



SINH SẢN NHÂN TẠO CÁ TRÊ PHÚ QUỐC (*Clarias gracilentus* NG, HONG & TU, 2011) BẰNG CÁC CHẤT KÍCH THÍCH KHÁC NHAU

Phạm Thanh Liêm¹, Nguyễn Hồng Quyết Thắng¹ và Bùi Minh Tâm¹

¹ Khoa Thủy sản, Trường Đại học Cần Thơ

Thông tin chung:

Ngày nhận: 08/09/2014

Ngày chấp nhận: 27/04/2015

Title:

Induced spawning of *Clarias gracilentus* Ng, Hong & Tu, 2011 in captive by using different types of hormone

Từ khóa:

Kích thích sinh sản, cá trê Phú Quốc, *Clarias gracilentus*

Keywords:

Induced spawning, Phu Quoc clariid catfish, *Clarias gracilentus*

ABSTRACT

Clarias gracilentus, the new species belonging to Clariidae family was found in Phu Quoc island, Kien Giang province, Vietnam by the year 2011. In order to determine the breeding capability in the confined condition, broodstock with body weight of 192.1 ± 54.3 g were reared in a recirculation system and fed with commercial pellet (41% CP) in 8 months before induced to spawn. Preliminary results showed that broodfish adapted well and reached full sexual maturity in the captive condition. To induced ovulation, a series treatment with single hormone of carp pituitary gland (PG), human chorionic gonadotropin (hCG), Ovaprim, Luteinizing Hormone - Releasing Hormone analogue (LHRHa) and the combinations of PG with Ovaprim, hCG or LHRHa were tested. Results showed that single hormone of PG, hCG or LHRHa plus DOM was induced final maturation and ovulation process in which single injection of PG at the dose of 8 mg/kg of female body weight obtained a good results with $32.7 \pm 10.7\%$ and $69.1 \pm 11.2\%$ in fertilization and survival rates, respectively. Among treatments using combination of PG with other hormones, fish received 2 successive injections at 8 hours interval, a preliminary dose with 2 mg PG/kg and decisive dose with 4,000 IU hCG/kg of female body weight, gave the best results with highest fertilization and hatching rates. These preliminary results give promising prospects for a mass seed production of this species in future.

TÓM TẮT

Cá trê Phú Quốc (*Clarias gracilentus*) là một loài thuộc họ cá trê Clariidae mới được phát hiện năm 2011 ở đảo Phú Quốc, tỉnh Kiên Giang, Việt Nam. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm đánh giá sự thành thục và khả năng kích thích sinh sản loài này trong hệ thống nước tuần hoàn và cho ăn bằng thức ăn viên (chứa 41% đạm) trong 8 tháng trước khi tiến hành kích thích sinh sản. Kết quả ban đầu cho thấy cá thích nghi và thành thục tốt trong điều kiện nuôi nhân tạo. Chất kích thích sinh sản sử dụng trong thí nghiệm bao gồm đơn chất kích thích như não thùy thể cá chép (CP), hCG (human chorionic gonadotropin), Ovaprim, LHRHa (Luteinizing Hormone - Releasing Hormone analogue) hay kết hợp giữa não thùy thể với Ovaprim, hCG hoặc LHRHa. Kết quả thí nghiệm cho thấy đối với đơn chất kích thích thì não thùy thể, hCG hay LHRHa đều kích thích quá trình chín và rụng trứng, trong đó cá đáp ứng tốt với liều đơn não thùy thể (8 mg/kg khối lượng thân cá cái) với tỉ lệ thụ tinh và tỉ lệ nở tương ứng là $32,7 \pm 10,7\%$ và $69,1 \pm 11,2\%$. Trong các nghiệm thức sử dụng kết hợp não thùy thể với các chất kích thích khác thì cá được tiêm 2 liều cách nhau 8 giờ, trong đó liều sơ bộ với 2 mg não thùy/kg và liều quyết định với 4.000 IU hCG/kg cho kết quả cao nhất về tỉ lệ thụ tinh và tỉ lệ nở. Kết quả đạt được là những dữ liệu quan trọng có thể áp dụng trực tiếp trong sản xuất giống cá trê Phú Quốc.

1 GIỚI THIỆU

Sử dụng chất kích thích trong sinh sản nhân tạo thường được thực hiện trên các loài cá không thể tự sinh sản trong điều kiện nuôi giữ. Hơn nữa, đây còn là một ứng dụng quan trọng trong thực tế sản xuất giống qui mô công nghiệp thậm chí với các loài có khả năng sinh sản trong điều kiện nuôi. Trong các trại sản xuất cá giống, kích thích rụng trứng bằng hormon là giải pháp để giúp nhiều cá thể sinh sản cùng thời điểm để thu được một lượng lớn cá bột (Ayson, 1991). Kích thích sinh sản còn là một bước quan trọng trong tiến trình thuần hóa một loài mới trong nuôi trồng thủy sản (Liao và Huang, 2000).

Kỹ thuật kích thích sinh sản nhân tạo trong điều kiện nuôi đã thành công trên nhiều loài cá trê thuộc giống *Clarias* như trên cá trê đen *Clarias fuscus* (Young *et al.*, 1989), cá trê trắng *C. batrachus* (Mollah *et al.*, 1991; Kiem và Liem, 1999; Sahoo *et al.*, 2008), cá trê xám *C. meladerma* (Sumastri *et al.*, 1994, Lenormand *et al.*, 1999) cá trê vàng *C. macrocephalus* (Mollah và Tan, 1983; Tan-Fermin *et al.*, 1997), *C. nieuhofii*, *C. teijsmanni* (Lenormand *et al.*, 1999), và cá trê Phi *C. gariepinus* (Richter *et al.*, 1987; Legendre *et al.*, 1992). Các chất kích thích (và liều lượng) gây chín và rụng trứng thành công trên cá trê có thể kể đến như não thùy thể cùng loài hoặc khác loài (4 - 6 mg.kg⁻¹), hCG (2.000 - 4.000 IU.kg⁻¹), LHRHa (50 µg) + 5 mg.kg⁻¹ chất ức chế dopamin như PIM hoặc DOM (Legendre *et al.*, 1996), hay sản phẩm kết hợp GnRHa (sGnRH) và DOM như Ovaprim và Ovatide với liều 0,5 - 1 mL.kg⁻¹ (Sahoo *et al.*, 2005; Liem, 2008). Trong các loại chất kích thích thì hCG và GnRHa + PIM cho kết quả tỉ lệ rụng trứng cao (95 - 100%), trong khi não thùy thể kích thích quá trình chín và rụng trứng rất tốt trên nhiều loài cá trê (Legendre *et al.*, 1996; Szyper *et al.*, 2001; Hossain *et al.*, 2006).

Cá trê Phú Quốc (*Clarias gracilentus*) được xem là loài đặc hữu của đảo Phú Quốc, tỉnh Kiên Giang, là đối tượng có triển vọng phát triển cho nghề nuôi vì có giá trị kinh tế cao. Đây là loài cá ăn động vật, sống trong những suối có nước chảy nhẹ hay các khu rừng ngập nước phía Bắc đảo Phú Quốc (Nguyễn Văn Tư và *ctv.*, 2011). Mùa vụ sinh sản ngoài tự nhiên của cá trê Phú Quốc là đầu mùa mưa (tháng 5) kéo dài đến tháng 7 hàng năm. Tuổi thành thực của cá khoảng 1⁺, kích cỡ cá tham gia sinh sản ngoài tự nhiên là 40 cm với sức sinh sản

dao động từ 17.733 đến 21.418 trứng.kg⁻¹ (Nguyễn Văn Tư và *ctv.*, 2011). Tuy nhiên, nguồn giống nuôi hiện nay vẫn phụ thuộc chủ yếu vào nguồn cá đánh bắt trong tự nhiên. Nghiên cứu này được tiến hành nhằm tìm ra loại kích thích tố và phương thức phù hợp để kích thích sinh sản cá trê Phú Quốc, cung cấp dẫn liệu góp phần xây dựng qui trình sản xuất giống nhân tạo giải quyết nhu cầu con giống cho người nuôi.

2 PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Cá bố mẹ

Cá bố mẹ (195 con) có kích cỡ trung bình 192,1 ± 54,3 g được thu mua từ các trại nuôi cá ở huyện đảo Phú Quốc, tỉnh Kiên Giang và nuôi vỗ trong hệ thống nuôi tuần hoàn nước (2 bể 1 m³ và 3 bể 0,5 m³) tại trại thực nghiệm Khoa Thủy sản - Trường Đại học Cần Thơ. Cá đực và cái được thả nuôi chung với mật độ 60 con/m³ và cho ăn bằng thức ăn viên (chứa 40% protein) với khẩu phần ăn 3% khối lượng thân. Cá được nuôi vỗ khoảng 8 tháng trước khi tiến hành thí nghiệm sinh sản. Do số lượng cá hạn chế, nên tỉ lệ cá thành thực được tính là tỉ lệ cá cái có tuyến sinh dục phát triển đến giai đoạn IV và có thể thu mẫu trứng bằng que thăm trứng ở cuối giai đoạn nuôi vỗ. Cá bố mẹ sau khi nuôi vỗ, chọn những con khỏe mạnh, không dị tật, cá cái bụng to mềm, lỗ sinh dục có màu hồng hơi lồi; cá đực có gai sinh dục dài, nhọn và có màu hồng ở mút gai sinh dục để kích thích sinh sản. Sau khi chọn và tiêm chất kích thích, từng cá thể được giữ riêng trong xô nhựa 60 lít cho đến khi thu sản phẩm sinh dục.

2.2 Bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm được tiến hành với 2 nhóm chất kích thích là gonadotropin (GtH) và gonadotropin releasing hormone (GnRH) và bằng 2 phương thức: sử dụng đơn chất kích thích và sử dụng kết hợp 2 chất kích thích. Bốn loại chất kích thích sử dụng trong thí nghiệm bao gồm (i) nhóm GtH có não thùy thể cá chép (bảo quản trong acetone - sản phẩm thương mại) và hCG (Công ty Cổ phần dịch vụ NTTS Hạ Long; 10.000 IU/lọ); nhóm GnRH có LH-RHa (Luteotropin Releasing Hormoned-Ala Analog, Ningbo Sansheng Pharmaceutical Co.Ltd.; 200 µg/lọ) và Ovaprim (Syndel International Inc., Vancouver, Canada; mỗi mL chứa 20 µg GnRHa và 10 mg domperidon). Liều lượng và phương thức kích thích sinh sản được trình bày trong Bảng 1 và Bảng 2.

Bảng 1: Liều lượng và số lần tiêm trong thí nghiệm sử dụng đơn chất kích thích

Nghiệm thức	Chất kích thích	Liều sơ bộ	Liều quyết định
1	Não thùy thể (PG)	-	8 mg.kg ⁻¹
2	hCG (2 liều tiêm)	500 IU.kg ⁻¹	3.500 IU.kg ⁻¹
3	hCG	-	4.000 IU.kg ⁻¹
4	LHRHa + DOM	-	(80µg + 5mg).kg ⁻¹
5	Ovaprim	-	0,5 mL.kg ⁻¹

Thời gian giữa liều sơ bộ và liều quyết định là 8 giờ

Bảng 2: Liều lượng và số lần tiêm trong thí nghiệm sử dụng kết hợp não thùy thể với chất kích thích khác

Nghiệm thức	Chất kích thích	Liều sơ bộ	Liều quyết định
1	(PG + hCG) + hCG	(2mg + 500IU).kg ⁻¹	3.500 IU.kg ⁻¹
2	PG + hCG	2 mg.kg ⁻¹	4.000 IU.kg ⁻¹
3	PG + (LHRHa+DOM)	2 mg.kg ⁻¹	(80µg + 5mg).kg ⁻¹
4	PG + Ovaprim	2 mg.kg ⁻¹	1,0 mL.kg ⁻¹

Thời gian giữa liều sơ bộ và liều quyết định là 8 giờ

2.3 Phương pháp kích thích sinh sản

Thí nghiệm được thực hiện với 5 cá cái cho mỗi nghiệm thức. Chất kích thích được tiêm vào cơ lưng. Trong trường hợp tiêm hai liều thì thời gian giữa hai lần tiêm là 8 giờ. Đối với cá đực, duy nhất một liều hCG 2.000 IUI.kg⁻¹ được tiêm trước thời điểm rụng trứng của cá cái ít nhất 24 giờ (Cacot *et al.*, 2002). Trước khi tiêm, mẫu trứng (20-30 trứng) của mỗi cá cái được thu bằng que thăm trứng và cố định trong dung dịch Gilson (Biswas, 1993). Đường kính trứng được đo bằng thước vi thị kính trên kính lúp soi nổi (Leica Wild M3C) trong vòng 24 giờ với độ chính xác 0,1 mm.

2.4 Thu sản phẩm sinh dục và thụ tinh nhân tạo

Sản phẩm sinh dục (trứng và tinh trùng) được thu theo phương pháp mô tả bởi Tambasen-Cheong *et al.* (1995), và Lenormand *et al.* (1999). Thu trứng bằng cách vuốt nhẹ phần bụng cá cái, trong khi phải giải phẫu cá đực để thu buồng tinh. Buồng tinh sau đó được cắt thành từng mảnh nhỏ, nghiền trong dung dịch nước muối sinh lý (0,9% NaCl) và lọc qua lưới mịn để có được dịch nghiền buồng tinh.

Phương pháp thụ tinh khô được áp dụng, dịch nghiền buồng tinh của 2-3 cá đực được sử dụng thụ tinh cho trứng của mỗi cá cái. Sau khi trộn lẫn trứng và tinh trùng, tinh trùng được kích hoạt bằng dung dịch urê muối (3 g ure + 4 g muối/L nước sạch). Dùng lông gà đảo đều trứng từ 1-2 phút, rửa bằng nước sạch sau đó rải đều trứng lên khay áp

(kích thước 30x30 cm), mỗi khay chứa 300-500 trứng của mỗi cá cái để xác định tỉ lệ thụ tinh, tỉ lệ nở và dị hình của cá bột. Trứng được ấp trong điều kiện nước chảy ở nhiệt độ 28-30°C.

2.5 Xử lý số liệu

Tỉ lệ rụng trứng của cá cái, tỉ lệ thụ tinh, tỉ lệ nở và tỉ lệ dị hình của cá bột là các chỉ số đánh giá kết quả kích thích sinh sản. Trong đó:

- Tỉ lệ rụng trứng (%) = (Số cá cái rụng trứng/tổng số cá thí nghiệm) x 100

Cá rụng trứng là cá có trứng trong chày ra khi vuốt nhẹ phần bụng

- Tỉ lệ thụ tinh (%) = (Số trứng thụ tinh/tổng số trứng quan sát) x 100

Trứng thụ tinh được xác định khi phôi phát triển đến giai đoạn phôi vị (7-8 giờ sau khi thụ tinh)

- Tỉ lệ sống (%) = (Số cá còn sống/tổng số cá nở) x 100

Tỉ lệ sống được xác định vào thời điểm cá hết noãn hoàng

- Sức sinh sản thực tế được tính là số lượng trứng thu được chia cho khối lượng cá trước khi kích thích sinh sản (trứng.kg⁻¹)

Số liệu được trình bày bằng số trung bình ± độ lệch chuẩn. Khác biệt giữa các nghiệm thức được so sánh bằng phương pháp phân tích ANOVA một nhân tố theo sau là phép thử DUNCAN ở mức ý nghĩa 0,05.

3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Nuôi vỗ thành thực trong điều kiện nuôi giữ

Kết quả nuôi vỗ thành thực 75 cá thể (trong 3 bể 0,5 m³) cho thấy cá thích ứng khá tốt với điều kiện nuôi. Khối lượng trung bình của cá sau 8 tháng nuôi là 325,1 ± 68,7 g với tỉ lệ sống trung bình 78,7 ± 6,1%. Tỉ lệ thành thực của cá cái đạt 75,1 ± 7,3% (dao động từ 66,7 đến 80%). Mặc dù thích ứng tốt với điều kiện nuôi, cá vẫn rất mẫn cảm, trở nên hung dữ và tấn công lẫn nhau khi có sự thay đổi về môi trường nuôi. Điều này có thể dễ dàng nhận thấy sau khi thay nước hay kiểm tra chọn cá cho sinh sản. Trong nghiên cứu này để hạn chế việc tấn công lẫn nhau của cá, các giá thể bằng sợi nylon được cho vào bể nuôi để làm nơi trú ẩn cho cá. Tăng trưởng của cá trê Phú Quốc trong giai đoạn nuôi vỗ thành thực khá chậm, chỉ khoảng 133 g sau 8 tháng nuôi, tương đương tăng trưởng của cá trê vàng *C. macrocephalus* nuôi vỗ bằng thức ăn viên (42-43% đạm) kết hợp cá tạp trong nghiên cứu của Santiago và Gonzal (1997). Szyper *et al.* (2001), cho rằng việc nuôi vỗ cá trê *C. fuscus* ít

nhất vài tuần trước khi kích thích sinh sản là cần thiết để có kết quả sinh sản tốt.

3.2 Kích thích sinh sản nhân tạo

3.2.1 Sử dụng một loại chất kích thích sinh sản

Kết quả sinh sản nhân tạo bằng một loại chất kích thích (Bảng 3) cho thấy não thùy thể cá chép, hCG và LHRHa đều kích thích quá trình chín và rụng trứng ở cá trê Phú Quốc với tỉ lệ rụng trứng từ 60 – 100%. Trong đó, não thùy thể cho tỉ lệ rụng trứng 100%, tỉ lệ thụ tinh và tỉ lệ sống của cá bột cao nhất so với hCG và LHRHa, tuy nhiên sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Sử dụng đơn hCG nhưng tiêm 2 liều cách nhau 8 giờ cũng cho kết quả rụng trứng 100%, tương tự như sử dụng não thùy. Tỉ lệ nở trong nghiệm thức sử dụng não thùy thể và LHRHa cao hơn và khác biệt có ý nghĩa so với việc sử dụng hCG. Trong khi đó, sử dụng Ovaprim với liều 0,5 mL.kg⁻¹ không gây chín và rụng trứng trên cá trê Phú Quốc. Thời gian hiệu ứng ở các nghiệm thức dao động từ 16-17 giờ ở nhiệt độ nước 29-30°C.

Bảng 3: Kết quả sinh sản nhân tạo cá trê Phú Quốc bằng đơn chất kích thích

NT	Tỉ lệ rụng trứng (%)	Thời gian hiệu ứng (giờ)	Sức sinh sản thực tế (trứng/kg)	Tỉ lệ thụ tinh (%)	Tỉ lệ nở (%)	Tỉ lệ sống (%)
1	100	16±1	28.056±5.739 ^a	32,7±10,7 ^a	38,4±12,2 ^a	69,1±11,2 ^a
2	100	17±1	23.175±18.502 ^a	21,0±13,2 ^{ab}	26,3±15,0 ^b	48,7±14,2 ^a
3	80	16±1	18.972±3.899 ^a	19,5±13,3 ^{ab}	13,4±13,1 ^b	51,3±13,6 ^a
4	60	17±1	15.475±7.926 ^a	10,3±1,7 ^b	44,3±1,7 ^a	55,2±12,6 ^a
5	0	-	-	-	-	-

Các giá trị trong cùng một cột có chữ cái khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$)

Kết quả sinh sản cá trê Phú Quốc bằng một loại chất kích thích trong thí nghiệm này tương tự với các kết quả kích thích sinh sản bằng não thùy thể (Mollah and Tan, 1983; Thalathiah *et al.* 1988), hCG và LHRHa trên cá trê vàng *C. macrocephalus* (Tan-Fermin and Emata, 1993; Tan-Fermin *et al.*, 1997). Các kết quả kích thích sinh sản cá trê vàng cho thấy hCG và LHRHa + pimozone (PIM) cho tỉ lệ rụng trứng từ 95% đến 100%. Các sản phẩm thương mại chứa GnRH và chất ức chế dopamin như Ovaprim hay Ovatide với liều 0,5 mL.kg⁻¹ được sử dụng thành công trong kích thích sinh sản cá trê vàng *C. macrocephalus*, cá trê Phi *C. gariepinus* (Liem, 2008; Tambasen-Cheong *et al.*, 1995), tuy nhiên khi sử dụng Ovaprim với liều 0,5 mL.kg⁻¹ không gây rụng trứng trên cá trê Phú Quốc. Điều này có lẽ là do lượng GnRH không đủ kích thích quá trình chín và rụng trứng. Sahoo *et al.* (2005) cho rằng liều 1 mL.kg⁻¹ Ovatide là phù

hợp nhất cho kích thích sinh sản cá trê trắng *C. batrachus*.

Não thùy thể được xem là chất kích thích quá trình chín và rụng trứng được sử dụng sớm nhất và có hiệu quả trên nhiều loài cá tron. Trong nghiên cứu này, với 1 liều 8 mg.kg⁻¹ kích thích rụng trứng cá trê Phú Quốc với tỉ lệ 100%. Kết quả này phù hợp với sinh sản nhân tạo đối với nhóm cá tron, liều não thùy thể từ 4-6 mg.kg⁻¹ kích thích rụng trứng thành công trên cá trê phi *C. gariepinus* và *Heterobranchus longifilis*, trê trắng *C. gariepinus* và cá nheo Châu Âu *Silurus glanis* (Legendre *et al.*, 1996). Bên cạnh đó, não thùy thể còn kích thích quá trình thành thực của buồng tinh cá đực, làm gia tăng hàm lượng LH trong máu, gây nên sự gia tăng dịch thể trong buồng tinh tạo sự thuận lợi cho việc thu tinh trùng cá đực trong sinh sản nhân tạo (Zohar và Mylonas, 2001; Viveiros *et al.*, 2002). Với liều 8 mg.kg⁻¹, não thùy cá chép kích thích quá trình gia tăng dịch thể trong buồng tinh

cá trê Phi *C. gariepinus* (Viveiros *et al.*, 2002), gia tăng số lượng tinh trùng và thậm chí có thể vượt được tinh trùng của cá nheo Châu Âu *S. glanis* (Legendre *et al.*, 1996). Tuy nhiên, việc sử dụng não thùy thể có nhiều bất cập như sự khác biệt về LH trong não thùy của các loài cá cho não, khó định lượng chính xác và trong thực tế liều lượng kích thích sinh sản có sự chênh lệch lớn. Để kích thích rụng trứng ở cá trê Phi *C. gariepinus* và *H. longifilis*, liều não thùy thích hợp là 4-6 mg.kg⁻¹ (Legendre *et al.*, 1996), nhưng để sinh sản cá trê

trắng thì liều não thùy thích hợp lên đến 20 mg.kg⁻¹ (Taslina và Ahmed, 2012).

3.2.2 Sử dụng kết hợp não thùy với chất kích thích sinh sản khác

Kết hợp não thùy thể ở liều tiêm sơ bộ và một chất kích thích khác (hCG, LHRHa hoặc Ovaprim) ở liều quyết định có kết quả cải thiện hơn về tỉ lệ rụng trứng và tỉ lệ thụ tinh như trình bày trong Bảng 4.

Bảng 4: Kết quả sinh sản cá trê Phú Quốc sử dụng kết hợp não thùy thể với chất kích thích khác

NT	Tỉ lệ rụng trứng (%)	Thời gian hiệu ứng (giờ)	Sức sinh sản thực tế (trứng/kg)	Tỉ lệ thụ tinh (%)	Tỉ lệ nở (%)	Tỉ lệ sống (%)
1	100	18±1	20.101±13.254 ^{ab}	44,7±18,8 ^{ab}	29,3±8,5 ^b	48,4±19,8 ^a
2	100	18±1	22.944±6.435 ^a	61,3±12,6 ^a	63,9±11,7 ^a	52,8±12,2 ^a
3	80	18±1	16.718±5.665 ^{ab}	23,6±13,7 ^b	24,3±9,0 ^b	62,4±10,3 ^a
4	60	18±1	12.013±9.947 ^b	35,2±12,7 ^b	16,2 [*]	0

Các giá trị trong cùng một cột có chữ cái khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$); * Chỉ có 1 lò cá nở

Kết quả từ Bảng 4 cho thấy tỉ lệ rụng trứng đạt 100% ở nghiệm thức kết hợp não thùy với hCG. Nghiệm thức tiêm não thùy thể 2 mg.kg⁻¹ ở liều sơ bộ và hCG 4.000 IU.kg⁻¹ ở liều quyết định cho kết quả tốt nhất với tỉ lệ thụ tinh, tỉ lệ nở và tỉ lệ sống của cá bột đạt tương ứng là 61,3%, 63,9% và 52,8%. Trong thí nghiệm sử dụng đơn chất kích thích, liều 0,5 mL.kg⁻¹ của Ovaprim không gây rụng trứng nhưng trong thí nghiệm này kết quả rụng trứng đạt 60% khi kết hợp 2 mg não thùy thể với 1 mL.kg⁻¹, tuy nhiên tỉ lệ nở rất thấp và cá bột chết trước khi hết noãn hoàng. Thời gian hiệu ứng ở các nghiệm thức là khoảng 18 giờ, dài hơn so với thí nghiệm trước do nhiệt độ nước trong thời gian tiến hành sinh sản thấp hơn, dao động từ 28-30°C.

Kết hợp não thùy với chất kích thích khác trong sinh sản nhân tạo các loài cá tron đã được báo cáo thành công trên cá trê trắng *C. batrachus* (Kiem và Liem, 1999; Taslima và Ahmed, 2012) và cá tra *Pangasius hypophthalmus* (Legendre *et al.*, 1996). Trong nghiên cứu này, kết quả kích thích sinh sản cá trê Phú Quốc bằng cách kết hợp não thùy với chất kích thích khác cũng tương tự như kết quả đạt được trên cá trê trắng. Đối với cá trê trắng, khi kết hợp não thùy với hCG thì tỉ lệ rụng trứng là 80%, tỉ lệ thụ tinh và tỉ lệ nở lần lượt là 60,5% và 50,7%; trường hợp sử dụng não thùy và Ovaprim thì tỉ lệ rụng trứng, tỉ lệ thụ tinh và tỉ lệ nở lần lượt là 60%, 50,4% và 40,3% (Taslina và Ahmed, 2012).

Mặc dù, kết quả kích thích rụng trứng đạt tỉ lệ cao trong các nghiệm thức sử dụng não thùy thể, hCG hay kết hợp giữa não thùy và hCG (80-100%)

trong cả 2 thí nghiệm, tỉ lệ thụ tinh, tỉ lệ nở và tỉ lệ sống của cá bột khá thấp. Tỉ lệ sống cao nhất ở thời điểm 9 ngày tuổi (thời điểm hết noãn hoàng) trong cả 2 thí nghiệm là 69,1%, nhưng tỉ lệ dị hình cao và cá tiếp tục chết do không hấp thu được noãn hoàng, noãn hoàng bị vỡ hay phình to ra. Các nguyên nhân làm giảm tỉ lệ thụ tinh và tỉ lệ sống của cá trê Phú Quốc có thể là: (i) việc sử dụng não thùy thể kích thích cá trê sinh sản giúp cho việc vượt trứng dễ dàng điều này dẫn đến việc vượt trứng quá sớm khi trứng “chưa chín” kết quả là làm giảm tỉ lệ thụ tinh và tăng tỉ lệ dị hình, hiện tượng này đã ghi nhận được trên cá trê Phi *C. gariepinus* (Hogendoorn và Vismans, 1980); (ii) sự thành thực sinh dục của cá trê đực không đồng đều, rất khó xác định chính xác mức độ thành thực của tinh trùng như khả năng vận động (Miura *et al.*, 1992) trước khi giải phẫu con đực để thu buồng tinh; (iii) hiện tượng vỡ noãn hoàng hay không hấp thu được noãn hoàng của cá bột có thể liên quan đến rối loạn thành thực sinh dục của cá cái do thay đổi môi trường sống (Zohar và Mylonas, 2001) hoặc thiếu cân bằng về dinh dưỡng cho nuôi vỗ thành thực cá bố mẹ (Izquierdo *et al.*, 2001)

3.3 Kích thước trứng và sức sinh sản

Kết quả khảo sát kích thước trứng của cá trê Phú Quốc trong cả 2 thí nghiệm cho thấy, trước khi kích thích sinh sản đường kính trứng trung bình là 1,81±0,11 mm và sau khi rụng kích thước trứng gia tăng đến 2,02±0,23 mm. Trước khi tiêm chất kích thích sinh sản, đối với nhóm cá sinh sản thành công thì tần số xuất hiện của nhóm trứng có kích thước

trong khoảng 1,7-1,9 mm chiếm 74,4%; trong khi đối với nhóm cá không rụng trứng, tần số xuất hiện của trứng trong khoảng kích thước này chỉ chiếm 64,4%. Đối với nhóm cá được kích thích sinh sản thành công bằng 2 liều tiêm, sau liều tiêm sơ bộ, kích thước tăng lên $1,86 \pm 0,12$ mm và tần số xuất hiện của nhóm trứng có kích thước từ 1,8-2,0 mm chiếm 67,7%.

Sức sinh sản thực tế của cá trê Phú Quốc trong thí nghiệm sử dụng đơn chất kích thích cao nhất là 28.056 ± 5.739 trứng.kg⁻¹ ở nghiệm thức não thùy thể và thấp nhất là 15.475 ± 7.926 trứng.kg⁻¹ ở nghiệm thức LHRHa. Trong khi ở thí nghiệm sử

dụng kết hợp với não thùy thì nghiệm thức sử dụng hCG (4.000 IU) cho sức sinh sản cao hơn có ý nghĩa thống kê (22.944 ± 6.435 trứng.kg⁻¹) so với nghiệm thức sử dụng Ovaprim (12.013 ± 9.947 trứng.kg⁻¹). Nhìn chung, cá được kích thích bằng GtH có sức sinh sản thực tế cao hơn nhóm được kích thích bằng GnRHa, tuy nhiên, trừ các nghiệm thức sử dụng Ovaprim, sức sinh sản thực tế giữa các nghiệm thức còn lại không có sự khác biệt thống kê ($p > 0,05$). Sức sinh sản và kích thước trứng của cá trê Phú Quốc so với một số loài cá trê khác thuộc giống *Clarias* được trình bày trong Bảng 5.

Bảng 5: Sức sinh sản và kích thước trứng của một số loài cá trê thuộc giống *Clarias*

Loài cá	Sức sinh sản (x10 ³ trứng.kg ⁻¹)	Kích thước trứng (mm)	Nguồn
<i>Clarias batrachus</i>	16,9 – 58,8	-	Sahoo et al., 2005
<i>Clarias gariepinus</i>	102,2	1,09 (± 0,08)	Liem, 2008
	60 – 150	1,2 – 1,5	Legendre et al., 2006
<i>Clarias gracilentus</i>	12,0 – 28,1	2,02 (±0,23)	Nghiên cứu này
<i>Clarias macrocephalus</i>	67,1	1,37 (± 0,17)	Liem, 2008
	20 – 50	1,3 – 1,6	Legendre et al., 2006

Từ những kết quả trong Bảng 5 cho thấy giữa kích thước trứng và sức sinh sản có mối tương quan nghịch, cá có kích thước trứng nhỏ thì có sức sinh sản cao hơn cá có kích thước trứng to. Cá trê Phú Quốc có kích thước trứng lớn nhất, nên sức sinh sản sẽ thấp hơn khi so sánh với cá trê vàng hay trê Phi.

4 KẾT LUẬN VÀ ĐỀ XUẤT

4.1 Kết luận

– Cá trê Phú Quốc thích ứng tốt và có khả năng thành thực trong điều kiện nuôi của trại sản xuất giống với tỉ lệ thành thực trên 75%.

– Não thùy thể, hCG và LHRHa đều có khả năng kích thích rụng trứng ở cá trê Phú Quốc, trong đó phương pháp tiêm 2 liều sử dụng kết hợp não thùy (2 mg.kg⁻¹) và hCG (4.000 IU.kg⁻¹) cho kết quả tốt nhất. Ovaprim với liều 0,5 mL.kg⁻¹ không gây rụng trứng, nhưng với liều 1 mL.kg⁻¹ kết hợp với não thùy ở liều sơ bộ gây rụng trứng 60% cá thí nghiệm.

– Sức sinh sản thực tế của cá trê Phú Quốc trong khoảng 12.000 – 28.100 trứng.kg⁻¹ khối lượng thân cá cái với kích thước trứng trung bình 2,02 mm.

4.2 Đề xuất

– Tiếp tục nghiên cứu đánh giá chất lượng sản phẩm sinh dục của cá đực nhằm nâng cao tỉ lệ thụ tinh trong sinh sản nhân tạo.

– Tỉ lệ nở và tỉ lệ sống thấp của cá trê Phú Quốc có thể liên quan đến chế độ dinh dưỡng của cá bố mẹ cần có các nghiên cứu phát triển thức ăn nuôi vỗ cá bố mẹ loài này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Ayson, F.G., 1991. Induced spawning of rabbitfish, *Siganus guttatus* (Bloch) using human chorionic gonadotropin (HCG). *Aquaculture*, 95:133-137.
2. Biswas, S.P. (1993) Manual of Methods in Fish Biology. South Asian Publishers, Pvt Ltd., New Delhi. 157 pages.
3. Cacot, P., Legendre, M., Dan, T.Q., Tung, L.T., Liem, P.T., Marojouls, C., and Lazard, J., 2002. Induced ovulation of *Pangasius bocourti* (Sauvage, 1880) with a progressive hCG treatment. *Aquaculture*, 213: 199-206.
4. Hogendoorn, H., and M.M. Vismans, 1980. Controlled propagation of the African catfish *Clarias lazera* (C&V). II. Artificial reproduction. *Aquaculture* 21:39-53
5. Hossain, Q., M.A. Hossain and S. Parween, 2006. Artificial breeding and nursery practices of *Clarias batrachus* (Linnaeus, 1758). *Scientific World*, Vol. 4, (4): 32-37.
6. Izquierdo, M.S., H. Fernandez-Palacios and A.G.J. Tacon, 2001. Effect of broodstock

- nutrition on reproductive performance of fish. *Aquaculture* 197: 25–42.
7. Kiem, N.V., and P.T. Liem, 1999. Some biological characteristics of *Clarias batrachus* and preliminary results on hybridization between *C. batrachus* and *C. gariepinus*. In: Legendre, M., and Pariselle, A. (Eds) *The biological diversity and aquaculture of Clariid and Pangasiid catfishes in Southeast Asia*. Proceeding of the mid-term meeting of the Catfish Asia Project, Cantho, Vietnam, pp. 191-193.
 8. Legendre, M., O. Linhart and R. Billard, 1996. Spawning and management of gametes, fertilized eggs and embryos in Siluroidei. *Aquat. Living Resour.*, 1996, Vol. 9, Hors série, 59-80.
 9. Legendre, M., Teugels, G.G., Cauty, C., and Jalabert, B., 1992. A comparative study on morphology, growth rate and reproduction of *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822), *Heterobranchus longifilis* (Valenciennes, 1840) and their reciprocal hybrids (Pisces, Clariidae). *J. Fish. Biol.*, 40: 59-79.
 10. Lenormand, S., J. Slembrouck, L. Pouyaud, J. Subagja, and M. Legendre, 1999. Evaluation of hybridization in five *Clarias* species (Siluriformes, Clariidae) of African (*C. gariepinus*) and Asian origin (*C. batrachus*, *C. meladerma*, *C. nieuhoftii* and *C. teijsmanni*). In: Legendre, M., and Pariselle, A. (Eds) *The biological diversity and aquaculture of Clariid and Pangasiid catfishes in Southeast Asia*. Proceeding of the mid-term meeting of the Catfish Asia Project, Cantho, Vietnam, pp. 195-209.
 11. Liao I.C. and Y.S. Huang, 2000. Methodological approach used for the domestication of potential candidates for aquaculture. *CIHEAM Cahiers Options Méditerranéennes*, 47: 97-107.
 12. Liem, P.T., 2008. Breeding performance and traits inheritance of hybrid catfish, *Clarias macrocephalus* and *Clarias gariepinus*. PhD Thesis, University Malaysia Terengganu.
 13. Miura, T., Yamauchi, K., Takahashi, H. and Nagahama, Y., 1992. The role of hormones in the acquisition of sperm motility in salmonid fish. *J. Exp. Zool.*, 261: 359-363.
 14. Mollah, M.F.A. and E.S.P. Tan, 1983. HCG-Induced spawning of the catfish, *Clarias macrocephalus* (Gunther). *Aquaculture*, 35(3): 239-247.
 15. Mollah, M.F.A., M. Karim, and F. Khatoon, 1991. Comparison of larval growth rate and survival of three *Clarias* species. *J. Inland Fish. Soc. Indian*, 23: 42-44
 16. Nguyễn Văn Tư, Lê Thanh Hùng, Trần Văn Minh, Nguyễn Thị Thanh Tâm, Phạm Gia Diệp và Đặng Khánh Hồng, 2011. Nghiên cứu bước đầu về đặc điểm sinh học của cá trê Phú Quốc (*Clarias gracilentus* Ng, Dang & Nguyen, 2011). Tạp chí KHKT Nông Lâm Nghiệp, Đại học Nông Lâm TP. Hồ Chí Minh.
 17. Rasanthi, M. G., G. J. Gooleyb, S.S. De Silva, 1998. Characterisation of 'swollen yolk-sac syndrome' in the Australian freshwater fish Murray cod, *Maccullochella peelii peelii*, and associated nutritional implications for large scale aquaculture. *Aquaculture* 69 (1–2): 69–85.
 18. Richter, C.J.J., Rothuis, A.J., Eding, E.H., Oyen, F.G.F., Van Gellcum, J.F.B., Strijbos, C., Verbon, F.J. and Gielen, J.T., 1987. Ovarian and body responses of the African catfish (*Clarias gariepinus*) on human chorionic gonadotropin (Chorulon R) and carp pituitary suspension, used in a bioassay for estimating the gonadotropic activity of a crude powder preparation. *Aquaculture*, 62:53-66.
 19. Sahoo, S.K, S.S. Giri and A.K. Sahu, 2005. Effect on breeding performance and egg quality of *Clarias batrachus* (Linn.) at various doses of Ovotide during spawning induction. *Asian Fisheries Science* 18: 77-83.
 20. Sahoo, S.K., S.S. Giri, S. Chandra, B. C. Mohapatra, 2008. Evaluation of breeding performance of Asian Catfish *Clarias batrachus* at different dose of HCG and latency period combinations. *Turkish J. Fisheries and Aquatic Sciences* 8: 249-251.
 21. Santiago, C. B. and A. C. Gonzal, 1997. Growth and reproductive performance of the Asian catfish *Clarias macrocephalus* (Gunther) fed artificial diets. *J. Appl. Ichthyol.* 13: 37-40.
 22. Sumastri, S., A. Priyadi, and Rusmaedi, 1994. Breeding techniques of *Clarias melanoderma*. *Penelitian Perikanan Darat, Sukamandi, Indonesia*, 12 (2):17-20.
 23. Szyper, J.P., C.S. Tamaru, R.D. Howerton, K.D. Hopkins, A.W. Fast, and R.P.

- Weidenbach, 2001. Maturation, hatchery, and nursery techniques for Chinese Catfish, *Clarias fuscus*, in Hawaii. Aquaculture Extension Bulletin, Summer 2001.
24. Tambasen-Cheong, Ma. V.P., Tan-Fermin, J.D., Garcia, L.M.B., and Baldevarona, R.B., 1995. Milt-egg ratio in artificial fertilization of the Asian freshwater catfish, *Clarias macrocephalus*, injected salmon gonadotropin-releasing hormone analogue and domperidone. *Aquat. Living Resour.*, 8: 303-307.
25. Tan-Fermin, J.D., and Emata, A.C., 1993. Induced spawning by LHRHa and pimozide in the freshwater Asian catfish *Clarias macrocephalus* (Gunther). *J. Appl. Ichthyol.*, 9: 89-96.
26. Tan-Fermin, J.D., R.R. Pagador, and R.C. Chavez, 1997. LHRHa and pimozide-induced spawning of Asian catfish *Clarias macrocephalus* (Gunther) at different times during an annual reproductive cycle. *Aquaculture*, 148: 323-331.
27. Taslima, K. and F. Ahmed, 2012. Study on seed production technique of indigenous magur (*Clarias batrachus*), shing (*Heteropneustes fossilis*) and pabda (*Ompok pabda*) through induced breeding. *Bulletin of Environment, Pharmacology & Life Sciences*. Volume 1, Issue 4, March 2012: 16 – 23.
28. Thalathiah, S., Ahmad, A.O. and Zaini, M.S., 1988. Induced spawning techniques practiced at Batu Berendam, Melaka, Malaysia. *Aquaculture*, 74: 23-33.
29. Viveiros, A.T.M., Fessehaye, Y., ter Veld, M., Schulz, R.W., Komen, J., 2002. Hand-stripping of semen and semen quality after maturation hormone treatment, in African catfish *Clarias gariepinus*. *Aquaculture*, 213: 373-386.
30. Young, M.J.A, Fast, A.W. and Olin, P.G., 1989. Induced maturation and spawning of Chinese catfish *Clarias fuscus*. *J. World Aquac. Soc.*, 20: 7-11.
31. Zohar, Y., and Mylonas, C., 2001. Endocrine manipulations of spawning in cultured fish: from hormones to genes. *Aquaculture*, 197: 99–136.