth rate*, SGR) theo chiều dài (SGR_L)

và theo khối lượng (SGR_W) của cá được tính theo công thức:

$$SGR_L \text{ hay } SGR_W \text{ (%) } = \left[\frac{\ln(X_2) - \ln(X_1)}{t_2 - t_1} \right] \times 100$$

Trong đó: X_1 là khối lượng hoặc chiều dài cơ thể ở thời điểm đo t_1 và X_2 là khối lượng hoặc chiều dài cơ thể ở thời điểm đo t_2 .

- Tỷ lệ sống (TLS) (%):

$$TLS = \frac{\text{Số cá tại thời điểm kết thúc thí nghiệm}}{\text{Số cá đưa vào thí nghiệm}} \times 100$$

2.5. Phương pháp xác định các yếu tố môi trường

Nhiệt độ, độ mặn, pH và oxy hòa tan (DO) trong mỗi bể được theo dõi 2 lần/ngày trong khoảng thời gian từ 6 - 7 giờ 00 và từ 14 - 15 giờ 00 bằng cách sử dụng nhiệt kế kỹ thuật số (model: CE 225908), khúc xạ kế cầm tay (Extech RF20), máy đo pH kỹ thuật số (Model: CE 224469), máy đo DO kỹ thuật số (Model: CE 225908). Nồng độ TAN ($\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$) đo bằng máy Hanna (HI 700), $\text{NO}_3\text{-N}$ (Hanna HI 96728), $\text{PO}_4\text{-P}$ (Hanna HI 713) được đo một lần mỗi ngày vào lúc 8 giờ 00.

2.6. Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu được tổng hợp và vẽ biểu đồ trên phần mềm Excel 2013. Sự phân phối chuẩn và chênh lệch số liệu được kiểm tra bằng phép thử Shapiro-Wilk và Bartlett. Số liệu được chuyển đổi sang logarit trong trường hợp số liệu không đồng nhất trước khi so sánh sự khác biệt ý nghĩa về mặt thống kê giữa các nghiệm thức về kích thước tỷ lệ đẻ, tỷ lệ thụ tinh, tỷ lệ nở, tỷ lệ sống của ấu trùng, sinh trưởng của ấu trùng, tỷ lệ dị hình; các chỉ số môi trường nước bằng phương pháp phân tích T-Test cho 2 nghiệm thức độc lập (independent T-test) và "One way ANOVA" bằng phép thử Tukey's post-hoc cho thí nghiệm 3 nghiệm thức độc lập. Tất cả dữ liệu được phân tích bởi phần mềm SPSS 16.0 ở mức ý nghĩa $p < 0,05$.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của hormone GnRHa kích thích thành thực của cá bố mẹ

3.1.1. Kết quả theo dõi các yếu tố môi trường trong thời gian thí nghiệm

Các yếu tố môi trường ghi nhận được trong thời gian thí nghiệm được thể hiện ở bảng 1.

Bảng 1. Kết quả theo dõi các yếu tố môi trường trong thời gian thí nghiệm

Nghiem thức	25 µg/kg	50 µg/kg	75 µg/kg	Đối chứng
Nhiệt độ (°C)	26,69 ± 1,77	26,63 ± 1,48	26,71 ± 1,52	26,72 ± 1,61
DO (mg/L)	6,22 ± 0,35	5,98 ± 0,56	5,95 ± 0,44	6,16 ± 0,42
pH	8,04 ± 0,41	8,12 ± 0,36	8,08 ± 0,40	8,21 ± 0,37
Độ mặn (‰)	32,23 ± 2,45	33,02 ± 2,32	32,56 ± 1,94	33,13 ± 2,26
NO ₃ -N (mg/L)	0,35 ± 0,04	0,37 ± 0,05	0,41 ± 0,06	0,38 ± 0,03
TAN (NH ₄ ⁺ /NH ₃)	0,48 ± 0,03	0,52 ± 0,01	0,50 ± 0,02	0,51 ± 0,03

Ghi chú: Các giá trị trong bảng được thể hiện như là mean ± SD trong suốt thời gian thí nghiệm.

3.1.2. Tỷ lệ thành thực của cá bố mẹ

Nuôi vỗ thành thực cá song da báo bố mẹ bằng phương pháp cấy hormone GnRHa với các liều lượng khác nhau được trình bày trong bảng 2. Kết quả cho thấy, tỷ lệ cá thành thực xuất hiện từ tháng thứ 11 sau khi kích thích bằng hormone GnRHa với liều lượng 25 và 50 µg/kg, tỷ lệ thành thực tăng dần đều theo thời gian thí nghiệm. Tỷ lệ thành thực trung bình vào tháng 2 (trước mùa sinh sản chính) ở nghiệm thức thí nghiệm cao hơn so với nghiệm thức đối chứng, cao nhất ở nghiệm thức có liều lượng hormone 50 µg/kg, đạt 53,5%. Trong khi đó, lô đối chứng chỉ đạt 13,3%. Như vậy, trong điều kiện nuôi vỗ thành thực cá song da báo thấy rằng, khi kích thích thành thực sớm bằng GnRHa, thời gian thành thực sinh dục của cá bắt đầu sau gần 2 tháng cấy hormone. Trong khi đó, trong điều kiện bình thường, các loài cá song thường thành thực sớm chậm hơn, thường bắt đầu mùa sinh sản chính từ tháng 3 - 6 hàng năm.

Một số nghiên cứu ở các nước cũng có thời gian sinh sản tương tự đối với cá song, ví dụ, cá Song chấm cam (*E. coioides*) từ tháng 3 - 6, cá song mỡ (*E. tauvina*) và cá song chanh (*E. malabaricus*) đẻ rộ vào tháng 5 - 6, cá song hổ (*E. fuscoguttatus*) thời gian sinh sản từ tháng 2 - 6 ở Ấn Độ [11]. Kết quả của nghiên cứu này phù hợp với một số nghiên cứu trên các loài cá mú áp dụng phương pháp cấy hormone dạng viên nang dưới da và kích thích sinh sản bằng HCG. Ở cá mú (loài *Epinephelus marginatus*) việc kích thích thành thực trái vụ bằng GnRHa là một phương pháp hiệu quả để sản xuất giống chất lượng tốt trong điều kiện nuôi nhốt [12]. Tương tự, Kanemaru và cs (2012) [13] đã nghiên cứu trên loài cá mú tổ ong (*Epinephelus merra*), phương pháp cấy GnRHa dưới da đã kích thích sự trưởng thành về mặt sinh dục trái mùa, kết quả nghiên cứu cho thấy, hiệu quả của việc cấy viên nang chứa hormone GnRHa tốt hơn so với lô đối chứng (không thành thực).

Bảng 2. Tỷ lệ thành thực của cá song da báo trong thời gian nuôi vỗ

Thời gian kiểm tra	Liều lượng hormone GnRHa (µg/kg)			
	25	50	75	ĐC
Tháng 10/2021	00	00	00	00
Tháng 11/2021	10	10	00	00
Tháng 12/2021	20	20	20	00
Tháng 01/2022	20	20	20	00
Tháng 02/2022	40	53,3	40	13,3

3.1.3. Tỷ lệ đẻ, tỷ lệ thụ tinh, tỷ lệ nở và tỷ lệ sống của ấu trùng 5 ngày tuổi

Tỷ lệ đẻ, tỷ lệ thụ tinh, tỷ lệ nở và tỷ lệ sống của ấu trùng cá song da báo 5 ngày tuổi ở các

thí nghiệm sử dụng hormone GnRHa với liều lượng khác nhau được trình bày ở bảng 3. Kết quả thu được cho thấy, tỷ lệ đẻ đạt 100% ở tất cả các thí nghiệm.

Bảng 3. Tỷ lệ thụ tinh, tỷ lệ nở và tỷ lệ sống của cá bột cá song da báo 5 ngày tuổi

Thời gian	Liều lượng hormone GnRHa ($\mu\text{g/kg}$)			
	25	50	75	ĐC
Tỷ lệ đẻ (%)	100	100	100	50
Tỷ lệ thụ tinh (%)	76,40 ^a $\pm$ 3,39	75,40 ^a $\pm$ 1,96	73,60 ^a $\pm$ 2,84	-
Tỷ lệ nở (%)	68,00 ^a $\pm$ 3,86	72,60 ^a $\pm$ 1,43	65,80 ^a $\pm$ 3,53	-
Tỷ lệ sống của cá bột 5 ngày tuổi (%)	57,31 ^a $\pm$ 2,27	67,22 ^b $\pm$ 3,42	61,48 ^a $\pm$ 5,16	-
Tỷ lệ dị hình (%)	0,20 ^a $\pm$ 0,03	0,30 ^a $\pm$ 0,03	0,80 ^b $\pm$ 0,03	-
Kích thước cá bột mới nở (mm)	1,902 ^b $\pm$ 0,00	1,903 ^b $\pm$ 0,01	1,898 ^a $\pm$ 0,01	-

Ghi chú: Các giá trị trong cùng một hàng có các ký tự giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Số liệu biểu thị là $TB \pm SE$.

Ngoại trừ lô đối chứng chỉ đạt tỷ lệ 50%, tỷ lệ thụ tinh, tỷ lệ nở và tỷ lệ sống của ấu trùng 5 ngày tuổi không có sự khác nhau giữa các thí nghiệm ($p > 0,05$). Trong khi đó, thí nghiệm đối chứng mặc dù cá thành thực nhưng không đẻ. Tỷ lệ cá dị hình của ấu trùng tăng dần theo liều lượng hormone, có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa thí nghiệm 75 $\mu\text{g/kg}$ so với các thí nghiệm còn lại ($p < 0,05$). nhưng không thấy có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về tỷ lệ dị hình của ấu trùng giữa thí nghiệm sử dụng hormone GnRHa ở liều lượng 25 và 50 $\mu\text{g/kg}$ ($p > 0,05$). Tương tự, kích thước của ấu trùng mới nở được ghi nhận có sự khác nhau có ý nghĩa thống kê giữa các thí nghiệm thí nghiệm 70 $\mu\text{g/kg}$ so với các thí nghiệm 25 và 50 $\mu\text{g/kg}$ ($p < 0,05$).

Trong sinh sản nhân tạo cá măng việc sử dụng kết hợp giữa LHRHa (50 μg) với HCG (1.000 UI/kg) cho tỷ lệ thụ tinh (84,22%), tỷ lệ nở (88,68%) [14], đạt kết quả thụ tinh cao hơn so với nghiên cứu này. Kết quả về tỷ lệ thụ tinh của nghiên cứu này cao hơn so với các công bố trên cá Chim loài *Trachinotus ovatus* cỡ 2,8 - 7,6 kg, được kích thích bằng hormone HCG 1.000 - 1.600 IU kết hợp với 30 - 50 μg GnRHa/kg cá cái, tỷ lệ

thụ tinh từ 55 - 77% [15] và cá Chim loài *Trachinotus carolinus* (khối lượng từ 1,2 - 1,7 kg) sinh sản bằng cách tiêm hormone HCG với liều lượng 1.000 IU/kg, chỉ đạt tỷ lệ thụ tinh từ 19,3 - 48,2% [16].

3.2. Ảnh hưởng của việc bổ sung DHA Selco vào thức ăn đến sự thành thực của cá bố mẹ

3.2.1. Biến động các yếu tố môi trường trong bể nuôi vỗ

Kết quả theo dõi sự biến động các yếu tố môi trường nước trong suốt quá trình nuôi vỗ thành thực cá song da báo bố mẹ được trình bày ở bảng 4. Nhìn chung, các yếu tố môi trường được duy trì ổn định và nằm trong giới hạn cho phép với sinh trưởng của cá song da báo trong suốt thời gian thí nghiệm. Nhiệt độ trung bình của các thí nghiệm trong suốt thời gian thí nghiệm dao động khoảng 28°C. Giá trị pH dao động rất nhỏ giữa các thí nghiệm trong ngày và trong quá trình thí nghiệm vẫn nằm trong khoảng thích hợp, dao động trung bình từ 7,9 - 8,2. Theo Boyd (1998) [17] nhiệt độ thích hợp cho sự phát triển của hầu hết các loài cá nhiệt đới nằm trong khoảng 25 - 32°C và pH dao động 6,5 - 9,0. Độ mặn dao động không đáng kể (32,21 - 32,25‰) giữa các thí nghiệm trong thí nghiệm và được duy trì ổn

định trong thời gian nuôi vỗ. Nhìn chung, hàm lượng nitrate trung bình < 0,5 mg/L, TAN trung bình <0,6 mg/L vẫn nằm trong khoảng thích hợp cho cá sinh trưởng và phát triển ở tất cả các nghiệm thức.

Bảng 4. Một số yếu tố môi trường trong suốt quá trình nuôi vỗ thành thực cá song da báo

Nghiem thức	Nhiệt độ (°C)	DO (mg/L)	pH	Độ mặn (‰)	NO ₃ -N (mg/L)	TAN (mg/L)
1	28,34 ± 0,64	5,91 ± 0,11	8,22 ± 0,32	32,21 ± 3,63	0,42 ± 0,05	0,55 ± 0,03
2	28,52 ± 0,41	6,0 ± 0,09	7,94 ± 0,41	32,25 ± 3,31	0,45 ± 0,03	0,57 ± 0,04

3.2.2. Tỷ lệ thành thực, tỷ lệ đẻ và sức sinh sản của cá bố mẹ

Kết quả nuôi vỗ thành thực cá song da báo bằng thức ăn có bổ sung DHA được trình bày ở bảng 5. Tỷ lệ thành thực của cá song da báo không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa nghiệm thức bổ sung DHA và nghiệm thức đối chứng ($p > 0,05$). Tuy nhiên, tỷ lệ thành thực có xu hướng tăng khi bổ sung DHA vào thức ăn, nghiệm thức sử dụng thức ăn bổ sung DHA (2%) đạt 70% so với nghiệm thức không được bổ sung DHA, đạt 65%.

Theo Izquierdo và cs (2001) [8], chất lượng thức ăn đóng vai trò quan trọng trong nuôi vỗ thành

thực cá bố mẹ, ảnh hưởng trực tiếp lên các chỉ tiêu sinh sản của cá, vì vậy việc sử dụng thức ăn gồm cá, mực, tôm có bổ sung chất dinh dưỡng như DHA trong nuôi vỗ thành thực cá bố mẹ là cần thiết để nâng cao chất lượng sinh sản. Tỷ lệ đẻ của cá song da báo ở nghiệm thức sử dụng thức ăn có bổ sung DHA cao hơn so với nghiệm thức đối chứng ($p < 0,05$). Fernández-Palacios và cs (2011) [18] giải thích rằng, việc bổ sung đầy đủ chất dinh dưỡng cho cá bố mẹ trong thời gian nuôi vỗ là hết sức cần thiết, các chất dinh dưỡng sẽ được tổng hợp đi vào máu, qua gan tổng hợp các chất cần thiết để hình thành chất dinh dưỡng quan trọng cho tế bào trứng.

Bảng 5. Tỷ lệ thành thực, tỷ lệ đẻ và sức sinh sản của cá bố mẹ trong thời gian nuôi vỗ

Chỉ tiêu theo dõi	Nghiem thức	
	Bổ sung DHA	Đối chứng
Tỷ lệ thành thực (%)	70,0 ^a ± 5,00	65,0 ^a ± 4,2
Tỷ lệ đẻ (%)	87,50 ^b ± 12,24	66,67 ^a ± 8,54
Sức sinh sản thực tế (trứng/kg cá cái)	202.750 ^a ± 7.641	198.500 ^a ± 2.783

Ghi chú: Các giá trị trong cùng một hàng có các ký tự giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Số liệu biểu thị là $TB \pm SE$.

Tuy nhiên, sức sinh sản thực tế không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$) giữa hai nghiệm thức. Kết quả nghiên cứu này phù hợp với kết quả nghiên cứu của Nguyễn Văn Dũng và cs (2022) [19] trên cá song đẹt (*E. bleekeri*), tỷ lệ thành thực đạt cao hơn ở nghiệm thức bổ sung DHA (62,7%) so với nghiệm thức không bổ sung DHA (57%) và cải thiện sức sinh sản thực tế của cá. Tương tự, tỷ lệ đẻ của cá song da báo ở nghiên cứu này tương ứng với kết quả nghiên cứu của Nguyễn Địch Thanh (2010) [20] trên cá hồng bạc (*Lutjanus argentimaculatus*) là 37,50 - 83,33%. Số liệu thu được cho thấy, sức sinh sản thực tế trung bình của cá song da báo khi cho ăn thức ăn có bổ sung DHA cao hơn cá song đẹt (*E. bleekeri*) (123.028 trứng/kg cá cái) [19].

3.2.3. Tỷ lệ thụ tinh, tỷ lệ nở và tỷ lệ sống của ấu trùng 5 ngày tuổi

Tỷ lệ thụ tinh, tỷ lệ nở, tỷ lệ dị hình và tỷ lệ sống của ấu trùng cá song da báo 5 ngày tuổi của thí nghiệm được trình bày ở bảng 6.

Tỷ lệ thụ tinh, tỷ lệ nở, tỷ lệ dị hình của ấu trùng cá song da báo 5 ngày tuổi không có sự khác nhau có ý nghĩa thống kê giữa hai nghiệm thức ($p > 0,05$), nhưng có sự khác biệt về tỷ lệ sống ($p < 0,05$). Điều này đã được chứng minh trên cá song đẹt [19] và cá chim vây vàng [21] khi cho ăn thức ăn có hàm lượng DHA cao so với thức ăn có hàm lượng DHA thấp.

Tỷ lệ sống của ấu trùng cá song da báo 5 ngày tuổi có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê, nghiệm thức sử dụng thức ăn có bổ sung DHA đạt 52,05%,

cao hơn nghiệm thức không bổ sung DHA (40,30%) ($p < 0,05$). Kết quả của nghiên cứu này phù hợp với kết quả nghiên cứu của Fernández-Palacios và cs (1995) [22] khi sử dụng thức ăn có hàm lượng n-3 HUFA khác nhau trên cá tráp châu Âu *Sparus aurata* cho thấy, ở tỷ lệ 1,6% n-3 HUFA thì các chỉ tiêu sinh sản đạt cao hơn ở các hàm lượng khác. Kết quả hai thí nghiệm cho thấy, việc bổ sung DHA Selco vào thức ăn và có kích thích

bằng phương pháp cấy hormone GnRHa ở liều 50 $\mu\text{g/kg}$, kết quả thu được cao hơn về tỷ lệ cá thành thực và tỷ lệ thụ tinh so với thí nghiệm 1, điều này cũng được giải thích bởi Lee và cs (2020) [23]. Theo đó, quá trình thành thực của cá (chuyển hoá vật chất trong cơ thể cá) liên quan đến nhiệt độ môi trường. Ở thí nghiệm 2, nhiệt độ ghi nhận được cao hơn so với thí nghiệm 1, đây có thể là yếu tố tác động tích cực đến kết quả thí nghiệm.

Bảng 6. Tỷ lệ thụ tinh, tỷ lệ nở và tỷ lệ sống của ấu trùng cá song da báo 5 ngày tuổi

Chỉ tiêu theo dõi	Nghiệm thức	
	Bổ sung DHA	Đối chứng
Tỷ lệ thụ tinh (%)	87,93 ^a $\pm$ 1,24	85,33 ^a $\pm$ 1,83
Tỷ lệ nở (%)	77,03 ^a $\pm$ 2,50	76,83 ^a $\pm$ 2,12
Kích thước giọt dầu (mm)	0,13 ^a $\pm$ 0,00	0,12 ^a $\pm$ 0,00
Kích thước noãn hoàng (mm)	1,02 ^a $\pm$ 0,00	0,95 ^a $\pm$ 0,01
Kích thước ấu trùng mới nở (mm)	1,89 ^a $\pm$ 0,01	1,88 ^a $\pm$ 0,01
Tỷ lệ dị hình (%)	0,32 ^a $\pm$ 0,06	0,40 ^a $\pm$ 0,06
Tỷ lệ sống của ấu trùng 5 ngày tuổi (%)	52,05 ^b $\pm$ 3,38	40,30 ^a $\pm$ 0,39

Ghi chú: Các giá trị trong cùng một hàng có các ký tự giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Số liệu biểu thị là $TB \pm SE$.

4. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

4.1. Kết luận

Kích thích thành thực sớm đối với cá song da báo bằng hormone GnRHa đã thúc đẩy thời gian thành thực sớm hơn bình thường, nâng cao tỷ lệ thành thực, giảm tỷ lệ dị hình và cải thiện kích thước của ấu trùng. Trong đó, kích thích ở liều lượng 25 hoặc 50 $\mu\text{g/kg}$ sẽ giảm tỷ lệ dị hình của ấu trùng 5 ngày tuổi.

Bổ sung DHA Selco vào thức ăn đã thúc đẩy thời gian thành thực sớm và nâng cao tỷ lệ đẻ của cá song da báo và tỷ lệ sống của ấu trùng 5 ngày tuổi.

4.2. Đề nghị

Bổ sung DHA Selco vào thức ăn hàng ngày để nuôi vỗ cá song da báo bố mẹ và sử dụng hormone GnRHa ở liều 25 hoặc 50 $\mu\text{g/kg}$ để kích thích quá trình thành thực sớm và cho kết quả sinh sản tốt hơn.

LỜI CẢM ƠN

Nhóm tác giả xin chân thành cảm ơn Vụ Khoa học và Công nghệ các ngành kinh tế - kỹ thuật,

*Văn phòng các Chương trình trọng điểm cấp Nhà nước, Bộ Khoa học và Công nghệ đã cung cấp kinh phí nghiên cứu thông qua đề tài “Khai thác và phát triển nguồn gen cá song da báo *Plectropomus leopardus* Lacepede, 1802” MS: NVQG - 2020/ĐT.11. Chúng tôi cũng xin cảm ơn sâu sắc đến Viện Nghiên cứu Nuôi trồng thủy sản III và Trung tâm Nghiên cứu và Phát triển Nuôi biển Nha Trang đã hỗ trợ cơ sở vật chất. Sự đóng góp và hỗ trợ của các đồng nghiệp và các thành viên trong nhóm nghiên cứu đã góp phần quan trọng vào thành công của nghiên cứu này.*

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Yoseda, K., K. Yamamoto, K. Asami, M. Chimura, K. Hashimoto and S. Kosaka (2008). Influence of light intensity on feeding, growth, and early survival of leopard coral grouper (*Plectropomus leopardus*) larvae under mass-scale rearing conditions. *Aquaculture*, 279(1): p. 55 - 62.
- Melianawati, R., N. W. W. Astuti, and K. Suwirya (2013). The use of copepods to improve

- juveniles production of coral trout *Plectropomus leopardus* (Lacepède, 1802). *Middle East Journal of Scientific Research*, 16: p. 237 - 244.
3. Adams, S., B. Mapstone, G. Russ and C. Davies (2011). Geographic variation in the sex ratio, sex specific size and age structure of *Plectropomus leopardus* (Serranidae) between reefs open and closed to fishing on the Great Barrier Reef. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 57: p. 1448 - 1458.
4. Sembiring, S. B. M., J. H. Hutapea, I. K. Wardana, A. Muzaki and I. Mastuti (2013). Induced functional male of coral trout grouper (*Plectropomus leopardus*) using 17 α -Methyltestosterone Hormone. *Indonesian Aquaculture Journal*, 8: p. 101 - 106.
5. Khasanah, M., N. Nurdin Kadir and J. Jompa (2019). Reproductive biology of three important threatened/near-threatened groupers (*Plectropomus leopardus*, *Epinephelus polyphekadion*, *Plectropomus areolatus*) in Eastern Indonesia and implications for management. *Animals*, 9(9): p. 643.
6. Frisch, A., D. Cameron, M. Pratchett, D. Williamson, A. Williams, A. Reynolds, A. Hoey, J. Rizzari, L. Evans, B. Kerrigan, G. Muldoon, D. Welch and J.-P. Hobbs (2016). Key aspects of the biology, fisheries and management of Coral grouper. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 26: p. 303 - 325.
7. Muzaki, A., H. T. Yudha, N. A. Giri, Haryanti, and S. B. M. Sembiring (2022). Gonad Development and initial spawning of selected third generation coral trout (*Plectropomus leopardus*). *Proceedings International Conference on Fisheries and Aquaculture*, 7(1): p. 12 - 17.
8. Izquierdo, M., H. Fernández-Palacios, and A. Tacon (2001). Effect of broodstock nutrition on reproductive performance of fish. *Aquaculture*, 197: p. 25 - 42.
9. Tocher, D. R. (2010). *Fatty acid requirements in ontogeny of marine and freshwater fish*. *Aquaculture Research*, 41(5): p. 717 - 732.
10. Kobayashi, Y. (2022). Control of gonadal maturation and sex in grouper. *Aquaculture and Fisheries*, 7(5): p. 519 - 524.
11. Rimmer, M. A., Y. C. Thampisamraj, P. Jayagopal, D. Thineshsanthar, P. N. Damodar and J. D. Toledo (2013). Spawning of tiger grouper *Epinephelus fuscoguttatus* and squaretail coral grouper *Plectropomus areolatus* in sea cages and onshore tanks in Andaman and Nicobar Islands, India. *Aquaculture*, 410-411: p. 197 - 202.
12. Marino, G., E. Panini, A. Longobardi, A. Mandich, M. G. Finoia, Y. Zohar and C. C. Mylonas (2003). Induction of ovulation in captive-reared dusky grouper, *Epinephelus marginatus* (Lowe, 1834), with a sustained-release GnRH implant. *Aquaculture*, 219(1): p. 841 - 858.
13. Kanemaru, T., M. Nakamura, R. Murata, K. Kuroki, H. Horie, K. Uchida, B. Senthilkumaran and H. Kagawa (2012). Induction of sexual maturation of the female honeycomb grouper, *Epinephelus merra*, in the non-breeding season by modulating environmental factors with GnRH analogue implantation. *Aquaculture*, 358 - 359: p. 85 - 91.
14. Trần Thị Kim Ngân, Tạ Thị Bình, Nguyễn Đình Vinh, Trần Đức Lương và Nguyễn Quang Huy (2020). Ảnh hưởng của thức ăn nuôi vỗ và kích dục tố đến kết quả sinh sản của cá măng sữa (*Chanos chanos* Forsskal, 1775). *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn*, 22, 95 - 101.
15. Juniyanto, N. M., S. Akbar and Zakimiin (2008). Breeding and seed production of silver pompano (*Trachinotus blochii* Lacepede, 1801) at the Mariculture Development Center of Batam. *Quaculture Asia Magazine*, XIII (2): p. 46 - 48.
16. Main, K. L., N. Rhody, M. Nystrom and M. Resley (2007). Species profile – Florida Pompano: Southern Regional *Aquaculture Centre Publication* No. 7206.
17. Boyd, C. E. (1998). *Water Quality in Ponds for Aquaculture*: Auburn University Press, Birmingham.
18. Fernández-Palacios, H., B. Norberg, M. Izquierdo and K. Hamre (2011). *Larval fish nutrition*, John Wiley & Sons, Inc.
19. Nguyễn Văn Dũng, Lê Văn Chí, Nguyễn Thị Thu Hằng, Trương Quốc Thái, Lương Trọng Bích, Nguyễn Ngọc Anh, Nguyễn Ngọc Quỳnh,

Dương Thị Phương (2022). Sản xuất thử nghiệm giống và nuôi thương phẩm nguồn gen cá Song đẹt (*Epinephelus bleekeri* Vaillant, 1878). Báo cáo tổng kết dự án khoa học công nghệ cấp Nhà nước, Viện Nghiên cứu Nuôi trồng thủy sản 3, Bộ Khoa học và Công nghệ, 193 trang.

20. Nguyễn Đình Thanh (2010). Nghiên cứu kỹ thuật sản xuất giống nhân tạo cá hồng bạc *Lutjanus argentimaculatus* (Forsskal, 1775) tại Nha Trang, Khánh Hòa. *Tạp chí Khoa học Công nghệ và Môi trường Khánh Hòa*, 3: p. 3 - 6.

21. Ngô Văn Mạnh (2015) Nghiên cứu ảnh hưởng của một số giải pháp kỹ thuật lên chất lượng trứng, ấu trùng và hiệu quả ương giống cá

Chim vây vàng (*Trachinotus blochii* Lacepede, 1801) tại Khánh Hòa. Luận án tiến sĩ ngành Nuôi trồng thủy sản, Trường Đại học Nha Trang. p. 200.

22. Fernández-Palacios, H., M. S. Izquierdo, L. Robaina, A. Valencia, M. Salhi and J. Vergara (1995). Effect of n - 3 HUFA level in broodstock diets on egg quality of gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.). *Aquaculture*, 132(3): p. 325 - 337.

23. Lee, C.-H., S.-W. Hur, B.-H. Kim, K. Soyano and Y.-D. Lee (2020). Induced maturation and fertilized egg production of the red-spotted grouper, *Epinephelus akaara*, using adaptive physiology of photoperiod and water temperature. *Aquaculture Research*, 51(5): 2084 - 2090.

EFFECTS OF IMPLANTATION OF DIFFERENT GnRH HORMONE DOSAGES AND DHA SELCO SUPPLEMENTATION ON INDUCTION OF SEXUAL MATURATION OF NON-BREEDING SEASON OF GROUPER (*Plectropomus leopardus* Laepède, 1802)

Nguyen Anh Hieu¹, Pham Quoc Hung², Nguyen Huu Ninh³, Nguyen Van Hung⁴

¹ Institute of Aquaculture, Nha Trang University

² Nha Trang University

³ Department of Science Technology and Environment,
Ministry of Agriculture and Rural Development

⁴ Research Institute for Aquaculture No.3

Summary

This study was conducted with two experiments to evaluate the effectiveness of applying two methods to promote early maturation of grouper *Plectropomus leopardus*, including GnRHa hormone implantation and DHA Selco supplementation in the feed of immature fish in the off-spawning season. Experiment 1 was designed with 4 treatments of three doses of GnRHa hormone (25, 50, 70 µg/kg) and a control treatment. Experiment 2 was arranged with 1 experimental treatment (with DHA Selco supplementation in the feed) and 1 control treatment (without DHA Selco supplementation). Both experiments were carried out by using a completely randomized design (CRD). The results showed that stimulating grouper *Plectropomus leopardus* with GnRHa hormone implantation promoted maturation time earlier than normal, with a maturation rate >40%. However, stimulation at doses of 25 or 50 µg/kg reduced the rate of larval deform compared with that at 75 µg/kg. Supplementation of the polyunsaturated fatty acid DHA in the feed combined with stimulation with the hormone GnRHa at a dose of 50 µg/kg promoted early maturation time by up to 70%, achieved a spawning rate of 87.5% and improved the survival rate of 5-day-old larvae.

Keywords: DHA Selco, hormone GnRHa implantation, maturation, *Plectropomus leopardus*.

Ngày nhận bài: 13/5/2024

Ngày gửi phản biện: 24/6/2024

Ngày thông qua phản biện: 2/7/2024

Ngày duyệt đăng: 17/10/2024