

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

**BỘ NÔNG NGHIỆP
VÀ PHÁT TRIỂN NÔNG THÔN**

VIỆN NGHIÊN CỨU HẢI SẢN

ĐẶNG MINH DŨNG

**NGHIÊN CỨU CƠ SỞ KHOA HỌC PHỤC VỤ CHO VIỆC
SINH SẢN NHÂN TẠO CÁ NÁC [*BOLEOPHTHALMUS
PECTINIROSTRIS* (LINNAEUS, 1758)]**

LUẬN ÁN TIẾN SĨ SINH HỌC

HẢI PHÒNG - 2022

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

**BỘ NÔNG NGHIỆP
VÀ PHÁT TRIỂN NÔNG THÔN**

VIỆN NGHIÊN CỨU HẢI SẢN

ĐẶNG MINH DŨNG

**NGHIÊN CỨU CƠ SỞ KHOA HỌC PHỤC VỤ CHO VIỆC
SINH SẢN NHÂN TẠO CÁ NÁC [*BOLEOPHTHALMUS
PECTINIROSTRIS* (LINNAEUS, 1758)]**

Chuyên ngành: Thủy sinh vật học

Mã số: 9420108

LUẬN ÁN TIẾN SĨ SINH HỌC

Người hướng dẫn khoa học:

1. PGS.TS. Đỗ Văn Khương

HẢI PHÒNG - 2022

LỜI CAM ĐOAN

Tôi là Đặng Minh Dũng, nghiên cứu sinh (NCS) tại Hội đồng Khoa học và Đào tạo, Viện nghiên cứu Hải sản, chuyên ngành Thủy sinh vật học, mã số: 9420108, khóa 2014 – 2019 (được gia hạn 2 năm), xin cam đoan: Đề tài luận án tiến sĩ sinh học này là công trình nghiên cứu của riêng tôi, các nội dung và kết quả nghiên cứu, phân tích, đánh giá do chính tôi thực hiện trên cơ sở nguồn số liệu đã thu thập được. Các số liệu sử dụng trong luận án đã được Viện Nghiên cứu Hải sản là cơ quan chủ trì thực hiện cho phép NCS sử dụng. Các tài liệu tham khảo trong luận án với mục đích tổng quan làm cơ sở lý luận, so sánh, phân tích và thảo luận đều được trích dẫn đầy đủ theo quy định. Toàn bộ nội dung và kết quả trong luận án đều đảm bảo tính tin cậy, không trùng lặp và đã được chính NCS công bố trên các tạp chí chuyên ngành.

Nghiên cứu sinh

Đặng Minh Dũng

LỜI CẢM ƠN

Để hoàn thành luận án tiến sĩ này, trước hết nghiên cứu sinh (NCS) xin chân thành cảm ơn PGS.TS. Đỗ Văn Khương là người thầy hướng dẫn đã tận tâm chỉ dẫn và giúp đỡ NCS trong suốt thời gian thực hiện đề tài luận án. NCS xin cảm ơn Hội đồng Khoa học và Đào tạo Viện nghiên cứu Hải sản, các thầy, các cô và các nhà khoa học đã góp ý cho bản thảo luận án. Xin chân thành cảm ơn Ban lãnh đạo Viện Nghiên cứu Hải sản, các cán bộ của Trung tâm Phát triển nghề cá Vịnh Bắc Bộ - Viện nghiên cứu Hải sản đã hỗ trợ triển khai thí nghiệm, phân tích mẫu để NCS thực hiện các nội dung nghiên cứu của luận án.

Nghiên cứu sinh cũng xin cảm ơn cơ sở sản xuất giống thủy sản Bàng La - quận Đồ Sơn - thành phố Hải Phòng, Phòng thí nghiệm Khoa học biển - Viện Nghiên cứu Hải sản, đã hỗ trợ các điều kiện cần thiết cho NCS triển khai các thí nghiệm.

Nghiên cứu sinh xin được cảm ơn gia đình, người thân, bạn bè, đồng nghiệp đã động viên, khích lệ và sẵn sàng giúp đỡ trong suốt những năm tháng thực hiện luận án.

Xin trân trọng cảm ơn!

Nghiên cứu sinh

Đặng Minh Dũng

MỤC LỤC

	Trang
KÝ HIỆU, CHỮ VIẾT TẮT	vii
DANH MỤC BẢNG	viii
DANH MỤC HÌNH	ix
MỞ ĐẦU	1
1. Tính cấp thiết của nghiên cứu.	1
2. Mục tiêu và nội dung nghiên cứu của đề tài luận án	2
2.1. Mục tiêu chính của luận án.....	2
2.2. Nội dung nghiên cứu của luận án	2
3. Ý nghĩa khoa học thực tiễn của luận án	3
4. Tính mới của luận án	3
CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN	5
1.1. Tổng quan tình hình nghiên cứu cá nác trên thế giới	5
1.1.1. Hệ thống phân loại.....	5
1.1.2. Đặc điểm hình thái.....	5
1.1.3. Phân bố	7
1.1.4. Tập tính sống	7
1.1.5. Đặc điểm dinh dưỡng	10
1.1.6. Đặc điểm sinh sản và sinh sản nhân tạo	11
1.1.6.1. Đặc điểm sinh sản.....	11
1.1.6.2. Nghiên cứu sinh sản nhân tạo.....	13
1.2.7. Nghiên cứu sinh học cơ bản khác.....	15
1.2.8. Tình hình nuôi thương phẩm cá nác	16
1.3. Tình hình nghiên cứu cá nác ở Việt nam.....	17
1.3.1. Nghiên cứu đặc điểm sinh học và sinh sản cá nác	17
1.3.2. Một số nghiên cứu sinh học, sinh sản các loài trong họ cá nác.....	19
1.3.3. Các yếu tố ảnh hưởng đến hiệu quả sản xuất giống nhân tạo cá biển.....	23
1.3.3.1. Ảnh hưởng của hormone kích thích sinh sản đến khả năng sinh sản cá	23
1.3.3.2. Ảnh hưởng của mật độ ương	25
1.3.3.3. Thức ăn và chế độ cho ăn	26
1.3.3.4. Một số loại thức ăn phổ biến sử dụng ương ấu trùng cá biển	26

CHƯƠNG 2: TÀI LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	33
2.1. Đối tượng, thời gian, địa điểm và vật liệu nghiên cứu	33
2.2. Phương pháp nghiên cứu	34
2.2.1. Nghiên cứu một số đặc điểm sinh học sinh sản cá nác	34
2.2.1.1. Phương pháp xác định môi trường sống, phân bố và tuần suất bắt gặp cá nác trong tự nhiên.....	34
2.2.1.2. Nghiên cứu một số đặc điểm sinh học sinh sản.....	35
2.2.2. Nghiên cứu sinh sản cá nác trong điều kiện nhân tạo	39
2.2.3. Phương pháp đề xuất một số giải pháp kỹ thuật và dự thảo quy trình sản xuất giống nhân tạo cá nác	49
2.2.4. Phương pháp thu thập và xử lý số liệu	49
Chương 3: KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN	51
3.1. Một số đặc điểm sinh học sinh sản cá nác.....	51
3.1.1. Phân bố và tần suất bắt gặp cá nác trong tự nhiên	51
3.1.2. Mùa vụ xuất hiện	51
3.1.3. Đặc điểm dinh dưỡng của cá nác.....	52
3.1.4. Mùa vụ sinh sản.....	54
3.1.5. Đặc điểm phân biệt giới tính	54
3.1.6. Cấu trúc tuổi.	55
3.1.7. Tần suất bắt gặp cá tham gia sinh sản	57
3.1.8. Đặc điểm phát triển tuyến sinh dục cá nác	59
3.1.9. Độ béo cá nác	69
3.1.9.1. Độ béo cá nác cái.....	69
3.1.9.2. Độ béo cá nác đực	70
3.1.10. Biến động hệ số thành thực của cá nác.....	70
3.1.11. Sức sinh sản.....	74
3.1.12. Quá trình phát triển phôi và biến thái của ấu trùng cá nác	75
3.2. Kết quả nghiên cứu sinh sản cá nác trong điều kiện nhân tạo.....	78
3.2.1. Kết quả nghiên cứu nuôi vỗ thành thực cá bố mẹ	78
3.2.1.1. Một số yếu tố môi trường trong bể nuôi vỗ thành thực.....	78
3.2.1.2. Kết quả nghiên cứu lựa chọn chất đáy nuôi vỗ thành thực cá bố mẹ.....	80
3.2.1.3. Kết quả nghiên cứu lựa chọn chế độ dinh dưỡng nuôi vỗ cá nác bố mẹ.....	81

3.2.1.4. Sức sinh sản cá cái trong điều kiện nuôi vỗ	82
3.2.2. Kết quả nghiên cứu kích thích sinh sản nhân tạo cá nác bằng kích dục tố	83
3.2.2.1. Thời gian hiệu ứng thuốc kích dục tố	83
3.2.2.2. Tỷ lệ trứng thụ tinh	84
3.2.3. Ảnh hưởng nhiệt độ, độ muối đến tỷ lệ sống và phát triển của các giai đoạn phát triển sớm của ấu trùng cá nác.	86
3.2.3.1. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến quá trình phát triển phôi cá nác	86
3.2.3.2. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến tỷ lệ nở của trứng cá nác	87
3.2.3.3. Ảnh hưởng của độ muối đến tỷ lệ nở của trứng cá nác	88
3.2.4. Ảnh hưởng của mật độ ương lên tốc độ sinh trưởng và tỷ lệ sống cá nác từ cá bột lên cá hương	89
3.2.4.1. Ảnh hưởng của mật độ ương lên tốc độ sinh trưởng chiều dài cá nác giai đoạn từ cá bột lên cá hương	89
3.2.4.2. Ảnh hưởng của mật độ lên tỷ lệ sống của ấu trùng giai đoạn từ cá bột lên cá hương	90
3.2.5. Ảnh hưởng của thức ăn lên tỷ lệ sống và sinh trưởng của ấu trùng giai đoạn từ cá bột lên cá hương	92
3.2.5.1. Ảnh hưởng thức ăn lên tỷ lệ sống của ấu trùng giai đoạn từ cá bột lên cá hương	92
3.2.5.2. Ảnh hưởng thức ăn lên tốc độ sinh trưởng chiều dài cá nác giai đoạn từ cá bột lên cá hương	93
3.2.6. Kết quả nghiên cứu lựa chọn chế độ dinh dưỡng ương nuôi cá nác giai đoạn cá hương lên cá giống	94
3.2.6.1. Ảnh hưởng thức ăn lên tỷ lệ sống giai đoạn từ cá hương lên cá giống	94
3.2.6.2. Ảnh hưởng của thức ăn lên tốc độ sinh trưởng chiều dài cá nác giai đoạn từ cá hương lên cá giống	96
3.3. Đề xuất một số giải pháp kỹ thuật và dự thảo quy trình sản xuất giống nhân tạo cá nác	97
3.3.1. Đề xuất một số giải pháp kỹ thuật sản xuất giống nhân tạo cá nác	97
3.3.2. Dự thảo quy trình sản xuất giống nhân tạo cá nác	98
3.3.2.1. Tên quy trình	98
3.3.2.2. Xuất xứ quy trình	98

3.3.2.3. Đối tượng và phạm vi áp dụng	98
3.3.2.4. Các yêu cầu chung.....	98
3.3.2.5. Quy trình.....	100
KẾT LUẬN VÀ KHUYẾN NGHỊ.....	104
1. Kết luận.....	104
2. Khuyến nghị	105
DANH MỤC CÔNG TRÌNH ĐÃ CÔNG BỐ	106
TÀI LIỆU THAM KHẢO	107
Tài liệu tiếng việt.....	107
Tài liệu tiếng nước ngoài.....	109
PHỤ LỤC	- 1 -
Phụ lục 1: Số liệu thu mẫu sinh học cá nác	- 1 -
Phụ lục 2: Mẫu phiếu điều tra phỏng vấn.....	- 24 -
Phụ lục 3: Quy trình làm tiêu bản tổ chức học tuyến sinh dục cá nác	- 26 -
Phụ lục 4: Một số hình ảnh trong quá trình thực hiện luận án	- 28 -

KÝ HIỆU, CHỮ VIẾT TẮT

CMSD	Chín tuổi sinh dục
Ct	Cá thể
CS	Cộng sự
DOM	Domperidon - Thuốc điều trị chống buồn nôn và nôn
GSI	Gonadosomatic index - Hệ số thành thực
HCG	Human chorionic gonadotropin - Kích dục tổ màng đệm nhau thai
KDT	Kích dục tổ
LRHa	Luteinizing Hormone-Releasing Hormone Analog – hormone gây phóng thích kích dục tổ
NCS	Nghiên cứu sinh
Nt	Nhuễn thể
S‰	Tỷ lệ phần nghìn độ muối
SSS	Sức sinh sản
TSD	Tuyển sinh dục
FAO	Food and Agriculture Organization - Tổ chức nông, lương của Liên hiệp quốc

DANH MỤC BẢNG

	Trang
Bảng 2.1: Liều lượng kích dục tố kích thích cá sinh sản	41
Bảng 2.2: Thức ăn và thời điểm cho ấu trùng ăn	45
Bảng 2.3: Tỷ lệ và lượng thức ăn cho ấu trùng cá.....	45
Bảng 3.1. Đặc điểm môi trường phân bố và tần suất bắt gặp cá nác.	51
Bảng 3.2: Sự phân bố cá nác theo lứa tuổi, vùng địa lý và thời gian trong năm.....	52
Bảng 3.3: Phân biệt cá nác đực và cá nác cái	55
Bảng 3.4: Tương quan giữa chiều dài và khối lượng cá	57
Bảng 3.5: Sức sinh sản của cá nác.....	74
Bảng 3.6: Biến động môi trường trong bể nuôi vỗ và sinh sản cá nác.....	79
Bảng 3.7: Kết quả lựa chọn chất đáy nuôi vỗ thành thực cá nác.....	80
Bảng 3.8: Kết quả lựa chọn chế độ dinh dưỡng nuôi vỗ cá nác bố mẹ	81
Bảng 3.9: Sức sinh sản của cá nác cái trong điều kiện nuôi vỗ	82
Bảng 3.10: Hiệu ứng kích dục tố tới khả năng đẻ cá nác.	84
Bảng 3.11: Tỷ lệ thụ tinh và tỷ lệ nở trứng cá nác	84
Bảng 3.12: Thời gian phát triển phôi cá nác ở các nhiệt độ khác nhau.....	86
Bảng 3.13: Ảnh hưởng thức ăn đến tốc độ tăng trưởng về chiều dài cá nác giai đoạn từ cá bột lên cá hương.....	93
Bảng 3.14: Ảnh hưởng của thức ăn đến tỷ lệ sống giai đoạn cá hương lên cá giống ...	95
Bảng 3.15: Ảnh hưởng của thức ăn đến tốc độ tăng trưởng về chiều dài cá nác từ cá hương lên cá giống	96
Bảng 3.16. Chế độ cho cá ăn và quản lý bể nuôi	101
Bảng 3.17. Một số yếu tố môi trường nước thích hợp cho bể ương	102

DANH MỤC HÌNH

	Trang
Hình 1.1: Cá nác [<i>Boleophthalmus pectinirostris</i> (Linnaeus, 1758)]	5
Hình 1.2: Góc vây ngực cá nác	6
Hình 1.3: Phân bố cá nác trên thế giới	7
Hình 1.4: Miệng hang cá nác.....	8
Hình 1.5: Cá nác trong tự nhiên	8
Hình 1.6: Hang cá nác trong tự nhiên.....	9
Hình 1.7: Tương quan chiều dài và khối lượng cá nác cái	10
Hình 1.8: Tương quan chiều dài và khối lượng cá nác đực	10
Hình 1.9: Trứng bám trên vách tổ cá nác	12
Hình 2.1: Sơ đồ vị trí thu mẫu cá nác tại các bãi triều	33
Hình 2.2: Sơ đồ bố trí thí nghiệm lựa chọn thức ăn nuôi vỗ cá nác bố mẹ	40
Hình 2.3: Sơ đồ bố trí thí nghiệm kích thích sinh sản cá nác bằng kích dục tố	41
Hình 2.4: Chọn cá tham gia sinh sản	42
Hình 2.5: Vị trí tiêm kích dục tố.....	42
Hình 2.6: Sơ đồ bố trí thí nghiệm ảnh hưởng nhiệt độ.....	43
Hình 2.7: Sơ đồ bố trí thí nghiệm ảnh hưởng độ muối	44
Hình 2.8: Sơ đồ bố trí thí nghiệm mật độ ương cá bột lên cá hương	45
Hình 2.9: Sơ đồ bố trí thí nghiệm ảnh hưởng của thức ăn từ cá bột lên cá hương.....	47
Hình 2.10: Sơ đồ bố trí thí nghiệm ảnh hưởng thức ăn cá hương lên cá giống	48
Hình 3.1: Miệng cá nác	53
Hình 3.2: Thành phần thức ăn của cá nác trưởng thành.....	53
Hình 3.3: Cá nác cái	55
Hình 3.4: Cá nác đực	55
Hình 3.5: Vân sinh trưởng trên vây cá nác.....	56
Hình 3.6 : Tương quan chiều dài và khối lượng cá nác cái.....	58
Hình 3.7: Tương quan chiều dài và khối lượng cá nác đực	58
Hình 3.8: Tần suất bắt gặp cá cái tham gia sinh sản ở các độ tuổi.....	58
Hình 3.9: Tần suất bắt gặp cá đực tham gia sinh sản ở các độ tuổi	58
Hình 3.10: Hình thái ngoài buồng trứng cá nác	59
Hình 3.11: Tổ chức học buồng trứng giai đoạn I (phóng đại 400 lần).....	60

Hình 3.12: Tổ chức học buồng trứng giai đoạn II (phóng đại 400 lần)	61
Hình 3.13: Tổ chức học buồng trứng giai đoạn III (phóng đại 400 lần)	62
Hình 3.14: Tổ chức học buồng trứng giai đoạn IV (phóng đại 400 lần).....	62
Hình 3.15: Tổ chức học buồng trứng giai đoạn V (phóng đại 400 lần)	63
Hình 3.16: Tổ chức học buồng trứng giai đoạn VI (phóng đại 200 lần).....	64
Hình 3.17: Tổ chức học buồng ở các giai đoạn khác nhau (phóng đại 200 lần).....	65
Hình 3.18: Hình thái tuyến sinh dục đực.....	65
Hình 3.19: Tổ chức học tinh sào giai đoạn I (phóng đại 400 lần).....	66
Hình 3.20: Tổ chức học tinh sào giai đoạn II (phóng đại 400 lần)	66
Hình 3.21: Tổ chức học tinh sào giai đoạn III (phóng đại 400 lần)	67
Hình 3.22: Tổ chức học tinh sào giai đoạn IV (phóng đại 400 lần).....	67
Hình 3.23: Tổ chức học tinh sào giai đoạn V (phóng đại 400 lần)	68
Hình 3.24: Tổ chức học tinh sào giai đoạn VI (phóng đại 400 lần).....	68
Hình 3.25: Sự biến đổi độ béo cá nác cái trong năm.....	69
Hình 3.26: Sự biến đổi độ béo cá đực cái trong năm	70
Hình 3.27: Hệ số thành thực cá nác cái	71
Hình 3.28: Hệ số thành thực cá nác đực.....	72
Hình 3.29: Biến động các giai đoạn thành thực của cá nác cái	73
Hình 3.30: Biến động các giai đoạn thành thực của cá nác đực.....	73
Hình 3.31: Mối tương quan giữa khối lượng và sức sinh sản tuyệt đối của cá nác.	75
Hình 3.32: Quá trình phát triển của phôi cá nác.....	76
Hình 3.33: Quá trình phát triển phôi cá nác	76
Hình 3.34: Quá trình phát triển phôi cá nác	77
Hình 3.35: Quá trình phát triển phôi cá nác	77
Hình 3.36: Cá cái chín muối sinh dục	80
Hình 3.37: Trứng cá nác bám trên giá thể.....	83
Hình 3.38: Ảnh hưởng của nhiệt độ đến tỷ lệ nở của trứng cá nác	87
Hình 3.39: Ảnh hưởng của độ muối đến tỷ lệ nở của trứng cá nác.....	88
Hình 3.40: Ảnh hưởng của mật độ đến sinh trưởng chiều dài ấu trùng cá nác	89
Hình 3.41: Tỷ lệ sống của ấu trùng cá nác sau 35 ngày ương.....	91
Hình 3.42: Ảnh hưởng thức ăn đến tỷ lệ sống cá nác từ cá bột lên cá hương.....	92

MỞ ĐẦU

1. Tính cấp thiết của nghiên cứu.

Cá nác [*Boleophthalmus pectinirostris* (Linnaeus, 1758)] là loài cá có giá trị kinh tế cao, sống ở bãi triều vùng nước lợ, có kích thước cơ thể nhỏ (10 - 35 gr/con) nhưng thịt thơm ngon, là đặc sản tươi sống hoặc phơi khô. Ở các tỉnh phía Bắc Việt Nam cá được khai thác tập trung từ tháng 1 đến tháng 9 hàng năm, tập trung nhiều ở các tỉnh ven biển: Quảng Ninh, Hải Phòng, Thái Bình, Nam Định, Ninh Bình, ... Phần lớn sản lượng cá nác khai thác được chủ yếu xuất khẩu sang Trung Quốc chỉ một phần tiêu thụ nội địa.

Ở Việt Nam, nguồn lợi cá nác tự nhiên đang bị suy giảm nghiêm trọng. Do xuất đi Trung Quốc với giá bán cao (250.000 - 300.000đ/kg) nên người dân đã sử dụng các ngư cụ khai thác mang tính huỷ diệt: kích điện, sử dụng lưới có mắt dày để đánh bắt, bẫy...; Phát triển nuôi nhuyển thể trên các bãi triều cũng gây ô nhiễm hoặc làm thu hẹp nơi sinh sống của cá. Ô nhiễm môi trường từ lục địa theo các cửa sông ra bãi triều cũng là một trong những nguyên nhân quan trọng làm suy giảm nguồn lợi cá nác.

Giá bán cao, nhu cầu của thị trường Việt Nam và Trung Quốc ngày càng lớn nhưng Việt Nam chưa phát triển nuôi cá nác. Cá nác thương phẩm được thu gom chủ yếu từ tự nhiên phục vụ người tiêu dùng và xuất khẩu tiểu ngạch sang Trung Quốc. Người Trung Quốc coi cá nác là một đặc sản, cá nác tuy đã được phát triển nuôi ở một số địa phương phía Bắc (Phúc Kiến, Sơn Đông) nhưng sản lượng nuôi chưa đáp ứng nhu cầu, cá thịt thương phẩm vẫn chủ yếu khai thác tự nhiên và nhập khẩu từ Việt Nam. Như vậy, cá nác ở cả 2 nước Việt Nam và Trung Quốc (hơn ¼ dân số thế giới) không những có giá trị kinh tế, giá trị bảo tồn mà còn như là sinh vật chỉ thị cho các vùng sinh thái của các cửa sông lớn.

Cũng do khai thác quá mức và môi trường sống bị thu hẹp, các nước Nhật Bản, Hàn Quốc xếp cá nác vào danh sách quý hiếm và đang có nguy cơ tuyệt chủng (Yang cs, 2003). Thực tế tại Việt Nam, ở nhiều các vùng cửa sông, bãi triều trước đây cá nác phân bố nhiều đến nay không còn hoặc ít xuất hiện. Từ năm 2012, Bộ Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn giao cho Viện nghiên cứu Hải sản đưa vào bảo tồn lưu giữ nguồn gen.

Trong lưu giữ và phát triển nguồn gen, phục hồi tái tạo nguồn lợi đối với tất cả các đối tượng thủy sản, sản xuất giống nhân tạo là giải pháp đầu tiên cần được quan tâm vì có tác dụng và hiệu quả bền vững. Muốn sinh sản nhân tạo một đối tượng thủy sinh, trước hết cần nghiên cứu những cơ sở khoa học: đặc điểm sinh học, sinh sản của đối tượng. Đề tài luận án “Nghiên cứu cơ sở khoa học phục vụ cho việc sinh sản nhân tạo cá nác [*Boleophthalmus pectinirostris* (Linnaeus, 1758)]” là bước khởi đầu cấp thiết. Từ các cơ sở khoa học, các nghiên cứu xây dựng và hoàn thiện qui trình sản xuất giống nhân tạo, qui trình nuôi cấy sớm được triển khai để nhanh chóng làm chủ công nghệ, tạo nên sản phẩm mới, giá bán cao, nhu cầu thị trường lớn...

Với mục đích trên, nghiên cứu này tập trung nghiên cứu cơ sở khoa học cho việc xây dựng qui trình công nghệ (QTCN) sản xuất giống nhân tạo. Cụ thể: nghiên cứu các đặc điểm sinh học, đặc điểm sinh sản của cá nác trong tự nhiên; nghiên cứu khả năng sinh sản nhân tạo và các yếu tố ảnh hưởng đến khả năng sinh sản, quá trình thụ tinh, sinh trưởng và phát triển của phôi, sinh trưởng, tỷ lệ sống của ấu trùng và cá con cá nác. Bản luận văn này xin trình bày kết quả của quá trình nghiên cứu thăm dò, sau đó là các nghiên cứu triển khai thực hiện đề tài luận văn gần 7 năm qua (từ 2015- 2021) của tác giả.

2. Mục tiêu và nội dung nghiên cứu của đề tài luận án

2.1. Mục tiêu chính của luận án

- Xác định được một số yếu tố môi trường sống chủ yếu và đặc điểm sinh học sinh sản của cá nác ngoài tự nhiên.
- Xác định được những cơ sở khoa học cơ bản cho sản xuất giống nhân tạo cá nác.
- Đề xuất được các biện pháp kỹ thuật sản xuất nhân tạo cá nác nhằm cung cấp nguồn giống cho nghề nuôi thương phẩm, góp phần bảo tồn và phát triển nguồn lợi cá nác.

2.2. Nội dung nghiên cứu của luận án

- Nội dung 1: Nghiên cứu một số đặc điểm sinh học sinh sản của cá nác ngoài tự nhiên: Nghiên cứu một số đặc điểm sinh thái, phân bố tự nhiên, đặc điểm hình thái, sinh trưởng, cơ cấu giới tính, kích cỡ cá thành thực sinh dục lần đầu, các giai đoạn phát triển tuyến sinh dục, sức sinh sản (sức sinh sản tương đối, sức sinh sản tuyệt đối), hệ số thành thực sinh dục các giai đoạn phát triển phôi và ấu trùng.

- Nội dung 2: Nghiên cứu cơ sở khoa học cơ bản cho sản xuất giống nhân tạo cá nác
 - + Nghiên cứu nuôi vỗ thành thực cá nác trong điều kiện nhân tạo.
 - + Nghiên cứu ảnh hưởng của kích dục tố (thời điểm kích thích, chủng loại, liều lượng, phương pháp kích thích) đến tỷ lệ đẻ trứng của cá nác.
 - + Nghiên cứu ảnh hưởng của một số yếu tố môi trường (nhiệt độ, độ muối), mật độ ương và thức ăn đến tỷ lệ sống và phát triển của các giai đoạn phát triển sớm của ấu trùng đến cá giống.
- Nội dung 3: Đề xuất một số giải pháp kỹ thuật sản xuất giống nhân tạo cá nác.

3. Ý nghĩa khoa học thực tiễn của luận án

a) Ý nghĩa khoa học.

- Có được những cơ sở khoa học về đặc điểm sinh học, phân bố, điều kiện môi trường sinh thái phù hợp cho sự phát triển của trứng, ấu trùng, cá giống làm cơ sở khoa học cho các công trình nghiên cứu tiếp theo về sản xuất giống và phát triển nghề nuôi cá nác tại các vùng đất nhiễm mặn ven biển.
- Kết quả nghiên cứu của luận án là tài liệu tham khảo tốt cho các công trình nghiên cứu tiếp theo về sản xuất giống, nuôi, bảo tồn và tái tạo nguồn lợi cá nác.
- Số liệu của luận án có thể dùng để tham khảo giảng dạy trong các trường đại học, cao đẳng, trung học kỹ thuật và phổ thông.

b) Ý nghĩa thực tiễn.

- Thành công của đề tài cung cấp các luận cứ khoa học, tạo tiền đề vững chắc cho các nghiên cứu tiếp theo về sản xuất giống và nuôi thương phẩm cá nác ở nước ta.
- Kết quả nghiên cứu có khả năng ứng dụng vào thực tế sản xuất thúc đẩy phát triển nghề sản xuất giống và nuôi thương phẩm cá nác tại Việt Nam, góp phần tạo công ăn việc làm, ổn định cuộc sống cho cư dân ven biển, đồng thời góp phần bảo vệ và phát triển nguồn lợi thủy sản.

4. Tính mới của luận án

Lần đầu tiên luận án tiến hành nghiên cứu và công bố chi tiết đặc điểm sinh học sinh sản, các giai đoạn phát triển sớm (phôi, ấu trùng) và cá giống của cá nác một cách đầy đủ tại Việt Nam. Luận án đã có 3 điểm mới cung cấp cho lĩnh vực chuyên ngành là:

(1) Mô tả chi tiết đặc điểm sinh học sinh sản: Mùa vụ cá sinh sản từ cuối tháng 3 đầu tháng 4 đến tháng 8 hàng năm. Cá nác có thể tham gia sinh sản ở độ tuổi 1+, cá đẻ nhiều lần trong năm, sức sinh sản tuyệt đối dao động từ 2.843 - 6.463 trứng/cá và sức sinh sản tương đối trung bình: 342 ± 23 trứng/g cá cái.

(2) Cung cấp cơ sở khoa học quan trọng cho sản xuất giống nhân tạo cá nác: Kích dục tố kích thích cá sinh sản phù hợp là LRHa₃ 2 μ g ở liều tiêm sơ bộ và LRHa₃ 3 μ g + HCG 1000UI +DOM 5mg/kg cá cái, nhiệt độ từ 25 đến 31⁰C phù hợp cho quá trình phát triển phôi cá nác, thích hợp nhất 28⁰C. Độ muối thích hợp cho sự phát triển của phôi và ấu trùng cá nác từ 15 - 24‰, thích hợp nhất: 18-21‰. Ương nuôi ấu trùng cá nác giai đoạn cá bột lên cá hương mật độ 40 con/lít sử dụng thức ăn: 50% (*P. similis* (50 - 70 μ m) + 20% (naupliis của copepoda và copepod loại nhỏ dòng *Labidocera pavo* và *Calanopia thompsoni* < 80 μ m), mật độ thức ăn 10 ct/ml + Lansy 10% + Fippak 10% + Tảo khô 10% phù hợp nhất. Ương nuôi ấu trùng cá nác từ giai đoạn cá hương lên cá giống thức ăn phù hợp nhất là Copepoda với mật độ 4-5 ct/ml + Artemia 4-5 ct/ml + thức ăn tổng hợp 10 - 12g/vạn cá/ngày cho tỷ lệ sống đạt cao nhất sau 30 ngày ương nuôi đạt tỷ lệ sống từ 80,5 – 81,3%.

(3) Đề xuất được 8 yêu cầu về giải pháp kỹ thuật và xây dựng được dự thảo quy trình sản xuất giống nhân tạo cá nác.

CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN

1.1. Tổng quan tình hình nghiên cứu cá nác trên thế giới

1.1.1. Hệ thống phân loại

Giới:	Animalia
Ngành:	Gnathostomata
Lớp:	Actinopterygii
Phân lớp:	Neopterygii
Bộ:	Perciformes
Họ cá thoi loi:	Periophthalmidae
Giống thoi loi lớn:	Boleophthalmus

Loài cá nác: *Boleophthalmus pectinirostris* (Linnaeus, 1758).

Một số tên khoa học khác: *Gobius pectinirostris*, *Apocryptes polyophthalmus*.

Tên tiếng Việt: Cá nác, cá lác.

Tên tiếng Anh: Bluespotted mud hopper.

1.1.2. Đặc điểm hình thái



Hình 1.1: Cá nác (Đặng Minh Dũng, 2012)

D V, I. 23 - 26; A I.23 - 25; P1 18 - 19 (20); V I.5; C 15.

Vây đuôi dài 18,3 - 22,2% SL; chiều dài đầu 24,3 - 28,0% SL (Milward, 1974;

Piper, 2007).

Vây trên hàng dọc thân: 98 - 110, hàng ngang thân 30 - 40, hàng dọc trước vây lưng: 35 - 46. Lược mang: 4 - 5 + 6 - 7. Số đốt sống: 10 - 15.

Chiều dài thân bằng 5,2 - 6,3 lần chiều cao thân và bằng 3,4 - 4,1 lần chiều cao đầu. Chiều dài đầu bằng 4,2 - 5,7 lần chiều dài mõm, bằng 4,2 - 5,7 lần đường kính mắt và bằng 2,1 - 2,5 lần chiều dài xương hàm trên.

Thân dài, phần sau dẹp bên, phủ vảy tròn nhỏ, thân cá nhiều đốm nhỏ màu xanh trên cơ thể. Đầu lớn, phủ vảy có dạng máu nhỏ mềm. Mõm rất ngắn, bằng đường kính mắt. Mắt lớn nhô cao hơn mặt lưng của đầu, mí dưới phát triển có dạng túi. Lỗ mũi trước hình ống rử ngoài môi trên, lỗ mũi sau phẳng ở sát mắt.

Xương hàm trên kéo dài đến cuối hoặc sau mắt. Mỗi hàm có một hàm răng, hàm trên răng nhọn, đoạn trước hàm mỗi bên có 3 răng nanh dài khoẻ, ở hàm dưới răng chia ra ngoài môi, đầu răng xé thành 2 thùy, chỗ giáp nhau có 2 răng nanh lớn. Khe mang rộng bằng gốc vây ngực.



Hình 1.2: Góc vây ngực cá nác (Đặng Minh Dũng, 2012)

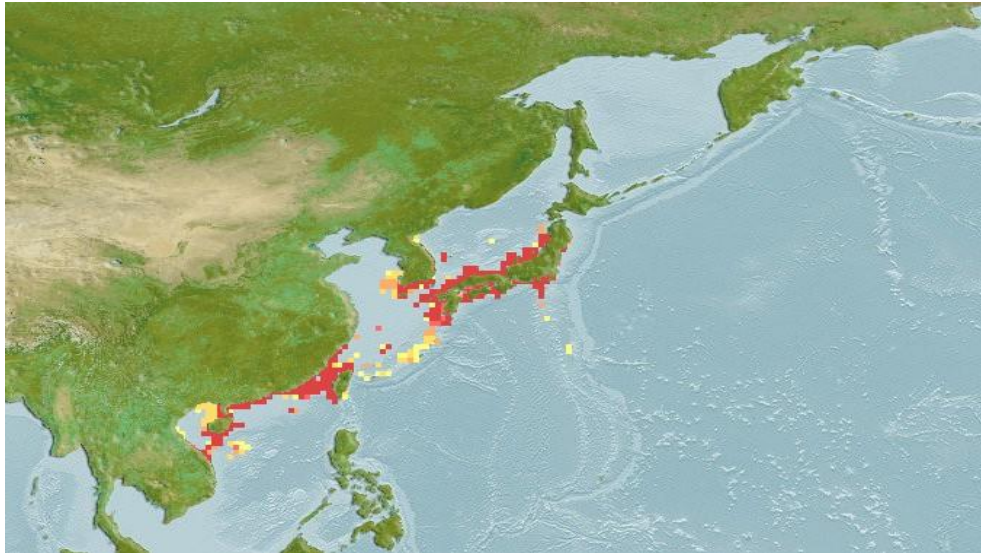
Các gai cứng của vây lưng thứ nhất đều, kéo dài dạng sợi. Vây ngực hợp thành dạng đĩa hoàn chỉnh. Vây ngực tròn, gốc vây rất khoẻ.

Thân cá có màu xám hoặc màu nâu, bên thân có 6 - 7 vân đen, chéo từ lưng đến giữa thân. Hai bên đầu có một số chấm đen nhỏ. Phía trước gốc trên nắp mang có 1 chấm đen lớn. 2 vây lưng đen hoặc nâu, có thể có một số vân trắng trên vây lưng thứ 2. Xoang miệng có màu đen.

1.1.3. Phân bố

Cá nác phân bố ở Ấn Độ, Malaysia, vịnh Bắc Bộ, Trung Quốc, Triều Tiên, Nhật Bản, Indonesia, Australia (Nguyễn Bá Mão, 1963 dịch Vương Dĩ Khang).

Theo tài liệu của FAO cá được phân bố tại khu vực Đông Á, Ấn Độ Dương, Thái Bình Dương, Đông Nam Á.



Hình 1.3: Phân bố cá nác trên thế giới ([Http://www.fishbase.org](http://www.fishbase.org))

Cá nác là một trong các đối tượng khai thác của cộng đồng ngư dân ven biển. Kích cỡ cá trưởng thành có thể đạt tới 63 - 94 mm (Nguyễn Bá Mão, 1963 dịch Vương Dĩ Khang).

Parenti và Jaafar, (2017) cho thấy loài cá nác phân bố ở bán đảo phía đông Malaysia, Sumatra (Indonesia), Trung Quốc, Đài Loan, Hàn Quốc và Nhật Bản.

Ryu và cs, (1995) nghiên cứu sự phân bố của *B. pectinirostris* ở 17 vị trí ở bờ biển phía tây và nam của Hàn Quốc, và cho thấy loài cá này không còn được tìm thấy ở Boryeong và Chungnamv.

1.1.4. Tập tính sống

Cá nác là một trong số ít các loài cá vừa có khả năng sống trong môi trường nước vừa có khả năng sống ở môi trường trên cạn, cá có thể dùng 2 vây ngực để trèo lên các gốc cây, mỏm đá và bò trên mặt bùn (Lee và cs, 1995; Murdy, 1989; Murdy và Takita, 1999) và có thể nhảy cao khỏi mặt bùn tới 60 cm (Piper, 2007). Để thích nghi với điều kiện môi trường sống trên cạn, sinh lý và hình thái cấu tạo ngoài của cá có nhiều thay đổi:

Khoang mang của cá mở rộng, nắp mang hẹp có thể lưu trữ các túi khí.

Cá có khả năng trao đổi khí qua da (Graham, 1997). Trong tự nhiên, khi hang bị ngập nước, cá nác vẫn duy trì một túi khí bên trong hang, cho phép cá trao đổi khí trong điều kiện nồng độ oxy hòa tan trong nước thấp (Ishimatsu và cs, 1998, 2000; Lee và cs, 2005). Khả năng trao đổi oxy với môi trường ngoài của cá chủ yếu qua da (76% khi ở trên cạn, 48% khi ở trong môi trường nước) (Tamura và cs, 1976). 90% thời gian sống tách khỏi nước và cá có thể sống từ 22 - 60 giờ ở trong môi trường bùn ẩm (Clayton, 1993).

Do không có tuyến nước mắt, nên mắt cá nác có các nếp gấp đặc biệt, chính vì vậy mà đôi mắt có thể sử dụng linh hoạt. Khi ở trên cạn, mắt cá sẽ được thu gọn và bôi trơn bên trong túi mắt để bảo vệ giác mạc.

Cá nác thích nghi với môi trường bùn ẩm nên cá phân bố chủ yếu ở các vùng bùn lầy, xung quanh rừng ngập mặn, vùng cửa sông, bãi triều ven biển. Cá thích nghi với khí hậu vùng nhiệt đới và cận nhiệt đới, tập trung nhiều ở vùng cửa sông ven biển (Nelson (ed), 1994).



Hình 1.4: Cửa hang cá nác
(Đặng Minh Dũng, 2012)



Hình 1.5: Cá nác trong tự nhiên
(Đặng Minh Dũng, 2012)

Nhiệt độ, độ muối, nguồn thức ăn, chất đáy... là các yếu tố quyết định sự phân bố của cá nác. Điều này thể hiện tính thích nghi đặc biệt của các loài sinh vật thủy sinh sống ở các vùng triều (Chen và cs, 2008; Clayton, 1993; Kobayashi và cs, 1971).

Vào mùa Xuân, khi nhiệt độ bắt đầu tăng, tần suất bắt gặp cá nác ở ngoài tự nhiên tăng dần từ mùa Xuân đến mùa Hè và sau đó giảm xuống khi nhiệt độ không khí thấp. Ở Nhật Bản, theo Nanami và Takegaki, (2005) tần số cá nác bắt gặp trong tự nhiên có thể tới 50 cá thể/100 m².

Ngưỡng nhiệt độ tăng trưởng tối ưu của cá nác từ 23,5°C - 30°C. Vào mùa Đông, nếu nhiệt độ xuống dưới 14°C cá ít hoạt động. Trong khoảng thời gian này, cá chủ yếu ẩn mình trong hang và chỉ ngoi lên mặt bùn khi có ánh nắng. Tại Trung Quốc, trong các ao nuôi thương phẩm từ tháng 11 đến tháng 2, cá tăng cường bản năng duy trì vùng lãnh thổ nơi cư trú (Chen và cs, 2008).

Cho đến nay vẫn chưa có một báo cáo cụ thể nào về ngưỡng độ muối của cá nác. Theo các báo cáo, cá nác xuất hiện ở môi trường nước mặn, nước lợ và cả nước ngọt, tuy nhiên khả năng bắt gắp cá nác ở các vùng nước lợ dưới 18‰ cao hơn. Các nghiên cứu của (Hong và cs, 1988) cá chỉ có thể sống được trong môi trường nước ngọt không quá 10 ngày.



Hình 1.6: Hang cá nác trong tự nhiên

Trong các bãi triều, cá nác có thể tự đào hang (đáy bùn cát, bùn nhão) hoặc sử dụng hang của các loài sinh vật khác (còng, cây...) làm nơi cư trú. Hang cá nác thường có độ sâu trung bình khoảng 30 cm, bên trong hang luôn chứa nước, hai ngách ra thường có hai ụ đất lớn (Chen và cs, 2008; Ishimatsu và cs, 2000). Tùy theo các vùng địa lý, vẫn có thể bắt gắp các hang sâu từ 0,5 đến 1,2 m.

Cửa hang cá nác hình tròn ở cùng độ cao với bề mặt bãi triều. Đường kính cửa hang khoảng 3 - 4 cm ở vùng bãi lầy và vùng rừng ngập mặn từ 2 - 9 cm. Số lượng hang ở khu vực rừng ngập mặn ít hơn ở khu vực bãi lầy, nhưng đường kính cửa hang tìm thấy lớn hơn ở khu vực bãi lầy. Tổng diện tích các hang bãi triều lớn hơn khu vực rừng ngập mặn (Cintra và cs, 2020).

Thị giác cá nác rất nhạy cảm, trong đời sống, một mắt của cá chuyên tìm kiếm thức ăn, mắt còn lại dùng để cảnh báo các mối nguy hiểm tiềm tàng. Do đó, khó có thể bắt được cá nác. Khi xuất hiện mối nguy hiểm ngay lập tức cá nác sẽ nhảy vào nước

hoặc chui vào hang cho đến khi yên tĩnh hoàn toàn cá mới ngoi trở lại mặt bùn (Chen và cs, 2008; Clayton, 1993).

1.1.5. Đặc điểm dinh dưỡng

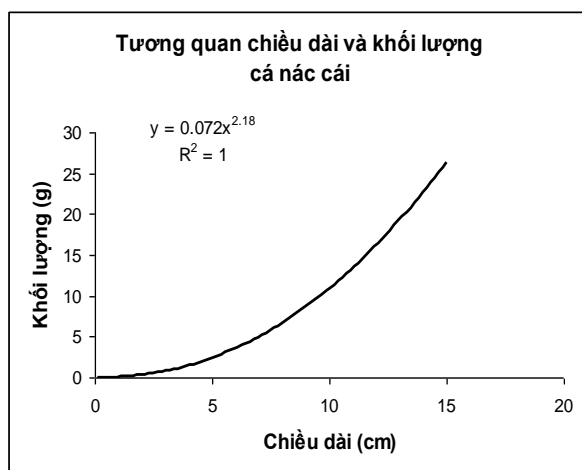
Từ lâu, cá nác là nguồn cung cấp thực phẩm chủ yếu cho cộng đồng dân cư ven biển nên nhu cầu dinh dưỡng của cá sớm được biết đến (Hong và cs, 1988, 1989; Wang jun và Su Yong-quan, 1995).

- Ấu trùng cá 1 ngày tuổi: nhu cầu dinh dưỡng của cá được cung cấp chủ yếu dựa vào khối noãn hoàng (dinh dưỡng nội sinh).

- Từ 2 đến 4 ngày tuổi sau khi nở, cá có thể bắt các con mồi nhỏ, vừa cỡ miệng, đồng thời vừa sử dụng dinh dưỡng do noãn hoàng cung cấp. Trong thời kỳ này, thức ăn chủ yếu của ấu trùng cá là các mảnh vụn hữu cơ và một lượng nhỏ ấu trùng động vật hai mảnh vỏ.

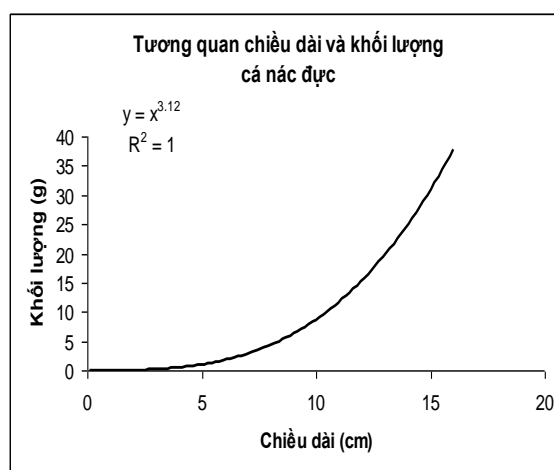
- Ngày thứ 5 sau khi nở, cá nác chuyển hẳn sang hình thức dinh dưỡng ngoài. Thức ăn trong giai đoạn này phụ thuộc chủ yếu vào nguồn dinh dưỡng nơi cư trú.

Trong tự nhiên, ấu trùng cá nác ăn luân trùng, nauplius copepoda, ấu trùng trochophore nhuyễn thể, copepoda trưởng thành, giun nhiều tơ.



Hình 1.7: Tương quan chiều dài và khối lượng cá nác cái

([Http://www.fishbase.org](http://www.fishbase.org))



Hình 1.8: Tương quan chiều dài và khối lượng cá nác đực

([Http://www.fishbase.org](http://www.fishbase.org))

Trong sản xuất giống nhân tạo, ở giai đoạn này có thể sử dụng một lượng nhỏ thức ăn là cá tạp, tép, nhuyễn thể xay nhuyễn, thức ăn sẽ được cá sử dụng trực tiếp hoặc gián tiếp qua giun nhiều tơ, tảo đáy và vi khuẩn (Chen và cs, 2008).

- Giai đoạn trưởng thành, cá thường di chuyển ra khỏi tổ để kiếm thức ăn. Lúc này, phổ thức ăn của cá rộng hơn. Cá ăn tảo đáy, các mảnh vụn hữu cơ và động vật phù du như: luân trùng, copepoda, côn trùng và sinh vật bám vào các gốc cây cỏ, các vách đá trong vùng triều. Khi phân tích thành phần thức ăn có trong dạ dày cá nác, các nhà nghiên cứu còn nhận thấy có một lượng rất nhỏ trứng cá và côn trùng chủ yếu là lớp bọ cánh cứng nhỏ (Milward, 1974; Yang và cs, 2003).

Tuổi thọ cá nác tối đa được ước tính khoảng 3 - 7 năm (Nanami và Takegaki, 2005).

1.1.6. Đặc điểm sinh sản và sinh sản nhân tạo

1.1.6.1. Đặc điểm sinh sản

a. Tập tính sinh sản

Cá nác tham gia sinh sản lần đầu khi đạt tuổi 1⁺. Cá đẻ trứng trong các hang đào sẵn. Mùa vụ sinh sản từ tháng 4 đến tháng 9, đỉnh điểm là tháng 5 đến tháng 7. Ở Hồng Kông - Trung Quốc: cá bắt đầu sinh sản từ tháng 3 đến tháng 4 và từ tháng 6 đến tháng 9 hàng năm, vào mùa Hè và đầu mùa Thu bắt gặp rất nhiều ấu trùng và cá giống ở các vùng triều, đặc biệt những nơi có độ muối của nước biển đạt 20‰ (Chen và cs, 2008; Clayton, 1993).

Trong mùa sinh sản, có thể dễ dàng phân biệt cá đực và cá cái khi quan sát hình thái ngoài cơ quan sinh dục. Cơ quan sinh dục cá đực có hình tam giác, màu hồng phấn, phần bụng có màu trắng, tím nhạt. Cá nác cái có bụng to và mềm, cơ quan sinh dục ngoài hình bầu dục, khi cá thành thực cơ quan sinh dục ngoài có màu đỏ thẫm.

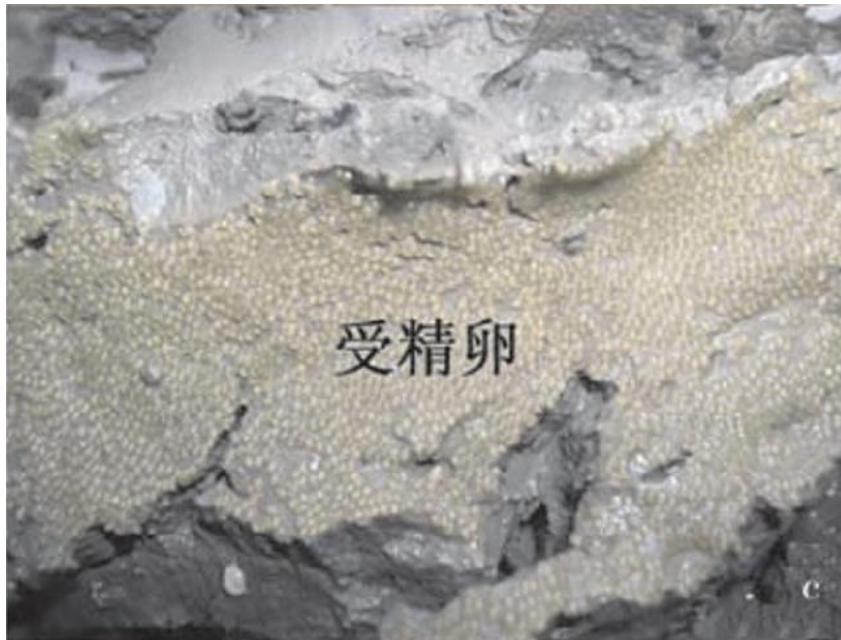
Khi nghiên cứu tổ chức mô học buồng trứng cá nác, theo Hong và Wang, (1989); Washio và cs, (1991) nhận định “cá nác có thể đẻ nhiều lần trong năm”. Kích cỡ tham gia sinh sản lần đầu nhỏ nhất là 6,2 cm đối với cá cái; 5,9 cm đối với cá đực. Trứng cá nác có đường kính khoảng 0,5 - 0,6 mm. Cá cái chiều dài 10 cm có khả năng đẻ từ 12.000 đến 15.000 trứng/cá thể cái.

Washio và cs, (1993) phát hiện ra rằng buồng trứng của cá nác vẫn chứa đầy trứng ngay cả sau khi sinh sản, và con cá đó chỉ được nhìn thấy ở trạng thái nghỉ vào cuối mùa sinh sản, dẫn đến kết luận rằng cá nác sinh sản nhiều lần trong một mùa sinh sản. Kim và Jeong, (2007) cho rằng cá nác có thể sinh sản nhiều lần, dựa trên phân tích

phân bố tần số chiều của cá 0⁺ tuổi.

Vào mùa sinh sản, cá nác đực thường đào hang ở mép nước trên vùng triều. Sau đó, chúng dùng đuôi nhảy tiến sát các con cái, thu hút các con cái vào tổ để đẻ trứng. Cá cái sẽ ở trong tổ từ 2 đến 6 ngày cho tới khi sinh sản xong (Brillet, 1976; Hong và Wang, 1989; Lee và Graham, 2002).

Cá nác là loài cá đẻ trứng dính, trứng bám xung quanh tổ đẻ (Brillet, 1976; Chen và cs, 2008; Hong và cs, 1988). Trong thời gian này không có nước ở trong tổ đẻ, các trứng cá tiếp xúc trực tiếp với không khí có độ ẩm cao. Diện tích của tổ ấp trứng thay đổi từ 58 cm² đến 114 cm², trung bình 87 cm², số lượng trứng từ 3.595 tới 4.314 trứng, trung bình 3.957 trứng, trong tự nhiên tỷ lệ trứng thụ tinh có thể đạt tới 99,67% (Chen và cs, 2008).



Hình 1.9: Trứng bám trên vách tổ cá nác (Chen và cs, 2008)

Giống như phần lớn các loài trong họ cá bống, cá nác đực sẽ ở lại trong tổ bảo vệ trứng, phun nước làm ẩm trứng để cung cấp oxy và loại bỏ các trứng hỏng ra khỏi tổ (Ishimatsu và cs, 1998, 2000).

b. Quá trình biến thái của ấu trùng cá nác.

Buồng trứng cá nác khi thành thực có màu vàng đậm, trứng dính và chìm trong nước. Ở nhiệt độ nước 26,5⁰C - 29,2⁰C, độ muối 5 - 27 ‰, sau khoảng 87 giờ ấp trứng nở thành ấu trùng (Yang và cs, 2003).

Quá trình phát triển của ấu trùng cá nác đã được mô tả (Zhang và cs, 1989):

- Ấu trùng cá mới nở có chiều dài 2,58 mm, đường kính noãn hoàng 0,35 mm, đường kính hạt dầu 0,14 mm.
- Ngày thứ 2 ấu trùng có chiều dài 2,73 mm, đường kính noãn hoàng 0,31 mm, hạt dầu 0,41 mm, cá mở mắt và màng tia vây đuôi xuất hiện.
- Ngày thứ 3, ấu trùng có chiều dài 2,82 mm, đường kính noãn hoàng 0,27 mm.
- Ngày thứ 4, ấu trùng có chiều dài 2,92 mm, đường kính noãn hoàng 0,12 mm, đường kính hạt dầu 0,08 mm, gan và các tia vây ngực xuất hiện.
- Ngày thứ 5, ấu trùng có chiều dài 3,67 mm, noãn hoàng tiêu biến.
- Ngày thứ 7 ấu trùng cá có chiều dài 4,2 mm, vây ngực phát triển. Mang và hệ thống tiêu hoá đã phát triển hoàn chỉnh.
- Ngày thứ 8, các tia vây hoàn chỉnh, hạt dầu biến mất.
- Ngày thứ 14 sau khi nở, cá có chiều dài 6,45 mm, chiều dài ruột tăng gấp 3 lần.
- Ngày thứ 20, ấu trùng có chiều dài 11 mm, vây đuôi xuất hiện 3 hàng điểm melanin.
- Ngày thứ 30, ấu trùng có chiều dài 16 mm, vây lưng xuất hiện, tạo thành các hàng ngang trên thân.
- Cá đạt 41 ngày tuổi, chiều dài toàn thân 18 mm trở lên, xuất hiện các vảy tròn màu xám và cá chuyển lên sống trên mặt bùn ẩm.

1.1.6.2. Nghiên cứu sinh sản nhân tạo

Trong thập niên 90 của thế kỷ XX, tại Trung Quốc, việc nghiên cứu và ứng dụng cho sinh sản nhân tạo cá nác là một trong các nhiệm vụ quan trọng. Trong vòng hơn 10 năm, các nhà khoa học nước này đã thử nghiệm nhiều loại kích dục tố khác nhau nhằm kích thích cá sinh sản, tuy nhiên việc sử dụng các kích dục tố kích thích cá sinh sản vẫn chưa mang lại hiệu quả cao (Chen và cs, 2008; Lin và Fang, 1995).

Zhang và cs (1987) đã bắt đầu nghiên cứu cho cá đẻ nhân tạo, tạo bước đột phá đầu tiên và đạt số lượng 7.000 cá bột bằng phương pháp cho cá đẻ tự nhiên. Tuy nhiên, trong quá trình cho trứng thụ tinh, rất khó để xác định thời điểm thụ tinh thích hợp, do đó: tỷ lệ trứng thụ tinh thường thấp và số lượng cá bột không đủ cung cấp cho người nuôi (Hong và Wang, 1989).

Hong và Wang (1989) đã công bố các nghiên cứu về sự rụng trứng, quá trình phát triển phôi và nuôi ấu trùng của cá nác. Kết quả nghiên cứu chỉ ra rằng việc kích thích cá cái rụng trứng bằng cách sử dụng kích dục tố và pimozide (PIM, 2 μ g/g), LRHa (0,2 μ g/g), HCG (30 IU/g) đạt hiệu quả cao nhất.

Washio và cs (1991) đã thử nghiệm sinh sản nhân tạo cá nác bằng phương pháp bán nhân tạo. Kết quả: tỷ lệ trứng thụ tinh từ 60 - 90% và tỷ lệ nở từ 22 - 80%, số lượng cá bột thu được là 194.947 con. Nhiệt độ thích hợp để ương nuôi ấu trùng 28°C và độ muối 15 - 25‰, tương ứng. Ấu trùng được nuôi trong bể xi măng ngoài trời (nhiệt độ nước 25 - 29,5°C và độ muối 15 - 20‰) sau 42 ngày ương tỷ lệ sống của ấu trùng cá nác đạt 7,5 - 43,8%, chiều dài cá đạt trung bình 2 cm. Phôi và các giai đoạn phát triển của phôi, ấu trùng đã được mô tả.

Theo Hong và Wang (1989) khi xếp các viên gạch tạo thành các kênh nhỏ trong ao nuôi cũng sẽ tạo được hiệu ứng sinh sản cho cá, yêu cầu đối với phương pháp này là gạch phải mịn, đối với gạch có độ ráp và thô mặc dù thu được cá giống song hiệu quả không cao, trứng đẻ ra sẽ không tập trung và tỷ lệ trứng thụ tinh thấp, hầu hết các trứng bám bên ngoài tổ hoặc rơi xuống đáy hoặc trứng không thụ tinh. Cá bố mẹ được nuôi trong ao thường thiếu hụt oxytocin (là một yếu tố như pheromone thu hút hoạt động sinh sản) nên chỉ một phần cá bố mẹ có thể tham gia sinh sản.

Theo Chen và cs (2008), việc nghiên cứu sinh sản cá nác đã đạt được một số thành công nhất định. Cá được nuôi vỗ và cho đẻ trong các bể xi măng có cho vật bám là gốm sứ đã tạo ra được bước ngoặt trong sinh sản nhân tạo đối tượng này. Cá nác được nuôi vỗ trong bể xi măng có thả các ống gốm và xô nhựa, cho thấy tỷ lệ thành thực của cá cái đạt 40,0% - 65,0%; Tỷ lệ đẻ 10,0% - 26,0%, tỷ lệ trứng thụ tinh trung bình 60,0% - 75,0%, số lượng cá thu được đạt 31.098 con, chiều dài thân trung bình 1,89 cm, tỉ lệ sống trung bình 11,78%. Khi thực hiện ấp trứng trong các xô nhựa thì trứng có khả năng bị nhiễm nấm cao. Chính vì vậy, cần thay nước và sử dụng kháng sinh penicillin thường xuyên nhằm tăng tỷ lệ nở và tỷ lệ sống của cá bột.

Trong sản xuất giống, giai đoạn đầu ấu trùng cá nác được cho ăn bằng luân trùng (*Brachionus plicatilis*), sau 12 - 13 ngày ương cho ăn *Nauplius artemia*. Ni Yong và cs, (1993) cho rằng: trong tự nhiên thức ăn chủ yếu của cá nác là các mảnh vụn hữu cơ và luân trùng siêu nhỏ, để giảm chi phí trong sản xuất giống nên bổ sung các mảnh vụn

hữu cơ hoặc copepoda.

1.2.7. Nghiên cứu sinh học cơ bản khác

Tại các khu vực có loài cá này phân bố, nhiều nhà khoa học đã cảnh báo cá nác có nguy cơ bị tuyệt chủng do khai thác quá mức, thu hẹp môi trường sống và ô nhiễm môi trường (Yang cs, 2003).

Cá nác là loài trong họ thòi lòi rất nhạy cảm với môi trường xung quanh và tiềm năng này sẽ có lợi cho các nghiên cứu mới về loài này, đặc biệt là tầm quan trọng trong việc phát hiện mức độ ô nhiễm trong các hệ sinh thái nước ven biển. Sự phong phú và phân bố của cá trên cạn cũng như ở vùng nước ven biển có thể được coi là một chỉ số trực tiếp về sức khỏe của môi trường sống (Abid A Ansari và cs, 2014).

Trong nghiên cứu về đa dạng di truyền, các mẫu cá thu từ vùng đất ngập nước trên sông Dương Tử. Tang (2008) nhận thấy, số lượng các allele thay đổi từ 3 - 14. Quan sát tần số allele đồng hợp và dị hợp thay đổi 0,25 - 0,85 và 0,37 - 0,87, tương ứng, đây là cơ sở nghiên cứu tình trạng di truyền của quần thể loài cá này trong tự nhiên và trong các trại sản xuất giống.

Theo Chung và cs (1991), ở Hàn Quốc, mùa vụ sinh sản cá nác từ tháng 6 đến tháng 8 và thời gian cá ngủ đông từ tháng 11 đến đầu tháng 4 năm sau.

Tại Nhật Bản, cá bắt đầu sinh sản vào mùa Xuân và kết thúc vào tháng 8 hàng năm (Shiota và cs, 2003). Noãn bào của cá phát triển theo sự gia tăng nhiệt độ vào mùa Xuân và có mối tương quan với nhiệt độ trong mùa Hè. Khi nghiên cứu ảnh hưởng của nhiệt độ tới sự phát triển của buồng trứng, Shiota và cs (2003) đã tiến hành trên hai giai đoạn: cá trước khi sinh sản và trong giai đoạn sinh sản ở các nhóm nhiệt độ (18⁰C, 24⁰C và 30⁰C) và (24⁰C và 34⁰C), tương ứng. Những tác động khác nhau của nhiệt độ tới sự phát triển của tuyến sinh dục đã được kiểm tra bằng phân tích mô học và nội tiết học. Kết quả cho thấy sự tạo noãn bào và quá trình sinh tinh đã xảy ra ở nhiệt độ 30⁰C. Trong khi đó ở điều kiện nhiệt độ 18⁰C quá trình sinh tinh và tạo noãn bào không xảy ra. Đồng thời, ở nhiệt độ 24⁰C buồng trứng phát triển bình thường trong khi đó ở nhiệt độ 30⁰C buồng trứng có sự tương quan hồi quy với nhiệt độ, từ đó cho thấy nhiệt độ là một trong các tác nhân sinh thái có ảnh hưởng quan trọng tới sự phát dục của cá và liên quan trực tiếp tới mùa sinh sản và sự phân bố của cá. Kết quả này khẳng định: sự gia tăng nhiệt độ đóng vai trò quan trọng trong phát triển tuyến sinh dục cá nác (Shiota và cs, 2003).

Biến động các hormon Prostaglandin E2 (PGE 2), 17 α -OH Progesterone (17 α P) và testosterone ở cá cái, testosterone và 11-Ketotestosterone ở cá đực cũng đã được điều tra nghiên cứu trong mùa sinh sản (Chen và cs, 2008). Ở cá cái hệ số thành thực GSI (gonadosomatic index) 5,97 - 6,86% và cá đực trưởng thành GSI 0,255 - 0,288%. Kết quả cho thấy sự biến động của hormon trong huyết tương cá nác đực và cái ở các mức độ khác nhau đều liên quan tới chu kỳ mặt trăng. Sự thay đổi hàm lượng hormon thể hiện ở hai chu kỳ. Ở cá cái, hàm lượng hormon PGE 2, 17 α -OH Progesterone và Testosterone cao nhất vào tháng 1 và tháng 4 âm lịch. Ở cá đực, lượng hormon testosterone và 11 - Ketotestosterone trong huyết tương có các biến động vào tháng 4 và tháng 12 hai âm lịch. Kết quả nghiên cứu nhận định, những thay đổi của hormon trong huyết tương xảy ra trùng với chu kỳ mặt trăng. Điều này chứng tỏ nhịp sinh học và thủy triều là yếu tố môi trường chính kích thích quá trình sản xuất hormon trong cá nác (Qiong Wang và cs, 2008).

Qua nghiên cứu quan sát mô học và điều tra thực địa trên biển Ariake gần thành phố Ashikari tại Nhật Bản, Kiyoshi Soyano (Shiota và cs, 2003) nhận thấy, cá nác có giá trị GSI (hệ số thành thực) tương đối thấp từ giữa tháng 8 đến cuối tháng 4 năm sau, sau đó tăng nhanh và đạt mức tối đa vào giữa tháng 5 và đầu tháng 6. Vào đầu mùa Xuân, giá trị GSI của cá nác bắt đầu tăng và đạt đỉnh điểm trong thời gian giữa thủy triều.

Trong nghiên cứu về sinh sản của các loài thủy sản, các nghiên cứu về sự phát triển noãn bào sẽ cung cấp thông tin quan trọng về các cơ chế sinh sản như: quá trình tạo noãn, mức độ thành thực, mùa vụ sinh sản... Mặc dù các đặc điểm sinh sản của loài cá này đã được tiến hành nghiên cứu bởi một số tác giả, tuy nhiên các thông tin về phát triển noãn bào đối với cá nác ở nước ta cho đến nay hầu như chưa được nghiên cứu tới.

1.2.8. Tình hình nuôi thương phẩm cá nác

Tại Trung Quốc, cá nác chủ yếu phân bố ở Giang Tô, Chiết Giang, Phúc Kiến, Quảng Đông và vùng ven biển của Đài Loan. Cá nác là một trong số các đối tượng nuôi chính của quốc gia này. Thịt cá thơm ngon và có tác dụng nuôi dưỡng thể chất. Thịt cá nác có chứa 16 amino axit phổ biến, bao gồm 8 axit amin cần thiết cho cơ thể con người (Washio và cs, 1991). Cá đực sử dụng như một vị thuốc chữa bệnh ù tai, chóng mặt, ra mồ hôi, yếu sinh lý, tăng cường sức khỏe cho bệnh nhân sau phẫu thuật và phụ nữ

sau khi sinh, có tác dụng tăng cường thể lực tốt.

Kết quả phân tích, trong 100 g thịt cá nác chứa 20,4 g protein; 3,9 g chất béo, ngoài ra còn có carbohydrates, canxi, phot pho, sắt, niacin và vitamin B1, B2, ở các nước Đông Nam Á cá nác còn được gọi là "nhân sâm nước". Theo Wang và Su Yong, (1995) lipid và glycogen có trong cơ thịt cá nác thấp: 3,1 KJ/g (dạng tươi); tỷ lệ của năng lượng E/P đạt: 45,535 KJ/g, lượng axit amin thiết yếu chiếm 47,35% - 48,06 tổng số amino axit.

Do nguồn lợi tự nhiên ngày càng suy giảm và nhu cầu tiêu thụ cá nác thương phẩm trên thị trường ngày càng lớn. Năm 1972, Liao đã bắt đầu nghiên cứu nuôi thử nghiệm loài cá này. Tuy nhiên tác giả vẫn còn gặp khó khăn trong việc ương nuôi ấu trùng. Thập niên 80 của thế kỷ trước, tại Đông nam Trung Quốc (Hà Phố - Phúc Kiến), Đài Loan người dân đã bắt đầu thử nghiệm nuôi loài cá này nhưng cho đến nay nguồn cá giống vẫn còn phụ thuộc đánh bắt ngoài tự nhiên.

Năm 1997, diện tích nuôi cá nác ở tỉnh Phúc Kiến - Trung Quốc đạt 2.010 ha, năng suất đạt 80 - 110 kg/mẫu ($\approx 80 - 110 \text{ kg}/667\text{m}^2$). Tại Hà Phố của tỉnh Phúc Kiến - Trung Quốc diện tích nuôi cá nác năm 2002 đã đạt 3.500 ha nguồn cá giống đưa vào nuôi được cung cấp chủ yếu từ vịnh Phú Ninh, hàng năm sản lượng cá thịt đạt gần 200 tấn, giá cá thương phẩm: 60 -100 nhân dân tệ/kg (thị trường Mỹ: 20 đô la/kg) (Ip và Low, 1990). Thành phố Phúc Thanh, diện tích nuôi từ năm 1998 - 2002 tăng từ 2.000 đến 3.000 ha, với nguồn cá giống thu gom từ tự nhiên tại các tỉnh Quảng Đông, Phúc Kiến và Chiết Giang.

Ở Trung Quốc thị trường tiêu thụ chính cá nác tại các tỉnh: Chiết Giang, Thái Châu, Ôn Lĩnh, Ôn Châu, sức tiêu thụ đặc biệt lớn vào dịp tết âm lịch. Cá nác có nhiều ưu điểm như thích ứng độ muối thấp, chuỗi thức ăn ngắn, nhu cầu dinh dưỡng rất thấp, cá có sức đề kháng cao, có thể vận chuyển sống nên người nuôi dễ dàng làm chủ công nghệ, hơn nữa chi phí nuôi thương phẩm cá nác thấp và giá trị kinh tế cao nên diện tích nuôi đối tượng này không ngừng mở rộng (<http://translate.googleusercontent.com>).

1.3. Tình hình nghiên cứu cá nác ở Việt nam

1.3.1. Nghiên cứu đặc điểm sinh học và sinh sản cá nác

Cá nác là đối tượng cá có giá trị kinh tế vùng nước lợ. Thịt cá nác thơm ngon, rất

được ưa chuộng ở thị trường trong nước và xuất khẩu. Do cá nác có giá bán cao từ 180.000 - 250.0000 đ/kg (50 - 80 con/kg) nên nông dân khai thác cá bằng nhiều hình thức: Câu, chum bẫy, đơm rọ và sử dụng hoá chất gây mê, ô nhiễm môi trường... làm nguồn lợi tự nhiên cá nác ở nước ta ngày càng suy giảm. Hiện nay, nhu cầu tiêu thụ cá nác trên thị trường ngày càng lớn. Các công trình nghiên cứu cá nác chỉ tập trung vào phân loại học và mức độ đa dạng sinh học trong các thủy vực mà chưa có công trình nào nghiên cứu chuyên sâu về sinh học sinh sản và sinh sản cá nác trong điều kiện nhân tạo đối tượng này. Một số kết quả nghiên cứu của các tác giả (Nguyễn Nhật Thi, 1991, Nguyễn Văn Quân, 2003 và Nguyễn Văn Quyền, 2006) đề cập chủ yếu đến thành phần loài, đặc điểm hình thái và phân bố trên thế giới cũng như ở Việt Nam. Do đó, để có thể sinh sản nhân tạo thành công, cần thiết phải có các nghiên cứu chuyên sâu về đặc điểm sinh học sinh sản (mùa vụ sinh sản, sức sinh sản, tập tính sống...) của cá.

Đặng Minh Dũng và cs (2012) bước đầu đã nghiên cứu thăm dò khả năng sinh sản nhân tạo cá nác, đề tài đã bước đầu thử nghiệm kích thích cá sinh sản nhân tạo thành công và đã sản xuất được 4.000 cá nác giống nhưng kết quả còn nhiều hạn chế như: tỷ lệ cá đẻ trứng thấp, kết quả thử nghiệm ương nuôi ấu trùng đến cá giống không ổn định, chỉ đạt tỷ lệ sống từ 0 - 5,86 %. Lượng ấu trùng cá nác hao hụt lớn từ ngày ương thứ 16 - 25. Đây là giai đoạn biến thái của ấu trùng cá nác, là giai đoạn trọng đối với các loài cá biển nói chung và cá nác nói riêng, chính vì vậy cần có các nghiên cứu cơ sở khoa học để có thể hoàn thiện kỹ thuật ương để nâng cao tỷ lệ sống của ấu trùng cá.

Năm 2016, Phạm Huy Trung và cs (2016) thực hiện đề tài “Nghiên cứu hoàn thiện quy trình nuôi cá nác hoa (*Boleophthalmus pectinirostri*) thương phẩm tại vùng bãi bồi ven biển huyện Kim Sơn - Ninh Bình”. Sau hơn hai năm xây dựng mô hình nuôi cá nác hoa thương phẩm bằng nguồn giống thu gom từ tự nhiên tại vùng bãi bồi ven biển huyện Kim Sơn - Ninh Bình đã xây dựng được 01 quy trình nuôi cá nác hoa thương phẩm tại vùng bãi bồi ven biển huyện Kim Sơn. Cá được nuôi trong diện tích 1.5 ha đạt sản lượng 5.000 kg cá thương phẩm sau 2 vụ nuôi thử nghiệm với tổng chi phí 734.620.000 đồng, doanh thu đạt 876.980.000 đồng, lợi nhuận thu được 142.360.000 đồng. Như vậy sau 02 vụ nuôi, lợi nhuận trung bình đạt: 94.900.000 đồng/ha. Kết quả nghiên cứu bước đầu cho thấy so với nuôi tôm sú, tôm thẻ chân trắng, nuôi cua xanh thì mô hình nuôi cá nác hoa có lợi nhuận thấp hơn, tuy nhiên nhằm mục đích đa dạng hóa đối tượng con nuôi trong vùng bãi bồi và những diện tích nước lợ nhạt khó nuôi tôm có

thể sử dụng để nuôi cá nác hoa do chúng là loại dễ nuôi và ít có nguy cơ bị dịch bệnh.

Như vậy, các nghiên cứu về cá nác ở trong nước là chưa nhiều nhưng các nhà khoa học trong nước cũng đã đạt được nhiều thành công trong nghiên cứu sản xuất giống và nuôi thương phẩm các loài cá khác trong bộ cá bống (*Perciformes*).

1.3.2. Một số nghiên cứu sinh học, sinh sản các loài trong họ cá nác

Theo Trần Văn Đan và cs (1998; 2002) khi nghiên cứu sinh học sinh sản và sản xuất giống cá bớp (*Bostrichthys sinensis*) xác định: Mùa sinh sản của cá bớp tại miền bắc Việt Nam từ tháng 3 đến tháng 8, cá thường sinh sản tập trung vào tháng 3 - 4 và tháng 7 - 8 thời tiết ẩm áp, nhiệt độ trong khoảng 22 - 28°C, độ muối từ 10 - 20‰, thức ăn tự nhiên phong phú. Cá bớp vào mùa sinh sản thường sống từng cặp trong hang, cá sinh sản bằng hình thức thụ tinh ngoài. Trứng cá bớp là trứng dính nên cá đẻ trứng và ấp trứng trong hang. Thời gian ấp nở trứng từ 72 - 110 giờ trong điều kiện nhiệt độ 28 - 30°C, độ muối 17 - 20‰, trứng cá bớp sẽ nở sau khi đẻ 3 - 5 ngày. Ấu trùng cá bớp dinh dưỡng bằng noãn hoàng trong 3 ngày đầu, sau đó bắt đầu dinh dưỡng ngoài. Giai đoạn cá mới nở, thức ăn chính của ấu trùng là các loài động vật phù du cỡ nhỏ, cá con nở ra thường kiếm mồi khu vực gần hang và được cá bố mẹ bảo vệ. Trong tự nhiên, cá bớp cái ở tuổi 0⁺ có thể có buồng trứng ở giai đoạn IV, cá đực thành thực sinh dục ở độ tuổi 1⁺. Trong một quần đàn, sự chín về sinh dục của các cá thể tương đối đồng pha, khi trong quần đàn có một vài cá thể đẻ trứng ở cùng giai đoạn thì các cá thể mang trứng trong quần đàn sẽ bị kích thích đẻ.

Theo Trần Văn Đan (2002), Nghiên cứu cơ sở khoa học cho sản xuất giống và nuôi cá thịt của cá bớp (*Bostrichthys sinensis*) ở ven biển miền Bắc Việt Nam cho thấy tuyến sinh dục của cá bớp trải qua 6 giai đoạn phát triển. Tuyến sinh dục cá bớp là hai dải nằm sát thành cơ thể, dọc hai bên sống lưng và ở hai phía dưới bóng hơi. Phía cuối của 2 dải đổ chung vào một ống và thông ra ngoài theo lỗ sinh dục. Giai đoạn đầu khó phân biệt đực, cái. Từ giai đoạn hai trở đi, phân biệt noãn sào và tinh sào dễ hơn. Noãn sào dày và có mạch máu tương đối lớn phân bố. Từ giai đoạn III trở đi mắt thường có thể trông thấy hạt trứng. Kích thước và màu sắc noãn sào thay đổi theo mức độ thành thục. Noãn sào ở giai đoạn III có màu vàng cam, giai đoạn IV có màu vàng đậm. Hai nhánh của buồng trứng phát triển đồng đều ít chênh lệch nhau về kích thước. Càng về các giai đoạn sau, độ lớn và mức độ phân bố mạch máu cũng tăng. Tinh sào của cá chưa

trường thành mỏng và trong. Cá thành thực tinh sào màu trắng đục, phân thủy và có nếp gấp, có các mạch máu nhỏ phân bố. Cá bớp cái thành thực ở tuổi 1+ và đẻ nhiều lần trong năm. Hệ số thành thực của cá cao nhất vào các tháng 4, 5 và 6. Mùa vụ sinh sản của cá bớp thường từ tháng 3 đến tháng 7 hàng năm. Cá bớp nhỏ ăn luân trùng và Copepoda sau đó ăn ấu trùng tôm cá và giáp xác, giống cá cho sinh sản nhân tạo có thể luyện ăn thức ăn công nghiệp.

Trần Văn Đan (2006), Nghiên cứu thực nghiệm hoàn thiện quy trình công nghệ sản xuất nhân tạo giống cá bớp (*Bostrichthys sinensis*) ở Hải Phòng đã xây dựng được quy trình sản xuất giống nhân tạo cá bớp đạt tỷ lệ thành thực 92%, tỷ lệ đẻ đạt 62%, tỷ lệ trứng thụ tinh 87%, tỷ lệ nở 86% và tỷ lệ sống của cá giống đạt 17%.

Theo Trần Đắc Định (2002), nghiên cứu các giai đoạn phát triển tuyến sinh dục của cá kèo (*Pseudapocryptes elongatus*, Cuvier, 1816) trong tự nhiên vùng biển Bạc Liêu và Cà Mau thấy rằng tuyến sinh dục của cá đạt cao nhất ở giai đoạn III từ tháng 12 đến tháng 1 năm sau. Từ tháng 2 đến tháng 4, hầu như không gặp cá kèo có tuyến sinh dục ở tất cả các giai đoạn, kể cả từ giai đoạn I đến giai đoạn III. Các tháng sau đó (tháng 5 - 8) chỉ phát hiện đến giai đoạn II, cao nhất vào tháng 7, không phát hiện được giai đoạn III. Vào tháng 3 - 4 không thấy cá kèo xuất hiện trong tự nhiên nên không phát hiện được các giai đoạn phát triển tuyến sinh dục.

Lê Thị Xuân Thắm (2004) khi khảo sát cá kèo vảy nhỏ trong tự nhiên ở vùng biển Bạc Liêu cho thấy tuyến sinh dục cá kèo cũng đạt giai đoạn III là cao nhất và tập trung vào các tháng từ 12 - 1. Năm 2003, khi khảo sát cá vùng biển Cà Mau (Lê Thị Xuân Thắm, 2004) cho thấy tuyến sinh dục có cả 3 giai đoạn I, II, III vào tháng 11, trong đó giai đoạn III chiếm tỷ lệ cao nhất (70,6%), tăng lên 81,82% vào tháng 12 và vào tháng 1 toàn bộ 100% cá cái có trứng giai đoạn III.

Cũng theo các tác giả Lê Thị Xuân Thắm (2004), khảo sát chỉ số thành thực (Hệ số thành thực - GSI) của cá kèo (*Pseudapocryptes elongatus*, Cuvier, 1816) trong tự nhiên vùng biển Bạc Liêu, cũng cho thấy chúng dao động từ 0,2 - 0,25% vào các tháng 10 năm trước đến tháng 2 năm sau, sau đó không còn thấy cá xuất hiện. Từ tháng 5 đến tháng 7 cá kèo xuất hiện trở lại và có hệ số thành thực của cá cái có tuyến sinh dục giai đoạn I - II dao động từ 0,15 - 0,25%.

Bắt đầu từ năm 2005. Viện Nghiên cứu nuôi trồng Thủy sản II tiến hành thực

hiện nghiên cứu sinh sản nhân tạo loài cá kèo (*Pseudapocryptes elongatus*, Cuvier, 1816) trên nhiều mô hình thí nghiệm khác nhau: trong ao đất, bể xi măng, bể composite lắp đặt hệ thống tuần hoàn airlift giá thể cát của CSIRO. Thức ăn sử dụng trong thí nghiệm là: ruốc, trùn chỉ, trùn biển, *Artemia* trưởng thành, thức ăn tổng hợp độ đậm trên 50%, thức ăn tự chế, mực thái nhỏ và tôm biển thái nhỏ. Kết quả nuôi vỗ thành thực trong bể xi măng tại Tiền Giang cho thấy đàn cá tăng trưởng nhanh, sau 8 tháng nuôi cá bố mẹ tăng từ 22,5 g - 40,1 g. Độ béo Fulton có xu hướng tăng trong thời gian nuôi vỗ (từ 2.55 - 2.87%). Buồng trứng phát triển cao nhất trong thí nghiệm này đến giai đoạn III.

Trong hai năm 2006 và 2007 cá kèo bố mẹ được thu gom từ tự nhiên và nuôi vỗ trong ao đất tại Bạc Liêu. Trong quá trình nuôi vỗ đã bổ sung thêm chất kháng dopamin, HUFA và chích não thùy thể cá chép, tiêm dẫn LRHa định kỳ 1 tháng 1 lần (nuôi trong các giai lưới từ 10 - 20 m² có đáy bùn). Hầu hết các lô thí nghiệm, buồng trứng chỉ phát triển đến giai đoạn II, rất ít cá bố mẹ có buồng trứng phát triển ở giai đoạn III.

Để mở ra một hướng nghiên cứu mới cho con cá này, năm 2008 Viện nghiên cứu nuôi trồng thủy sản II tiếp tục nghiên cứu nuôi vỗ thành thực cá kèo trong hệ thống tuần hoàn airlift giá thể cát. Hệ thống này đã thành công trong việc nuôi gia hoá tôm sú. Do đặc tính của con cá kèo thích sống ẩn nấp trong các giá thể, nên việc đưa hệ thống này áp dụng nuôi vỗ thành thực cho cá kèo bước đầu đã mang lại kết quả. Trong thí nghiệm đã sử dụng 3 loại thức ăn khác nhau (*Artemia* trưởng thành; thức ăn viên Luckystar độ đậm 57%; trùn chỉ + trùn biển). Bổ sung một số chất như DOM 5mg/kg thức ăn, Selco 3 ngày 1 lần, tiêm dẫn Hocmone LRHa 20 µg/kg/tháng. Đàn cá tăng trưởng tốt sau 4 tháng nuôi (từ 24,86 g - 37,38 g) trong lô thí nghiệm *Artemia* trưởng thành, các lô thí nghiệm khác cho kết quả tăng trưởng thấp hơn. Kiểm tra mô học tuyến sinh dục, buồng trứng phát ở giai đoạn II. Việc tiêm dẫn Hocmone LRHa và cho cá ăn DOM đã không có tác dụng kích thích tuyến sinh dục cá cái và cá đực phát triển. Có thể do liều lượng hoặc hocmone chưa thích hợp nên buồng trứng chưa phát triển đến độ chín sau khi tiêm dẫn.

Tuy nhiên, đầu năm 2009 tiếp tục tiến hành thí nghiệm tiêm dẫn hocmone HCG kết hợp với não thùy cá chép cho 28 con (chưa xác định giới tính) có khối lượng trung

bình $38,32 \pm 4,37$ g, chiều dài trung bình $21,08 \pm 1,15$ cm. Sau 13 ngày tiến hành kiểm tra tuyển sinh dục có 12 con cá cái thành thực (42,28%), 16 con không thành thực (57,72%). Những con cá không thành thực, sau khi làm tiêu bản mô học đều có tinh ở giai đoạn III.

Trần Thanh Lâm và cs, (2019). Nghiên cứu đặc điểm sinh học sinh sản của cá Thòi lòi (*Periophthalmodon schlosseri*) làm cơ sở cho nghiên cứu sinh sản nhân tạo đã xác định cá thòi lòi phân bố vùng ven biển Đồng bằng sông Cửu Long bao gồm cả Bạc Liêu và Sóc Trăng. Kết quả phân tích 1.137 mẫu cá (486 mẫu thu được ở Sóc Trăng từ tháng 1–12/2018 và 651 mẫu cá thu được ở Bạc Liêu từ 10/2018 đến 9/2019) cho thấy tỷ lệ giới tính của loài này tương đương 1:1. Loài cá này thuộc nhóm cá đẻ nhiều lần trong năm (11 tháng ở Sóc Trăng và 12 tháng ở Bạc Liêu). Cá cá thòi lòi đực và cái ở Sóc Trăng và Bạc Liêu đều thành thực ở chiều dài hơn 19,0 cm và cá đực dài hơn cá cái. Sức sinh sản tuyệt đối của cá thòi lòi ở Bạc Liêu (53.402 ± 2.992 trứng/cá cái) cao hơn so với cá ở Sóc Trăng (41.822 ± 2700 trứng/cá cái) nhưng đường kính trứng tương đương nhau.

Trần Thanh Lâm và cs, (2019) Nghiên cứu hình thái ống tiêu hóa, tính ăn và phổ thức ăn của cá Thòi lòi (*Periophthalmodon schlosseri* Pallas, 1770) phân bố ven biển Trần Đề, Sóc Trăng từ tháng 01 năm 2018 đến tháng 12 năm 2018 với 486 cá thể được phân tích đã xác định loài này là một loài cá ăn động vật vì $RLG = 0,697 \pm 0,008$ SE và thức ăn chủ yếu là còng (*Uca* sp, 76,06%). Bên cạnh thức ăn chính là còng, cá con (17,63%), tôm (3,85%), mùn (1,85%) và ốc (0,61%) cũng được tìm thấy trong đường tiêu hóa của cá. Ngoài ra, còn phát hiện 4 cá thể ăn kiến. Phổ dinh dưỡng của cá thòi lòi *P. schlosseri* không khác nhau giữa cá đực và cái nhưng có sự khác nhau theo mùa. Hệ số no (FI) không khác biệt giữa hai giới nhưng ở cá chưa thành thực cao hơn cá thành thực và ở mùa mưa cao hơn mùa khô. Hệ số độ béo Clark của cá Thòi lòi không khác biệt giữa cá đực và cá cái trong cả hai mùa. Các kết quả nhận được về đặc điểm dinh dưỡng của loài này đã đóng góp dữ liệu khoa học cho nghiên cứu nhân nuôi nhân tạo và khai thác bền vững loài cá Thòi lòi tại khu vực nghiên cứu.

Theo Nguyễn Xuân Sinh và cs, (2020) Nghiên cứu nuôi vỗ cá bóng tro (*Bathygobius fuscus* Ruppell, 1830) bằng hỗn hợp các loại thức ăn khác nhau (mực, tôm, cá tạp, thức ăn công nghiệp) và ở các độ muối khác nhau (12‰, 15‰, 18‰). Sử dụng

liều dùng kết hợp khác nhau của LRHa, HCG và DOM, các độ muối 12‰, 15‰, 18‰ và giá thể khác nhau (giai lưới, ống nhựa, tấm nhựa trắng) để kích thích cá sinh sản. Kết quả nghiên cứu cho thấy, khi cá bống tro bố mẹ được nuôi vỗ tích cực ngăn ngày bằng thức ăn hỗn hợp (60% cá tạp + 20% mực + 20% tôm) cho tỷ lệ thành thực cao nhất (đạt 77,0%) và nuôi vỗ ở độ muối 15‰ cho tỷ lệ thành thực cao nhất (81,1%). Cá bống tro cái được tiêm kích dục tố với liều sơ bộ là 20 μ g LRHa và liều quyết định là 30 μ g LRHa + 1000UI HCG + 10mg DOM/1kg cho tỷ lệ cá đẻ đạt cao nhất (60,0%); sử dụng ống nhựa làm giá thể cho cá đẻ đạt tỷ lệ đẻ cao nhất (71,11%) và cho đẻ ở độ muối 15‰ đạt tỷ lệ đẻ cao nhất (72,2%).

1.3.3. Các yếu tố ảnh hưởng đến hiệu quả sản xuất giống nhân tạo cá biển

1.3.3.1. Ảnh hưởng của hormone kích thích sinh sản đến khả năng sinh sản cá

Những kích dục tố thay thế cho thấy não thùy cá đã được nghiên cứu và ứng dụng một cách rộng rãi, trước hết là HCG, huyết thanh ngựa chửa và các kích dục tố khác có nguồn gốc từ tuyến yên của động vật có vú. Có thể nói trong một thời gian dài HCG là một hợp chất ngoại sinh dị chủng có hoạt chất quan trọng nhất để kích thích sinh sản các loài cá nước ngọt ở nước ta (Nguyễn Tường Anh, 1999).

Tùy thuộc vào đặc điểm của từng loài cá, mức độ thành thực mà có phương pháp kích thích sinh sản khác nhau, có thể kích thích cá sinh sản bằng cách điều chỉnh các yếu tố sinh thái, hoặc sử dụng hormone. Hiện nay trên thị trường có một số loại chế phẩm hormone sử dụng trong sinh sản cá như LRHa, ovaprim (hỗn hợp LRHa và domperidon), não thùy thể cá, HCG, PMS, ... và mỗi loại hormone đều có ưu, nhược điểm riêng, cũng như hiệu quả khác nhau khi sử dụng.

- **Hormone kích dục tố màng đệm nhau thai (HCG)** Mặc dù các loại KDT tinh khiết chiết xuất từ tuyến yên của cá đã được chuẩn hóa tính hiệu nghiệm và có mặt trên thị trường, nhưng chi phí cho các hormon này trong sinh sản nhân tạo vẫn còn cao và chưa được sử dụng rộng rãi. Vì vậy đầu những năm 1970, các nhà khoa học bắt đầu thử nghiệm với các loại KDT chiết xuất từ tuyến yên của động vật có vú như KDT từ huyết thanh ngựa chửa (PMSG) hay KDT màng đệm nhau thai chiết xuất từ nước tiểu của phụ nữ có thai (HCG). So với KDT ở động vật có vú và PMSG, HCG là loại KDT được sử dụng phổ biến nhất trong sinh sản nhân tạo cá vì HCG đã được chuẩn hóa theo tiêu chuẩn đơn vị quốc tế (IU) và hoạt tính sinh học của nó giống với LH của cá

(Ayson,1991). HCG thường được tiêm một lần duy nhất với liều lượng dao động 100 - 4000 IU/kg trọng lượng thân tùy theo loài. Hiệu quả của HCG cho một lần tiêm có lẽ do HCG có thời gian tồn tại trong máu lâu hơn. Điều này không có nghĩa là do HCG khác loại đối với cá nên tồn tại lâu, vì trên thực tế, ở người, HCG cũng tồn tại lâu trong hệ tuần hoàn so với KDT tuyến yên như FSH và LH. Ở cá Giò (*Rachycentron canadum*) người ta chỉ cần tiêm một liều thấp (275 IU/kg) là đủ để kích thích cá rụng trứng đối với các noãn bào đã kết thúc thời kỳ tích lũy chất noãn hoàng (Caylor, Biesiot, Franks, 1994). Cá Hồng (*Lutjanus argentimaculatus*) có thể đẻ sau một lần tiêm nhưng ở liều cao hơn (1500 IU/kg) (Emata, Eullaran, Bagarinao, 1994). Đối với cá đực, khi sử dụng HCG, liều có thể thấp hơn 2 - 4 lần so với cá cái. Tính chất tồn tại lâu trong hệ tuần hoàn và kéo dài thời gian kích thích sự thành thực cũng đã được ứng dụng ở cá chình Nhật Bản (*Anguilla japonica*) sau khi tiêm một liều HCG (Miura, Yamauchi, Nagahama, Takahashi, 1991). Ở một số loài cá Mú (*Epinephelus spp*), liều HCG dùng dao động trong khoảng 500 - 1000 IU/kg và thường được tiêm 2 - 3 lần với thời gian hiệu ứng 12 - 24 giờ (Head, Watanabe, Ellis, Ellis, 1996). Đối với cá Lóc bông (*Channa micropeltes*), cá cái được tiêm 1000 IU/kg sẽ cho sức sinh sản tốt hơn so với liều 1500 IU/kg (Bùi Minh Tâm, Nguyễn Thanh Phương và Dương Nhật Long, 2008). Một trong những ưu điểm của HCG là nó ảnh hưởng nhanh hơn vì tác động trực tiếp lên tuyến sinh dục, kích thích thành thực, rụng và đẻ trứng.

- Hormone LRHa (GnRHa) và hỗn hợp LRHa với domperidon

LRHa được chứng minh có khả năng kích thích sự tiết kích dục tố ở một số loài cá gây nên hiện tượng chín và rụng trứng. Các nghiên cứu gần đây đã chứng minh sự hiện diện của chất ức chế sự phóng thích của kích dục tố (GRIF) trên cá là catecholamine dopamine. GRIF có thể bị bất hoạt bởi các cơ chất kháng dopamine như pimozide hay metoclopramide. Sự hiện diện của chất kháng dopamine làm tăng khả năng kích thích sự tiết kích dục tố ở cá của LRHa. Do vậy, việc sử dụng LRHa kết hợp với các chất kháng dopamine mang lại hiệu quả rất cao trong kích thích sự chín của buồng trứng ở một số loài cá (Lin và Peter, 1996). Tùy thuộc đặc điểm của mỗi loài cá mà liều lượng và cách sử dụng loại hormone này cũng khác nhau. Ví dụ, cá chêm châu Âu tiêm 1 hoặc 2 lần với nồng độ 10 - 200 µg/kg cá; cá chêm Lates calcarifer tiêm với lượng 10 - 200 µg/kg; cá mú là 10 - 20 µg/kg; cá tráp là 100 µg/kg; cá đoi (*Mugil cephalus*) tiêm kết hợp 10 - 20 µg GnRHa với 15 mg DOM/kg hoặc 20 - 40 mg não thùy cá chép với 300

$\mu\text{g GnRH}_a/\text{kg}$; cá bơn vì, cá hồng bạc liều lượng là $100 \mu\text{g}/\text{kg}$ (Tucker, 2000), cá chim vây vàng tiêm kết hợp $50 \mu\text{g}$ với 5 mg DOM (Lại Văn Hùng và cs, 2011). Đối với cá bống bớp (*Bostrichthys sinensis*): Liều sơ bộ dùng đơn độc LRH_a với liều lượng từ $5 - 10 \mu\text{g}/\text{kg}$ cá cái sau $18 - 22$ giờ tiêm liều quyết định dùng LRH_a với liều lượng từ $15 - 20 \mu\text{g}/\text{kg} + 1$ viên DOM. Sau liều tiêm quyết định $16 - 18$ giờ sau cá bắt đầu rụng trứng. Đối với cá đực: Chỉ tiêm duy nhất một liều quyết định bằng LRH_a với liều lượng bằng một $1/2$ đối với cá cái. (Trần Văn Đan, 2002).

1.3.3.2. Ảnh hưởng của mật độ ương

Trong giai đoạn ương cá giống, việc ương với mật độ cao sẽ dẫn đến cạnh tranh về không gian sống, thức ăn, Điều này ảnh hưởng đến sinh trưởng, mức độ phân đàn và tỷ lệ sống của cá. Ngoài ra, các yếu tố như: chế độ cho ăn, dòng chảy, ánh sáng và bệnh cũng ảnh hưởng lên sinh trưởng, tỷ lệ sống của cá ương.

Để tận dụng tối đa hiệu quả của hệ thống ương, người nuôi bắt buộc phải nâng cao mật độ ương, điều này sẽ dẫn đến sự cạnh tranh về không gian sống, thức ăn, ... có thể làm cá sinh trưởng chậm, mức độ phân đàn tăng, ngoài ra còn làm giảm khả năng đề kháng với bệnh của cá (Hatzithanasius và cs, 2002; Inendino và cs, 2005).

Đã có một số nghiên cứu cho thấy, mật độ ương có ảnh hưởng lên sinh trưởng, tỷ lệ sống của cá. Ví dụ, cá chẽm châu Âu (*Dicentrarchus labrax*) giai đoạn ấu trùng ương mật độ $50, 100, 150, 200 \text{ con}/\text{L}$ không cho thấy sự khác biệt về sinh trưởng, tỷ lệ sống, tuy nhiên ở giai đoạn cá giống ương với các mật $5, 10, 15, 20 \text{ con}/\text{L}$ thì càng tăng mật độ nuôi tỷ lệ sống càng giảm (Hatzithanasius và cs, 2002). Trong khi đó, Rowland và cs (2004) lại cho rằng, mật độ ương không ảnh hưởng lên sinh trưởng, tỷ lệ sống và hệ số FCR, tuy nhiên ương với mật độ cao cá ăn mỗi mảnh và năng suất cao hơn. Cá chẽm mõm nhọn cỡ $30 - 40 \text{ mm}$ ương ở mật độ từ $100 - 1.000 \text{ con}/\text{m}^3$, tốc độ tăng trưởng và tỷ lệ sống giảm khi tăng mật độ nuôi (Nguyễn Trọng Nho, 2003). Trong khi đó, cá chẽm (*Lates calcarifer*) từ cỡ 17 mm ương lên cỡ 31 mm trong bể tuần hoàn nước với các mật độ $10 - 20 \text{ con}/\text{L}$ lại cho thấy mật độ không ảnh hưởng lên tăng trưởng và tỷ lệ sống (Suteemechaikul & Petchrid, 1986). Ngô Văn Mạnh (2008), ương cá chẽm cỡ 20 mm lên 50 mm trong hệ thống ương nổi với mật độ ương $5, 10, 15, 20 \text{ con}/\text{L}$ cho thấy, mật độ nuôi không ảnh hưởng lên sinh trưởng, tỷ lệ sống, mật độ ương cao cho hệ số FCR thấp hơn, tuy nhiên mức độ phân đàn lại lớn hơn. Qua đó thấy rằng, mức độ ảnh

hưởng của mật độ nuôi lên tăng trưởng, tỷ lệ sống và hệ số FCR tùy thuộc vào giai đoạn phát triển, hệ thống nuôi và loài cá nuôi.

1.3.3.3. Thức ăn và chế độ cho ăn

Đối với cá biển, giai đoạn ấu trùng số lượng và chất lượng thức ăn đóng vai trò rất quan trọng ảnh hưởng quyết định tới sinh trưởng, tỷ lệ sống và chất lượng con giống. Các loại thức ăn thường được sử dụng để ương ấu trùng cá biển bao gồm: ấu trùng động vật hai mảnh vỏ, luân trùng, ấu trùng *nauplius Artemia*, *Copepoda*, *Artemia* trưởng thành, cá tạp và thức ăn tổng hợp (Liao và cs, 2001). Loại thức ăn đầu tiên của ấu trùng cá phụ thuộc vào cỡ miệng của từng loài khi mới mở miệng. Những loài có kích thước miệng nhỏ như cá mú, cá tráp, cá đối thì thức ăn đầu tiên của chúng là trứng hầu thụ tinh hay ấu trùng hầu hoặc luân trùng siêu nhỏ. Giai đoạn chuyển từ dinh dưỡng bằng noãn hoàng sang ăn thức ăn ngoài và giai đoạn biến thái tỷ lệ chết của ấu trùng cá thường rất cao, và có liên quan rất lớn đến thức ăn.

Loài cá và mật độ ương khác nhau thì mật độ thức ăn sống cho ăn cũng khác nhau, trung bình mật độ luân trùng khi cho ăn ở mức phù hợp với hầu hết các loài cá là 10 cá thể/mL. Tuy nhiên, để kiểm soát mật độ thức ăn sống luôn ở mức thích hợp thì việc kiểm tra tình trạng ăn mồi của cá, mật độ thức ăn sống trong bể ương thường xuyên là rất cần thiết. Việc cho cá ăn luân trùng, *Artemia* quá nhiều sẽ ảnh hưởng xấu tới điều kiện nuôi, đặc biệt là chất lượng nước. Bên cạnh đó, cho ăn quá nhiều, ấu trùng *Artemia* sẽ lớn lên và cạnh tranh không gian sống với ấu trùng cá. Do vậy, lượng *Artemia* cho ăn hàng ngày phải được kiểm soát căn cứ vào cỡ cá hay tuổi của ấu trùng cá (Lee và Ostrowski, 2001).

1.3.3.4. Một số loại thức ăn phổ biến sử dụng ương ấu trùng cá biển

a. Vi tảo biển

Vi tảo có giá trị dinh dưỡng rất cao và là nguồn thức ăn không thể thiếu đối với ấu trùng động vật thủy sản. Giá trị dinh dưỡng quan trọng nhất của tảo đối với động vật thủy sản là các acid béo. Do không thể tự tổng hợp được acid béo để tổng hợp lipids, đặc biệt là eicosapentaenoic acid [EPA], arachidonic acid [AA] và docosahexaenoic acid [DHA] là những chất có vai trò quan trọng trong việc phát triển hệ thần kinh và tiêu hóa (Benemann, 1992; Spolaore và cs., 2006) nên ấu trùng động vật thủy sản phải lấy chúng thông qua chuỗi thức ăn có vi tảo là sinh vật sản xuất.

Vi tảo cũng cung cấp một lượng lớn protein và các loại vitamin cần thiết (A, B1, B2, B6, B12, C, E, nicotinate, biotin, folic acid và pantothenic acid) và một lượng lớn chất sắt. Một số loài vi tảo đang sử dụng hiện nay có hàm lượng protein/ đơn vị khối lượng khô cao hơn so với gạo, đậu nành, bột mì, sữa và thậm chí cả thịt (Spolaore et al., 2006). Hơn nữa, do kích thước miệng của ấu trùng thường rất nhỏ và hệ tiêu hóa chưa hoàn thiện nên chúng không thể tiêu hóa các tế bào thực vật bậc cao. Tập tính sống phù du và bản năng bắt mồi chủ động chưa hình thành đòi hỏi ấu trùng động vật thủy sản phải được sống trong môi trường giàu nguồn vi tảo hoặc động vật phù du nhỏ (Muller-Feuga và cs, 2003).

Đối với một số loài cá biển, vi tảo được biết đến như là một tác nhân kích hoạt hệ thống tiêu hóa của ấu trùng cá biển trong giai đoạn khởi đầu (start feeding stage) (Reitan và cs, 1998). Vi tảo còn được dùng gián tiếp làm thức ăn hoặc cường hóa (enrich) một số loại thức ăn sống như luân trùng, *Artemia* nauplii, copepod để nuôi ấu trùng cá biển. Trong “kỹ thuật nước xanh” (green water technique), vi tảo được dùng trực tiếp trong bể ương ấu trùng và được đánh giá là cải thiện rõ rệt tốc độ tăng trưởng, tỷ lệ sống của ấu trùng một số loài cá biển (Faulk và Holt, 2005; Liao và cs., 2001). Có thể nói trong trại giống hải sản, vi tảo là yếu tố chủ yếu quyết định gián tiếp (làm thức ăn nuôi thu sinh khối luân trùng, *Artemia*, copepod) hoặc trực tiếp làm thức ăn cho ấu trùng, từ đó quyết định sự thành công các công nghệ sản xuất giống hải sản, đặc biệt là cá biển và nhuyễn thể hai mảnh vỏ.

b. Luân trùng *Proales similis*

Ương nuôi ấu trùng cá biển giai đoạn đầu luôn là một khó khăn với các nhà nghiên cứu và sản xuất giống cá biển vì tỷ lệ sống thấp. Đặc biệt một số ấu trùng cá biển do kích thước miệng quá nhỏ không thể sử dụng các loại thức ăn truyền thống như luân trùng hay nauplii copepod. Theo như Cunha và Planas (1999); Yúfera và Darias (2007), kích cỡ con mồi bằng 20 - 70% kích cỡ miệng là thích hợp cho ấu trùng cá biển giai đoạn bắt đầu ăn thức ăn ngoài.

Luân trùng *P. similis* được Hagiwara thu thập bằng cách sử dụng lưới phù du kích cỡ mắt 45 μ m thu ở vùng cửa sông thuộc đảo Ishigaki, Okinawa, Nhật Bản (Hagiwara và cs, 2014). Vòng đời của luân trùng *P. similis* từ 4,0 - 4,7 ngày, khoảng cách thế hệ từ 2,4 - 2,8 ngày, giai đoạn sinh sản 2,9 - 3,4 ngày, sức sinh sản từ 4,3 - 7,8

trứng/cá thể. Kết quả phân tích giá trị dinh dưỡng luân trùng *P. similis* cho thấy trong cùng điều kiện nuôi hàm lượng HUFA n-3 trong luân trùng *P. similis* cao gấp 2,6 lần so với luân trùng dòng siêu nhỏ *B. rotundiformis* (Wullur và cs, 2009). Loài luân trùng *P. similis* có chiều dài ngắn hơn (38,1%) và chiều rộng hẹp hơn (60,3%) so với luân trùng dòng siêu nhỏ (sstype) *B. rotundiformis* (Wullur và cs, 2009).

Wullur và cs, (2009) đã thực hiện thí nghiệm sử dụng luân trùng *P. similis* để ương cá Thiên thần (*C. ferrugata*), một loại cá cảnh rất khó ương khi mà ấu trùng bị chết rất nhiều ở giai đoạn bắt đầu ăn. Sử dụng luân trùng *P. similis* cho kết quả tỷ lệ sống cao hơn so với sử dụng các loại thức ăn là động vật phù du khác. Ngoài ra, thành công của việc sử dụng luân trùng *P. similis* đã được nghiên cứu trên cá Chình Nhật Bản (*Anguilla japonica*) và cá Song bảy sọc (*E. septemfasciatus*) (Wullur và cs, 2011). Đặc điểm chung của ấu trùng các loài cá này là kích thước miệng rất nhỏ, không có khả năng bắt mồi và tiêu hóa luân trùng dòng siêu nhỏ *B. rotundiformis* trong những ngày đầu dinh dưỡng ngoài.

Tại Việt Nam, luân trùng *P. similis* đã được lưu giữ và nuôi tại Trung tâm Quốc gia giống Hải sản miền Bắc bởi chính giáo sư Hagiwara vào năm 2009. Việc sử dụng luân trùng dòng này đã tạo nên thành công trong việc ương nuôi một số loài cá biển như cá Song chuột (*C. altivelis*), cá Song hổ (*E. fuscoguttatus*) (Lê Xuân, 2010) và cá Hồng vân bạc (*L. argentimaculatus*) (Bùi Văn Điền, 2012).

c. Artemia

Artemia là loại thức ăn sống được sử dụng phổ biến nhất trong các trại sản xuất giống cá biển khắp nơi trên thế giới. Từ khi các trại sản xuất giống cá biển phát triển vào cuối thập niên 1970, nhu cầu đối với trứng nghii artemia tăng lên một cách nhanh chóng từ vài tấn cho tới khoảng 800 tấn vào những năm gần đây (Hoff và Snell, 2008). Mặc dù, artemia không phải là thức ăn tự nhiên của ấu trùng các loài cá biển nhưng hiện nay chúng được sử dụng rộng rãi không những trong sản xuất giống cá biển mà còn sử dụng rộng rãi trong sản xuất giống giáp xác (tôm giống, cua giống, ghẹ...) bởi vì sự tiện dụng, có thể cung cấp với số lượng theo yêu cầu trong thời gian ngắn. Trứng bào xác của artemia chỉ cần khoảng 18 - 24 giờ cho việc ấp nở là có thể được sử dụng như một loại thức ăn chất lượng cao cho các giai đoạn ấu trùng thủy sản nói chung. Điều này khiến cho toàn bộ quá trình sản xuất giống trở nên đơn giản và tiết kiệm nhân công hơn

so với việc nuôi cấy các loại thức ăn sống khác.

Artemia trưởng thành có chiều dài khoảng 8 - 12 mm, được bao bọc bởi một lớp vỏ chitin dày. Trong điều kiện tối ưu, ấu trùng *artemia* phát triển thành *artemia* trưởng thành trong khoảng thời gian 12 - 14 ngày. Ấu trùng *artemia* dòng San Francisco Bay (Mỹ) mới nở là nauplii Instar I có kích thước chiều dài từ 400 - 500 μm , màu nâu đậm hoặc màu cam, đó là màu của khối noãn hoàng. Khi mới nở ra, nauplii Instar I của *artemia* không ăn nhưng nó tiêu thụ năng lượng dự trữ của chính nó. Ở điều kiện bình thường nauplii của *artemia* phát triển sang giai đoạn Instar II trong khoảng 8 - 10 giờ. Việc cho cá ăn *artemia* Instar I rất quan trọng vì khi chuyển sang Instar II *artemia* sẽ trong suốt và ấu trùng sẽ khó bắt hơn. Hơn nữa, Instar II to hơn, bơi nhanh, giá trị dinh dưỡng thấp, năng lượng thấp hơn Instar I.

Artemia dòng Vĩnh Châu *artemia franciscana* có nguồn gốc từ *artemia* dòng San Francisco Bay (Mỹ) được du nhập vào Việt Nam từ năm 1984 bởi Trường Đại học Cần Thơ. Sau thời gian du nhập dòng *artemia* San Francisco Bay đã thích nghi và sinh trưởng phát triển tốt với điều kiện khí hậu, môi trường nước ta. Qua nhiều thế hệ *artemia franciscana* đã phát triển với những đặc tính riêng của *artemia* ở Việt Nam khác xa so với dòng San Francisco Bay ban đầu. *Artemia* dòng Vĩnh Châu ra đời với tên gọi gắn liền với địa danh nơi có những đồng muối nuôi *artemia* lớn nhất Việt Nam khi đó là Vĩnh Châu (Sóc Trăng). Dòng *artemia* Vĩnh Châu là dòng có kích thước nhỏ nhất với kích thước của ấu trùng instar I nauplius khoảng 400 - 418 μm , giá trị dinh dưỡng cao và có giá trị thương mại cao hơn so với các dòng *artemia* khác trên thế giới. Trong sản xuất giống cá biển, *artemia* Vĩnh Châu thường được sử dụng để cho cá ăn sau giai đoạn cá ăn luân trùng.

e. Giáp xác chân chèo (Copepod)

Copepod gồm những loài giáp xác nhỏ phân bố tự nhiên ở tất cả các loại thủy vực từ nước ngọt cho đến nước mặn, từ vùng nước lạnh cho tới vùng nước ấm (Huys và Boxshall, 1991). Cho đến nay đã có hơn 10.000 loài copepod khác nhau đã được phân loại với khoảng 30% những loài này là những loài ký sinh trùng gây hại (Southgate, 2012). Nauplii copepod là giai đoạn đầu tiên trong vòng đời của copepod và là một trong những nhóm chiếm đa số và sinh khối lớn trong thành phần động vật phù du sống ở biển (Bunker và Hirst, 2004). Đã có rất nhiều nghiên cứu cho thấy rằng nauplii của copepod

là con mồi quan trọng nhất cho ấu trùng cá biển. Những nghiên cứu trên copepod tập trung chủ yếu vào hai nhóm phổ biến nhất là harpacticoid và calanoid. Harpacticoid copepod được đặc trưng bởi một cặp râu đầu tiên rất ngắn với râu thứ hai chẻ đôi và một khớp giữa đốt thứ 4 và thứ 5 trên cơ thể. Calanoid copepod được nhận biết bởi râu thứ nhất dài, tối thiểu bằng một nửa chiều dài cơ thể với râu thứ hai chẻ đôi và một khớp giữa đốt thứ 5 và thứ 6 của cơ thể.

Trong tự nhiên rất hiếm khi artemia và luân trùng là một phần thức ăn quan trọng của ấu trùng cá biển. Đã có rất nhiều tài liệu chứng minh rằng cả artemia và luân trùng đều thiếu hụt những thành phần dinh dưỡng thiết yếu cho sự sinh tồn và phát triển của ấu trùng các loài cá biển (Doi và cs, 1997). Thậm chí, artemia và luân trùng thường quá to, không thể tiêu hóa được ở những loài cá có kích cỡ miệng nhỏ (Knuckey và cs, 2005). Ngược lại, copepod là thức ăn trong tự nhiên của ấu trùng các loài cá biển và giá trị dinh dưỡng của copepod vượt trội so với luân trùng và artemia. Rất nhiều nghiên cứu đã chỉ ra rằng nauplii của copepod là thức ăn quan trọng nhất cho ấu trùng cá biển, chiếm tới trên 50% thành phần thức ăn trong dạ dày của chúng (Kleppel và cs, 2005). Tỷ lệ sống cao, sinh trưởng nhanh, sắc tố tự nhiên, hệ thống tiêu hóa phát triển, tỷ lệ dị hình thấp và khả năng chống lại các điều kiện bất lợi tốt là những đặc tính quan trọng của ấu trùng cá biển sử dụng thức ăn là copepod (Koven và cs, 2001; Hansen, 2011).

Hiệu quả sử dụng copepod như một loại thức ăn sống còn vượt trội so với luân trùng và artemia là ở khả năng tiêu hóa và thành phần dinh dưỡng của copepod có thể đáp ứng nhu cầu dinh dưỡng của hầu hết các ấu trùng cá biển. Kích cỡ nhỏ từ 50 - 70 μm của nauplii copepod thường nhỏ hơn so với dòng luân trùng siêu nhỏ *B. rotundiformis* và dinh dưỡng đầy đủ hơn so với luân trùng siêu siêu nhỏ *P. similis*, làm cho chúng trở thành loại thức ăn lý tưởng cho ấu trùng của rất nhiều loài cá biển có kích thước miệng nhỏ. Hơn thế nữa, copepod là một loài giáp xác, chúng có thể lột xác nhiều lần để phát triển trong vòng đời (6 giai đoạn Naupli và 6 giai đoạn phát triển trước khi thành con trưởng thành) và trải qua sự thay đổi hình thái rất nhanh, như vậy sử dụng nauplii của copepod khi ương sẽ có đa dạng kích cỡ cho ấu trùng cá biển lựa chọn (O'Brien và Lee, 2005). Đặc tính di chuyển "dừng, đi và nhảy" của copepod được cho là sẽ thu hút sự chú ý của ấu trùng hơn so với các loại mồi khác, vì vậy sử dụng copepod sẽ kích thích khả năng bắt mồi của ấu trùng cá biển giai đoạn phát triển ban đầu (Buskey và cs, 1993).

Nauplii copepod là con mồi ưa thích của ấu trùng cá biển hơn so với thức ăn là luân trùng. Khi cho ăn đồng thời nauplii copepod và luân trùng trong hai ngày đầu sau khi ăn thức ăn ngoài, kiểm tra ruột của ấu trùng cá Hồng bạc *L. argentimaculatus* chỉ có naupli của copepod mà không có luân trùng (Doi và cs, 1997). Ngoài ra đã có những thành công khi sử dụng nauplii copepod để ương ấu trùng giai đoạn đầu của cá Song chuột *C. altivelis* (Nguyễn Đức Tuấn và cs, 2013), và cá Song chấm nâu *E. coioides* (Cao Văn Hạnh và Nguyễn Trung Thành, 2014).

g. Thức ăn tổng hợp

Theo Coutteau và Sorgeloos, (1992). Frippak, Lansy và tảo khô *Spirulina* chứa hàm lượng dinh dưỡng cao (Frippak chứa 52% protein; 14,5% lipid; Lansy chứa 48% protein, 13,5% lipid; còn trong tảo khô có tới 55-70% protein, 5-6% lipid) đã được sử dụng phổ biến như là thức ăn thay thế một phần hay hoàn toàn trong sản xuất giống tôm, ốc hương, cá biển và cho kết quả tốt.

Qua kết quả nghiên cứu tổng quan tài liệu liên quan đến cá nác cho thấy, cho đến nay trên thế giới và tại Việt Nam còn có rất ít công bố liên quan về đặc điểm sinh học sinh sản và sản xuất giống, nuôi thương phẩm, bảo vệ và phát triển nguồn lợi cá nác: Các nghiên cứu ở Việt Nam mới tập trung nghiên cứu và đạt được những kết quả chung trong họ cá bống (cá kèo, cá bớp, cá bống tro), còn cá nác mới chỉ có các nghiên cứu đề cập đến thành phần loài, đặc điểm hình thái và phân bố. Để có đầy đủ luận cứ làm cơ sở khoa học cho việc sản xuất giống, nuôi thương phẩm, bảo vệ và phát triển nguồn lợi cá nác tại Việt Nam cần có các nghiên cứu chuyên sâu. Vì vậy, trong khuôn khổ đề tài luận án “Nghiên cứu cơ sở khoa học phục vụ cho việc sinh sản nhân tạo cá nác [*Boleophthalmus pectinirostris* (Linnaeus, 1758)]” đề tài luận án sẽ tập trung nghiên cứu một số bổ sung chi tiết như sau:

- Về đặc điểm sinh học: Đề tài tập trung nghiên cứu một số đặc điểm sinh thái, phân bố tự nhiên, sinh trưởng, cơ cấu giới tính, kích cỡ cá thành thực sinh dục lần đầu, các giai đoạn phát triển tuyến sinh dục, sức sinh sản, hệ số thành thực sinh dục, các giai đoạn phát triển phôi và ấu trùng làm cơ sở khoa học cho các nghiên cứu sinh sản nhân tạo cá nác.

- Về sinh sản nhân tạo: Nghiên cứu ảnh hưởng của kích dục tố (thời điểm kích thích, chủng loại, liều lượng, phương pháp kích thích) đến tỷ lệ đẻ trứng của cá nác.

- Về ương nuôi ấu trùng: Đề tài tập trung tìm hiểu sự phát triển của cá nác từ giai đoạn phôi, ảnh hưởng của nhiệt độ và Độ muối đến sự phát triển của phôi cá cá nác, nhằm tìm ra nhiệt độ và Độ muối thích hợp nhất để ấp trứng. Ngoài ra để có cơ sở khoa học cho sản xuất giống cá nác đề tài sẽ tập trung nghiên cứu ảnh hưởng của mật độ ương nuôi và thức ăn đến tỷ lệ sống và phát triển của các giai đoạn phát triển sớm của ấu trùng.

Nghiên cứu sẽ góp phần làm sáng tỏ đặc điểm sinh học của một đối tượng cá biển rất có giá trị, làm tiền đề nghiên cứu xây dựng quy trình sản xuất giống nhân tạo và ương nuôi cá nác.

CHƯƠNG 2: TÀI LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng, thời gian, địa điểm và vật liệu nghiên cứu

- *Đối tượng nghiên cứu:* Đặc điểm sinh học sinh sản và các biện pháp kỹ thuật sản xuất giống nhân tạo cá nóc.

- *Thời gian nghiên cứu:*

+ Thời gian nghiên cứu đặc điểm sinh học và môi trường sống ngoài tự nhiên của cá nóc từ tháng 01/2015 đến tháng 12 năm 2015.

+ Thời gian nghiên cứu cơ sở khoa học, xây dựng các giải pháp kỹ thuật sản xuất giống nhân tạo cá nóc từ tháng 02/2016 đến tháng 12 năm 2019.

- *Địa điểm nghiên cứu:*

+ Thu mẫu môi trường và cá nóc phân tích sinh học sinh sản: Hải Phòng (Đồ Sơn, Tiên Lãng, Đình Vũ,); Thái Bình (Thái Thụy); Quảng Ninh (Tiên Yên); Nam Định (Nghĩa Hưng).

+ Nghiên cứu các giải pháp kỹ thuật sản xuất giống nhân tạo cá nóc được triển khai tại cơ sở sản xuất giống thủy sản Bàng La, phường Bàng La, quận Đồ Sơn, thành phố Hải Phòng.



Hình 2.1: Sơ đồ vị trí thu mẫu cá nóc tại các bãi triều

- *Vật liệu nghiên cứu:*

+ *Mẫu vật dùng cho nghiên cứu đặc điểm sinh học:* Mẫu cá nác dùng cho nghiên cứu đặc điểm sinh học được thu trực tiếp, mua từ ngư dân đánh bắt ở các bãi triều ngoài tự nhiên. Mẫu cá thu được gồm 280 cá cái, 231 cá đực, con đực có chiều dài dao động từ 7,46 - 12,7 cm, khối lượng từ 4 g đến 16,76 g/con. Cá cái có chiều dài dao động từ 7,25 - 14,45 cm, khối lượng từ 7,96 - 19,21 g/con.

+ *Mẫu vật dùng cho nghiên cứu sản xuất giống:*

Nguồn cá bố mẹ: Được tuyển chọn từ các mẫu thu ở các bãi triều thuộc địa bàn thành phố Hải Phòng, đưa về thuần dưỡng và nuôi vỗ tại cơ sở sản xuất giống thủy sản Bàng La, Đồ Sơn, Hải Phòng.

Nguồn cá bột: Từ quá trình sản xuất giống nhân tạo.

+ *Dụng cụ thí nghiệm bao gồm:* Bình thủy tinh 1 lít, thiết bị nâng và ổn định nhiệt độ, máy đo độ muối của Nhật Bản, nhiệt độ, hàm lượng oxy bằng máy đo (Mode: HI9146 nhãn hiệu Hanna của Mỹ lắp ráp tại Rumania), cốc đong thủy tinh Duran, kính hiển vi điện tử có gắn trục vi thị kính, kính có gắn thiết bị chụp hình (Nikon C-DSS230 - Nhật Bản) và kính giải phẫu (Mode: SZ61 sản xuất tại Canada) và một số dụng cụ khác.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Nghiên cứu một số đặc điểm sinh học sinh sản cá nác

2.2.1.1. Phương pháp xác định môi trường sống, phân bố và tuần suất bắt gộp cá nác trong tự nhiên.

a. Ngoài thực địa

- Sử dụng thu thập các số liệu bằng cách phỏng vấn trực tiếp ngư dân theo phiếu điều tra được thiết kế (phụ lục 2): Mùa vụ đánh bắt, thời gian đánh bắt, sản lượng đánh bắt, kích cỡ đánh bắt, mật độ phân bố. Định kỳ 1 tháng/lần/địa điểm.

- Khảo sát thực địa thu mẫu tại hiện trường nơi có cá nác phân bố: cá hương, cá tiền trưởng thành, cá trưởng thành, cá thành thực sinh dục. Mẫu cá được thu mua ngẫu nhiên từ ngư dân khai thác ở các vùng có cá nác phân bố vào các ngày đầu tháng trong năm và xử lý ngay khi đang còn tươi. Thu mẫu 12 tháng, định kỳ thu mẫu 1 tháng/lần.

Mẫu phân tích sinh học được xử lý ngay bằng cách cân khối lượng, đo chiều dài,

lấy vảy. Giải phẫu cá để xác định các giai đoạn chín muồi sinh dục, cân đo tuyến sinh dục cá, định hình tuyến sinh dục bằng dung dịch Bowin, định hình trứng (giai đoạn IV chín muồi sinh dục) trong cồn 70° hoặc formol 4% để xác định sức sinh sản của cá, định hình ống tiêu hóa của cá vào dung dịch formol 4% theo từng cá thể.

- Thu mẫu một số yếu tố môi trường: Các yếu tố môi trường được đo trực tiếp tại hiện trường bao gồm các thông số pH, độ muối, nhiệt độ được đo đạc trực tiếp ngoài hiện trường bằng máy WQC-22A (TOA, Nhật). Định kỳ 1 tháng/lần. Số liệu quan trắc được tính trung bình cho mỗi tháng.

b. Trong phòng thí nghiệm

- Phương pháp phân tích thành phần cấp hạt: mẫu trầm tích được xử lý bằng H₂O₂ và nước cất sau đó sử dụng rây có kích thước mắt lưới 0,063 mm tách ra làm 2 cấp hạt, phân cấp hạt lớn hơn 0,063 mm và nhỏ hơn 0,063 mm.

- Quan sát, phân tích vảy cá, thành phần thức ăn, đúc, cắt, đọc các tiêu bản sự phát triển tuyến sinh dục cá, chụp ảnh hiển vi các giai đoạn CMSD. Đo đếm số lượng trứng có trong buồng trứng theo phương pháp khối lượng. Tổng hợp và tính toán các số liệu,...

2.2.1.2. Nghiên cứu một số đặc điểm sinh học sinh sản

a. Phương pháp phân loại

Phân loại cá nác dựa vào hệ thống phân loại cá của Eschmeyer dựa trên tài liệu “Catalog databases as made available to FishBase in April 2006”.

b. Phương pháp nghiên cứu đặc điểm dinh dưỡng cá nác

- Xác định thành phần thức ăn: Mẫu dạ dày cá được cố định trong formol 10% sau đó được phân tích theo phương pháp tần số xuất hiện, phương pháp đếm điểm, phương pháp đếm điểm kết hợp với tần số xuất hiện của Biswas (1993) để xác định thành phần thức ăn trong dạ dày và tính ăn của cá.

Thức ăn được tách khỏi dạ dày. Quan sát dưới kính hiển vi hoặc kính lúp hai mắt. Sử dụng khóa phân loại thực vật bậc thấp của Đặng Ngọc Thanh và cs, (1980), động vật không xương sống thủy sinh của Dương Đức Tiến (1981). Đếm số lượng thức ăn để xác định tần số xuất hiện và các mức độ tiêu hóa thức ăn của cá.

c. Phương pháp xác định tuổi cá

Xác định tuổi dựa vào các vòng sinh trưởng trên vảy cá theo hướng dẫn nghiên

cứu cá của Pravdin, (1963). Lấy 5 - 10 vảy ở hai bên sườn phía trên các đường bên cho vào các lọ thủy tinh 5 ml có ghi số thứ tự mẫu. Xử lý vảy sạch bằng NaOH 5 - 10% hoặc nước thường và dùng bàn chải mềm chải sạch các chất nhờn trên vảy. Dùng kính lúp có độ phóng đại 10 - 20 lần hoặc kính hiển vi để quan sát.

d. Phương pháp xác định sinh trưởng

- Xác định các thông số sinh trưởng: Các thông số sinh trưởng của cá nác được xác định dựa vào phương trình của Von Bertalanffy (1954) theo các công thức chung:

$$\text{Chiều dài: } L_t = L_\infty [1 - e^{-k(t-t_0)}]$$

$$\text{Khối lượng: } W_t = W_\infty [1 - e^{-k(t-t_0)}]^b$$

Trong đó:

L_t và W_t : Chiều dài và khối lượng cá ở tuổi t (năm).

t : Tuổi cá vào năm thứ t .

t_0 : Tuổi lý thuyết khi cá có chiều dài bằng 0.

b : Theo phương trình tương quan chiều dài và khối lượng.

k : Hệ số đường cong của phương trình hay hệ số phân giải Protein.

L_∞ và W_∞ : Chiều dài và khối lượng cực đại của cá.

Các thông số của phương trình được tính toán theo phương trình thực nghiệm.

- Tốc độ sinh trưởng: Tốc độ tăng trưởng sử dụng phương pháp của Lee:

$$L_t = (L - a) \frac{V_t}{V} + a.$$

Trong đó:

L_t : Chiều dài của cá cần tìm ở tuổi t (mm).

L : Chiều dài hiện tại đo được của cá (mm).

V_t : Khoảng cách từ tâm vảy đến vòng năm ở tuổi t .

V : Bán kính vảy đo từ tâm vảy đến mép vảy.

a : Kích thước cá khi bắt đầu có vảy (mm).

- Tính tốc độ sinh trưởng hàng năm:

$$T_t = L_t - L_{(t-1)}.$$

Trong đó:

T_t : Tốc độ tăng trưởng về chiều dài của cá ở tuổi t (mm).

L_t : Chiều dài trung bình của cá ở độ tuổi t (mm).

$L_{(t-1)}$: Chiều dài trung bình cá ở độ tuổi $t-1$ (mm).

e, Phương pháp phân tích tuyến sinh dục cá nác

- *Phương pháp xác định giới tính và mô tả các giai đoạn của tuyến sinh dục và tế bào sinh dục*

Quan sát mức độ CMSD của cá theo thang 6 giai đoạn của Kixelevits (1923) (trong Pravdin 1973). Đồng thời xác định và kiểm tra mức độ CMSD của cá bằng tổ chức học. Dùng phương pháp nhuộm màu kép hematoxylin - eosin đối với tuyến sinh dục cái và hematoxylin - sắt đối với tuyến sinh dục đực. Đọc tiêu bản để xác định các thời kỳ phát triển của tế bào sinh dục và các giai đoạn CMSD theo Xakun và Buxkaia (1968) và hoàn thiện của Nguyễn Tường Anh (1999). Trên cơ sở xác định các giai đoạn phát triển tuyến sinh dục, có thể đánh giá được mức độ thành thực, thời gian sinh sản của cá tương ứng với các thời kỳ phát triển của tế bào sinh dục.

- *Phương pháp làm tiêu bản trên tổ chức mô học tuyến sinh dục*

Tiêu bản mô học tuyến sinh dục được tiến hành theo phương pháp của Patki và cs (1989), gồm các bước chính lần lượt sau: cố định mẫu tuyến sinh dục, chuẩn bị mẫu, đúc paraffin, cắt lát mẫu, nhuộm Hematoxylin và Eosin và làm trong mẫu. Mỗi giai đoạn của tuyến sinh dục được làm 3 tiêu bản trở lên, tổng số tiêu bản các giai đoạn là 36. Tiêu bản cá và tuyến sinh dục được chụp bằng máy ảnh (Nikon C-DSS230 - Nhật Bản và kính hiển vi Olympup SC 189 có gắn máy ảnh). Đọc mẫu tiêu bản mô học theo thang 6 bậc của Xakun và Buskaia (1968).

g. Phương pháp xác định sức sinh sản và mùa vụ sinh sản cá nác

- *Xác định kích cỡ trứng*: Đường kính trứng được xác định bằng trắc vi thị kính, đo 30 trứng/buồng.

- *Xác định sức sinh sản*: Xác định số lượng trứng bằng cách lấy 3 mẫu ở 3 phần khác nhau (đầu, giữa, cuối) của buồng trứng với khối lượng $\leq 0,1$ g/mẫu. Tách trứng ở 3 mẫu sau đó hòa chung 3 mẫu vào 10 ml nước muối sinh lý, khuấy đều mẫu, đảo và bỏ vào buồng đếm. Kết quả này dùng để tính sức sinh sản tuyệt đối và tương đối theo công thức sau.

+ *Sức sinh sản tuyệt đối*: là tổng số trứng ở giai đoạn thành thực trong tuyến sinh dục của cá, xác định theo phương pháp Laurence & Briand (1990), Luquet P. và Watanabe T., (1986) được tính theo công thức:

$$Fa = (n * GW) / GWm \text{ (trứng/cá thể)}$$

Trong đó: Fa: Sức sinh sản tuyệt đối.

GW: Khối lượng tuyến sinh dục (g).

GWm: Khối lượng mẫu trứng được lấy ra đếm (g)

n: Số trứng của mẫu trứng được lấy ra đếm.

+ *Sức sinh sản tương đối*: được tính theo phương pháp của King, (2001).

Sức sinh sản tương đối là số lượng trứng trên một đơn vị khối lượng cá, được tính theo công thức:

$$Fr = Fa / BW_0$$

Trong đó: Fr: Sức sinh sản tương đối (số lượng trứng/g khối lượng thân cá).

Fa: Sức sinh sản tuyệt đối.

BW₀: Khối lượng thân cá bỏ nội quan (g)

- Xác định hệ số thành thực: Định kỳ thu mẫu tháng/lần tuyến sinh dục cá nác ở các tháng trong năm.

- Hệ số thành thực là một chỉ số để dự đoán mùa vụ sinh sản của cá.

$$GSI = \frac{\text{Khối lượng tuyến sinh dục}}{\text{Khối lượng cá}} \times 100$$

- Tỷ lệ thành thực:

$$\text{Tỷ lệ thành thực (\%)} = \frac{\text{Số cá có tuyến sinh dục ở giai đoạn IV}}{\text{Số cá thu mẫu}} \times 100$$

- Xác định hệ số béo: Theo tài liệu của Nikolsky, sử dụng kết hợp cả hai công thức Fulton và Clark. Theo các công thức:

$$\text{Công thức của Fulton: } Q = W \frac{100}{L^3}$$

$$\text{Công thức của Clark (1928): } Q = W_0 \frac{100}{L^3}$$

Trong đó:

Q: Hệ số béo của cá.

L: Chiều dài từ mút mõm đến hết tia vây đuôi dài nhất (mm).

W: Khối lượng toàn thân cá (g).

W₀: Khối lượng toàn thân cá đã bỏ nội quan (g).

Các chỉ tiêu nghiên cứu được tiến hành theo phương pháp nghiên cứu cá của Pravidin, (1969) và Nikolski, (1963) kết hợp quan sát trực tiếp.

2.2.2. Nghiên cứu sinh sản cá nác trong điều kiện nhân tạo

2.2.2.1. Nghiên cứu lựa chọn chất đáy nuôi vỗ thành thục cá nác

Cá được nuôi trong 9 bể, thể tích 4 m³/bể. Không bố trí sục khí. Độ muối 15 - 18‰. Ngưỡng độ muối được lựa chọn làm thí nghiệm, dựa trên cơ sở thực trạng độ muối tại các vùng triều vùng ven biển miền Bắc, nơi bắt gặp cá nác thành thục sinh dục nhiều.

Số lượng cá nuôi vỗ: 50 con/m². Tỷ lệ đực cái: 1:1.

+ Cá đực: phần chót đầu gai sinh dục nhọn, khi thành thục mình cá thon, dài.

+ Cá cái: Buồng trứng giai đoạn II, III, gai sinh dục màu hồng đỏ, bụng cá to phình.

Thời gian nghiên cứu: 3 tháng từ tháng 2 - 4/2016.

Bể A1: Đáy bể được lót một lớp bùn nhão có xếp gạch tạo tổ, thay nước định kỳ trong bể theo ngày, giữ nước luôn sạch.

Bể A2: Đáy bể được lót một lớp bùn nhão, thay nước định kỳ trong bể theo lịch thủy triều, giữ nước luôn sạch.

Bể A3: Đáy bể được lót nilon, thay nước định kỳ theo lịch thủy triều, thả ống nhựa PVC Φ 40 làm tổ cho cá.

Cho cá ăn: 2 lần/ngày, sáng cho cá ăn bằng 1/5 khẩu phần cá ăn trong ngày và chiều cho ăn phần còn lại (4/5). Ban ngày cho cá ăn gần vị trí cá ẩn nấp.

Loại thức ăn: Hãng CP hàm lượng Protein 38%, N1, cá tôm tạp băm nhuyễn: tỷ lệ 1:1:1. Cho ăn 3 - 5% tổng khối lượng cá (có sự điều chỉnh khi thừa hoặc thiếu thức ăn). Bổ sung tảo đáy ở trong bể. Quan sát dấu hiệu thành thục của cá.

2.2.2.2. Nghiên cứu lựa chọn chế độ dinh dưỡng nuôi vỗ cá nác bố mẹ

+ Cá được thí nghiệm trong 9 bể, thể tích 4 m³/bể. Có sục khí.

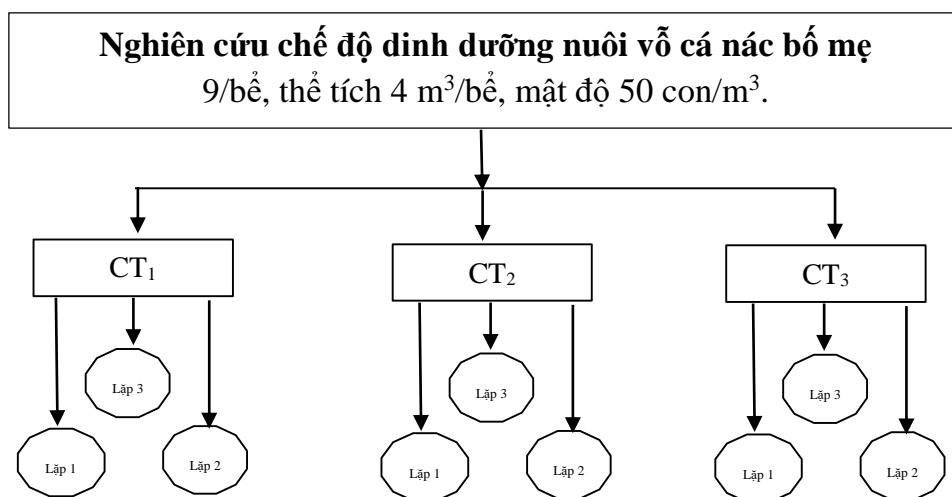
+ Số lượng cá nuôi vỗ: 50 con/m². Tỷ lệ đực cái: 1:1. Cá đạt 1 tuổi trở lên và chưa thành thục sinh dục.

+ Thời gian bố trí thí nghiệm: 35 ngày, từ tháng 3 - 4/2017.

+ Môi trường bố trí thí nghiệm: Độ muối: 15 - 18‰. pH 7,5 - 8,5. Đáy bể được lót

một lớp bùn nhão có xếp gạch tạo tổ. Thay nước định kỳ trong bể theo ngày, giữ nước luôn sạch, cho cá ăn: 2 lần/ngày.

+ Đàn bố mẹ được tuyển chọn có nguồn gốc tự nhiên, kích thước từ 12 cm - 18 cm, khối lượng 12 – 18 g/cá thể, cá nuôi vỗ trong bể xi măng được cho ăn các loại thức ăn của hãng CP với hàm lượng protein 30% và thức ăn chế biến (có thành phần chính là thịt cá tạp, tép moi khô, cám gạo). Thí nghiệm lựa chọn thành phần thức ăn thích hợp gồm 3 công thức thí nghiệm (CT), bố trí thí nghiệm theo sơ đồ Hình 2.2.



Hình 2.2: Sơ đồ bố trí thí nghiệm lựa chọn thức ăn nuôi vỗ cá nác bố mẹ

Công thức bố trí thí nghiệm như sau:

CT₁: 100% khẩu phần ăn thức ăn tôm thẻ chân trắng hãng CP hàm lượng protein 30%.

CT₂: 50% khẩu phần ăn là thức ăn tôm thẻ chân trắng hãng CP hàm lượng protein 30% và 50% là thức ăn chế biến (thịt cá 30% + tép moi khô 30% + cám gạo 40%).

CT₃: 100% thức ăn chế biến (thịt cá 30% + tép moi khô 30% + cám gạo 40%).

Mỗi công thức thí nghiệm được lặp lại 3 lần, bố trí thí nghiệm ngẫu nhiên.

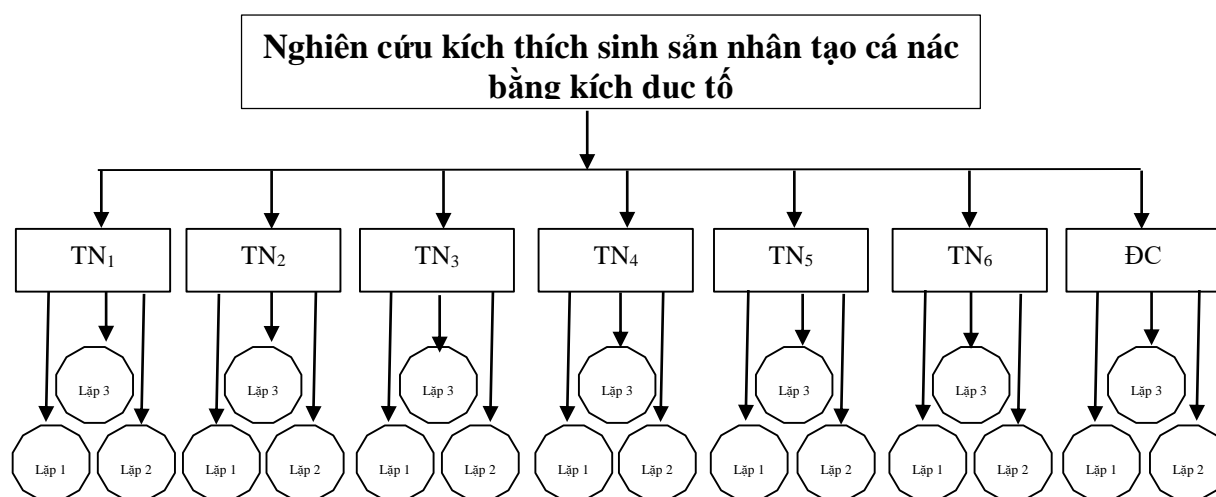
2.2.2.3. Nghiên cứu kích thích sinh sản nhân tạo cá nác bằng kích dục tổ

- Chọn cá thí nghiệm kích thích sinh sản.

+ Cá đực: Chọn những cá thể khỏe mạnh, hình dáng cân đối, không bệnh tật. Cơ quan sinh dục hình nhọn và có màu hồng thẫm ở điểm cuối mút nhọn.

+ Cá cái: Buồng trứng giai đoạn IV, V, khỏe mạnh, hình dáng cân đối, cơ thể không bị xây xát, bụng to, mềm. Cơ quan sinh dục sưng phồng và có màu phớt hồng.

- Nghiên cứu thử nghiệm dùng kích dục tố cho cá đẻ nhân tạo.



Hình 2.3: Sơ đồ bố trí thí nghiệm kích thích sinh sản cá nác bằng kích dục tố

Sử dụng một số loại kích dục tố: LRHA₃, HCG, DOM. Lựa chọn 70 cặp cá/ bể. Riêng lô đối chứng không được tiêm thuốc. Căn cứ để lựa chọn liều lượng kích dục tố thử nghiệm kích thích sinh sản dựa vào tài liệu Hong và Wang (1989).

Bảng 2.1: Liều lượng kích dục tố kích thích cá nác sinh sản

Lô TN	Cá cái		Cá đực
	Tiêm lần 1	Tiêm lần 2	
1	LRHA ₃ 1μg	LRHA ₃ 2μg+HCG 1000UI+DOM 5mg	LRHA ₃ 2μg
2	LRHA ₃ 1μg	LRHA ₃ 2μg+HCG 2000 UI +DOM 5mg	LRHA ₃ 2μg
3	LRHA ₃ 2μg	LRHA ₃ 3μg+HCG 1000 UI +DOM 5mg	LRHA ₃ 2μg
4	LRHA ₃ 2μg	LRHA ₃ 3μg+HCG 2000 UI +DOM 5mg	LRHA ₃ 2μg
5	LRHA ₃ 3μg	LRHA ₃ 5μg+HCG 1000 UI +DOM 5mg	LRHA ₃ 2μg
6	LRHA ₃ 3μg	LRHA ₃ 5μg+HCG 2000 UI +DOM 5mg	LRHA ₃ 2μg
7	Không tiêm	Không tiêm	

Ghi chú: lượng thuốc tính trên 1kg cá bố mẹ.

+ Thời gian bố trí thí nghiệm từ tháng 4 năm 2017 - tháng 8 năm 2018.

+ Phương pháp tiêm KDT: Tiêm gần gốc vây ngực cá, tiêm 2 liều, liều sơ bộ cách liều quyết định 22 - 24 giờ. Cá đực chỉ tiêm 1 liều trùng với liều tiêm quyết định cá cái. Trong điều kiện nhiệt độ nước 28 - 30⁰C, thời gian hiệu ứng thuốc 36 - 48 giờ.

+ Cho cá đẻ: Cá bố mẹ được thả trong các bể 2 - 4 m³, đáy bể lót nilon và thả các vật bám bằng: lưới, ống PVC 10 - 20 cm, ngói úp nóc bằng xi măng, tỷ lệ đực/cái: 1/1. Sau khi thấy cá đẻ, kiểm tra và loại những cá thể đã đẻ đồng thời chuyển trứng bám ở các vật bám sang bể ấp trứng.



Hình 2.4: Chọn cá tham gia sinh sản
d. Theo dõi phát triển phôi.



Hình 2.5: Vị trí tiêm kích dục tố

Lựa chọn trứng có chất lượng tốt, sạch từ các trứng đã thụ tinh, cho vào đĩa lồng Petri và cốc đong có dung tích 0,5 lít, đường kính cốc là 20 cm để theo dõi. Trong thời gian thí nghiệm, cốc đong được sục khí và thay nước để đảm bảo cho quá trình phát triển phôi được diễn ra một cách bình thường. Theo dõi thời gian phát triển phôi, tỷ lệ nở và trạng thái của cá bột sau khi nở.

Dùng kính hiển vi quang học có gắn máy ảnh để ghi lại quá trình phát triển phôi. Ở mỗi pha điển hình, mẫu được cố định trong dung dịch Formalin 5%. Nhiệt độ nước dao động từ 28 - 30°C; độ muối từ 19 – 20‰; Oxy hoà tan (DO) = 4,5 - 6,0 mg/L.

e. Phương pháp ấp trứng.

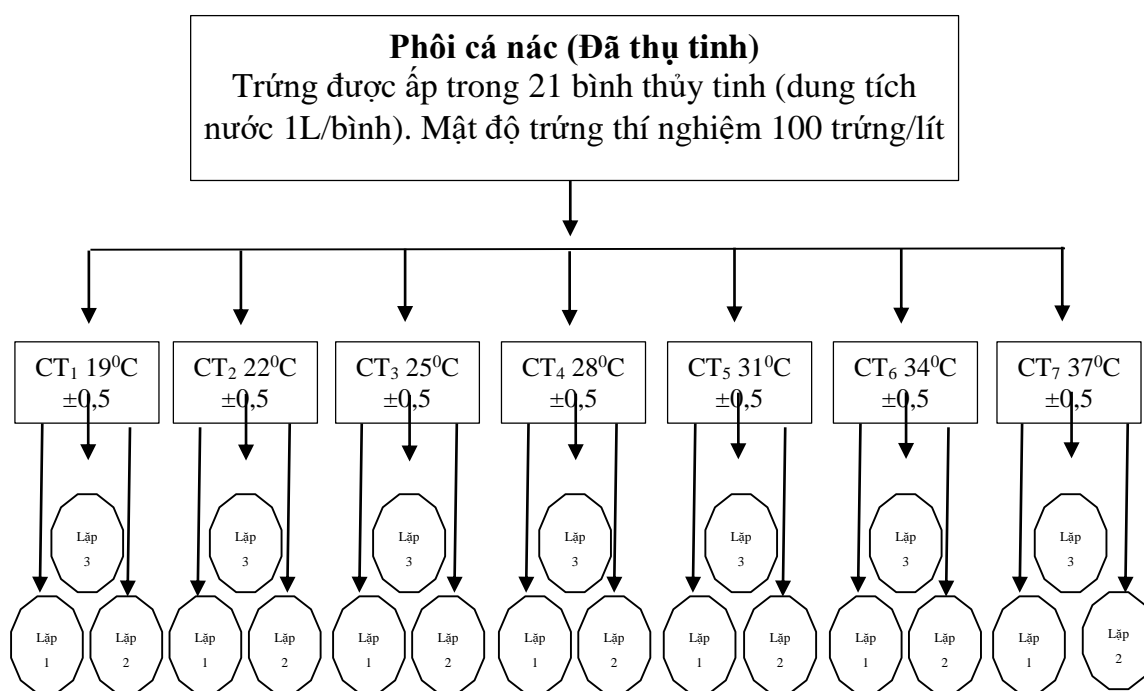
Bể ấp có diện tích 4m² ở trong nhà có mái che được vệ sinh sạch. Duy trì nhiệt độ nước 28 - 30 °C, độ muối 19 - 20‰, hàm lượng Oxy: 6 - 7 mg/L. Cường độ ánh sáng thấp, tránh ánh sáng trực tiếp chiếu vào bể.

Phương pháp thu và tính tỉ lệ thụ tinh: Thu mẫu ngẫu nhiên trứng đang ấp cho vào đĩa petri và quan sát dưới kính hiển vi. Thời điểm thu mẫu 8 - 10 giờ sau khi cá đẻ trứng. Phương pháp đánh giá: Trứng không thụ tinh có màu trắng đục, trứng thụ tinh có hình phôi nang. Đếm tổng số trứng đã thụ tinh.

2.2.2.4. Nghiên cứu ảnh hưởng của nhiệt độ, độ muối, mật độ ương và thức ăn đến tỷ lệ sống và phát triển của các giai đoạn phát triển sớm của ấu trùng cá nóc.

a. Thí nghiệm ảnh hưởng của nhiệt độ đến quá trình phát triển phôi cá nóc.

Thí nghiệm được tiến hành 7 mức nhiệt độ khác nhau và cách nhau 3⁰C, nhiệt độ bố trí từ 19 - 37⁰C. Thí nghiệm được thể hiện chi tiết trong Hình 2.6.



Hình 2.6: Sơ đồ bố trí thí nghiệm ảnh hưởng nhiệt độ

Trong mỗi xô can có 100 trứng đã thụ tinh được đặt trong bể nhựa, có chứa nước và gắn tăng nhiệt, sục khí liên tục 22/24h. Điều chỉnh để cho nhiệt độ ở các xô can có mức độ khác nhau. Thí nghiệm được đặt trong phòng điều hòa ở mức 19°C, sử dụng thiết bị nâng nhiệt tự động (heater) để duy trì nhiệt độ các lô thí nghiệm, mỗi bình thí nghiệm được bố trí 1 nhiệt kế thủy ngân để kiểm tra. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần.

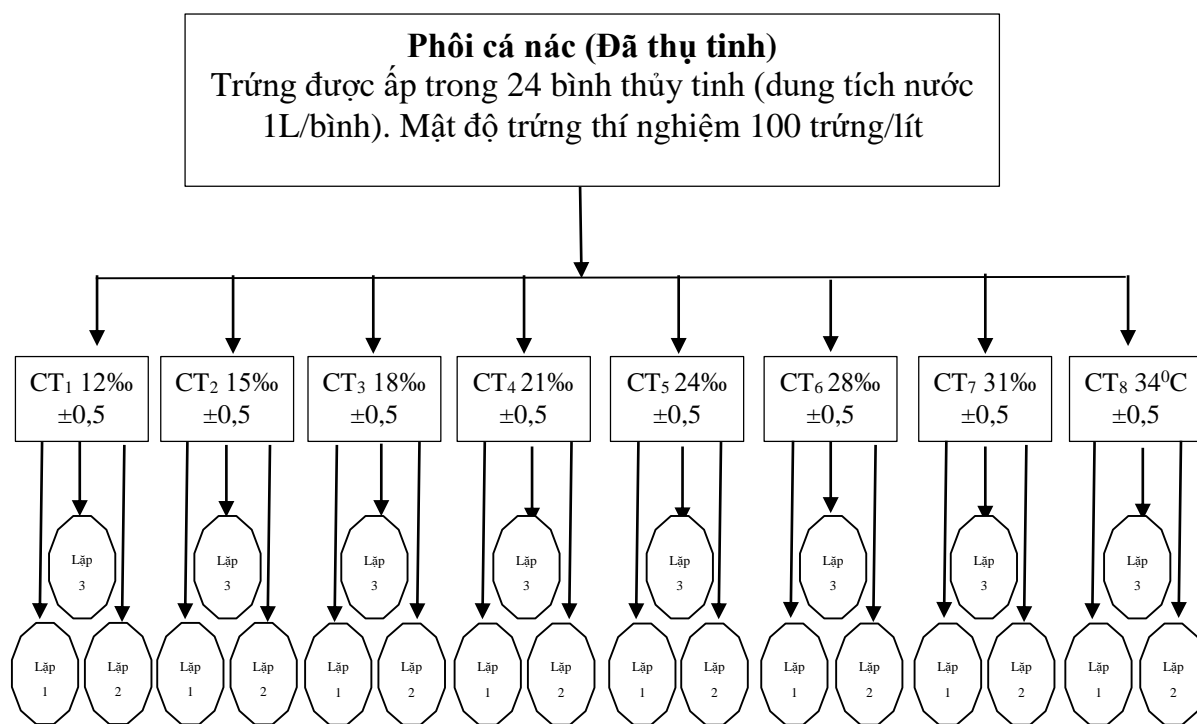
Định kỳ 15 phút/lần lấy 1 mẫu ở mỗi nghiệm thức để theo dõi sự phát triển của phôi từ khi thụ tinh tới giai đoạn phôi nang và sau giai đoạn phôi nang lấy mẫu định kỳ 1 giờ/lần và các chỉ tiêu khác cho đến khi kết thúc thí nghiệm.

Các yếu tố khác như cường độ chiếu sáng, oxy hòa tan...và các thao tác trong quá trình thu mẫu là như nhau.

Các chỉ tiêu theo dõi: thời gian phát triển phôi (phút), thời gian ấp (phút), thời gian nở (phút), tỷ lệ nở (%) và tỷ lệ ấu trùng dị hình (%).

b. Thí nghiệm ảnh hưởng của độ muối đến quá trình phát triển phôi cá nóc.

Đối với độ muối thí nghiệm được bố trí 8 mức độ muối khác nhau từ 12 - 34‰, mỗi thang cách nhau 3‰ trong điều kiện nhiệt độ (26,0 ± 0,5)°C (nhiệt độ trung bình ngày tại Hải Phòng thời gian cá nóc sinh sản là (26,0 ± 0,5)°C), các điều kiện khác là như nhau trong các lô thí nghiệm, thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Phương pháp bố trí thí nghiệm được thể hiện chi tiết trong Hình 27.



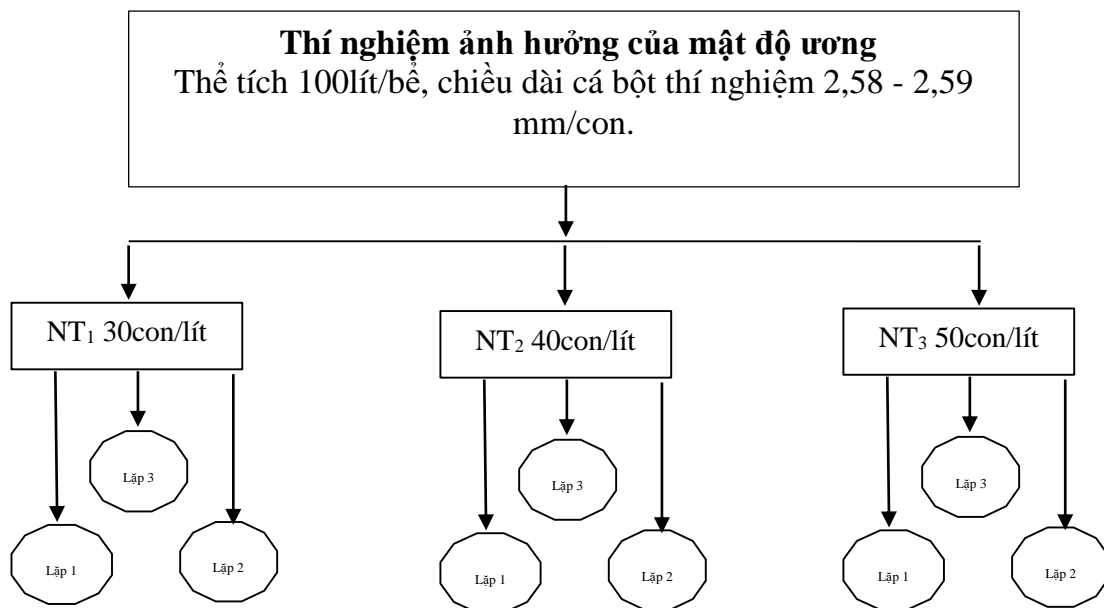
Hình 2.7: Sơ đồ bố trí thí nghiệm ảnh hưởng độ muối

Các chỉ tiêu theo dõi: thời gian phát triển phôi (phút), thời gian ấp (phút), thời gian nở (phút), tỷ lệ nở (%) và tỷ lệ ấu trùng dị hình (%).

Định kỳ 15 phút/lần lấy 1 mẫu ở mỗi nghiệm thức để theo dõi sự phát triển của phôi từ khi thụ tinh tới giai đoạn phôi nang và sau giai đoạn phôi nang lấy mẫu định kỳ 1 giờ/lần và các chỉ tiêu khác cho đến khi kết thúc thí nghiệm.

c. Thí nghiệm ảnh hưởng của mật độ ương lên sinh trưởng và tỷ lệ sống giai đoạn từ cá bột lên cá hương.

Thí nghiệm ảnh hưởng của mật độ ương lên sinh trưởng và tỷ lệ sống giai đoạn từ cá bột lên cá hương được thực hiện với 3 nghiệm thức: 30 con/lít, 40 con/lít và 50 con/lít gần tương tự với mật độ ương các loài cá biển như cá bớp, cá song..., mỗi nghiệm thức được lặp lại 3 lần trong 9 bể có thể tích 100 lít/bể, chiều dài cá bột đưa vào thí nghiệm 2,58 - 2,59 mm/con. Thời gian theo dõi thí nghiệm: 35 ngày, các nghiệm thức thí nghiệm được tiến hành cùng thời điểm. Các thí nghiệm được bố trí ngẫu nhiên theo kiểu một nhân tố, các yếu tố phi thí nghiệm ở các lô thí nghiệm là tương đương nhau với các điều kiện môi trường nền ban đầu là: Nhiệt độ nước từ 27 - 30°C, độ muối từ 18 - 19‰, pH từ 7,8 - 8,1; hàm lượng oxy hòa tan 4,5 - 5,5 mg/lít. Bố trí thí nghiệm theo sơ đồ Hình 2.8.



Hình 2.8: Sơ đồ bố trí thí nghiệm mật độ ương cá bột lên cá hương

Chăm sóc quản lý: giai đoạn đầu sục khí nhẹ, điều chỉnh sục khí tăng dần tùy theo tuổi cá. Xi phong đáy bể thí nghiệm 2 lần/ngày vào 9 giờ và 16 giờ. Lượng thức ăn và giai đoạn cho ăn theo Bảng 2.2 và 2.3.

Bảng 2.2: Thức ăn và thời điểm cho ăn

Loại thức ăn	Ngày ương									
	1	3	5	7	10	15	20	25	35	
Tảo <i>N. oculata</i>	(1.000 tb/ml)									
Luân trùng	(6-10 con/ml)									
Copeppod	(5-10 con/ml)									
Artemia bung dù	(3-5 con/ml)									
Artemia	(3-5 con/ml)									
Thức ăn tổng hợp	(5g/vạn cá/ngày)									

Nước biển tự nhiên sử dụng trong thí nghiệm có độ mặn đạt $19 \pm 0,5\%$. Ấu trùng được thả vào bể ương ngay sau khi nở. Sinh trưởng, tỷ lệ sống được xác định vào hai thời điểm là lúc 3 ngày tuổi và khi kết thúc thí nghiệm, thời gian biến thái của cá được xác định khi 80% cá trong bể ương biến thái thành cá hương.

Trong giai đoạn đầu (từ 1 đến 12 ngày tuổi) không thay nước. Khi cá bắt đầu cho ăn bổ sung thức ăn nhân tạo tiến hành thay 20 - 30% nước/ngày, thông qua việc xi phong đáy bể bằng vôi nhỏ, sau đó cấp nước từ từ vào bể ương đạt tới mức yêu cầu.

Bảng 2.3: Tỷ lệ và lượng thức ăn cho cá ăn

Ngày tuổi	Loại và liều lượng thức ăn (%)					
	<i>N.ocularata</i>	Luân trùng	Copeppod	Artemia bung dù	Artemia	Thức ăn tổng hợp
3-5	50	50	-	-	-	-
6-7	10	60		-	-	30
8-10	10	40	10	10	-	30
11-15	10	30	20	10		30
16-20	-	20	20	10	20	30
21-25		10	30		20	40
26-35	-	-	30		20	50

Các bể thí nghiệm phải được làm sạch trước khi sử dụng. Nước cấp đã qua xử lý và tỷ lệ thay thế nước trong bể nuôi phụ thuộc vào thức ăn cho ăn của từng giai đoạn. Trong thời gian cá ăn luân trùng, thay khoảng 10 - 20% nước trong bể nuôi.

d. Thí nghiệm ảnh hưởng của thức ăn lên sinh trưởng và tỷ lệ sống giai đoạn từ cá bột lên cá hương.

Thí nghiệm về thức ăn được bố trí trong các bể 120 lít, mật độ ương nuôi 40 cá thể/lít, ấu trùng cá được cho ăn bằng các loại thức ăn: Luân trùng, ấu trùng Nauplius của Artemia, Copepoda, thức ăn tổng hợp (Lansy, Fippak, N0, tảo khô..) và vi tảo. Với mỗi công thức lặp lại 3 lần. Bể được đánh số thứ tự và theo dõi. Các điều kiện chăm sóc quản lý, sục khí, chiếu sáng là đồng nhất giữa các bể. Cho ăn trước khi cá bột mở miệng từ 1 - 2 giờ. Quan sát sự bắt mồi và loại thức ăn của ấu trùng cá. Các bể thí nghiệm được duy trì điều kiện môi trường: nhiệt độ: 27 - 29°C; độ muối: 18 - 20‰; pH: 8,0 - 8,2; DO: 4,5 - 5,2 mg/l.

- Bố trí thí nghiệm với 03 công thức thức ăn và 01 lô đối chứng như sau:

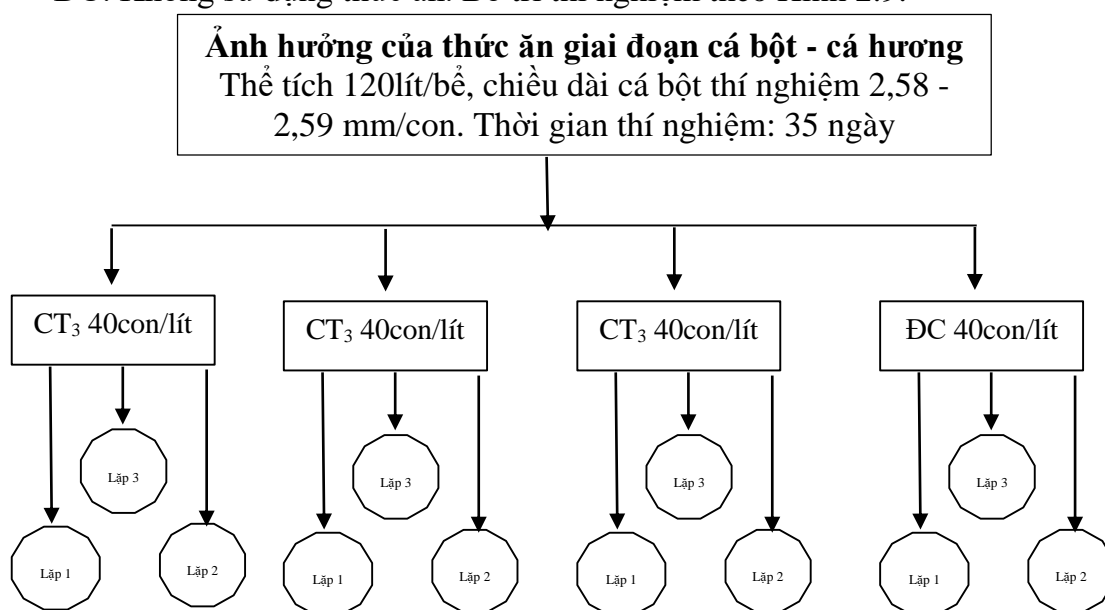
+ CT1: 50% (Luân trùng) + 20% (*naupliis* của *copepoda* và *copepod* loại nhỏ), mật độ thức ăn 10 ct/ml + Lansy 10% + Fippak 10% + Tảo khô 10%.

+ CT2: 50% (*naupliis* của *copepoda* và *copepoda* loại nhỏ), mật độ thức ăn 10 ct/ml + Lansy 20% + Fippak 20% + Tảo khô 10%.

+ CT3: 50% *Naupliis Artemia*, mật độ thức ăn 10 ct/ml + Lansy 20% + Fippak

20% + Tảo khô 10%.

+ ĐC: Không sử dụng thức ăn. Bố trí thí nghiệm theo Hình 2.9.



Hình 2.9: Sơ đồ bố trí thí nghiệm ảnh hưởng của thức ăn từ cá bột lên cá hương

Chăm sóc quản lý: giai đoạn đầu sục khí nhẹ, điều chỉnh sục khí tăng dần tùy theo tuổi cá. Xi phông 2 lần/ngày vào 9 giờ và 16 giờ.

Trong giai đoạn 1 tuần đầu không thay nước. Từ tuần thứ 2 thay 20 - 30% nước/ngày, thông qua việc xi phông đáy bể bằng vòi nhỏ, sau đó cấp nước từ từ vào bể ương đạt tới mức yêu cầu.

- Các thông môi trường nước như nhiệt độ nước, hàm lượng oxy hòa tan, pH theo dõi bằng cách đo trực tiếp 2 lần/ngày vào sáng (6h) và chiều(14h), hàm lượng nitơ dạng nitrit (NO_2^-) và amoniac (NH_3) (đo 2 lần/tuần) được kiểm tra định kỳ bằng test thử của hãng Sera.

- Mật độ tảo được xác định bằng buồng đếm hồng cầu. Luân trùng, *copepoda* và *artemia* được đếm bằng buồng đếm Newbauer vào mỗi buổi sáng.

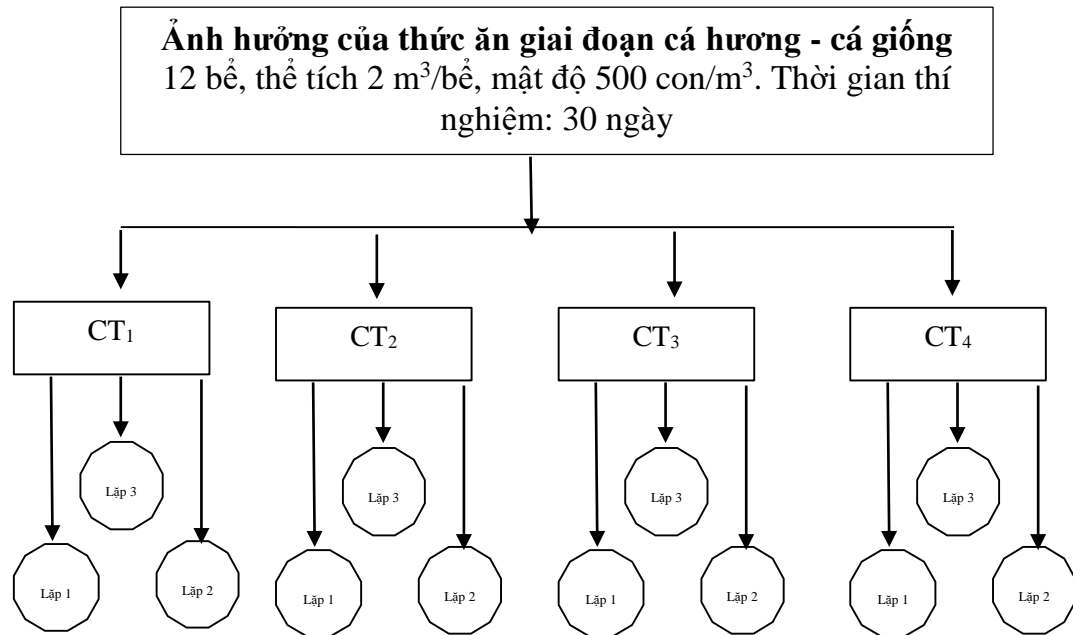
- Theo dõi tốc độ sinh trưởng cá 2 lần/đợt thí nghiệm (thả cá và kết thúc thí nghiệm).

- Theo dõi tỷ lệ sống của cá được xác định bằng cách đếm tất cả số lượng cá tại thời điểm kết thúc thí nghiệm chia cho số lượng cá ban đầu.

e. Nghiên cứu lựa chọn chế độ dinh dưỡng ương nuôi cá nác giai đoạn cá hương lên cá giống.

Thí nghiệm về thức ăn giai đoạn ương cá hương lên cá giống được bố trí trong các

bể 2m³. Mật độ ương 500 con/m³ Cá được cho ăn bằng các loại thức ăn: ấu trùng Nauplius của *Artemia*, *Copepoda*, thức ăn tổng hợp (Lansy, Frippak, N0, Tảo khô..) và tự chế với tỷ lệ phối hợp khác nhau để tìm ra khẩu phần thức ăn phù hợp nhất như sau. Bố trí thí nghiệm theo Hình 2.10.



Hình 2.10: Sơ đồ bố trí thí nghiệm ảnh hưởng thức ăn cá hương lên cá giống

+ CT1: *Copepoda* mật độ thức ăn 5 ct/ml + *Artemia* mật độ thức ăn 5 ct/ml + Thức ăn tổng hợp 10g/vạn cá/ngày (Lansy 30% + Fippak 40% + Tảo khô 20% + 10% phiến dinh dưỡng).

+ CT2: *Copepoda* mật độ thức ăn 4 ct/ml + *Artemia* mật độ thức ăn 4 ct/ml + Thức ăn tổng hợp 12g/vạn cá/ngày (Lansy 30% + Fippak 40% + Tảo khô 20% + 10% phiến dinh dưỡng).

+ CT3: *Copepoda* mật độ thức ăn 3 ct/ml + *Artemia* mật độ thức ăn 4 ct/ml + Thức ăn tổng hợp 15g/vạn cá/ngày (Lansy 30% + Fippak 40% + Tảo khô 20% + 10% phiến dinh dưỡng).

+ CT4: *Copepoda* mật độ thức ăn 2 ct/ml + *Artemia* mật độ thức ăn 4 ct/ml + Thức ăn tự chế (50% thịt cá + 50% thịt tôm xay nhuyễn hấp chín) 20g/vạn cá/ngày.

Bể được đánh số thứ tự và theo dõi. Các điều kiện chăm sóc quản lý, sục khí, chiếu sáng là đồng nhất giữa các bể. Mỗi thí nghiệm được lặp lại 3 lần.

- Theo dõi thí nghiệm: Các thông môi trường nước như nhiệt độ nước, pH, nhiệt độ theo dõi trực tiếp 2 lần/ngày vào sáng (6h) và chiều (14h), hàm lượng nitơ dạng nitrit

(NO₂ -) và amoniac (NH₃) (đo 2 lần/tuần) được kiểm tra định kỳ bằng test thử của hãng Sera.

- Thời gian thí nghiệm: 30 ngày.

2.2.3. Phương pháp đề xuất một số giải pháp kỹ thuật và dự thảo quy trình sản xuất giống nhân tạo cá nóc

- Trên cơ sở nghiên cứu, bố trí thí nghiệm, phân tích, đánh giá các bước kỹ thuật, các chỉ tiêu thực nghiệm đề xuất một số giải pháp kỹ thuật sản xuất giống nhân tạo cá nóc.

- Từ kết quả nghiên cứu, tham khảo các quy trình sản xuất giống cá bớp, cá bóng tro, để xây dựng quy trình dự thảo sản xuất giống nhân tạo cá nóc.

2.2.4. Phương pháp thu thập và xử lý số liệu

2.2.4.1. Phương pháp đánh giá, thu thập số liệu

- Giai đoạn phôi: Định kỳ 10 - 15 phút/lần, lấy 1 mẫu ở mỗi nghiệm thức để theo dõi sự phát triển của phôi từ khi thụ tinh tới giai đoạn phôi nang; sau giai đoạn phôi nang lấy mẫu định kỳ 1 giờ/lần cho đến khi kết thúc thí nghiệm. Theo dõi thời gian phát triển phôi, thời gian ấp, thời gian nở, tỷ lệ nở của trứng và tỷ lệ ấu trùng dị hình của mỗi lô thí nghiệm. Thời gian ấp là thời gian để 50% số trứng trong bình ấp nở. Thời gian nở là thời gian xuất hiện ấu trùng đầu tiên cho đến khi kết thúc quá trình nở. Ấu trùng dị hình được quan sát và đếm trực tiếp trên kính hiển vi giải phẫu Nikon C - DSS230 - Nhật Bản, ấu trùng dị hình là những ấu trùng có hình dạng thân bị cong so với ấu trùng bình thường.

- Giai đoạn ấu trùng: Thu mẫu ngẫu nhiên tối thiểu 30 mẫu ấu trùng/lần, chụp ảnh, mô tả hình thái các giai đoạn phát triển của ấu trùng, quan sát hình thái và hoạt động của ống tiêu hóa trên kính hiển vi giải phẫu Nikon C - DSS230 - Nhật Bản.

- Đối với thí nghiệm về ảnh hưởng của độ muối và nhiệt độ đến ấu trùng: Thu mẫu ấu trùng để đo sinh trưởng và tỷ lệ sống ở ngày tuổi thứ 2 và thời điểm ấu trùng hoàn thành biến thái. Số mẫu thu 30 cá thể/lần.

- Đối với thí nghiệm về ảnh hưởng của mật độ ương, thức ăn đến sinh trưởng và tỷ lệ sống của ấu trùng từ cá bột lên cá giống, việc thu mẫu về sinh trưởng và tỷ lệ sống

được tiến hành theo từng thí nghiệm cụ thể:

+ Thí nghiệm về mật độ ương ấu trùng từ cá bột lên cá hương 35 ngày tuổi: Thu mẫu vào 10 ngày tuổi, 15 ngày tuổi, 20 ngày tuổi, 25 ngày tuổi, 30 ngày tuổi và 35 ngày tuổi. Số mẫu thu 30 cá thể/lần.

+ Thí nghiệm về thức ăn ương nuôi ấu trùng từ cá bột lên cá hương 35 ngày tuổi: Thu mẫu vào 5 ngày tuổi, 10 ngày tuổi, 15 ngày tuổi, 20 ngày tuổi, 25 ngày tuổi, 30 ngày tuổi và 35 ngày tuổi. Số mẫu thu 30 cá thể/lần.

+ Thí nghiệm về mật độ ương từ cá hương lên cá giống: Thu mẫu vào ngày thả cá thí nghiệm và ngày kết thúc thí nghiệm. Số mẫu thu 30 cá thể/lần.

+ Thí nghiệm về thức ăn ương nuôi từ cá hương lên cá giống: Thu mẫu vào ngày thả cá thí nghiệm và ngày kết thúc thí nghiệm. Số mẫu thu 30 cá thể/lần.

2.2.4.2. Phương pháp xử lý số liệu

Toàn bộ số liệu thu được tính toán và vẽ đồ thị trên phần mềm excell. Số liệu ở các thí nghiệm phân tích phương sai trên phần mềm SPSS 16.0 for window. Sử dụng hàm phân tích phương sai một nhân tố (oneway – ANOVA) và Duncan test để kiểm định sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$) của các thông số một biến giữa các nghiệm thức trong từng thí nghiệm. Sử dụng hàm phân tích đa biến (Multivariate) trên mô hình tuyến tính tổng quát (General Linear Model) và Duncan test để kiểm định sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) về sự tương tác giữa hai nhân tố cũng như các thông số giữa các nghiệm thức trong thí nghiệm 2 nhân tố. Số liệu được trình bày trong luận án là giá trị trung bình (TB) \pm sai số chuẩn (SE).

Chương 3: KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Một số đặc điểm sinh học sinh sản cá nác

3.1.1. Phân bố và tần suất bắt gặp cá nác trong tự nhiên

Kết quả điều tra thu mẫu tại 4 tỉnh, cho thấy có cá nác phân bố, tuy nhiên tần suất bắt gặp thấp và phân bố không đều trong tự nhiên. Cá phân bố chủ yếu:

- Quảng Ninh: Tiên Yên, Yên Hưng, Hoành Bồ, Đông Triều.
- Hải Phòng : Tiên Lãng, Vĩnh Bảo, Hải An, Thủy Nguyên, Đồ Sơn.
- Thái Bình : Tiền Hải, Thái Thụy.
- Nam Định : Hải Hậu, Giao Thủy, Nghĩa Hưng.

Các kết quả nghiên cứu về môi trường phân bố và tần suất bắt gặp cá nác trong tự nhiên thể hiện tại Bảng 3.1.

Bảng 3.1. Đặc điểm môi trường phân bố và tần suất bắt gặp cá nác.

Địa điểm	Đặc điểm môi trường sống			Tần suất bắt gặp
	pH	S (‰)	Chất đáy	
Quảng Ninh (Tiên Yên, Hoành Bồ, Yên Hưng, Đông Triều)	6,0 - 8,7	2,7-28	Sét pha, bùn úớt	+
Hải Phòng (Tiên Lãng, Đình Vũ, Thủy Nguyên, Vĩnh Bảo, Đồ Sơn)	6,3 - 9,1	2,3÷25	Sét pha, bùn úớt	+
Thái Bình (Tiền Hải, Thái Thụy, Diêm Điền)	6,0 - 8,8	15 ÷ 22	Sét pha, bùn úớt	+
Nam Định (Hải Hậu, Giao Thủy, Nghĩa Hưng)	6,2 - 9,0	10 ÷ 20	Sét pha, bùn úớt	++

(Ghi chú: +: ít gặp (1-3 con/4m²) ++: Trung bình (4-6 con/4m²).

Cá thích nghi với các bãi triều ven biển và vùng cửa sông, cửa lạch, bãi bồi nơi có chất đáy là bùn, bùn pha sét và có thời gian ngập nước trong ngày ngắn. Không phân bố tại các khu vực có cỏ nước và các vùng triều có bùn đen. Độ muối dao động từ 2,3 - 28‰, pH 7,5 - 8,5. Kết quả nghiên cứu phù hợp với nghiên cứu của tác giả Nelson, (1994) cho rằng cá nác thích nghi với môi trường bùn ẩm nên cá phân bố chủ yếu ở các vùng bùn lầy, xung quanh rừng ngập mặn, vùng cửa sông, bãi triều ven biển.

3.1.2. Mùa vụ xuất hiện

Cá nác thường xuất hiện quanh năm nhưng theo vùng địa lý, mùa vụ lại xuất hiện

khác nhau. Trong các tỉnh điều tra, cá hương (cá nác con > 1cm) thường bắt đầu xuất hiện vào cuối tháng 3 và đầu tháng 4 dương lịch. Cá con lúc này có thể xuất hiện trong các ao đầm nước lợ. Sau tháng 9, khả năng bắt gặp cá nác con thấp hơn, chỉ bắt gặp ở các khu vực cửa sông, cửa lạch gần biển. Kết quả nghiên cứu chỉ ra ở Bảng 3.2.

Bảng 3.2: Sự phân bố cá nác theo lứa tuổi, vùng địa lý và thời gian trong năm.

TT	Giai đoạn phát triển	Thời gian (Tháng)	Vùng sinh thái	Độ muối (‰)
1	Cá con	3 - 9	Vùng cửa sông, ao đầm ven biển	15 - 22
2	Cá tiền trưởng thành	4 - 11	Vùng cửa sông, cửa lạch	5 - 20
3	Cá trưởng thành	1 - 12	Bãi triều, vùng cửa sông, cửa lạch	0,3 - 28
4	Cá thành thực	3 - 9	Bãi triều, cửa lạch	7 - 24

Từ tháng 4 đến tháng 9 có thể bắt gặp cá nác ở tất cả các giai đoạn phát triển, tuy nhiên trong thời gian này, khả năng bắt gặp cá ở giai đoạn trưởng thành cao hơn. Ngoài ra, khả năng bắt gặp cá có dấu hiệu chín muồi sinh dục ở Hải Phòng, Quảng Ninh cũng sớm hơn so với cá có dấu hiệu CMSD ở hai tỉnh Thái Bình và Nam Định.

Như vậy, các yếu tố sinh thái đã đóng vai trò quan trọng cho sự phân bố của cá nác, đặc biệt là hai yếu tố độ muối và chất đáy. Tương tự các công bố của Chen, (2008); Clayton, (1993); Kobayashi và cs, (1971) cho rằng nhiệt độ, độ muối, nguồn thức ăn, chất đáy.... là các yếu tố quyết định sự phân bố của cá nác.

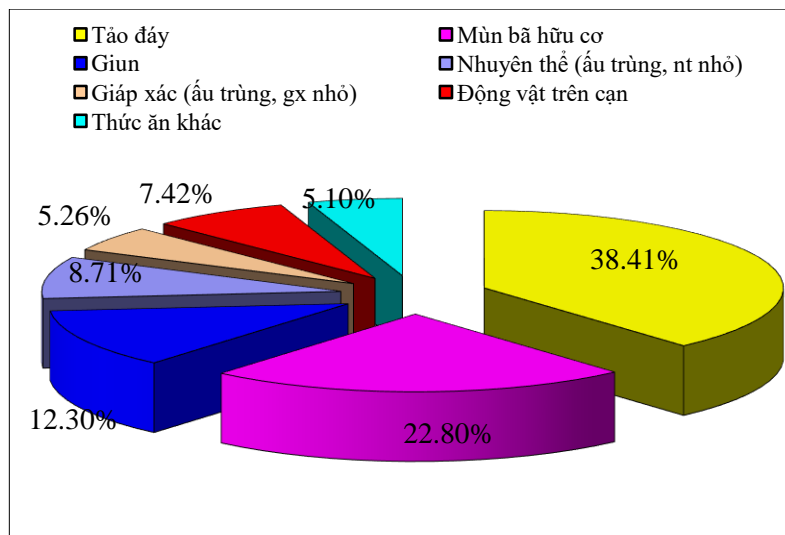
3.1.3. Đặc điểm dinh dưỡng của cá nác

Cá nác là loài cá ăn tạp, phổ thức ăn thay đổi tùy theo các giai đoạn phát triển của cá. Kết quả giải phẫu hệ tiêu hoá cho thấy: Cá có ruột dài, chiều dài ruột (lúc trưởng thành) bằng 1,58 chiều dài thân. Có 4 răng hàm trên và 2 răng hàm dưới, xung quanh miệng có các hàng răng nhỏ.

Trong giai đoạn cá nhỏ (L < 1,5 cm) cá ăn tảo đáy, thực vật phù du, động vật phù du và ấu trùng nhuyễn thể, tỷ lệ mùn bã hữu cơ chiếm 62,5%. Giai đoạn trưởng thành (L > 3cm) phổ thức ăn của cá phong phú, từ động thực vật dưới nước, đến động vật trên cạn.



Hình 3.1: Miệng cá nác



Hình 3.2: Thành phần thức ăn của cá nác trưởng thành

Kết quả điều tra thu mẫu phân tích thành phần thức ăn tại Hình 3.2 cho thấy cá nác là loài cá ăn tạp, thức ăn chủ yếu của cá là tảo đáy chiếm 25 - 40% tổng số lượng thức ăn, trung bình 38,41% và tỷ lệ mùn bã hữu cơ chiếm trung bình 22,8%. Đây là hai loại thức ăn chiếm tỷ lệ cao nhất trong phổ thức ăn, có thể nhận định đây là hai loại thức ăn chính của cá nác. Kết quả phân tích phù hợp với kết quả nghiên cứu của tác giả Milward, (1974); Yang và cs, (2003).

Theo Choi và Kim, (2016) cá nác là động vật ăn thực vật, chủ yếu là tảo cát (*Pleurosigma spp.*, *Navicula spp.*, *Nitzschia spp.*, *Gyrosigma spp.*). Chế độ ăn của chúng cũng bao gồm một lượng nhỏ tảo đơn bào và giun tròn.

3.1.4. Mùa vụ sinh sản

Cá nác bắt đầu các hoạt động sinh sản vào cuối tháng 3. Đây là thời điểm giao mùa, độ muối của khu vực bãi triều đã hạ thấp. Đối với các vùng địa lý có độ muối biến động lớn (9 - 22‰) có thể bắt gặp hoạt động tham gia sinh sản sớm hơn. Hoạt động sinh sản của cá tích cực khi thủy triều lên, cá di cư theo thủy triều vào sâu trong các cửa lạch, cửa sông để kết đôi và tham gia sinh sản. Đến cuối tháng 7 và đầu tháng 8, hoạt động sinh sản của cá diễn ra chủ yếu ở các bãi triều, càng xa biển càng khó bắt gặp hoạt động sinh sản của cá.

Tại ven biển miền Bắc Việt Nam, cá nác bắt đầu sinh sản vào cuối tháng 3 và đầu tháng 4. Trong các tháng này, tuyến sinh dục của mẫu cá thu được đã có giai đoạn IV và giai đoạn V. Kết quả thu mẫu cũng cho thấy cá có khối lượng buồng trứng lớn, trứng lúc này đã chuyển sang màu vàng đậm, hạt trứng to và rời chứng tỏ cá đã có thể sẵn sàng tham gia sinh sản, phù hợp với việc quan sát nguồn cá giống (1,5 - 2 cm) trong tự nhiên vào tháng 4 và tháng 5 hàng năm. Vào mùa Hè, khi nhiệt độ nước ổn định, thức ăn tự nhiên phong phú, cá tiếp tục sinh sản tới tháng 8. Cá đẻ trứng trong hang, là loại trứng dính, thụ tinh ngoài.

Theo Watanabe và cs, (1997) mùa vụ sinh sản của loài cá có mối quan hệ chặt chẽ với những thay đổi môi trường đặc biệt là nhiệt độ, ánh sáng và nguồn thức ăn. Những yếu tố môi trường này có ảnh hưởng lớn nhất đối với quá trình phát triển tuyến sinh dục và khả năng sinh sản của các loài. Theo nhận định của Thornhill (2012), cá thường sinh sản vào thời điểm điều kiện môi trường thuận lợi nhất cho sự sống, phát triển của cá bột và nhiệt độ đóng vai trò quan trọng trong quá trình kích hoạt sinh sản cá ở vùng nhiệt đới.

3.1.5. Đặc điểm phân biệt giới tính

Đối với các cá thể còn nhỏ chiều dài dưới 5 cm, quan sát đặc điểm hình thái bên ngoài cơ thể không thể nhận biết giới tính của cá. Ở giai đoạn này, sử dụng phương pháp giải phẫu để quan sát trực tiếp tuyến sinh dục.

Tinh sào cá nác có dạng dẹp, màu trắng hay xám tùy theo các giai đoạn thành thực, nằm hai bên mạc treo ruột phía lưng. Lúc cá trưởng thành, hai buồng tinh kéo dài đến gần sát hậu ôn.



Hình 3.3: Cá nác cái



Hình 3.4: Cá nác đực

Noãn sào có dạng ống, màu vàng nhạt hay vàng sậm và trông rõ các hạt trứng, buồng trứng trong mùa sinh sản có khối lượng trung bình: $0,68 \pm 0,04$ (g).

Bảng 3.3: Phân biệt cá nác đực và cá nác cái

TT	Đặc điểm phân biệt	Cá đực	Cá cái
1	Kích thước	Thân nhỏ, bụng thon	Thân lớn, bụng to
2	Đốm xanh 2 bên lưng	Xanh đậm, nhiều	Xanh nhạt, ít
3	Cơ quan sinh dục	Hình tam giác, màu hồng phấn	Hình bầu dục tròn, màu hồng sậm
4	Mang cá	Bành nhỏ hơn	Bành to hơn

Vào tháng 11, buồng trứng cá chuyển sang màu đỏ sẫm, hiện rõ các tia máu bao quanh.

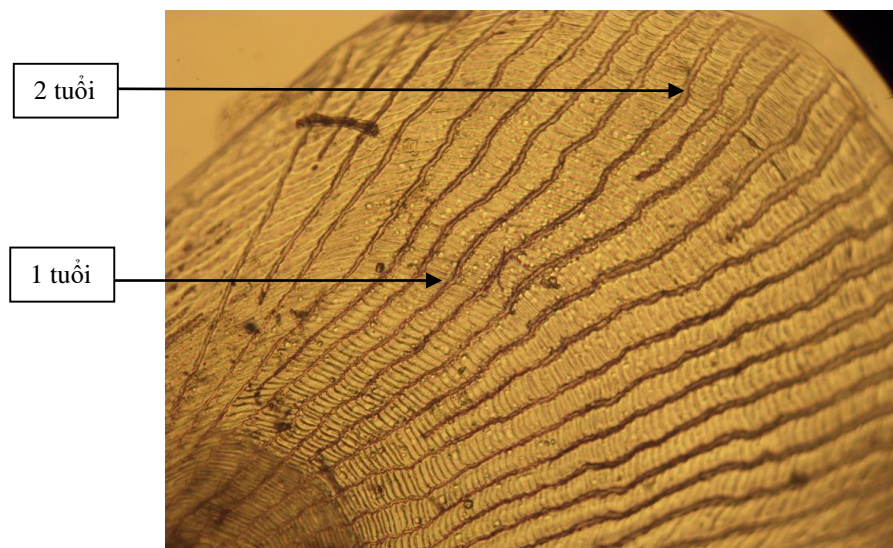
3.1.6. Cấu trúc tuổi.

Ở các nước vùng ôn đới, có sự phân biệt màu sắc giữa các mùa. Mùa xuân và mùa hạ nhiệt độ ấm, thức ăn tự nhiên phong phú cá sinh trưởng nhanh nên các vân xương sắp xếp thưa tạo thành vòng sáng. Mùa đông nhiệt độ thấp, cá sinh trưởng chậm, các vân xương sắp xếp sít nhau tạo thành vòng tối và hiện tượng này cứ lặp đi lặp lại hàng năm. Khi tính vòng năm người ta cho hai vòng làm thành một vòng, một vòng sáng với những vân sắp xếp thưa và một vòng tối với những vân xương sắp xếp sít nhau (Pravdin, 1973).

Ở các nước nhiệt đới không có sự phân biệt sâu sắc giữa các mùa, không có sự hình thành vòng đông trên vảy cá. Tuy nhiên theo Mai Đình Yên và cs, (1979), khi nghiên cứu tuổi của cá nhiệt đới bằng vảy vẫn thấy sự xuất hiện vòng tuổi. Vòng tuổi của cá thường hình thành vào thời kỳ dinh dưỡng xấu nhất hoặc liên quan đến sự chín muồi sinh dục và sự đẻ trứng bởi vì trong giai đoạn này cá ngừng ăn.

Đối với cá nác được thu mẫu ven biển miền Bắc nước ta có khí hậu nhiệt đới gió mùa với mùa đông tương đối lạnh. Do đó nhiệt độ có ảnh hưởng đến mức độ thức ăn và sinh trưởng của cá nên các dấu hiệu sinh trưởng thể hiện rõ trên vảy cá. Với cá nác, vảy có kích cỡ nhỏ (trung bình: $1,1 \pm 0,08$ mm), bao phủ đều trên thân cá.

Vòng tuổi thể hiện hoàn toàn rõ ở hai bên sườn vảy và vai vảy. Vảy cá hình thành vòng tuổi vào cuối mùa đông đầu mùa xuân. Đối với cá nác, lấy vảy cá để nghiên cứu tuổi bởi các vòng sáng tối của vân sinh trưởng ở vảy thể hiện khá rõ đặc biệt là vảy nằm ở cơ quan đường bên của cá.



Hình 3.5: Vân sinh trưởng trên vảy cá nác

Các vân xương mỏng, những vân xương gần tâm được sắp xếp thành các vòng tròn đồng tâm, những vân xương xa tâm sắp xếp thành hình bầu dục. Đường phóng xạ thẳng ở phần trước vảy và hơi cong về phía sau vảy.

Khi tính tuổi cá, cứ hai vòng sáng tối liền kề được coi như một năm tuổi.

- Vòng tuổi hình thành do các vòng sinh trưởng sắp xếp sát nhau tạo thành vòng sẫm màu hơn so với các phần vảy phát triển bình thường.

Vòng tuổi hình thành do sự rạn nứt của rãnh phóng xạ, tạo ra vòng sáng nhỏ liên tục trên vảy. Tại chỗ rạn nứt các vân xương sắp xếp sát nhau. Các phần vảy phía trong

và ngoài vòng tuổi phát triển bình thường.

Kết quả phân tích vây của cá nác ở ven biển miền Bắc đã xác định quần thể cá nác có 4 nhóm tuổi. Trong đó nhóm tuổi thấp nhất là 0⁺, cao nhất là 2⁺. Căn cứ số lượng cá thể trong từng nhóm tuổi để xác định cấu trúc tuổi của quần thể cá nác. Theo đó, nhóm cá tuổi 1⁺ có số lượng cá thể chiếm tỷ lệ 21,6%. Trong nhóm tuổi này, chiều dài cá dao động từ 6,57 - 13,42 mm với khối lượng tương ứng đạt tới 4,0 đến 16,41 g. Nhóm cá tuổi 2⁺ có số lượng chiếm tỷ lệ cao nhất đạt 62,27%, chiều dài dao động từ 8,59 - 5,4 mm, ứng với khối lượng 6,01 - 17,62 g. Còn ở nhóm cá tuổi 3⁺ tham gia vào quần thể với tỷ lệ thấp nhất, chỉ chiếm 15,09% với chiều dài dao động 10,6 - 14,37 mm, ứng với khối lượng 10,28 - 15,45g.

Từ số liệu thu được ở Bảng 3.4, về thành phần tuổi cá cho thấy, cá nác phần lớn được khai thác ở nhóm tuổi 1⁺, 2⁺. Nhóm cá còn non (0⁺) và nhóm cá tuổi 3⁺ được khai thác với tỷ lệ thấp hơn.

3.1.7. Tần suất bắt gặp cá tham gia sinh sản

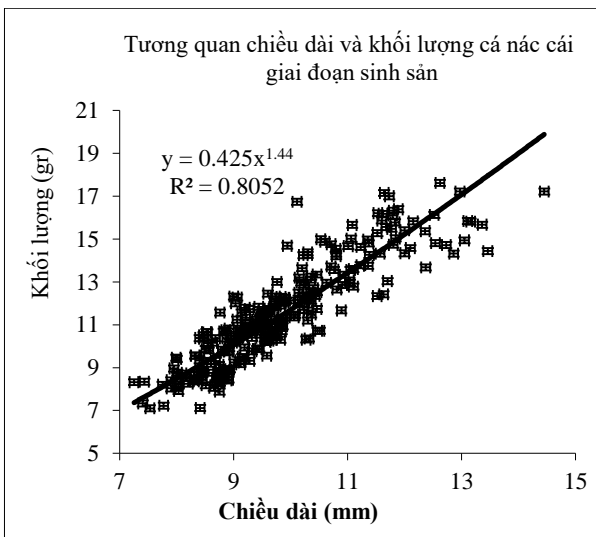
Cá nác có thể tham gia sinh sản sớm, cá đực và cái đều có dấu hiệu thành thực sinh dục ở độ tuổi 1⁺. Theo dõi các vân sinh trưởng trên vây, nhận thấy cá đực thường có dấu hiệu thành thực sinh dục sớm hơn so với cá cái. Tần số bắt gặp cá ở tuổi 1⁺ tương ứng 34,20% và 23,57%, so với tổng số cá đực và tổng số cá cái thu được.

Bảng 3.4: Tương quan giữa chiều dài và khối lượng cá

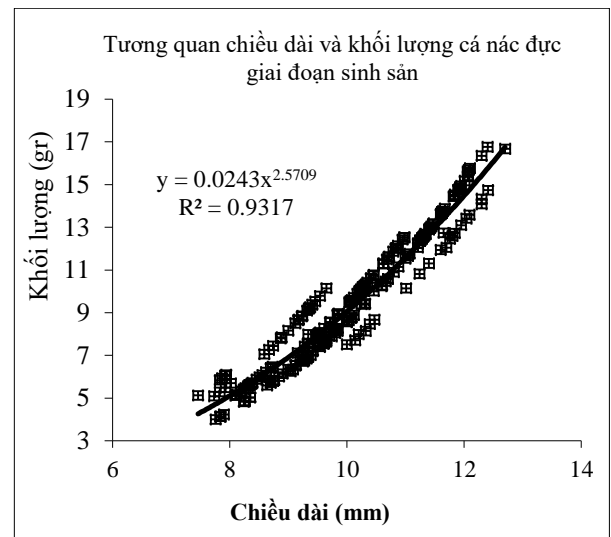
Tuổi	Giới tính	Chiều dài L (mm) và khối lượng W (g)				n	Tỷ lệ %
		L _{dao động}	L _{tb}	W _{dao động}	W _{tb}		
0 ⁺	ấu trùng						
1 ⁺	Đực	6,57-11,71	8,95±0,23	4,00-13,18	6,91±0,45	79	34,20
	Cái	8,46-13,42	9,65±0,18	7,96-16,41	10,09±0,38	40	23,57
2 ⁺	Đực	8,59-12,41	10,26±0,16	6,01-14,86	9,82±0,40	174	47,19
	Cái	9,25-15,40	10,88±0,16	8,30-17,62	12,70±0,29	174	62,14
3 ⁺	Đực	10,60-12,70	11,64±0,15	10,28-16,76	13,63±0,50	43	18,61
	Cái	10,22-14,37	12,33±0,37	11,26-19,21	15,45±0,67	40	14,29
Tổng						550	

Qua Bảng 3.4, có thể nhận thấy, giai đoạn cá ở độ tuổi 1⁺, cá nác đực có tốc độ sinh trưởng chậm hơn cá nác cái, sang độ tuổi 2⁺, 3⁺, mặc dù đã đạt được kích thước tương đồng tuy nhiên, khối lượng cá đực thường nhỏ hơn và tần suất bắt gặp cá đực và cái ở các độ tuổi tương đối đồng đều.

Kết quả phân tích chứng tỏ, cũng như những loài cá khác, cá nác tăng trưởng chiều dài liên tục trong suốt đời sống nhưng tốc độ tăng chậm dần theo thời gian.

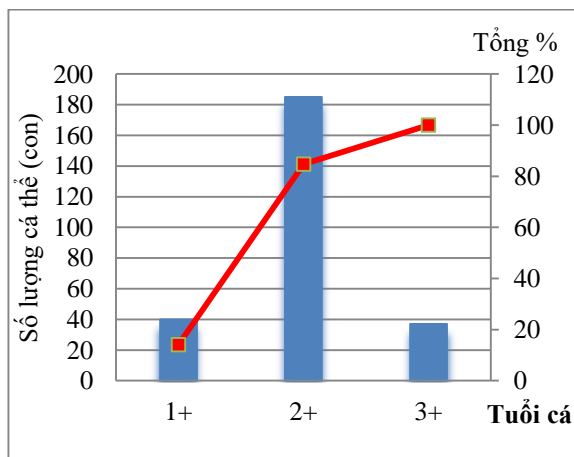


Hình 3.6 : Tương quan chiều dài và khối lượng cá nác cái

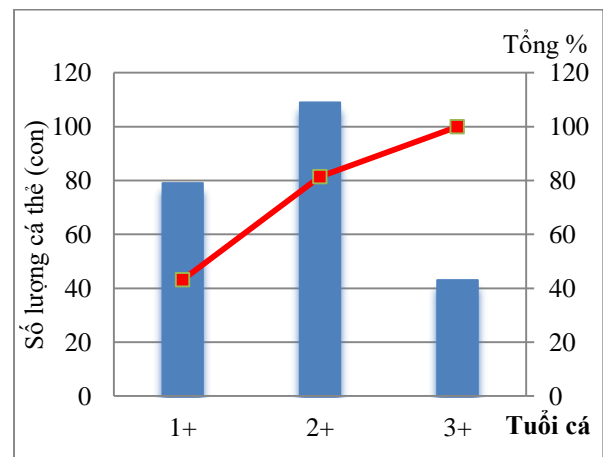


Hình 3.7: Tương quan chiều dài và khối lượng cá nác đực

Qua Hình 3.6 và Hình 3.7, ở độ tuổi sinh sản, cá nác đực thường có kích cỡ nhỏ hơn cá nác cái, tương quan giữa chiều dài và khối lượng cá nác cái ($r^2 = 0,8052$) và cá nác đực ($r^2 = 0,9317$) có mối tương quan mật thiết.



Hình 3.8: Tần suất bắt gặp cá cái tham gia sinh sản ở các độ tuổi



Hình 3.9: Tần suất bắt gặp cá đực tham gia sinh sản ở các độ tuổi

Trong quá trình thu mẫu, chúng tôi nhận thấy rất hiếm gặp cá đực và cái giai đoạn tuổi 3⁺ trong tự nhiên, tần suất bắt gặp: 18,61% và 14,29% tương ứng với tổng số

cá đực và tổng số cá cái thu được.

Kết quả phân tích chứng tỏ, cũng như những loài cá khác, qua từng năm, cá nác tăng lên về chiều dài và lớn lên về khối lượng cơ thể. Xu hướng chung về tương quan giữa chiều dài và khối lượng cá nác diễn biến theo chiều thuận, nghĩa là trong quá trình phát triển, cùng với sự tăng lên về chiều dài là sự gia tăng về khối lượng.

3.1.8. Đặc điểm phát triển tuyến sinh dục cá nác

3.1.8.1. Đặc điểm phát triển tuyến sinh dục cá nác cái

Phân chia các giai đoạn phát triển tuyến sinh dục của cá thường dựa vào các tiêu chuẩn hình thái ngoài, màu sắc, khối lượng, kích thước, mức độ phát triển của tế bào trứng hay tinh bào về mặt tổ chức học. Tuy vậy, cách phân chia cụ thể thì ở mỗi nước áp dụng các phương pháp khác nhau, các tác giả ở Ấn Độ, Mỹ, Nhật Bản thường sử dụng phương pháp phân chia làm 5 giai đoạn. Một số nước lại phân chia thành 7 giai đoạn. Ở nước ta hiện nay chủ yếu sử dụng cách phân chia theo thang 6 bậc của Meien và sau này là Xakun và Buskaia (Lê Thành Lựu và Trần Mai Thiên, 1982).

Sự phát triển buồng trứng cá nác cái cũng tương tự như hình thái tuyến sinh dục của các loài cá nói chung mà Xakun và Buskaia (1968) đã mô tả, có thể tóm tắt như sau:

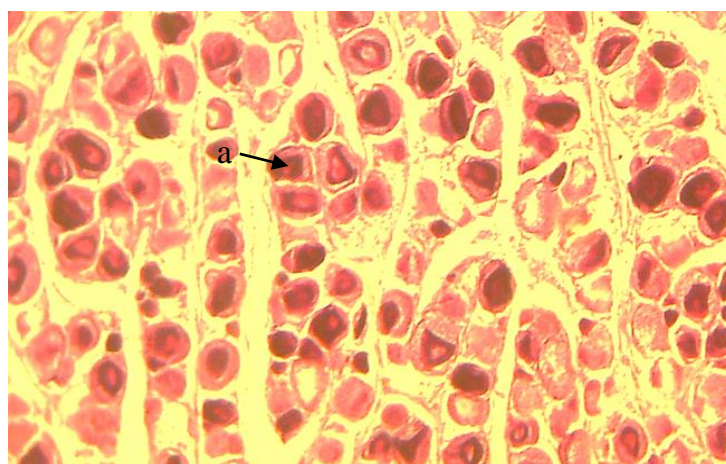
Buồng trứng có hình ống hơi dài, màu vàng nhạt. Vách trong buồng trứng có vách ngăn ngang (tấm trứng). Phía trong buồng trứng có nhiều mạch máu và dây thần kinh phân bố. Đoạn cuối của buồng trứng kết hợp với nhau để tạo thành ống dẫn trứng đổ ra ngoài qua lỗ huyết.



Hình 3.10: Hình thái ngoài buồng trứng cá nác

- Giai đoạn I:

Tồn tại ở những cá thể chưa chín muồi sinh dục - Juvenal (cá con). Giai đoạn này, tuyến sinh dục của cá còn chưa thành thực, buồng trứng chưa phát triển, nó chỉ là hai sợi mảnh trắng và trong suốt, muốn tìm được buồng trứng giai đoạn thì khi giải phẫu phải cẩn thận dò tìm từ lỗ huyết của cá dọc lên theo xoang bụng và chúng nằm sát phần cơ thịt gần xương sống, giai đoạn này không thể phân biệt được tuyến sinh dục đực, cái bằng mắt thường. Khối lượng buồng trứng nhỏ và chỉ chiếm một phần rất nhỏ trong xoang bụng.



Hình 3.11: Tổ chức học buồng trứng giai đoạn I (phóng đại 400 lần)

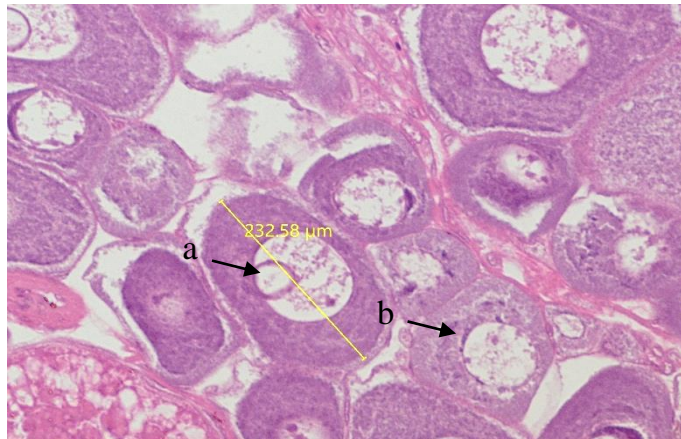
Ghi chú: a: Tế bào trứng giai đoạn I

Đặc điểm tổ chức học buồng trứng: Đặc điểm của buồng trứng ở giai đoạn này xuất hiện nhiều tế bào thuộc thời kỳ tổng hợp nhân. Tế bào trứng trong giai đoạn này gồm noãn nguyên bào và noãn bào sơ cấp (là những tế bào trứng khởi đầu) có kích thước nhỏ, có nhiều góc cạnh và xếp khít nhau, nhân tròn lớn và chiếm hầu hết thể tích của tế bào và ít ưa kiềm nên bắt màu tím xanh của hematoxylin, còn tế bào chất ưa kiềm mạnh bắt màu hồng eosin. Tỷ lệ tế bào trứng giai đoạn I khoảng 90 - 95% trên lát cắt mô học buồng trứng.

- Giai đoạn II:

Hình dạng ngoài: Tuyến sinh dục của cá ở giai đoạn này bắt đầu phát triển nhanh về kích thước, tế bào trứng bước vào thời kỳ sinh trưởng sinh chất. Hạt trứng nhỏ mắt thường không nhìn thấy được nhưng có thể phân biệt được buồng trứng và buồng tinh bằng hình thái, màu sắc của chúng. Buồng trứng giai đoạn này xuất hiện nhiều mạch máu nhỏ để nuôi tế bào trứng và buồng trứng bắt đầu có vàng nhạt, màng buồng trứng

mỏng và trong suốt. Kích thước của buồng trứng vẫn còn nhỏ chỉ chiếm phần 1/6 trong xoang cơ thể cá.



Hình 3.12: Tổ chức học buồng trứng giai đoạn II (phóng đại 400 lần)

Ghi chú: a: Nhân; b: Tiểu hạch.

Đặc điểm tổ chức học buồng trứng: Đặc điểm tế bào học của buồng trứng ở giai đoạn này là phần lớn chứa các tế bào trứng ở thời kỳ sinh trưởng sinh chất và một số tế bào ở thời kỳ sinh trưởng dinh dưỡng, nhưng trong buồng trứng vẫn còn một ít tế bào ở thời kỳ tổng hợp nhân. Giai đoạn này, tế bào tăng nhanh về kích thước và lớn hơn giai đoạn I, kích thước tế bào giai đoạn này từ 180- 232,5 μm tùy vào giai đoạn phát triển. Các tế bào sắp xếp gần nhau, có dạng tròn đều hơn thời kỳ tổng hợp nhân. Nhân tròn nằm hơi lệch về một phía do nguyên sinh chất không đều và bắt màu hồng, tế bào chất ưa kiềm nên bắt màu tím nhạt. Trên lát cắt mô học tuyến sinh dục tỷ lệ tế bào trứng giai đoạn II chiếm khoảng 60 - 70 %.

- Giai đoạn III:

Hình dạng ngoài: Buồng trứng có màu hồng nhạt, thể tích tăng nhanh, tế bào trứng có thể nhìn thấy bằng mắt thường nhưng không thể tách riêng từng trứng. Mắt thường đã phân biệt được cá đực và cá cái. Tế bào trứng đang ở giai đoạn III có kích thước lớn hơn, tỷ lệ giữa nhân và tế bào chất giảm xuống. Bắt đầu xuất hiện các hạt noãn hoàng, không bào, hạch nhân nhỏ lại.

Do sự xuất hiện của các sắc tố nên màu sắc tuyến sinh dục có sự thay đổi. Buồng trứng màu vàng nhạt, kích thước buồng trứng tăng lên và chiếm thể tích đáng kể trong xoang bụng. Có thể nhìn rõ hạt trứng qua các lớp màng trong suốt bằng mắt thường, nhưng không dễ tách rời chúng ra. Các mạch máu to, có nhiều nhánh và phân bố rõ ràng.



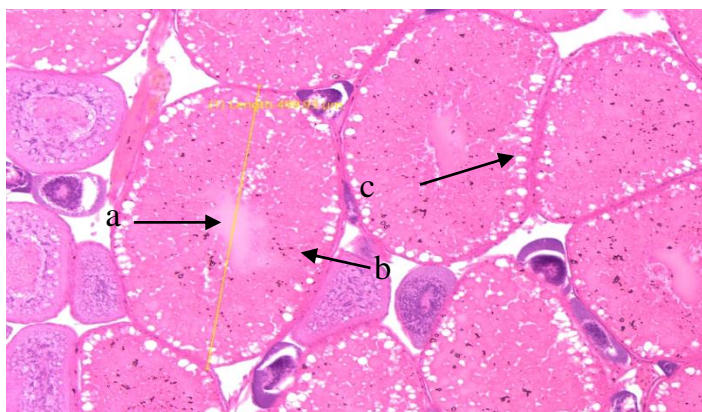
Hình 3.13: Tổ chức học buồng trứng giai đoạn III (phóng đại 400 lần)

Ghi chú: a: Nhân, b: không bào, c: Tiểu hạch

Đặc điểm tổ chức học buồng trứng: Các không bào ban đầu xuất hiện ở vùng tế bào chất ngoại vi, sát với màng tế bào. Các noãn bào và không bào có kích thước tăng tỷ lệ thuận với nhau. Những tế bào trứng ở cuối giai đoạn này có số lượng không bào nhiều lên và bắt đầu di chuyển vào phía trong tế bào chất. Tế bào trứng ở giai đoạn này lớn lên không chỉ do sự tăng về thể tích chất nguyên sinh mà còn do kết quả của việc tích lũy chất dinh dưỡng. Kích thước noãn bào (theo chiều dài) dao động 380 – 544,9 μ m. Trong thời kỳ này các chất dinh dưỡng được tích lũy dưới dạng các hạt noãn hoàng.

Giai đoạn III của cá nác có một số đặc điểm cần lưu ý, đối với cá đã qua ít nhất 1 lần đẻ trứng thì thực chất đây là giai đoạn VI - III CMSD nên trên tiêu bản, ngoài quan sát được các tế bào trứng có kích lớn, còn thấy một số tế bào trứng ở các giai đoạn khác. Giai đoạn này thường gặp ở nhóm cá tuổi 2⁺ và đã đẻ nhiều lần trong đời sống. Trên lát cắt mô học buồng trứng cá nác, tỉ lệ tế bào trứng giai đoạn II chiếm 30%, tế bào trứng giai đoạn III khoảng 50%, giai đoạn IV khoảng 20%.

- Giai đoạn IV:



Hình 3.14: Tổ chức học buồng trứng giai đoạn IV (phóng đại 400 lần)

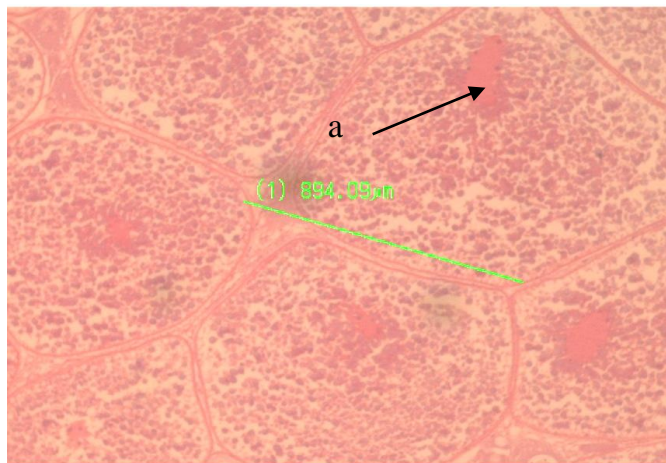
Ghi chú: a: Nhân, b: noãn hoàng, c: không bào

Hình dạng ngoài: Tuyến sinh dục chiếm phần lớn xoang bụng, nhìn rõ hạt, hạt trứng tròn và căng, màu vàng nhạt. Mô liên kết và mạch máu rất phát triển, buồng trứng chiếm 2/3 xoang bụng. Buồng trứng căng tròn, tế bào trứng dễ tách rời.

Đặc điểm tổ chức học buồng trứng: Tổ chức mô tế bào buồng trứng giai đoạn này có sự thay đổi rõ nét. Tế bào trứng chứa đầy noãn hoàng, hầu như chiếm 70% diện tích lát cắt. Kích thước trứng đạt cực đại (theo chiều dài) dao động 400 – 708 μm . Nhân của tế bào trứng chuyển dịch dần về cực động vật. Đa số hạch nhân chuyển vào giữa nhân. Buồng trứng chiếm phần lớn xoang bụng. Có thể nhìn rõ các hạt trứng tròn và màu vàng nhạt ở bên trong buồng trứng. Trên lát cắt mô học buồng trứng cá nóc, tỉ lệ tế bào trứng giai đoạn II chiếm 20%, tế bào trứng giai đoạn III khoảng 30 - 35%, giai đoạn IV khoảng 45 - 50%.

- *Giai đoạn V:*

Hình dạng ngoài: Đây là giai đoạn cá đẻ trứng, thời gian tồn tại rất ngắn, khó tìm thấy trong thực tế thu mẫu. Buồng trứng đạt kích thước lớn nhất, chứa đầy các hạt trứng, trứng rời và trong, khi dùng tay vuốt nhẹ hai bên thành bụng trứng có thể chảy ra.



Hình 3.15: Tổ chức học buồng trứng giai đoạn V (phóng đại 400 lần)

Ghi chú: a: Nhân tế bào

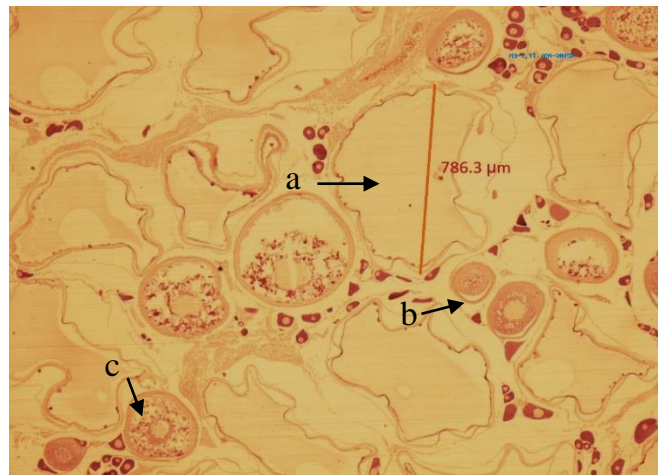
Đặc điểm tổ chức học buồng trứng: Trong buồng trứng, chủ yếu là các tế bào trứng đã kết thúc thời kỳ lớn noãn hoàng và chuẩn bị cho thời kỳ cá đẻ. Noãn hoàng tích lũy đầy trong tế bào chất, số tiểu hạch trong nhân giảm và từ từ tan biến vào dịch nhân. Các hạt trứng tròn căng, trứng đã thoát ra khỏi màng bao trứng và rụng vào xoang buồng trứng. Lúc này trứng đã tách khỏi nguồn dinh dưỡng của cơ thể mẹ. Nhân tế bào trong suốt nằm ở cực động vật, hạch nhân nằm ở giữa nhân, màng nhân tan biến. Noãn hoàng kết liên thành khối. Dùng kính hiển vi thấy rõ các hạt dầu màu vàng ánh rất rõ nét và

nằm giữa tế bào trứng hoặc hơi lệch. Kích thước tế bào trứng dao động 720,5 – 894 μm . Trên lát cắt mô học buồng trứng cá nóc, tỉ lệ tế bào trứng giai đoạn III khoảng 20 - 25%, giai đoạn IV khoảng 20 - 25%, giai đoạn V chiếm khoảng 50% trên lát cắt.

Giai đoạn này, khi tế bào biểu mô nang tiết ra chất làm tan và hấp thụ lớp biểu mô giữa nang trứng và tế bào, do đó các tế bào trứng có thể rơi tự do vào xoang chứa trứng và chảy ra ngoài qua ống dẫn trứng.

- Giai đoạn VI:

Hình dạng ngoài: Sau sinh sản, buồng trứng teo nhỏ lại và chỉ còn các hạt trứng ở các giai đoạn khác nhau. Buồng trứng mềm nhão, chuyển sang màu vàng nhạt, một số tế bào trứng còn lại bị thoái hóa, xoang cơ thể rỗng. Buồng trứng của cá nóc lúc này giống như giai III, chỉ khác là có nhiều nang trứng và kích thước nhỏ. Có nghĩa là sau khi sinh sản xong trong chu kỳ sinh dục đầu tiên, tuyến sinh dục cái không quay về phát triển từ giai đoạn I. Nhiều trường hợp quan sát không thấy cả giai đoạn II.



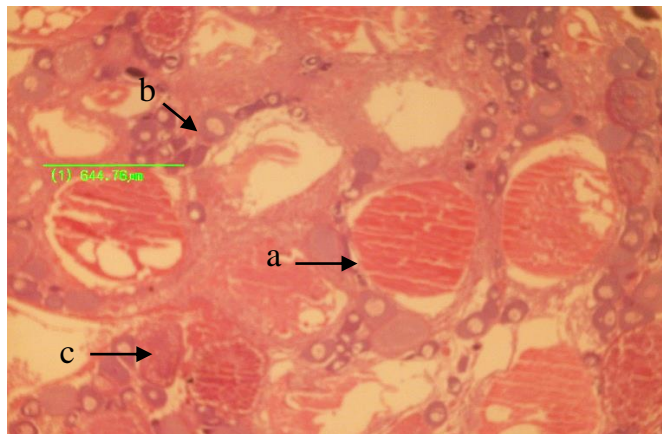
Hình 3.16: Tổ chức học buồng trứng giai đoạn VI (phóng đại 200 lần)

Ghi chú: a: Trứng đã sinh sản, b: TB trứng gian đoạn II, c: TB trứng gian đoạn III

Đặc điểm tổ chức học buồng trứng: Qua hình lát cắt mẫu mô ở giai đoạn VI, chúng tôi nhận thấy, cá nóc là đối tượng đẻ nhiều lần trong năm; ngoài những tế bào trứng đã chứa đầy noãn hoàng còn có cả những tế bào trứng chưa tích lũy noãn hoàng đầy đủ giai đoạn II, III. Buồng trứng có nhiều màng follicule rỗng và có nhiều thể vàng. Kích thước noãn bào dao động 786,3 μm , tỉ lệ tế bào trứng giai đoạn II khoảng 20 - 30%, giai đoạn III khoảng 20 - 25% lát cắt mô học buồng trứng.

Quá trình nghiên cứu về tổ chức học buồng trứng cá nóc của cho thấy quá trình phát triển của tuyến sinh dục không khác gì với quy luật chung, tức là các tế bào sinh

dục cũng trải qua tuần tự giai đoạn từ thấp đến cao, trong cùng một buồng trứng có sự khác biệt về mức độ đồng đều của các tế bào trứng.



Hình 3.17: Tổ chức học buồng ở các giai đoạn khác nhau (phóng đại 200 lần)

Ghi chú: a: Trứng đã sinh sản, b: tb trứng gian đoạn II, c tb trứng giai đoạn III

Đặc điểm này giống như ở cá đẻ nhiều lần trong năm, đây chính là một trong những đặc điểm nổi bật của cá có nguồn gốc nhiệt đới là thời gian hoàn thành một chu kỳ sinh dục ngắn, nhưng lại có sự khác biệt lớn về mức độ đồng đều của buồng trứng và có mùa đẻ kéo dài (G. v nicolski, 1963).

3.1.8.2. Đặc điểm phát triển tuyến sinh dục cá nác đực

Tuyến sinh dục đực cá nác gồm hai dải nhỏ nằm sát hai bên sống lưng màu trắng đục, bên ngoài được bao phủ bởi lớp màng mỏng. Một đầu dính vào lỗ sinh dục, một đầu tự do nằm giữa xoang nội quan.

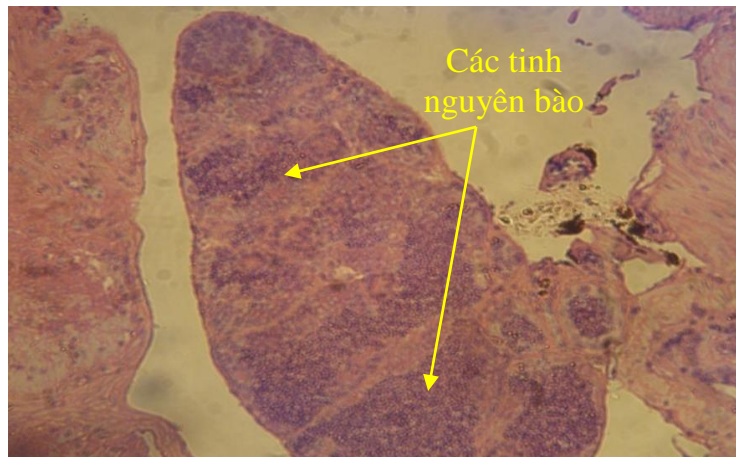


Hình 3.18: Hình thái tuyến sinh dục đực

- *Giai đoạn I:*

Hình dạng ngoài: Tế bào sinh dục chưa phát triển chỉ là hai sợi chỉ mảnh nằm sát hai bên sống lưng. Để tìm được hai sợi chỉ này cần xuất phát từ huyết cá dọc lên theo

xoang bụng, chúng nằm sát phía lưng, dưới phần ruột cá. Phải dựa vào tính bất màu để nhận biết tuyến sinh dục đực.

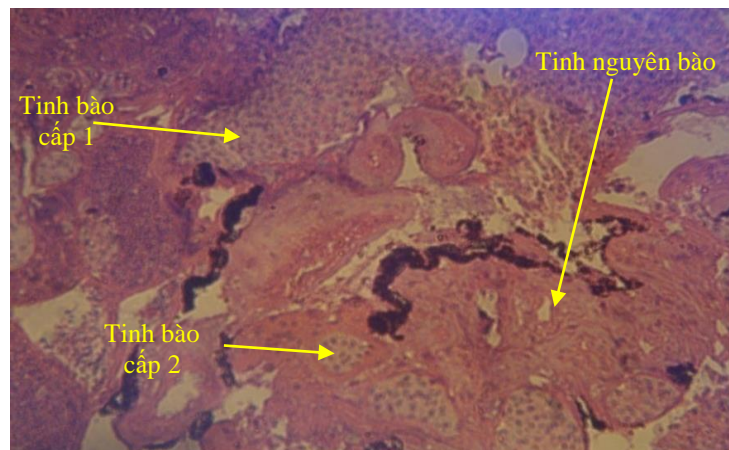


Hình 3.19: Tổ chức học tinh sào giai đoạn I (phóng đại 400 lần)

Đặc điểm tổ chức học: Quan sát trên tiêu bản tổ chức học xác định được giai đoạn này chủ yếu là các tinh nguyên bào ở thời kỳ sinh sản.

- Giai đoạn II:

Hình dạng ngoài: Tuyến sinh dục có 2 dải mỏng màu hồng nhạt. Có thể phân biệt được tinh sào qua hình thái, màu sắc và kích thước bằng mắt thường. Tuyến sinh dục có màu trắng sữa, hình sắc cạnh hoặc hình lá, khi cắt ngang qua tuyến sinh dục tiết diện nguyên vẹn. Thể tích tuyến sinh dục chỉ chiếm một phần nhỏ xoang cơ thể.

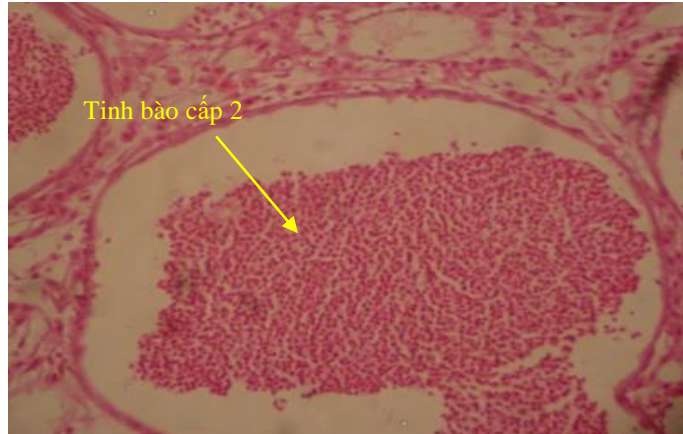


Hình 3.20: Tổ chức học tinh sào giai đoạn II (phóng đại 400 lần)

Đặc điểm tổ chức học: Thấy rõ các túi sinh tinh, các tế bào sinh dục đực là các tinh nguyên bào đang ở thời kỳ sinh trưởng và sinh sản. Ở giai đoạn này có sự xuất hiện của các tinh bào 1. Các tinh bào 1 xuất hiện vào thời điểm mà các tinh nguyên bào kết thúc quá trình tăng trưởng, lớn lên và trở thành tinh bào 1. Sau một loạt các diễn biến xảy ra trong nhân, một tinh bào 1 sẽ phân chia thành hai tế bào nhỏ hơn gọi là tinh bào 2. Tuyến sinh dục giai đoạn này tìm thấy chủ yếu ở những cá đực có tuổi 1⁺.

- Giai đoạn III:

Hình dạng ngoài: Tinh sào có màu trắng phớt hồng, cuối giai đoạn này có màu trắng ngà. Trong các ống dẫn tinh chứa đầy các bào nang với các tế bào sinh dục ở cùng một giai đoạn phát triển. Khoảng cách giữa các ống dẫn tinh rất hẹp.

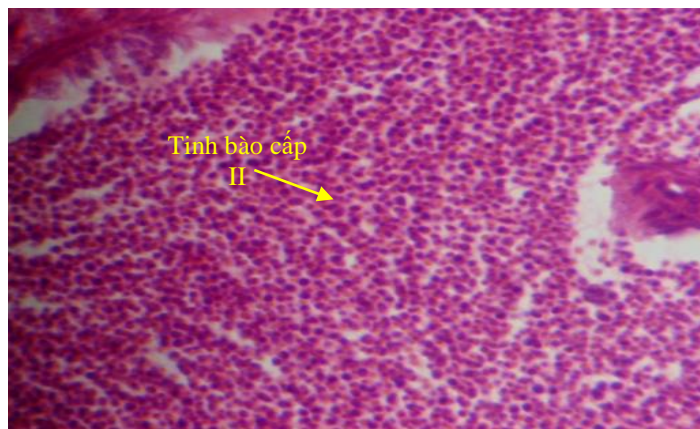


Hình 3.21: Tổ chức học tinh sào giai đoạn III (phóng đại 400 lần)

Đặc điểm tổ chức học: Giai đoạn này đặc trưng bởi sự chuyển biến mạnh mẽ tất cả các giai đoạn của quá trình từ tạo tinh trùng, lớn lên và chín. Về mặt tổ chức mô học, trong các ống dẫn tinh có nhiều túi nhỏ. Trong các tinh sào có tinh nguyên bào, tinh bào cấp I, tinh bào cấp II, tinh tử và tinh trùng.

- Giai đoạn IV:

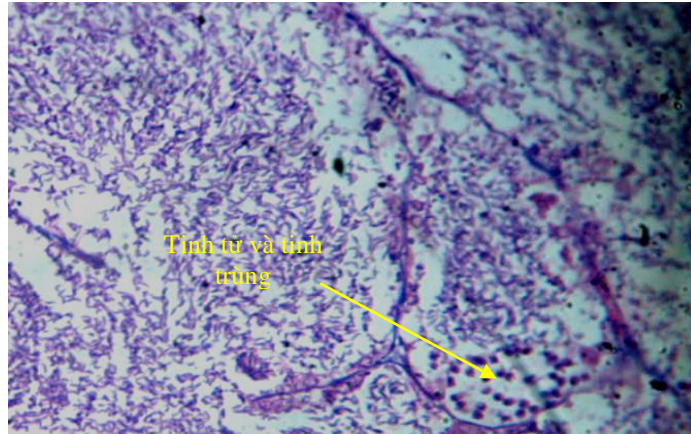
Hình dạng ngoài: Tinh sào đạt kích thước lớn nhất, dạng dây phân thùy rõ ràng có màu trắng sữa. Tuyến sinh dục chứa đầy sẹ rất dễ chảy ra khi ta ấn tay vào bụng cá. Nếu cắt ngang tinh sào các mép của nó tròn lại ngay, chỗ cắt có dịch nhờn chảy ra. Giai đoạn này tồn tại không lâu và nhanh chóng chuyển sang giai đoạn V.



Hình 3.22: Tổ chức học tinh sào giai đoạn IV (phóng đại 400 lần)

Đặc điểm tổ chức học: Tinh trùng có nhiều trong các nang tinh, các tinh tử và tinh bào 2 ít hơn nhiều so với giai đoạn III.

- Giai đoạn V:



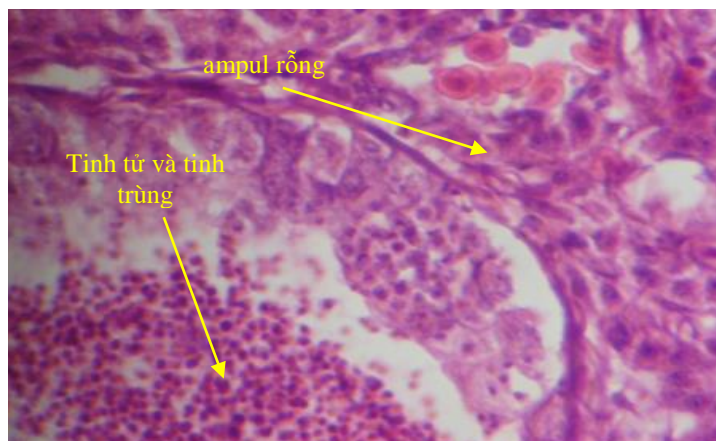
Hình 3.23: Tổ chức học tinh sào giai đoạn V (phóng đại 400 lần)

Hình dạng ngoài: Tinh sào đang ở trạng thái sinh sản. Tinh sào lúc này có kích thước lớn tối đa, màu trắng đục. Ở giai đoạn này, khi ta ấn nhẹ tay vào bụng cá sẽ chảy ra tự do từ huyết sinh dục.

Đặc điểm tổ chức học: Tinh trùng chứa đầy trong ống dẫn tinh, sẵn sàng phóng tinh khi có hoạt động sinh sản. Tinh trùng phát triển đầy đủ các phần như đầu, cổ và đuôi.

- Giai đoạn VI:

Hình dạng ngoài: Sau khi cá sinh sản, tinh sào bị xẹp xuống rất nhiều, khối lượng và kích thước tinh sào giảm đáng kể, trông bề mặt ngoài tinh sào có màu trắng đục, trên bề mặt tinh sào có màu hồng nhạt, tinh sào mềm nhão.



Hình 3.24: Tổ chức học tinh sào giai đoạn VI (phóng đại 400 lần)

Đặc điểm tổ chức học tinh sào: Tinh sào của cá nác trở về giai đoạn chuẩn bị cho một chu kỳ sinh sản mới, nhưng không phải là giai đoạn I mà là giai đoạn III CMSD. Trên tiêu bản lát cắt ngang của tinh sào giai đoạn này có thể thấy các đám tinh nguyên

bào, tiền tinh trùng bậc I và tiền tinh trùng bậc II.

Nghiên cứu quá trình phát triển tuyến sinh dục của cá nác trải qua 6 giai đoạn. Dựa vào những đặc điểm nhận dạng bên ngoài của tuyến sinh dục cá có thể biết được cá sắp, đang hay đã đẻ để có kế hoạch chuẩn bị cho quá trình sản xuất giống nhân tạo.

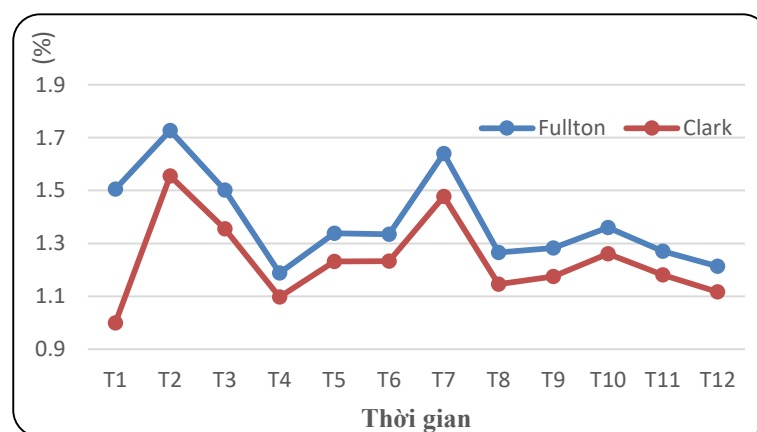
Trên tiêu bản tổ chức học của cá nác có thể xác định rõ và chính xác hơn các giai đoạn phát triển của tuyến sinh dục cá. Qua đó cho thấy, cá nác là loài đẻ nhiều lần trong đời sống. Các cá thể còn non tuyến sinh dục phát triển lần lượt từ giai đoạn I đến giai đoạn VI. Sau khi đẻ trứng, buồng trứng còn sót lại một số trứng nhỏ. Những trứng đó bị thoái hóa đi. Sau một thời gian ngắn buồng trứng phát triển trở lại và tuyến sinh dục chuyển sang giai đoạn III chủ yếu thuộc nhóm cá tuổi 2+. Lần sinh sản tiếp theo trong đời sống, tuyến sinh dục cá nác cái bắt đầu phát triển từ giai đoạn III. Điều này phù hợp với quy luật chung của nhiều loài cá nhiệt đới.

Ở cá đực, tuyến sinh dục cũng phát triển tương tự như cá cái. Sau khi tham gia sinh sản, tinh sào mềm lại, tế bào sinh dục đực gồm các thể hệ khác nhau từ tinh nguyên bào đến tiền tinh trùng bậc II. Chu kỳ mới phát triển tuyến sinh dục cũng bắt đầu từ giai đoạn III. Số lượng tinh trùng của cá nác được tạo thành rất lớn. Đây là một đặc điểm thích nghi cho quá trình thụ tinh ngoài ở cá.

3.1.9. Độ béo cá nác

3.1.9.1. Độ béo cá nác cái

Các tháng khác nhau, độ béo của cá nác cũng thay đổi. Đối với cá nác cái bắt đầu tăng từ tháng 1 hàng năm. Độ béo đạt 2 lần cực trị vào tháng 2 và tháng 7, sau đó giảm dần xuống tháng 12. (Hình 3.25).

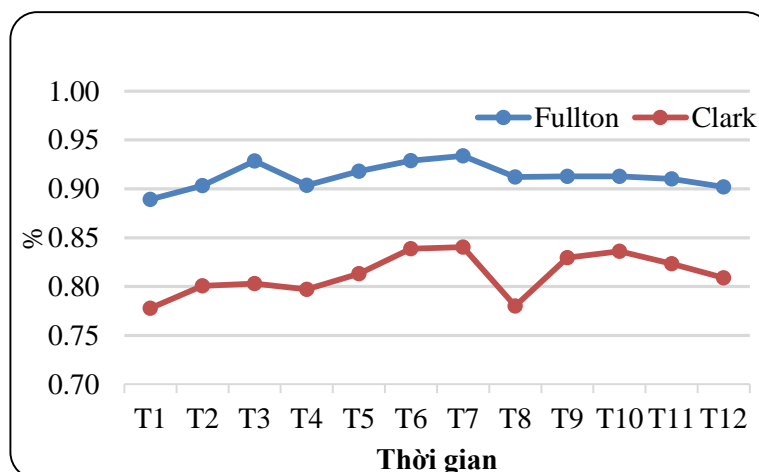


Hình 3.25: Sự biến đổi độ béo cá nác cái trong năm

Biên độ dao động giá trị độ béo Fullton thay đổi từ 1,19% - 1,73% và độ béo Clark 1,10% - 1,56% trong các tháng quan sát. Sự thay đổi độ béo cá nác cái qua các tháng có dao động nhưng không khác biệt nhiều. Cá bắt đầu chuyển sang giai đoạn thành thực sinh dục, tích lũy chất dinh dưỡng sẽ được chuyển sang cho tuyến sinh dục nên độ béo của cá bắt đầu giảm. Quan sát trực tiếp, trong thời gian này cá luôn có dấu hiệu CMSD và trứng cá có tỷ lệ giai đoạn IV, V cao hơn hẳn so với các tháng khác trong năm, tỷ lệ trung bình độ béo Fullton và Clark là 1,38% và 1,26% trong các tháng sinh sản.

3.1.9.2. Độ béo cá nác đực

Đối với cá đực, độ béo cao nhất vào tháng 1 và tháng 7, sau đó giảm dần xuống tháng 12. Biên độ dao động giá trị độ béo Fullton thay đổi từ 0,89% - 0,94% và Clark thay đổi từ 0,78% - 0,84% trong các tháng quan sát (Hình 3.26).



Hình 3.26: Sự biến đổi độ béo cá đực cái trong năm

Qua Hình 3.25 và Hình 3.26 cho thấy hệ số độ béo cá nác ở tháng 4 đến tháng 7 tuyến sinh dục phát triển tương đối lớn nên độ béo giảm là hoàn toàn phù hợp với điều kiện tự nhiên bởi số lượng mẫu thu trong tháng này sản phẩm sinh dục đã thành thực. Khi đối chiếu với sự thành thực của cá cho thấy những cá này có tuyến sinh dục phát triển ở giai đoạn III; IV, đây là thời kỳ mà cá cần huy động chất dinh dưỡng đã tích lũy trong cơ thể để tạo sản phẩm sinh dục.

3.1.10. Biến động hệ số thành thực của cá nác.

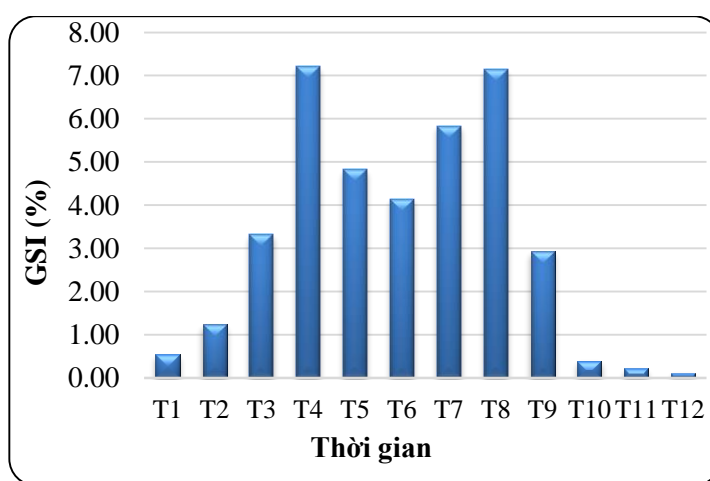
3.1.10.1. Hệ số thành thực

Khối lượng tuyến sinh dục là một trong những thông số cho biết mức độ chín muồi của sản phẩm sinh dục. Vì vậy, khi nói đến quá trình phát triển của tuyến sinh dục

cá, không thể không đề cập hệ số thành thực (GSI). Thông qua GSI, có thể dự báo và theo dõi quá trình phát triển và chín muồi của các tế bào sinh dục. GSI không thực sự là chỉ số duy nhất phản ánh trạng thái của sản phẩm sinh dục nhưng là một trong những giá trị đánh giá sự chín muồi sinh dục ở cá, là một trong các chỉ số để xác định mùa vụ sinh sản.

a. Hệ số thành thực cá nác cái

Từ tháng 4 đến tháng 8, cá nác cái có hệ số thành thực trung bình 5,83%, trong đó cao nhất vào tháng 4 và thấp nhất vào tháng 6, tương ứng: 7,21% và 4,15%, cá thể có tỷ lệ thành thực cao nhất đạt 12,97% vào tháng 4 và cá thể có hệ số thành thực thấp nhất đạt 1,49% vào tháng 6.



Hình 3.27: Hệ số thành thực cá nác cái

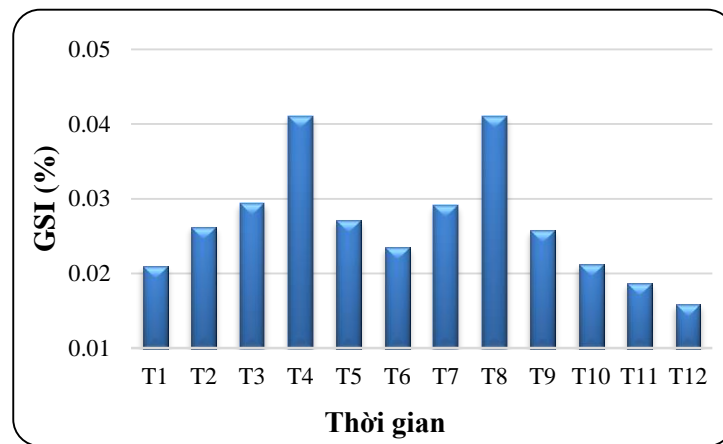
Qua hình 3.27, có thể nhận định rằng mùa vụ sinh sản chính của cá từ tháng 4 đến tháng 9 hàng năm và hai tháng cá sinh sản tập trung trong năm là vào tháng 4 và tháng 8, tương ứng với hệ số thành thực: 7,21% và 7,15%. Từ tháng 10 đến tháng 2 năm sau, hệ số thành thực của cá nác thấp, trung bình 0,10%.

Từ tháng 10 đến tháng 2 năm sau, một tỷ lệ khoảng 74,72% quần thể cá nác có tuyến sinh dục đang phát triển từ giai đoạn I đến giai đoạn III. Đây là giai đoạn các tế bào trứng chuyển từ thời kỳ sinh trưởng sinh chất sang thời kỳ sinh trưởng dinh dưỡng, không có tế bào trứng ở thời kỳ chín. Do vậy tháng 9 cũng là thời điểm kết thúc mùa đẻ trứng của cá nác theo chu kỳ sinh sản trong năm.

b. Hệ số thành thực cá nác đực

Từ tháng 4 đến tháng 8, cá nác đực có hệ số thành thực từ 0,04% đến 0,041%, trong đó cao nhất vào tháng 4 và tháng 8 tương ứng: 0,040% và 0,041% thấp nhất từ

tháng 10 đến tháng 2 năm sau, tương ứng từ: 0,020% đến 0,026%, cá thể có tỷ lệ thành thực cao nhất đạt 0,051% vào tháng 4 và cá thể có hệ số thành thực thấp nhất đạt 0.013% vào tháng 1.



Hình 3.28: Hệ số thành thực cá nác đực

Điều này cho thấy giữa cá nác đực và cái có hệ số thành thực tương đối đồng pha với nhau. Nếu so với cá cái thì hệ số thành thực của cá nác đực rất nhỏ do đặc thù của tuyến sinh dục của cá nác đực chỉ từ 0,1 – 0,54g.

Khi so sánh với mùa vụ sinh sản của cá nác tương đồng với đối tượng cá bống bớp (*Bostrichthys sinensis*) ở ven biển miền Bắc. Theo Trần Văn Đan, (2002) mùa vụ sinh sản của cá bống bớp thường từ tháng 3 đến tháng 7 hàng năm.

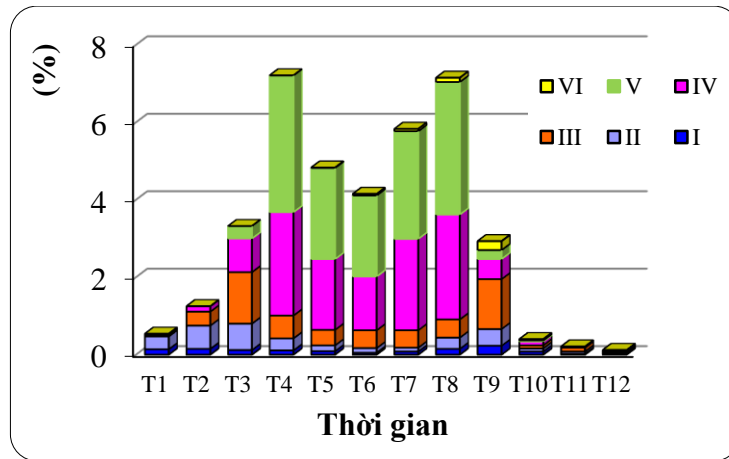
3.1.10.2. Biến động các giai đoạn thành thực của cá nác theo thời gian.

a. Biến động các giai đoạn thành thực của cá nác cái

Theo hình 3.29, tháng 2, buồng trứng cá nác đã chuyển dần sang giai đoạn III, đồng thời cũng xuất hiện giai đoạn IV, tuy nhiên trứng tập chủ yếu ở giai đoạn II, trung bình 48,19%, 28,80%, 11,20% tương ứng với các giai đoạn II, III, IV.

Từ tháng 4 tới tháng 8, khối lượng buồng trứng tăng nhanh, độ béo giảm mạnh. Trong buồng trứng chủ yếu là trứng ở giai đoạn IV, V, trung bình 86,19%. Trong đó, tỷ lệ trứng giai đoạn V cao nhất vào tháng 6: 50,41% và thấp nhất vào tháng 5: 47,85%.

Trong quá trình thu mẫu từ tháng 4 đến tháng 8, mẫu cá nác thu được vào ngày có biên độ thủy triều cao, thường được ghi nhận cá nác cái có tỷ lệ trứng ở giai đoạn IV, V cao hơn so với các mẫu thu vào những ngày có biên độ thủy triều thấp, đồng thời trong buồng trứng của các cá thể này không thấy xuất hiện buồng trứng ở giai đoạn VI.

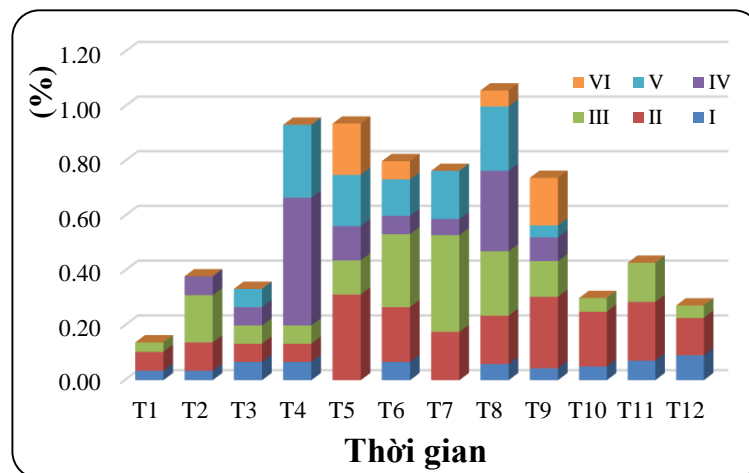


Hình 3.29: Biến động các giai đoạn thành thực của cá nác cái

Trong mùa sinh sản, cá ở độ tuổi 1⁺ có dấu hiệu thoái hoá buồng trứng ngay từ tháng 5, tỷ lệ trung bình 0,21%. Cá ở giai đoạn 2⁺ và 3⁺ chỉ thấy xuất hiện sự thoái hoá từ tháng 6 và tỷ lệ thoái hoá cao nhất (giai đoạn VI) vào tháng 9, tương ứng: 7,85%. Sau mùa sinh sản, buồng trứng cá nác nhanh chóng bị thoái hoá, từ tháng 9 đến tháng 2 buồng trứng chủ yếu là trứng thuộc giai đoạn I, II, III, tỷ lệ trung bình: 74,72%.

b. Biến động các giai đoạn thành thực của cá nác đực

Theo hình 3.30, tháng 2, noãn sào cá nác đã chuyển dần sang giai đoạn III, đồng thời cũng xuất hiện giai đoạn IV, tuy nhiên tập chủ yếu ở giai đoạn II và III trung bình 48,19%, 28,80%, 11,20% tương ứng với các giai đoạn II, III, IV.



Hình 3.30: Biến động các giai đoạn thành thực của cá nác đực

Kết quả cho thấy, từ tháng 4 đến tháng 8 là mùa vụ sinh sản của cá trong tự nhiên và cũng là thời điểm thích hợp để lựa chọn các cá thể cho sinh sản nhân tạo, tuy nhiên nên chọn các cá thể có dấu hiệu CMSD và chọn cá khi có thủy triều cao. Kết quả nghiên cứu cho thấy mùa vụ sinh sản cá nác tại khu vực miền Bắc sớm hơn. Theo Chung và cs

(1991), ở Hàn Quốc, mùa vụ sinh sản cá nác từ tháng 6 đến tháng 8 và thời gian cá ngủ đông từ tháng 11 đến đầu tháng 4 năm sau. Như vậy, trong cùng một loài, mỗi vùng biển khác nhau, mùa sinh sản là khác nhau, phụ thuộc vào điều kiện môi trường. Do vậy, mỗi vùng sinh thái khác nhau đều cần có những nghiên cứu tìm hiểu để nắm vững được mùa vụ sinh sản làm căn cứ chính xác cho việc lập kế hoạch sản xuất giống nhân tạo cá nác trong năm.

3.1.11. Sức sinh sản

3.1.11.1. Sức sinh sản ở các nhóm tuổi

Theo Pravdin (1973) thì sức sinh sản của cá phụ thuộc vào tập tính sinh sản của từng loài cá và số lượng trứng phụ thuộc lớn vào kích thước cơ thể, tuổi cá và điều kiện sinh thái môi trường.

Qua khảo sát 45 mẫu cá nác thu mẫu ngoài tự nhiên (khối lượng cá cái từ 11,32 -14,95g) cho thấy cá nác có sức sinh sản tuyệt đối trung bình 4.542 ± 316 trứng/cá (dao động từ 2.843 - 6.463 trứng/cá) và sức sinh sản tương đối trung bình: 342 ± 23 trứng/g cá cái (dao động từ 201.387 – 567.012 trứng/g). Mặc dù mẫu được thu tại các vùng có địa lý khác nhau, tuy nhiên sức sinh sản của cá nác ở các vùng không có sự khác biệt do các mẫu thu chủ yếu bằng khai thác tự nhiên trong vùng có cùng chế độ nhật triều vịnh Bắc Bộ.

Bảng 3.5: Sức sinh sản của cá nác

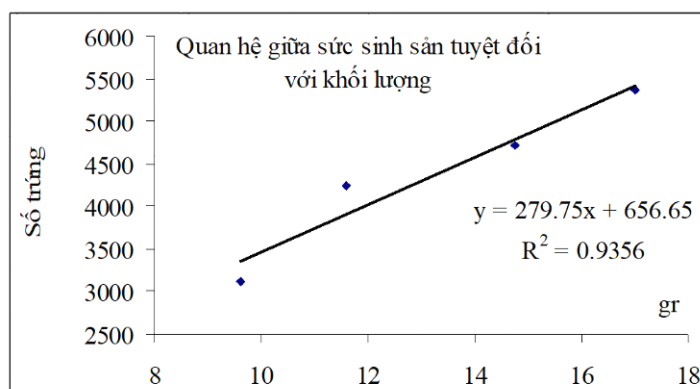
Nhóm tuổi	Số mẫu kiểm tra	Khối lượng cá trung bình (g)	SSS tương đối (trứng/g)	SSS tuyệt đối (trứng/cá thể)
1 ⁺	12	11,32 ± 0,96	296 ± 29	3.316 ± 227
2 ⁺	18	13,56 ± 1,16	327 ± 21	4.365 ± 172
3 ⁺	15	14,95 ± 1,32	397 ± 54	5.736 ± 319
Trung bình	n = 45	13,42 ± 0,7	342 ± 23	4.542 ± 316

Khi so sánh sức sinh sản của cá nác với các loài cá trong họ cá bống cho thấy cá nác có sức sinh sản thấp, cá bống tro (*Bathygobius fuscus*) có sức sinh sản tuyệt đối cao, trung bình 8.306 ± 116 trứng/cá, sức sinh sản tương đối trung bình: 402 ± 23 trứng/g cá cái (Đỗ Mạnh Dũng và Phạm Thành Công, 2015). Sức sinh sản tuyệt đối của cá thòi lòi (*Periophthalmodon schlosseri*) ở Bạc Liêu (53.402 ± 2.992 trứng/cá cái) cao hơn so với

cá ở Sóc Trăng (41.822 ± 2700 trứng/cá cái) nhưng đường kính trứng tương đương nhau. (Trần Thanh Lâm và cs, 2019).

3.1.11.2. *Mối tương quan giữa khối lượng và sức sinh sản tuyệt đối*

Với mục tiêu nghiên cứu sinh sản nhân tạo cá nác thì tìm hiểu mối tương quan giữa khối lượng và sức sinh sản đóng vai trò quan trọng, có ý nghĩa thực tiễn trong sản xuất giống. Biết được khối lượng cá tham gia sinh sản sẽ có kế hoạch sản xuất giống phù hợp, nâng cao hiệu quả sản xuất giống.



Hình 3.31: Mối tương quan giữa khối lượng và sức sinh sản tuyệt đối của cá nác.

(Ghi chú: *Khối lượng được tính theo các nhóm khối lượng: $W_{ct} < 10g$, $10g \leq W_{ct} < 13g$; $13g \leq W_{ct} < 16g$, $W_{ct} \geq 16g$)*

Theo đồ thị Hình 3.31, khối lượng cá có mối tương quan mật thiết với sức sinh sản ($R^2=0,9356$). Số lượng trứng phụ thuộc và kích cỡ cá ở độ tuổi tham gia sinh sản. Khối lượng cá 9,41g đến 19,21g thì số lượng trứng cũng tăng từ 2.843 - 6.463 trứng/cá. Kết quả tương quan hồi quy trên cho thấy giữa sức sinh sản tuyệt đối và khối lượng tương quan chặt chẽ.

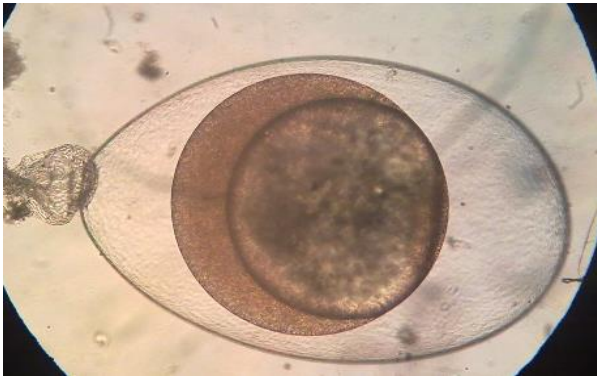
3.1.12. *Quá trình phát triển phôi và biến thái của ấu trùng cá nác*

3.1.12.1. *Quá trình phát triển phôi cá nác*

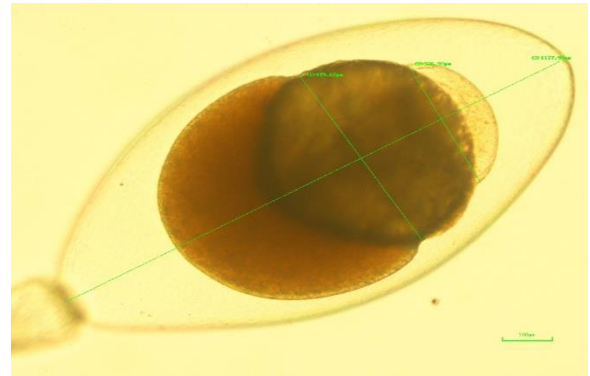
Sau khi tinh trùng xâm nhập vào trứng, màng thụ tinh và xoang thụ tinh hình thành, sau khoảng 45 phút. Tế bào chất chuyển dần về cực động vật, quá trình phân cắt của trứng thụ tinh bắt đầu.

- Giai đoạn 4 tế bào sau: 1 h 10'
- Giai đoạn 8 tế bào sau: 1 h 25'
- Giai đoạn 16 tế bào sau: 2 h

- Giai đoạn 128 tế bào sau 2 h 45': Tốc độ phân cắt của phôi bắt đầu chậm lại, các tế bào có xu hướng nhỏ dần.
- Giai đoạn phôi nang cao: Đĩa phôi nhô cao trên túi noãn hoàng, eo thắt giữa phôi và khối noãn hoàng rõ rệt.
- Giai đoạn phôi nang thấp: Đĩa phôi có xu hướng phủ xuống khối noãn hoàng, do vậy eo phân cắt giữa chúng ít rõ rệt.



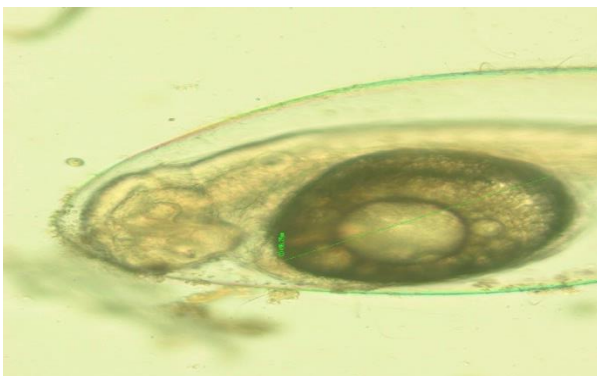
a. Phôi nang cao (3h40')



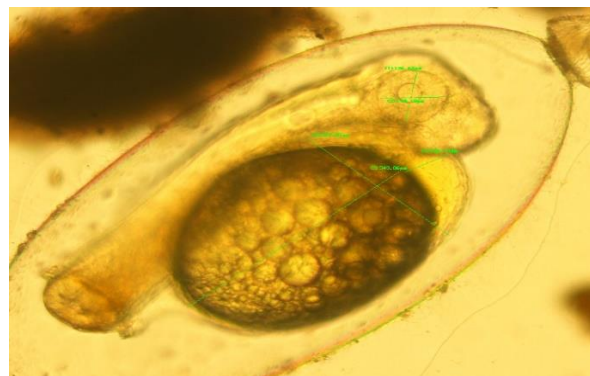
b. Phôi nang muộn (4h20')

Hình 3.32: Quá trình phát triển của phôi cá nóc

- Giai đoạn phôi nang muộn: Đĩa phôi phủ xuống khối noãn hoàng, giữa chúng tạo thành một khối hình cầu, eo thắt giữa đĩa phôi và noãn hoàng hoàn toàn biến mất.
- Giai đoạn phôi vị: sau 5 h: mép của đĩa phôi cuộn vào bên trong tạo thành một đai quanh noãn hoàng. Trứng có kích cỡ 735,34 μm chiều rộng và 1.177 μm chiều dài.
- Hình thành thân phôi: 15h20' xuất hiện ổ mắt, kích cỡ 148,23 μm . Khối noãn hoàng có chiều dài 549,06 μm , chiều rộng 377,62 μm . Trên thân cá có 10 - 14 đốt sống.



a. Hình thành thân phôi (15h30')



b. Xuất hiện ổ mắt (15h20')

Hình 3.33: Quá trình phát triển phôi cá nóc

- Hình thành hệ tuần hoàn và hệ tiêu hoá sau: 37 h10'. Trong túi trứng cá dài 1,700 μm , đá tai xuất hiện, có kích cỡ 67,27 μm . Tim phôi dài 135,84 μm , máu chưa có hồng cầu.

Đuôi tách ra khỏi khối noãn hoàng, số lượng đốt sống thân tăng lên 20 đốt, cá bắt đầu chuyển động cơ thể trong trứng. Trên thân hình thành các màng vây, kéo dài tới hậu môn, xuất hiện các điểm xám đen dưới bụng chạy dọc thân. Dạ dày cá xuất hiện.

- Sau 76h, trong túi trứng cá dài 2.555,26 μm . Đầu hình thành rõ, chiều rộng 432,34 μm , Mắt chuyển sang màu đen đậm, đường kính mắt 201,56 μm . Khối noãn hoàng chiếm 1/8 túi trứng, kích cỡ 377,71 μm . Các điểm xám trên thân đậm dần. Máu xuất hiện hồng cầu.



a. Cá trong túi trứng



b. Mắt cá chuyển màu đen (76h)

Hình 3.34: Quá trình phát triển phôi cá nóc

- Sau 87 h, cá chuẩn bị nở: tim đập nhanh, đuôi dài và các đốt cơ và sống đuôi. Tần suất chuyển động cơ thể tăng lên. Các tia vây ngực, vây bụng cũng đã xuất hiện.

- Sau 92 h, cá bắt đầu nở, chiều dài ấu trùng 2,68 mm.

3.1.12.2. Quá trình biến thái và phát triển của ấu trùng cá nóc

Ngày đầu tiên khi ấu trùng nở cá có chiều dài 2,68 mm. Mắt chuyển màu đen hoàn toàn, khối noãn hoàng kích cỡ còn 0,329 μm , đường kính giọt dầu 0,14 mm. Độ mở miệng 74,85 μm .



a. Cá mở miệng



b. Cá bột 2 ngày tuổi

Hình 3.35: Quá trình phát triển phôi cá nóc

Ngày thứ 2, ấu trùng dài trung bình: 2,86 mm, khối noãn hoàng 0,29 mm, đường kính giọt dầu 0,1 mm, màng vây đuôi, vây ngực và vây bụng mở.

Ngày thứ 3, ấu trùng cá dài 2,92 mm, đường kính túi noãn hoàng 0,17 mm, đường kính giọt dầu 0,143 mm. Xuất hiện 12-17 các điểm sắc tố đen chạy dọc từ vây đuôi đến gần sát hậu môn. Nắp mang và xương cung mang xuất hiện.

Ngày thứ 4, của ấu trùng cá dài 3,24 mm. Noãn hoàng còn lại rất ít, đường kính 0,12 mm, đường kính giọt dầu 0,115 mm, đuôi xuất hiện các điểm sắc tố melanin, hệ tiêu hoá hình thành hoàn thiện, các tia vây ngực to và cứng hơn. Cá bắt đầu mở miệng.

Ngày thứ 5 ấu trùng dài 3,57 mm, noãn hoàng đã được hấp thụ hoàn toàn, giọt dầu còn lại một quả bóng nhỏ, cá bắt đầu sử dụng thức ăn ngoài.

Ngày thứ 7, ấu trùng dài 4,41 mm, vây ngực phát triển.

Ngày thứ 8, lược mang xuất hiện, vây ngực có một nhóm sắc tố đỏ.

Ngày thứ 15, ấu trùng dài 5,4 mm.

Trong giai đoạn này, ấu trùng có màu trắng nhạt kéo dài đến khoảng 18 ngày sau khi nở. Sau 18 đến 20 ngày tuổi là thời gian biến thái của ấu trùng, trên thân cá xuất hiện các vạch tối, chạy ngang cơ thể, chiều dài cá: 9,3 mm.

Sau 20 ngày tuổi, ấu trùng có chiều dài 11,2 mm, màu sắc của cá chuyển màu nâu nhạt, cá có hình dạng giống cá tiên trưởng thành. Thời gian này, các đường sọc dọc có thể được phân biệt rõ ràng hơn.

Sau 30 ngày tuổi, hình dạng ấu trùng đã có nhiều biến đổi, giai đoạn này cá có hình dạng giống cá trưởng thành. Cá con có kích thước 1,5 - 2,0 cm, trung bình: 1,66 cm. Giai đoạn này cá có xu hướng bám vào thành bể ương.

3.2. Kết quả nghiên cứu sinh sản cá nác trong điều kiện nhân tạo

3.2.1. Kết quả nghiên cứu nuôi vỗ thành thực cá bố mẹ

3.2.1.1. Một số yếu tố môi trường trong bể nuôi vỗ thành thực

Trong nuôi vỗ cá bố mẹ có rất nhiều yếu tố môi trường ảnh hưởng đến sự thành thực sinh dục của cá. Nhưng yếu tố môi trường chính là: nhiệt độ, độ muối, hàm lượng oxy hòa tan, pH có ảnh hưởng trực tiếp tới các động thái của bể nuôi, từ đó ảnh hưởng đến sự thành thực sinh dục và các chỉ tiêu sinh học sinh sản của cá. Sự biến động của 3

yếu tố môi trường cơ bản nhiệt độ, độ muối, pH được trình bày trong Bảng 3.6:

Bảng 3.6: Biến động môi trường trong bể nuôi vỗ và sinh sản cá nác

Bể nghiên cứu		Nhiệt độ ($^{\circ}\text{C}$)	Độ muối (‰)	pH
Bể nuôi vỗ cá bố mẹ	A1	$26,0 \pm 0,50$	$16 \pm 0,77$	$7,5 \pm 0,02$
	A2	$25,0 \pm 0,90$	$16 \pm 0,77$	$7,5 \pm 0,08$
	A3	$26,1 \pm 0,10$	$16 \pm 0,77$	$7,6 \pm 0,05$
Bể cho cá đẻ	B1	$26,4 \pm 0,76$	$17 \pm 0,36$	$7,5 \pm 0,10$
	B2	$26,0 \pm 0,11$	$17 \pm 0,58$	$7,8 \pm 0,06$
	B3	$26,8 \pm 0,40$	$17 \pm 0,77$	$7,6 \pm 0,12$

Trong suốt thời gian nuôi vỗ thì các yếu tố môi trường trên không có biến động nhiều giữa ngày và đêm, môi trường bể nuôi vỗ luôn nằm trong khoảng thích hợp cho cá nác phát triển và thành thực. Nhiệt độ trong bể nuôi vỗ và bể cho cá nác đẻ dao động từ $25,0 - 26,8^{\circ}\text{C}$ và nhiệt độ biến động trong ngày không quá 2°C , khoảng chênh lệch này hoàn toàn thích hợp cho cá phát triển và thành thực sinh dục. Theo Boyd (1990), Trương Quốc Phú và cs, (2006) thì nhiệt độ thích hợp cho đa số các loài cá nhiệt đới nằm trong khoảng $25 - 32^{\circ}\text{C}$. Điều đó cho thấy nhiệt độ nước bể trong quá trình nuôi vỗ nằm trong khoảng thích hợp cho sự phát triển và thành thực sinh dục của cá nác. Theo Shiota và cs, (2003) ở nhiệt độ 24°C buồng trứng phát triển bình thường, trong khi đó ở nhiệt độ 30°C buồng trứng có sự tương quan hồi quy với nhiệt độ, từ đó cho thấy nhiệt độ là một trong các tác nhân sinh thái có ảnh hưởng quan trọng tới sự phát dục của cá và liên quan trực tiếp tới mùa sinh sản và sự phân bố của cá nác.

pH là yếu tố chỉ thị cho môi trường nước nhiễm phèn nặng hay nhẹ, nó có ảnh hưởng trực tiếp và gián tiếp đến đời sống của thủy sinh vật như: sinh trưởng, tỷ lệ sống, sinh sản và dinh dưỡng. Trong bể nuôi vỗ và cho cá đẻ pH buổi sáng dao động từ 6,9 - 7,0 và buổi chiều dao động từ 7,3 - 7,5 và sự biến động pH trong ngày dao động không quá 0,5 đơn vị. Theo Boyd (1998) thì pH nước thích hợp cho sự phát triển của cá trong khoảng từ 6,5 - 9, pH thấp hay quá cao hoặc sự chênh lệch pH trong ngày lớn hơn 1 đơn vị thì cũng ảnh hưởng đến sinh trưởng và sinh sản của cá. Đối chiếu với nhận định trên thì pH ở bể nuôi vỗ và cho cá đẻ trong nghiên cứu này là phù hợp cho việc cá phát triển và thành thực sinh dục của cá nác.

Độ muối trong bể nuôi vồ và bể cho cá nác để dao động từ 16 - 17‰ nằm trong khoảng thích hợp cho cá nác thành thực. Theo Chen và cs (2008) và Clayton, (1993) bắt gặp rất nhiều ấu trùng và cá giống ở các vùng triều, đặc biệt những nơi có độ muối của nước biển đạt 20‰.

3.2.1.2. Kết quả nghiên cứu lựa chọn chất đáy nuôi vồ thành thực cá bố mẹ

a. Dấu hiệu để nhận biết cá thành thực

+ Cá cái: thân hình cân đối, bụng to, mềm, có thể nhìn thấy rõ buồng trứng nằm hai bên khoang bụng. Cơ quan sinh dục sưng phồng và có màu phớt hồng.

+ Cá đực: Cơ quan sinh dục hình nhọn và có màu hồng thẫm ở điểm cuối mút nhọn. Hoạt động tích cực và luôn tấn công cá khác để bảo vệ nơi cư trú.



Hình 3.36: Cá cái chín muối sinh dục

Bảng 3.7: Kết quả lựa chọn chất đáy nuôi vồ thành thực cá nác

Ngày kiểm tra	Lô thí nghiệm											
	A1				A2				A3			
	♀	TLTT (%)	♂	TLTT (%)	♀	TLTT (%)	♂	TLTT (%)	♀	TLTT (%)	♂	TLTT (%)
1/5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
15/5	0	0	2	6,67	2	6,67	3	10,00	0	0	4	13,33
1/6	1	3,33	7	23,33	14	46,67	10	33,33	3	10,00	9	30,00
15/6	12	40,00	10	33,33	19	63,33	14	46,67	8	26,67	12	40,00
1/7	16	53,33	17	56,67	22	73,33	18	60,00	4	13,33	13	43,33
15/7	22	73,33	14	46,67	24	80,00	19	63,33	3	10,00	14	46,67
30/7	14	46,67	12	40,00	18	60,00	14	46,67	3	10,00	10	33,33

Sau 15 ngày nuôi, lô A2 đã có cá cái có dấu hiệu thành thực, và tỷ lệ thành thực trong bể này luôn cao hơn các bể khác trong cùng thời gian nuôi vỗ. Chứng tỏ rằng sự thành thực của cá nác phụ thuộc chặt chẽ vào chất đáy và chế độ thủy triều. Tỷ lệ thành thực ở lô A2 đạt tới 80% trong khi đó các lô thí nghiệm A1, A3 tỷ lệ thành thực cực đại chỉ đạt 73,33% và 46,67% tương ứng. Có sự sai khác giữa các lô thí nghiệm ở mức ý nghĩa $p < 0,05$ và không có sự sai khác giữa lô A1 và A3.

Trong các bể nuôi vỗ, sau ngày 15 tháng 7, các bể nuôi vỗ đều có tỷ lệ thành thực giảm dần, trái ngược với kết quả điều tra sự phát triển tuyến sinh dục cá nác trong tự nhiên.

Từ kết quả nuôi vỗ cá nác ở trên có thể khẳng định rằng cá nác có thể thành thực sinh dục bình thường trong bể nuôi với đáy bể được lót một lớp bùn nhão, thay nước định kỳ trong bể theo lịch thủy triều thức ăn là cá tạp hoặc thức ăn công nghiệp có độ đạm là 38%.

3.2.1.3. Kết quả nghiên cứu lựa chọn chế độ dinh dưỡng nuôi vỗ cá nác bố mẹ

Sau 10 ngày nuôi, bể CT₂ đã có cá cái có dấu hiệu thành thực, và tỷ lệ thành thực trong bể này luôn cao hơn các công thức khác trong cùng thời gian nuôi vỗ, chứng tỏ rằng sự thành thực của cá nác phụ thuộc chặt chẽ vào thành phần thức ăn cho cá ăn.. Kết quả nghiên cứu chỉ ra ở Bảng 3.8.

Bảng 3.8: Kết quả lựa chọn chế độ dinh dưỡng nuôi vỗ cá nác bố mẹ

Ngày kiểm tra	Lô thí nghiệm											
	CT ₁				CT ₂				CT ₃			
	♀	%	♂	%	♀	%	♂	%	♀	%	♂	%
20/4	0	0	2	6,7±1,9	2	6,8±1,9	3	10,0±1,9	0	0	4	13,3±3,3
29/4	1	3,3±0,0	7	23,3±3,8	14	46,7±1,9	10	33,3±3,3	3	10,0±1,9	9	30,0±3,8
10/5	12	40,0±1,9	10	33,3±3,3	19	63,3±3,8	14	46,7±6,9	8	26,6±3,3	12	40,0±5,8
15/5	16	53,3±1,9	17	56,7±3,3	22	73,3±3,8	18	60,0±5,1	4	13,3±1,9	13	43,3±5,8
20/5	22	73,3±0,0	14	46,7±3,8	24	80,0±3,8	19	63,3±5,1	3	10,0±3,8	14	46,7±5,1
25/5	14	46,7±1,9	12	40,0±3,8	18	60,0±1,9	14	46,7±5,1	3	10,0±1,9	10	33,3±3,8

Tỷ lệ thành thực trong CT₂ đối với cá cái đạt tới 80,0 ± 3,84% trong khi đó các lô CT₁, CT₃ tỷ lệ thành thực cực đại chỉ đạt 73,3 ± 0,02% và 26,6 ± 3,33% tương ứng. Đối

với cá đực tỷ lệ thành thực CT₂ sau 30 ngày nuôi vỗ đạt 63,3 ± 5,1%, trong khi đó các lô CT₁, CT₃ tỷ lệ thành thực cực đại chỉ đạt 56,7 ± 3,3% và 46,7 ± 5,1%

Trong các loại thức ăn sử dụng nuôi vỗ thành thực, CT₂ có thời gian cá bố mẹ thành thực nhanh hơn các công thức thức ăn còn lại. Sau 35 ngày thí nghiệm, các bể nuôi vỗ đều có tỷ lệ thành thực giảm xuống dần. Đây là cũng là vấn đề cần nghiên cứu bổ sung một số chất dinh dưỡng như amino acid thiết yếu, acid béo thiết yếu, carotenoids, vitamin E, vitamin C và khoáng chất được xác định là có vai trò quan trọng trong dinh dưỡng cá bố mẹ, đảm bảo chất lượng trứng và ấu trùng. Không chỉ hàm lượng các chất dinh dưỡng mà tỉ lệ thành phần các dưỡng chất cũng ảnh hưởng đến quá trình thành thực và chất lượng sinh sản ở cá. Tầm quan trọng của rất nhiều dưỡng chất như vitamin A, vitamin B6, acid folic vẫn chưa được xác định và cần có các nghiên cứu tiếp theo trong tương lai nhằm hoàn thiện hơn nữa quy trình sản xuất nhân tạo giống cá nác.

3.2.1.4. Sức sinh sản cá cái trong điều kiện nuôi vỗ

Kết quả nuôi vỗ cho thấy cá nác có sức sinh sản tuyệt đối trung bình 4.561 ± 278 trứng/cá thể (dao động từ 3.431 - 6.263 trứng/cá thể) và sức sinh sản tương đối trung bình: 355 ± 14 trứng/g cá. Kết quả chỉ ra ở Bảng 3.9.

Bảng 3.9: Sức sinh sản của cá nác cái trong điều kiện nuôi vỗ

Công thức thí nghiệm	Số mẫu kiểm tra	Khối lượng cá trung bình (g)	Sức sinh sản tuyệt đối (trứng/cá thể)	Sức sinh sản tương đối (trứng/g cá thể)
CT ₁	14	19,05 ± 0,65	4.623 ± 285	357 ± 13
CT ₂	16	22,06 ± 0,55	4.630 ± 273	360 ± 15
CT ₃	13	21,7 ± 0,63	4.432 ± 276	349 ± 14
n = 43		20,93 ± 0,61	4.561 ± 278	355 ± 14

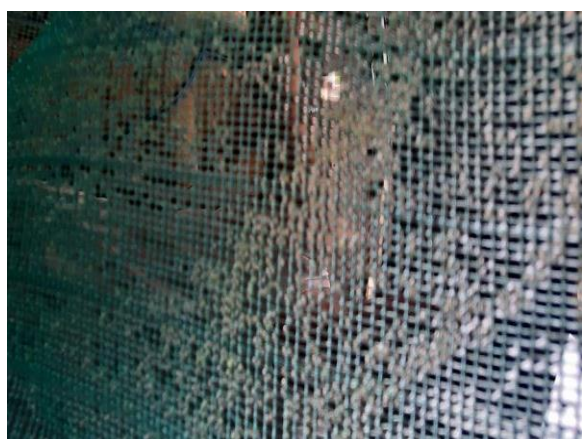
Kết quả nghiên cứu bước đầu nhận định: Sử dụng CT₂ (50% thức ăn viên có hàm lượng protein 30% và 50% chế biến) nuôi vỗ thành thực cá bố mẹ cá cái có sức sinh sản tuyệt đối đạt 4.630 ± 273 trứng/cá thể và sức sinh sản tương đối đạt 360 ± 15 trứng/g cơ thể. Từ kết quả trên có thể khẳng định được, trong điều kiện nuôi vỗ cá nác thành thực tốt. Kết quả xác định sức sinh sản tương đối và sức sinh sản tuyệt đối trong điều kiện nuôi vỗ tương đương với cá nác thành thực thu mẫu ngoài tự nhiên tại Vịnh Bắc bộ có sức sinh sản tuyệt đối 4.542 ± 316 trứng/cá thể, sức sinh sản tương đối 342 ± 23 trứng/g cá (Đặng Minh Dũng và cs. 2012).

3.2.2. Kết quả nghiên cứu kích thích sinh sản nhân tạo cá nác bằng kích dục tố

3.2.2.1. Thời gian hiệu ứng thuốc kích dục tố

Sau khi tiêm kích dục tố khoảng 48 - 56 giờ cá bắt đầu đẻ trứng. Cá nác là loài cá đẻ trứng dính, trong thời gian cá sinh sản rất nhạy cảm với âm thanh, chuyển động xung quanh bể đẻ chính vì vậy nên tính thời gian dự kiến cá đẻ để kiểm tra bể hạn chế kiểm tra liên tục và tiếng động mạnh. Cá thường đẻ từ 2 - 4h sáng và sau khi tiêm liều quyết định khoảng 48 - 56h, số lượng cá đẻ giảm dần tới 8 - 9h sáng.

Cách sử dụng kích dục tố đúng liều lượng là vô cùng quan trọng, nó không những ảnh hưởng đến hiệu quả của việc cho cá đẻ mà còn ảnh hưởng đến chất lượng trứng. Bên cạnh đó, phương pháp cho đẻ cũng là một trong những yếu tố quan trọng ảnh hưởng đến tỷ lệ đẻ, tỷ lệ thụ tinh, tỷ lệ nở và chất lượng cá bột. Trong bể đẻ, đa số cá đẻ trứng vào các vật bám và có một lượng nhỏ cá đẻ ra ngoài đáy bể.



Trứng bám ở lưới cước



Trứng bám ở ngói xi măng

Hình 3.37: Trứng cá nác bám trên giá thể

Sau khi cá đẻ từ 6 - 8 giờ bắt cá ra khỏi bể đẻ, đối với cá nác cá cái đã sinh sản bụng mềm nhão và nhỏ, đặc biệt lỗ sinh dục sưng phồng chuyển sang màu tím nhạt, những cá không đẻ trứng bụng căng phồng, lỗ sinh dục màu hồng nhạt.

Các bể đẻ được bố trí 70 cặp cá, tỷ lệ đực/cái 1:1. Nhìn chung, cá bố mẹ sau khi được tiêm kích dục tố đều có thể tham gia sinh sản, tuy nhiên tỷ lệ cá đẻ trứng phụ thuộc vào liều lượng và thành phần kdt được tiêm. Tỷ lệ cá cái đẻ sau khi tiêm dao động từ 5,78% đến 25,71% trong đó cao nhất là lô 3, với liều lượng thuốc LRHa 5 μ g + HCG 1000 UI +DOM 5mg/kg cá cái đồng thời cũng cho số trứng trên 1 cá thể cao nhất, đạt 1.552 \pm 328 trứng và thời gian hiệu ứng thuốc là 52 h. Kết quả nghiên cứu được chỉ ra ở Bảng 3.10.

Bảng 3.10: Hiệu ứng kích dục tố tới khả năng đẻ cá nác.

Lô TN	Số cá cho đẻ (cặp)	Số cá cái đẻ (con)	Thời gian cá đẻ (giờ)	Tỷ lệ đẻ %	Số trứng (quả)	
					Trung bình	Tổng
1	70	12	56h	17,14	744±190	8.928
2	70	10	55h23'	14,29	468±246	4.68
3	70	18	52h	25,71	1.552±328	27.936
4	70	17	51h10'	24,29	835±214	14.195
5	70	4	47h30'	5,71	264±182	1.056
6	70	3	48h30'	5,78	128±114	384
7	70	0	0	0	0	0

So sánh kết quả nghiên cứu liều lượng kích dục tố kích thích sinh sản cá nác với kết quả nghiên cứu liều lượng kích dục tố kích thích cá bống tro của tác giả Lại Duy Phương và cs, (2018) cho thấy tỷ lệ đẻ cá bống tro cao nhất khi sử dụng LRHa (40µg) + HCG (1.000IU) + 1 viên DOM/kg cá, đạt tỷ lệ cá đẻ trứng trung bình 60,00 ±6,67%, thời gian hiệu ứng thuốc 46 ±2,6 h.

3.2.2.2. Tỷ lệ trứng thụ tinh

Sau khi cá đã đẻ xong, chuyển trứng bám ở các vật bám sang bể ấp và kiểm tra tỷ lệ trứng thụ tinh. Việc kiểm tra nhằm ước lượng số lượng cá bột để có phương án chuẩn bị số lượng bể ương ấu trùng phù hợp. Tỷ lệ trứng thụ tinh, tỷ lệ nở được chỉ ra ở Bảng 3.11.

Bảng 3.11: Tỷ lệ thụ tinh và tỷ lệ nở trứng cá nác

Lô TN	Số trứng (Quả)	Tỷ lệ thụ tinh (%)	Tỷ lệ nở (%)	Ấu trùng thu (con)
1	8.928	37,12	42,50	1.408
2	4.680	26,05	15,61	190
3	27.936	80,80	78,92	17.814
4	14.195	74,90	64,20	6.826
5	1.056	9,82	15,20	16
6	384	8,71	4,00	0

Từ bảng 3.10 và 3.11, có thể nhận thấy: tỷ lệ cá đẻ trứng, tỷ lệ trứng thụ tinh và tỷ lệ nở của trứng phụ thuộc vào liều lượng LRHa sử dụng. Lô 3 và lô 4 cho tỷ lệ thụ

ting khác biệt so với các lô còn lại, tỷ lệ tương ứng đạt 80,8% và 74,9%. Tỷ lệ nở của trứng dao động từ 4% - 78,92% trong cùng điều kiện áp.

Từ kết quả của các nghiên cứu ở thí nghiệm kích thích cá nác sinh sản có thể rút ra nhận định rằng trong quá trình sinh sản của cá nác thì yếu tố bên ngoài có vai trò hết sức quan trọng. Theo Nguyễn Tường Anh (1999) thì yếu tố bên ngoài có thể thúc đẩy hoặc ức chế hoạt động bên trong của cá. Vì vậy, cá nuôi vỗ đã thành thực hoàn toàn, tức là yếu tố trên trong đã chuẩn bị đầy đủ, nhưng cá không sinh sản một khi các yếu tố môi trường sinh thái thích hợp cho loài chưa xuất hiện và đáp ứng một cách thỏa đáng.

Như vậy, kích dục tố ở các thí nghiệm này có tác dụng gây rụng trứng. Trong khi đó vấn đề thành thực của trứng có thể liên quan tới sự hoạt động nội tiết của cơ thể. Nguyễn Tường Anh (1999) đã cho rằng sự chín trứng và rụng trứng là 2 quá trình hoàn toàn độc lập, nhưng phải diễn ra đồng thời, nếu quá trình này diễn ra không nhịp nhàng thì có thể trứng rụng quá sớm trong khi đó noãn bào chưa sẵn sàng cho quá trình thụ tinh. Như vậy, quá trình trứng chín, rụng trứng và thụ tinh ở cá nác cũng như các loài cá khác rất có thể cần có sự hoạt động điều tiết kích thích của chính bản thân cá tác động tới tế bào trứng để duy trì hoạt động sống của tế bào.

Chất kích thích đối với cá đực: trong quá trình phát triển và chuyển hoá thành thực sinh dục ở cá đực, chất kích thích sinh sản rất cần cho thiết cho sự chuyển biến bình thường nhất là khi các tinh nguyên bào trở thành tinh bào sơ cấp (Nguyễn Tường Anh, 1999). Ở cá đực sự phát triển tinh bào nhờ hormone fsh, còn hormone icsh kích thích tế bào kẽ tiết hormone androgen. Khi tuyến sinh dục đã hoàn chỉnh thì androgen lại ức chế chức năng tuyến yên tiết ra chất kích thích sinh sản theo cơ chế ngược (feedback).

Qua nhiều nghiên cứu cho thấy ở những kích thích tố kích thích sinh sản khác nhau thì cũng cho kết quả sinh sản khác nhau và kích thích tố hiệu quả trên loài này lại không hiệu quả trên loài khác. Cho nên, đối với cá việc sinh sản phải dựa vào từng đối tượng và điều kiện cụ thể như mùa vụ, mức độ thành thực của cá bố mẹ, chất lượng nước, ... mà quyết định sử dụng loại, liều lượng cũng như phương pháp tiêm các loại kích thích sinh sản khác nhau trên cá bố mẹ thì mới mang đến hiệu quả cao trong sinh sản.

Như vậy, khi kích thích cá nác sinh sản với liều lượng thuốc LRHa₃ 5µg + HCG 1000 UI + DOM 5 mg/kg cá cái là phù hợp nhất, ngoài việc dùng kích thích tố như một một loài cá nước lợ mặn khác, thì yếu tố vật bám cho trứng là vấn đề cần quan tâm.

3.2.3. Ảnh hưởng nhiệt độ, độ muối đến tỷ lệ sống và phát triển của các giai đoạn phát triển sớm của ấu trùng cá nóc.

3.2.3.1. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến quá trình phát triển phôi cá nóc

Nhiệt độ ảnh hưởng tới sự phát triển của phôi qua việc tác động lên tốc độ trao đổi chất, hoạt động và cấu trúc của phôi (Kinne và Kinne, 1962) trong khi ảnh hưởng của độ muối liên quan đến sự điều hòa áp suất thẩm thấu bên trong trứng. Thông thường, khả năng điều hòa áp suất thẩm thấu của từng loài tốt nhất khi nhiệt độ ở gần mức tối ưu cho sự phát triển. Các nghiên cứu chỉ ra rằng, nhiệt độ và độ muối có mối liên hệ chặt chẽ đồng thời cùng tác động lên tỷ lệ nở của trứng. Nói cách khác, không có một giá trị riêng lẻ của nhiệt độ tối ưu hay độ muối thích hợp nhất khi ấp nở trứng cá biển mà hai giá trị này luôn đi cùng nhau. Kết quả chỉ ra ở Bảng 3.12.

Bảng 3.12: Thời gian phát triển phôi cá nóc ở các nhiệt độ khác nhau

Giai đoạn phát triển phôi	Thời gian phát triển phôi (giờ, phút)						
	19±0,5° C	22±0,5°C	25±0,5°C	28±0,5°C	31±0,5°C	34±0,5°C	37±0,5°C
4 tế bào	1h52'	1h40'	1h35'	1h10'	1h05'	1h02'	0h58'
8 tế bào	2h30'	2h05'	1h50'	1h25'	1h20'	1h17'	1h10'
16 tế bào	3h15'	2h55'	2h30'	2h00'	1h50'	1h45'	1h40'
Phôi dâu	5h40'	3h45'	3h10'	2h45'	2h30'	2h25'	2h05'
Phôi nang	7h30'	5h20'	4h30'	3h55'	3h25'	3h20'	3h00'
Phôi vị	Ngừng phát triển	7h,00'	6h,15'	5h,00'	4h,50'	4h,40'	4h,20'
Phôi thân kinh	-	45h30'	39h30'	37h10'	36h00'	35h00'	Ngừng phát triển
Nở	-	110h00'	98h45'	92h00'	90h10'	89h20'	-

Ghi chú: Số liệu trong bảng là khoảng thời gian được tính từ khi trứng thụ tinh cho đến khi trứng nở hết

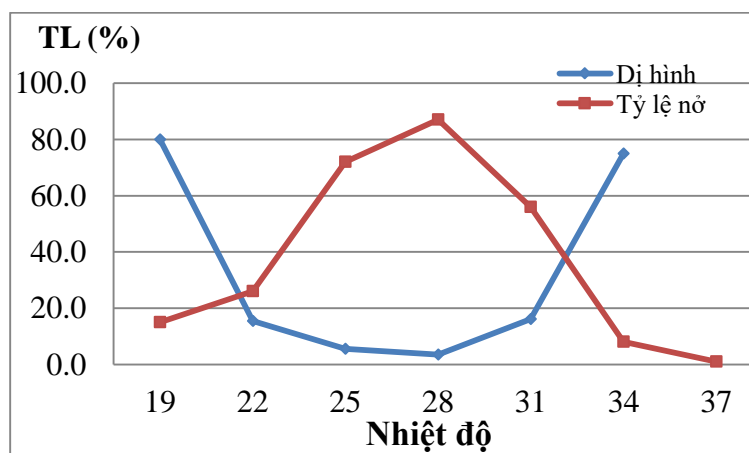
Kết quả nghiên cứu cho thấy, nhiệt độ nước có ảnh hưởng trực tiếp tới quá trình phân cắt và phát triển phôi của cá nóc. Nhiệt độ từ 22 - 34°C nằm ở trong khoảng phôi

cá nác phát triển, nhiệt độ càng cao thì tốc độ phát triển của phôi càng nhanh và ngược lại. Thời gian phát triển phôi cá nác từ khi trứng thụ tinh đến khi nở ngắn nhất ở nhiệt độ 34°C (89 giờ 20 phút) so với các nghiệm thức còn lại.

Tỷ lệ nở và tỷ lệ ấu trùng dị hình là những tiêu chí quan trọng đánh giá hiệu quả của việc ấp nở trứng cá. Kết quả thí nghiệm cho thấy, tỷ lệ nở của trứng đạt giá trị cao nhất ở nhiệt độ 28°C (87%), thấp nhất ở nhiệt độ 19°C (15%). Trong khi đó tỷ lệ ấu trùng dị hình cao nhất ở nghiệm thức 19°C và 34°C tương ứng từ 75 - 80% và thấp nhất ở nghiệm thức 28°C (3,4%). Kết quả này cho thấy, nhiệt độ thích hợp nhất đối với quá trình ấp nở trứng cá nác là 28°C. Kết quả nghiên cứu này phù hợp với kết quả nghiên cứu trước đó về ảnh hưởng của nhiệt độ đến sự phát triển phôi và giai đoạn ấu trùng cá nác của Washio và cs (1991).

3.2.3.2. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến tỷ lệ nở của trứng cá nác

Khả năng thích ứng với nhiệt độ đối với sự phát triển phôi của các loài cá khác nhau thì cũng không giống nhau. Trong điều kiện các yếu tố khác như: nước và các chất khí hòa tan trong môi trường nước, oxy hòa tan, ánh sáng... bình thường thì nhiệt độ sẽ ảnh hưởng trực tiếp đến sự phát triển của phôi. Khi nhiệt độ tăng trong khoảng giới hạn thích hợp thì tần số hô hấp cũng sẽ tăng, quá trình trao đổi chất tăng lên... làm cho cá sinh trưởng và phát triển nhanh hơn. Nhiệt độ cao thường làm giảm tỷ lệ nở và tăng tỷ lệ dị hình. Thí nghiệm nghiên cứu ảnh hưởng của nhiệt độ nước đến tỷ lệ nở và tỷ lệ dị hình ở trứng được thể hiện ở Hình 3.38.



Hình 3.38: Ảnh hưởng của nhiệt độ đến tỷ lệ nở của trứng cá nác

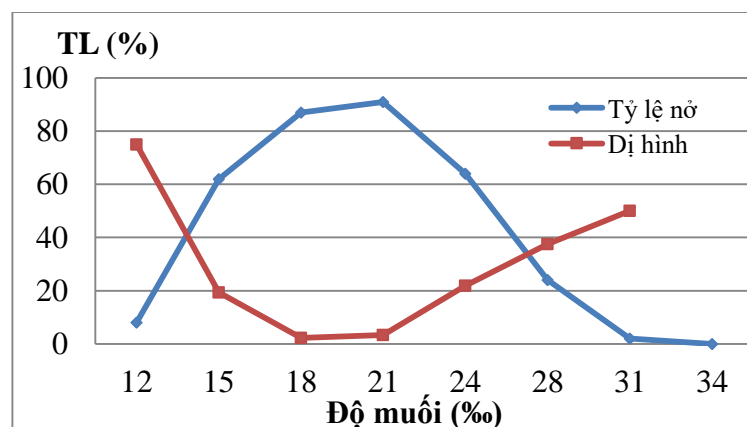
Ở khoảng nhiệt độ nước từ 25 đến 31°C, tỷ lệ nở của trứng cá nác cao nhất từ 56 - 87% và tỷ lệ dị hình thấp nhất (3,4%). Ở ngưỡng nhiệt độ nước nhỏ hơn 22°C hoặc cao hơn 34°C phôi cá nác không phát triển được.

Tỷ lệ nở và tỷ lệ ấu trùng dị hình là những tiêu chí quan trọng đánh giá hiệu quả của việc ấp nở trứng cá. Kết quả thí nghiệm cho thấy, tỷ lệ nở của trứng đạt giá trị cao nhất ở nhiệt độ 28°C (87%), thấp nhất ở nhiệt độ 19°C (15%). Trong khi đó tỷ lệ ấu trùng dị hình cao nhất ở nghiệm thức 19°C và 34°C tương ứng từ 75 - 80% và thấp nhất ở nghiệm thức 28°C (3,4%). Kết quả ảnh hưởng của nhiệt độ đến tỷ lệ nở của trứng cá nác trùng với kết quả nghiên cứu của Trần Văn Đan, (2002) khi nghiên cứu ảnh hưởng của nhiệt độ đến tỷ lệ nở của trứng cá bớp (*Bostrichthys sinensis*) cho thấy, nhiệt độ ấp trứng từ 25 - 30°C phôi phát triển bình thường, ấu trùng nở ra không xuất hiện những cá thể dị hình. Nhiệt độ nước thí nghiệm từ 31 - 37°C ấu trùng nở ra xuất hiện những cá thể dị hình và tỷ lệ dị hình dao động từ 12 - 35%. Nhiệt độ nước thí nghiệm nhỏ hơn 16°C hoặc cao hơn 38°C phôi không phát triển được. Nhiệt độ nước từ 28 - 30°C thích hợp nhất đối với sự phát triển của phôi cá bớp.

Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của nhiệt độ đến tỷ lệ nở của trứng cá nác cho thấy, nhiệt độ nước thích hợp nhất đối với quá trình ấp nở trứng cá nác là 28°C tương đồng với Washio và cs, (1991) cho rằng nhiệt độ nước thích hợp để ấp trứng và ương nuôi ấu trùng cá nác 28°C.

3.2.2.3. Ảnh hưởng của độ muối đến tỷ lệ nở của trứng cá nác

Độ muối là yếu tố quan trọng quy định giới hạn phân bố của thủy sinh vật. Các loài khác nhau thì khả năng thích ứng với ngưỡng độ muối cũng khác nhau. Đối với loài cá nác sống và sinh sản trong vùng nước lợ, chúng có khả năng thích ứng với yếu tố độ muối tốt hơn so với những loài sống trong môi trường biển hoặc nước ngọt, vì vậy chúng tôi tiến hành bố trí thí nghiệm ảnh hưởng của độ muối tới tỷ lệ nở của phôi cá nác trong biên độ từ 12‰ đến 34‰, kết quả được chỉ ra ở Hình 3.39.



Hình 3.39: Ảnh hưởng của độ muối đến tỷ lệ nở của trứng cá nác

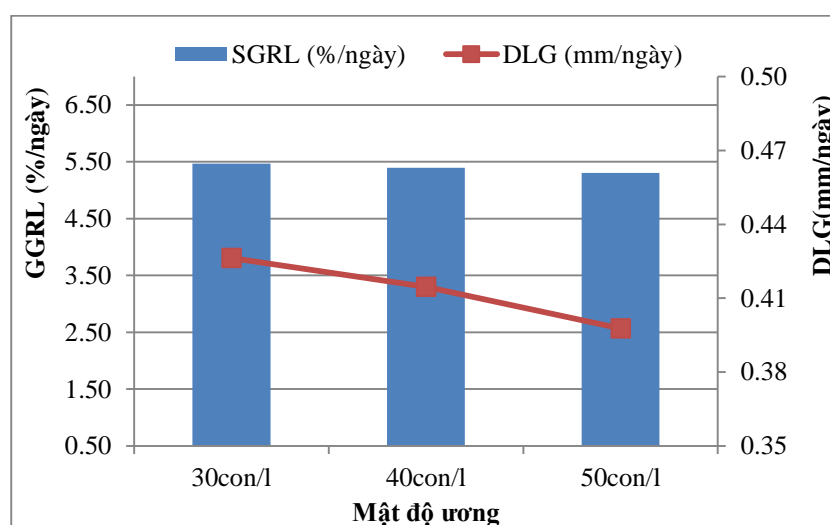
Qua kết quả thí nghiệm cho thấy phôi cá nác nở được ở độ muối từ 12 - 31‰. Tuy nhiên, ở các thang độ muối khác nhau kết quả thí nghiệm cũng thể hiện khác nhau. Độ muối 12‰ và trên 31‰ phôi cá bị chết lên đến 92 - 98%. Độ muối thích hợp cho sự phát triển của phôi cá nác từ 15 - 24‰, thích hợp nhất: 18 - 21‰, độ muối < 15‰ và độ muối > 24‰ tỷ lệ nở của trứng giảm và tỷ lệ dị hình tăng cao 19,4 - 75% phù hợp với các kết quả nghiên cứu của Hong (1989), Chung (2008), Washio (1991) đã thử nghiệm sinh sản cá nác bằng phương pháp bán nhân tạo cho thấy, tỷ lệ trứng thụ tinh từ 60 - 90% và tỷ lệ nở từ 22 - 80%. Nhiệt độ thích hợp để ương nuôi ấu trùng 28°C và độ muối 15 - 25 ‰, tương ứng.

Kết quả các thí nghiệm ảnh hưởng của yếu tố độ muối đến tỷ lệ nở của phôi cá nác cho thấy: trong điều kiện nhiệt độ (28,0 °C) thì độ muối thích hợp cho sự phát triển của phôi cá nác là từ 15 - 24‰, thích hợp nhất: 18 - 21‰, trong khoảng độ muối này tỷ lệ nở cao nhất.

3.2.4. Ảnh hưởng của mật độ ương lên tốc độ sinh trưởng và tỷ lệ sống cá nác từ cá bột lên cá hương

3.2.4.1. Ảnh hưởng của mật độ ương lên tốc độ sinh trưởng chiều dài cá nác giai đoạn từ cá bột lên cá hương

Kết quả nghiên cứu cho thấy, mật độ ương có ảnh hưởng lớn đến tốc độ sinh trưởng đặc trưng về chiều dài toàn thân của ấu trùng cá nác giai đoạn từ bột lên hương, kết quả được chỉ ra ở Hình 3.40.



Hình 3.40: Ảnh hưởng của mật độ đến sinh trưởng chiều dài ấu trùng cá nác

Trong đó, cá được nuôi ở mật độ 30 con/L cho tốc độ sinh trưởng đặc trưng cao nhất (5,47 ± 0,02 %/ngày), tiếp theo là ương ở mật độ 40 con/L (5,41± 0,01 %/ngày)

và thấp nhất ở mật độ 50 con/L ($5,30 \pm 0,02$ %/ngày). Tuy không có sự sai khác đáng kể về tốc độ sinh trưởng đặc trưng ở mật độ 30 và 40 con/L ($P > 0,05$) nhưng cao hơn đáng kể so với nghiệm thức còn lại 50 con/L.

Tương tự tốc độ sinh trưởng đặc trưng, mật độ ương cũng ảnh hưởng đến chiều dài cuối của ấu trùng cá. Trong đó, cá được ương ở mật độ 30 con/L đạt chiều dài lớn nhất ($17,5 \pm 0,09$ mm) tốc độ tăng trưởng chiều dài hàng ngày đạt 0,43 mm/ngày, tiếp theo là ở mật độ 40 con/l ($17,2 \pm 0,07$ mm) tốc độ tăng trưởng chiều dài hàng ngày đạt 0,42 mm/ngày. Tuy sự sai khác về chiều dài cuối thí nghiệm của hai nghiệm thức này là không có ý nghĩa ($P > 0,05$) nhưng cao hơn đáng kể so với nghiệm thức ương ở mật độ 50 con/l ($16,5 \pm 0,08$ mm; $P < 0,05$) tốc độ tăng trưởng chiều dài hàng ngày chỉ đạt 0,40 mm/ngày.

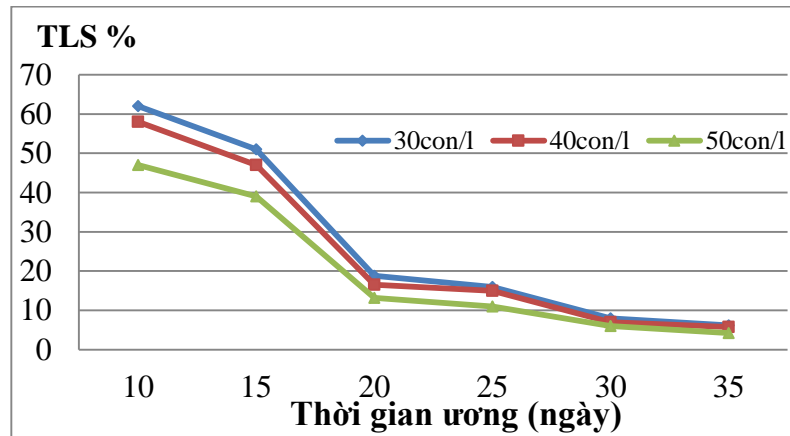
Mật độ ương được xem là một trong những yếu tố quan trọng nhất trong nuôi trồng thủy sản do chúng ảnh hưởng trực tiếp tới sinh trưởng, tỷ lệ sống, sức khỏe của cá, phương pháp chăm sóc và năng suất thu hoạch. Tăng mật độ thả sẽ làm tăng stress cho cá (Leatherland và Cho, 1985), làm tăng nhu cầu về năng lượng, giảm sinh trưởng và khả năng sử dụng thức ăn (Hengsawat và cs., 1997). Do đó, mật độ tối ưu cần phải xác định cho mỗi loài và mỗi giai đoạn của ấu trùng cá để có thể quản lý một cách hiệu quả và làm tối đa năng suất và lợi nhuận (Rowland và cs., 2006). Nhiều nghiên cứu đã chỉ ra rằng ương nuôi cá với mật độ quá cao làm giảm sinh trưởng, tỷ lệ sống, hiệu quả sử dụng thức ăn, chất lượng nước; gia tăng tỷ lệ phân đàn, xuất hiện những bất thường về tập tính sống, nhạy cảm với các tác nhân gây căng thẳng, biến động môi trường và dịch bệnh (Alayse., 1983).

3.2.4.2. Ảnh hưởng của mật độ lên tỷ lệ sống của ấu trùng giai đoạn từ cá bột lên cá hương

Tỷ lệ sống của ấu trùng cá nác giai đoạn từ cá bột lên cá hương cũng chịu ảnh hưởng lớn bởi mật độ ương. Sau 35 ngày thí nghiệm, cá được ương ở mật độ 30 con/L đạt tỷ lệ sống cao nhất ($6,2 \pm 0,28$ %), tiếp theo là cá được ương ở mật độ 40 con/l ($5,8 \pm 0,30$ %). Tuy sự sai khác về tỷ lệ sống giữa hai nghiệm thức này là không có ý nghĩa thống kê ($P > 0,05$) nhưng cao hơn đáng kể so với nghiệm thức còn lại ($4,2 \pm 0,34$ %; $P < 0,05$).

Nhìn chung, tỷ lệ sống của cá nác giai đoạn ấu trùng thấp, chỉ đạt từ 4,2% - 6,2%.

Lượng ấu trùng hao hụt lớn từ ngày ương thứ 10 - 20. Đây là giai đoạn biến thái của ấu trùng cá nác, là giai đoạn trọng đối với các loài cá biển nói chung và cá nác nói riêng, chính vì vậy cần có các nghiên cứu hoàn thiện kỹ thuật ương để nâng cao tỷ lệ sống của ấu trùng cá. Kết quả nghiên cứu được chỉ ở Hình 3.41.



Hình 3.41: Tỷ lệ sống của ấu trùng cá nác sau 35 ngày ương

Trong nghiên cứu này, ấu trùng cá nác ương ở giai đoạn từ cá bột lên cá hương ở mật độ 30 và 40 con/L cho tốc độ sinh trưởng đặc trưng và chiều dài cuối cao hơn so với mật độ 50 con/L. Kết quả này phù hợp với kết quả nghiên cứu của nhiều tác giả trước đó trên một số loài cá biển khác khi cho rằng gia tăng mật độ nuôi làm giảm tốc độ sinh trưởng của cá. Tốc độ sinh trưởng chậm ở lô mật độ 50 con/L có thể do sự cạnh tranh thức ăn, không gian sống chật hẹp, cá bị stress, chất lượng nước suy giảm... Ngoài ra, việc gia tăng mật độ nuôi còn làm giảm hiệu quả sử dụng thức ăn, hàm lượng một số loại hormone sinh trưởng, khả năng tiêu hóa thức ăn và tỷ lệ ăn môi của cá (EI-Sayed và cs, 1995).

Tương tự tốc độ sinh trưởng, ở trong nghiên cứu hiện tại, ấu trùng cá nác ương ở mật độ 30 và 40 con/L cho tỷ lệ sống cao hơn so với mật độ ương 50 con/L. Nhiều nghiên cứu đã chỉ ra rằng, ương nuôi cá ở mật độ cao làm gia tăng lượng chất thải, ô nhiễm môi trường, cá dễ bị stress và nhiễm bệnh (Li và cs, 2012), hậu quả làm giảm tỷ lệ sống trong quá trình ương (Papoutsoglou, 1998).

Gia tăng mật độ ương trên một đơn vị diện tích hay thể tích mà vẫn đảm bảo tốc độ sinh trưởng và tỷ lệ sống cao cho đối tượng nuôi là một trong những điểm then chốt để nâng cao năng suất và hiệu quả kinh tế trong nuôi trồng thủy sản (Li và cs, 2012). Tuy nhiên, điều này liên quan mật thiết đến nhiều vấn đề như thiết kế hệ thống nuôi, chế độ cho ăn, kỹ thuật chăm sóc, quản lý môi trường và phòng trừ dịch bệnh (Li và cs,

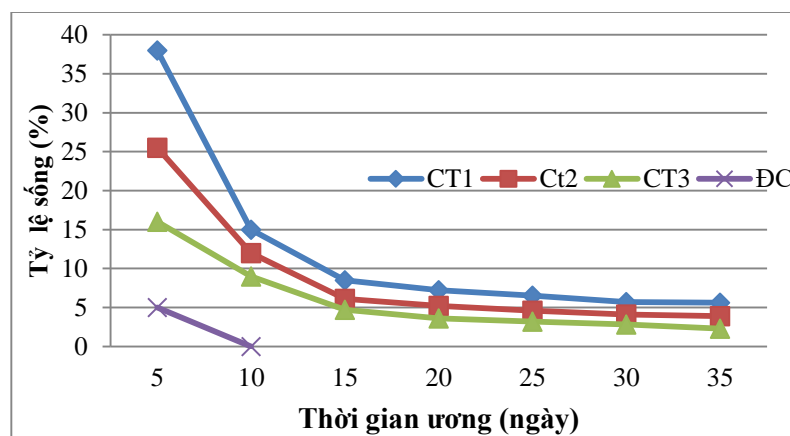
2012). Tác động tiêu cực của việc gia tăng mật độ nuôi có thể nhận thấy như bất thường về tập tính, sức khỏe và các hoạt động sinh lý của cá, từ đó làm cá dễ bị stress, nhiễm bệnh, sinh trưởng chậm và gia tăng tỷ lệ chết (Jorgensen và cs, 1993).

Ảnh hưởng của mật độ ương lên sinh trưởng và tỷ lệ sống của cá còn phụ thuộc vào loài và giai đoạn phát triển. Việc nghiên cứu xác định mật độ nuôi thích hợp cho từng loài và giai đoạn phát triển cũng như các giải pháp gia tăng mật độ nuôi trong phạm vi cho phép là hết sức có ý nghĩa ở cả góc độ kỹ thuật và kinh tế. Các nghiên cứu tiếp theo nên tập trung vào việc đánh giá sâu hơn ảnh hưởng của mật độ ương đến các giai đoạn lớn hơn thông qua các chỉ tiêu sâu hơn như: sinh lý, sinh hóa, tập tính và hiệu quả sử dụng thức ăn nhằm gia tăng hiệu quả ương nuôi cá.

3.2.5. Ảnh hưởng của thức ăn lên tỷ lệ sống và sinh trưởng của ấu trùng giai đoạn từ cá bột lên cá hương

3.2.5.1. Ảnh hưởng thức ăn lên tỷ lệ sống của ấu trùng giai đoạn từ cá bột lên cá hương

Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của thức ăn tỷ lệ sống của ấu trùng cá nác giai đoạn từ khi nở đến 15 ngày tuổi được thể hiện ở Hình 3.42. Sự khác biệt được thể hiện rõ từ ngày tuổi thứ 5, ấu trùng cá 5 ngày tuổi có tỷ lệ sống cao hơn khi được cho ăn CT1 (hỗn hợp luân trùng *P. similis* và nauplii của copepod, copepod loại nhỏ và thức ăn tổng hợp) đạt $38,0 \pm 2,05\%$. Tiếp theo là các lô sử dụng thức ăn là CT2 (nauplii của copepod và copepod loại nhỏ + thức ăn tổng hợp) đạt $25,5 \pm 1,5\%$, tỷ lệ sống thấp nhất của ấu trùng cá nác được quan sát thấy ở các bể chỉ sử dụng CT3 (Nauplii Artemia và thức ăn tổng hợp) chỉ đạt $16 \pm 1,6\%$. Lô đối chứng, ấu trùng cá nác chết gần như hoàn toàn ở thời điểm 5 ngày tuổi khi không cho ăn thức ăn.



Hình 3.42: Ảnh hưởng thức ăn đến tỷ lệ sống cá nác từ cá bột lên cá hương

Đến giai đoạn ấu trùng đạt 15 ngày tuổi, có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các bể sử dụng các loại thức ăn khác nhau ($p < 0,05$). Ấu trùng cho ăn CT1 cho thấy tỷ lệ sống cao nhất đạt $8,1 \pm 1,9\%$, tiếp theo là ấu trùng được cho ăn CT2 đạt $6,1 \pm 1,03\%$, tỷ lệ sống thấp nhất vẫn là các bể chỉ sử dụng CT3 đạt $4,7 \pm 1,3\%$ ($p < 0,05$).

Điều này cho thấy, ương ấu trùng cá nác sử dụng thức ăn CT1 cho kết quả tốt hơn so với sử dụng CT2 hay CT3, có thể do kích cỡ nhỏ của luân trùng *P. similis* phù hợp hơn cho ấu trùng cá nác giai đoạn mới mở miệng, thức ăn nhỏ kết hợp với thức ăn tổng hợp cá bắt môi tốt hơn so với các công thức còn lại. Kết quả nghiên cứu chỉ ra khi ương nuôi ấu trùng cá nác sử dụng thức ăn CT1: 50% (*P. similis* (50 - 70 μm) + 20% (naupliis của copepoda và copepod loại nhỏ dòng *Labidocera pavo* và *Calanopia thompsoni* < 80 μm), mật độ thức ăn 10 ct/ml + Lansy 10% + Fippak 10% + Tảo khô 10% cho tỷ lệ sống ấu trùng đạt cao nhất 5,6% cao hơn so với 2 công thức thức ăn còn lại. Kết quả này phù hợp với những nghiên cứu của Ni Yong và cs, (1993) cho rằng: trong tự nhiên thức ăn chủ yếu của ấu trùng cá nác là các mảnh vụn hữu cơ và luân trùng siêu nhỏ.

3.2.5.2. Ảnh hưởng thức ăn lên tốc độ sinh trưởng chiều dài cá nác giai đoạn từ cá bột lên cá hương

Kết quả nghiên cứu cho thấy, thức ăn có ảnh hưởng lớn đến tốc độ sinh trưởng đặc trưng về chiều dài toàn thân của ấu trùng cá nác giai đoạn cá bột lên hương. Kết quả được thể hiện ở Bảng 3.13.

Bảng 3.13: Ảnh hưởng thức ăn đến tốc độ tăng trưởng về chiều dài cá nác giai đoạn từ cá bột lên cá hương

TT	Chỉ tiêu	Công thức thức ăn		
		CT 1	CT 2	CT3
1	L_{bd} (mm)	$2,58 \pm 0,03$	$2,59 \pm 0,02$	$2,58 \pm 0,04$
2	Lkt (mm)	$17,5 \pm 0,09^a$	$17,2 \pm 0,07^b$	$16,5 \pm 0,08^c$
3	DLG (mm/ngày)	$0,43^a$	$0,39^b$	$0,38^b$
4	SGR(%/ngày)	$5,47 \pm 0,02^a$	$5,27 \pm 0,03^b$	$5,18 \pm 0,02^b$
5	DGR (mm/ngày)	$0,43^a$	$0,39^b$	$0,38^b$

Ấu trùng cá nác được ương bằng thức ăn 1 (CT1) đạt tốc độ sinh trưởng tương đối cao nhất ($5,47 \pm 0,02$ %/ngày), tiếp theo là ương ở CT2 ($5,27 \pm 0,03$ %/ngày) và

thấp nhất ở mật độ CT 3 ($5,18 \pm 0,02$ %/ngày).

Điều này cho thấy việc sử dụng đơn thuần luân trùng *P. similis* để ương ấu trùng cá nác sẽ không hiệu quả, sự ưu việt của dòng luân trùng này chỉ được thể hiện trong những ngày đầu sau khi ấu trùng mở miệng, sau đó ấu trùng yêu cầu loại thức ăn có kích cỡ lớn hơn. Sự kết hợp giữa luân trùng *P. similis* và một loại thức ăn lớn hơn có thể nâng cao tỷ lệ sống và sinh trưởng của ấu trùng giai đoạn đầu. Trong đó ấu trùng sẽ sử dụng luân trùng trong vài ngày đầu khi mới mở miệng, sau đó con mồi cỡ lớn như naupliis của copepoda và copepod loại nhỏ được thêm vào như một nguồn năng lượng cho việc sinh trưởng và nâng cao tỷ lệ sống. Sinh trưởng của ấu trùng cá nác khác nhau với các loại thức ăn được sử dụng khác nhau. Chiều dài toàn thân của ấu trùng cá nác 35 ngày tuổi sử dụng thức ăn CT1 đạt $17,5 \pm 0,09$ mm là cao nhất. Tiếp đến là ấu trùng sử dụng CT2 đạt $17,2 \pm 0,07$ mm và thấp nhất là ấu trùng sử dụng thức ăn CT3 đạt $16,5 \pm 0,08$ mm, sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

Điều này cho thấy, khi cho ăn thức ăn là 50% (Luân trùng *P. similis* (50 - 70 μ m) + 20% (naupliis của copepoda và copepod loại nhỏ dòng *Labidocera pavo* và *Calanopia thompsoni* < 80 μ m), mật độ thức ăn 10 ct/ml, Lansy 10% + Fippak 10% + Tảo khô 10% là thức ăn tốt nhất để nâng cao sinh trưởng và tỷ lệ sống của ấu trùng cá nác giai đoạn ấu trùng bắt đầu cá bột đến cá hương 35 ngày tuổi.

3.2.6. Kết quả nghiên cứu lựa chọn chế độ dinh dưỡng ương nuôi cá nác giai đoạn cá hương lên cá giống

3.2.6.1. Ảnh hưởng thức ăn lên tỷ lệ sống giai đoạn từ cá hương lên cá giống

Trong giai đoạn thí nghiệm ương từ cá hương lên cá giống, tỷ lệ sống của cá nác giai đoạn này phụ thuộc chặt chẽ vào thành phần thức ăn và loại thức ăn sử dụng. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của loại thức ăn, tỷ lệ phối trộn trong các công thức thức ăn ảnh hưởng đến tỷ lệ sống của ấu trùng cá nác từ cá hương lên cá giống được thể hiện ở Bảng 3.14.

Qua Bảng 3.14 chúng tôi nhận thấy, cá nác giai đoạn này có xu hướng bắt mồi có kích thước lớn. Cá cũng có xu hướng ăn thức ăn tổng hợp. Ở nghiệm thức 1 và 2, khi cho cá ăn với tỷ lệ cho ăn thức ăn tối sống là copepoda và artemia cao đạt tỷ lệ sống cao hơn so với 2 nghiệm thức còn lại. Kết quả nghiên cứu chỉ ra rằng ương nuôi cá nác từ giai đoạn cá hương lên cá giống thức ăn phù hợp nhất là Copepoda với mật độ 4 - 5

ct/ml + Artemia 4 - 5 ct/ml + thức ăn tổng hợp 10 - 12g/vạn cá/ngày cho tỷ lệ sống đạt cao nhất sau 30 ngày ương nuôi đạt tỷ lệ sống từ 80,5 - 81,3%.

Bảng 3.14: Ảnh hưởng của thức ăn đến tỷ lệ sống giai đoạn cá hương lên cá giống

Nghiệm thức	Lô thí nghiệm	Số cá thả (con)	30 ngày ương	
			Số lượng (con)	Tỷ lệ sống (%)
NT ₁ : Copepoda 5 ct/ml + Artemia 5 ct/ml + Thức ăn tổng hợp 10g/vạn cá/ngày	Lần 1	1.000	812	81,2
	Lần 2	1.000	831	83,1
	Lần 3	1.000	798	79,8
	Trung bình			81,37^a
NT ₂ : Copepoda 4 ct/ml + Artemia 4 ct/ml + Thức ăn tổng hợp 12g/vạn cá/ngày	Lần 1	1.000	790	79
	Lần 2	1.000	820	82
	Lần 3	1.000	805	80,5
	Trung bình			80,5^a
NT ₃ : Copepoda 3 ct/ml + Artemia 4 ct/ml + Thức ăn tổng hợp 15g/vạn cá/ngày	Lần 1	1.000	748	74,8
	Lần 2	1.000	768	76,8
	Lần 3	1.000	763	76,3
	Trung bình			76,0^b
NT ₄ : Copepoda 2 ct/ml + Artemia 4 ct/ml + Thức ăn tự chế 20g/vạn cá/ngày	Lần 1	1.000	710	71
	Lần 2	1.000	692	69,2
	Lần 3	1.000	684	68,4
	Trung bình			69,5^c

Như vậy có thể nhận thấy, ấu trùng cá nác hay ấu trùng cá biển nói chung yêu cầu cần được cung cấp các axit béo thiết yếu (EFA) trong khẩu phần thức ăn cho sinh trưởng và phát triển, cụ thể là các axit béo mạch dài chưa no (HUFAs) như 22: 6n-3 DHA (docosahexaenoic acid) và 20: n5-3 EPA (eicosapentaenoic acid) (Bell và cs., 2003). Các axit béo chưa no trong thành phần của thức ăn sống thường là một yếu tố quan trọng để đánh giá giá trị dinh dưỡng và sự thiếu hụt của thành phần này thường là nguyên nhân đầu tiên dẫn đến việc thất bại trong ương ấu trùng cá biển (Sargent và cs., 1999).

Theo Sargent và cs., (1999), tỷ lệ DHA/EPA 1:1 là thích hợp cho sinh trưởng và

phát triển bình thường của ấu trùng và tỷ lệ 2:1 có thể nâng cao tỷ lệ sống và sinh trưởng của ấu trùng cá biển.

Mặt khác, thức ăn tươi sống được cho là nguồn cung các enzyme tiêu hóa vào hệ thống tiêu hóa của ấu trùng và làm tăng khả năng tiêu hóa. Số lượng enzyme tiêu hóa được phóng thích trong hệ tiêu hóa của ấu trùng phụ thuộc vào loại và thành phần dinh dưỡng của con mồi (Kreibich và cs., 2011).

3.2.6.2. Ảnh hưởng của thức ăn lên tốc độ sinh trưởng chiều dài cá nác giai đoạn từ cá hương lên cá giống

Kết quả nghiên cứu cho thấy, thức ăn có ảnh hưởng lớn đến tốc độ sinh trưởng đặc trưng về chiều dài toàn thân của ấu trùng cá nác giai đoạn từ cá hương lên cá giống, kết quả nghiên cứu được thể hiện ở Bảng 3.15.

Bảng 3.15: Ảnh hưởng của thức ăn đến tốc độ tăng trưởng về chiều dài cá nác từ cá hương lên cá giống

TT	Chỉ tiêu	Công thức thức ăn			
		CT 1	CT 2	CT3	CT4
1	L _{bd} (mm)	17,5	17,5	17,5	17,5
2	L _{kt} (mm)	27,5±0,09 ^a	27,2±0,08 ^a	26,4±0,09 ^b	26,1±0,09 ^c
3	DRG (mm/ngày)	0,33 ^a	0,32 ^a	0,30 ^b	0,29 ^b
4	SGR(%/ngày)	1,57 ^a	1,55 ^a	1,51 ^b	1,49 ^c
5	DGR (mm/ngày)	0,33 ^a	0,32 ^a	0,30 ^b	0,29 ^b

Mặc dù, tỷ lệ sống sau 30 ngày ương của ấu trùng cá cá nác khi cho ăn artemia phối hợp copepod đạt 80,5 - 81,3% cao hơn so với hai công thức thức ăn còn lại khi giảm mật độ thức ăn tươi sống copepod và artemia chỉ đạt 69,5 - 76%. Sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê về sinh trưởng của cá nác ở CT1 và CT2 khi sử dụng thức ăn tươi sống ở mật độ cho ăn là artemia 4 - 5 cá thể/ml và copepod 4 - 5 cá thể/ml cá đạt chiều dài từ 27,2 - 27,5 mm, nhưng sinh trưởng của ấu trùng cá nác ở 2 lô thí nghiệm này cao hơn có ý nghĩa thống kê so với sinh trưởng của ấu trùng cá cá nác ở các bể ương CT3 và CT4 khi giảm mật độ thức ăn tươi sống và tăng lượng thức ăn công nghiệp khi đó ấu trùng cá nác ở các bể này đạt kích cỡ trung bình đạt từ 26,1 đến 26,4 mm với 1,49 - 1,51% mm/ngày ($p < 0,05$). Nguyên nhân có thể do việc sử dụng thức ăn công nghiệp cá sinh trưởng chậm hơn.

Vì vậy, cho ăn thức ăn tổng hợp sớm kết hợp với sử dụng thức ăn sống có thể cải thiện chất lượng dinh dưỡng cho ấu trùng đồng thời giúp cho ấu trùng dễ dàng chấp nhận thức ăn tổng hợp hơn khi thức ăn sống được loại bỏ hoàn toàn khỏi khẩu phần ăn hàng ngày của ấu trùng cá biển

3.3. Đề xuất một số giải pháp kỹ thuật và dự thảo quy trình sản xuất giống nhân tạo cá nác

3.3.1. Đề xuất một số giải pháp kỹ thuật sản xuất giống nhân tạo cá nác

Từ những kết quả nghiên cứu nội dung 3.1 và 3.2 về kích thích sinh sản, quá trình phát triển phôi, các giai đoạn biến thái của ấu trùng, yếu tố nhiệt độ, độ muối ảnh hưởng đến ấu trùng và đặc biệt là yếu tố thức ăn ảnh hưởng đến sinh trưởng và tỷ lệ sống ấu trùng cá nác từ giai đoạn cá bột đến cá giống, bước đầu có thể tóm lược những yếu tố chính thích hợp nhằm đề ra các biện pháp kỹ thuật trong quy trình công nghệ sản xuất giống nhân tạo cá nác. Cụ thể:

1) Từ tháng 4 đến tháng 8 là mùa vụ sinh sản của cá trong tự nhiên và cũng là thời điểm thích hợp để lựa chọn các cá thể cho sinh sản nhân tạo, tuy nhiên nên chọn các cá thể có dấu hiệu CMSD và chọn cá khi có thủy triều cao.

2) Giải pháp lựa chọn cá bố mẹ

+ Cá cái: thân hình cân đối, bụng to, mềm, có thể nhìn thấy rõ buồng trứng nằm hai bên khoang bụng. Cơ quan sinh dục sưng phồng và có màu phớt hồng.

+ Cá đực: Cơ quan sinh dục hình nhọn và có màu hồng thẫm ở điểm cuối mút nhọn.

3) Bể nuôi vỗ cá bố mẹ, đáy bể được lót một lớp bùn nhão 5cm, thay nước định kỳ trong bể theo lịch thủy triều. Cho cá ăn: 2 lần/ngày, sáng cho cá ăn bằng 1/5 khẩu phần cá ăn trong ngày và chiều cho ăn phần còn lại (4/5). Ban ngày cho cá ăn gần vị trí cá ẩn nấp. Loại thức ăn viên hàm lượng Protein 38%, N1, cá tôm tạp băm nhuyễn: tỷ lệ 1:1:1. Cho ăn 3 - 5% tổng khối lượng cá (có sự điều chỉnh khi thừa hoặc thiếu thức ăn). Bổ sung tảo đáy ở trong bể.

4) Sử dụng kích dục tố kích thích cá sinh sản với liều lượng tiêm lần 1 LRHa 3 μ g/kg cá cái, lần 2 LHRHa 5 μ g + HCG 1000UI +DOM 5mg/kg sau liều tiêm lần 1 12-24 giờ. Cá đực tiêm LRHa 2 μ g/kg trùng với liều tiêm lần 2 của cá cái.

5) Cho cá đẻ trong các bể 2 - 4m³, đáy bể lót nilon và thả các vật bám bằng: lưới, ống PVC 10 – 20 cm, ngói úp nóc bằng xi măng, tỷ lệ cá đực/cái: 1/1. Độ muối bể cho cá đẻ từ 18 - 21‰, nhiệt độ nước 28°C.

6) Trong quá trình ương nuôi ấu trùng cá nác, cần có biện pháp quản lý môi trường bể nuôi phù hợp nhằm duy trì điều kiện độ mặn 18 - 21‰, nhiệt độ từ khi nở đến giai đoạn cá hương 35 ngày tuổi từ 28 - 30°C.

7) Mật độ ương nuôi ấu trùng cá nác từ cá bột lên cá hương 40 con/lít.

8) Thức ăn ương nuôi ấu trùng cá nác giai đoạn cá bột lên cá hương với 50% (*P. similis* 50 - 70 µm) + 20% (naupliis của copepoda và copepod loại nhỏ dòng *Labidocera pavo* và *Calanopia thompsoni* < 80 µm), mật độ thức ăn 10 ct/ml + Lansy 10% + Fippak 10% + Tảo khô 10%. Giai đoạn cá hương lên cá giống thức ăn phù hợp nhất là Copepoda với mật độ 4-5 ct/ml + Artemia 4-5 ct/ml + thức ăn tổng hợp 10 -12g/vạn cá/ngày.

3.3.2. Dự thảo quy trình sản xuất giống nhân tạo cá nác

3.3.2.1. Tên quy trình

Dự thảo quy trình sản xuất giống nhân tạo cá nác

3.3.2.2. Xuất xứ quy trình

Quy trình công nghệ sản xuất giống nhân tạo cá nác được tổng hợp và xây dựng dựa trên kết quả nghiên cứu của luận án và tham kế thừa từ kết quả 02 đề tài:

- Đề tài cấp cơ sở: Nghiên cứu khả năng sinh sản nhân tạo cá nác
- Đề tài: Nghiên cứu xây dựng quy trình sản xuất giống và thử nghiệm nuôi thương phẩm cá nác tại Hải Phòng.

3.3.2.3. Đối tượng và phạm vi áp dụng

- *Đối tượng*: Cá nác
- *Phạm vi áp dụng*: Quy trình này áp dụng cho các cơ sở sản xuất giống thủy sản ở ven biển Việt Nam.

3.3.2.4. Các yêu cầu chung

a Yêu cầu vị trí

- Điều kiện tự nhiên như sau: Vị trí gần biển, thuận lợi cho việc lấy nước biển phục vụ

cho sản xuất; gần các khu vực đầm nuôi hải sản để thuận lợi việc cung cấp con giống và bố mẹ. Có hệ thống giao thông, điện lưới thuận lợi, tránh xa các nguồn gây ô nhiễm như nước thải của các hoạt động sản xuất công nghiệp, nông nghiệp, dịch vụ và sinh hoạt.

- Về nguồn nước: Độ muối 15 - 20‰, pH 7,5 - 8,5, độ kiềm 80 - 150 mg/l, hàm lượng oxy hòa tan ≥ 5 mg/lít, kim loại nặng dưới mức cho phép theo QCVN, 2015 MT - BTNMT.

b. Điều kiện cơ sở vật chất

- Nhà xưởng: có tường xây chắc chắn, kín tránh bụi, mái chống nóng tốt.

- Nhà cách ly bố tách biệt với khu sản xuất, có 1 - 3 bể nuôi lưu giữ, thể tích 2 - 3 m³/bể.

- Hệ thống bể nuôi vỗ bố mẹ và ương nuôi ấu trùng được đặt trong nhà xưởng, bể có thể tích 2 - 5 m³, bể xi măng hoặc bể composite. Số lượng bể ≥ 10 bể cho một đợt sản xuất.

- Bể chứa nước có thể tích đáp ứng được nhu cầu sản xuất, thường tương đương 30-50 % tổng thể tích bể ương nuôi ấu trùng.

- Bể lọc nước biển: Bể lọc dùng để lọc nước biển có thể tích 5 - 10 m³, có thiết kế như sau: đáy lót lưới 2a: 1 mm, tiếp đến là lớp đá cuội lớn (cỡ 4 - 6 cm dày 10 cm), tiếp theo là lớp đá cuội nhỏ (cỡ 2 - 3 cm dày 10 cm), tiếp theo là lớp lưới 2a: 1 mm, cuối cùng là lớp cát 50 - 80 cm.

- Bể, ao xử lý nước thải $\geq 20\%$ tổng thể tích bể ương.

c Các trang thiết bị:

- Máy bơm tương đương công suất và yêu cầu (bơm cố định và lưu động). Máy sục khí, máy phát điện dự phòng, tủ lạnh bảo quản thức ăn.

- Các thiết bị đo môi trường nước: máy đo Độ muối, pH, oxy, nhiệt độ, ...

- Đá bọt, các loại xô, thùng áp trứng Artemia, các dụng cụ siphon, thay nước, vợt lưới các loại (vớt ấu trùng, cá giống, thu Artemia). Giai lưới cho cá đẻ, lưới làm vật bám...

- Kính hiển vi, cốc đong, lam kính, bô đồ giải phẫu, bơm tiêm, kim tiêm...

- Giai lược cho cá đẻ, lưới làm vật bám.

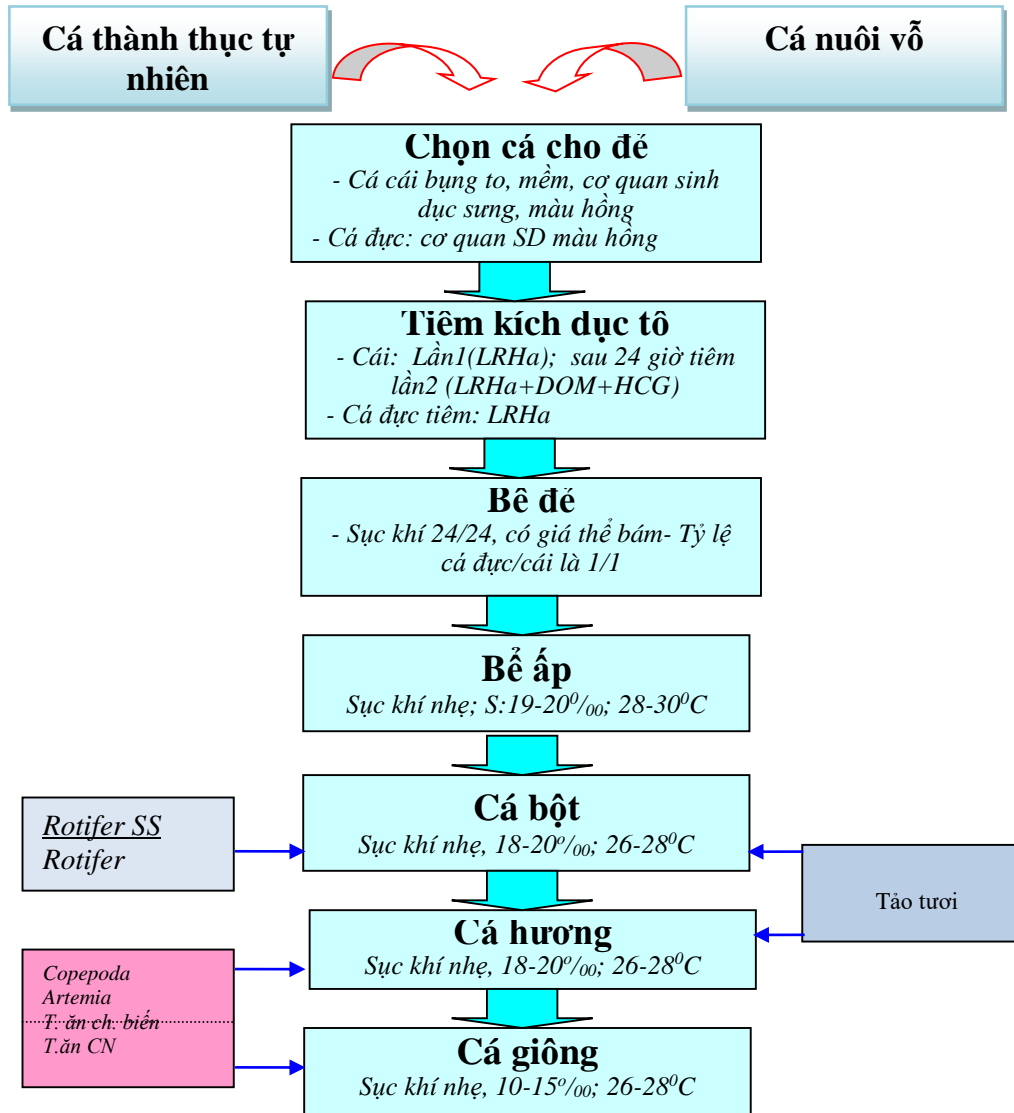
d. Nguyên vật liệu

- Kích dục tố: LRHa₃, HCG, DOM.

- Thức ăn ương nuôi ấu trùng: Lansy, fippak, tảo, phiến dinh dưỡng, artemia Cần Thơ, artemia mỹ.

3.3.2.5. Quy trình

a Sơ đồ tóm tắt quy trình



b. Thuyết minh quy trình.

• Chuẩn bị bể và dụng cụ sản xuất

- Hệ thống bể của trại giống phải vệ sinh theo các bước sau:

Rửa sạch bằng nước ngọt. Dùng Chlorine A 150 – 200 ppm để diệt trùng từ ≥ 1 ngày. Rửa lại bằng nước biển đã xử lý.

- Chuẩn bị dụng cụ: Các dụng cụ dùng cho trại sản xuất phải chuẩn bị đầy đủ, trước khi dùng phải được ngâm trong Chlorine A 100 – 200 ppm hoặc ngâm Formol 100 - 200 ppm, thời gian từ 1 - 2 giờ, sau đó rửa sạch bằng nước ngọt và phơi khô.

- *Xử lý nước*

Nước được xử lý bằng thuốc tím từ 1 - 3 ppm từ 1 - 2 ngày sau đó xử lý bằng Chlorine A 10 - 30 ppm trong thời gian 1 - 2 trước khi lọc đưa vào sản xuất.

- *Nuôi vỗ cá bố mẹ*

- *Tuyển chọn cá nuôi vỗ:* Cá nuôi vỗ phải khỏe mạnh, không có dấu hiệu bệnh lý, không bị xây sát, bơi lội bình thường, ngoại hình cân đối. Khối lượng cá từ 12 – 20 g/cá thể, chiều dài ≈ 15 cm.

- *Phương pháp nuôi vỗ:* Thời gian nuôi vỗ từ tháng 2 - 4 và từ tháng 7 - 8; mật độ nuôi 50 con/m², tỷ lệ đực cái: 1/1; thay nước bể nuôi 20 - 30%/lần; thường xuyên kiểm tra và vệ sinh ao để tránh nguồn nước bị nhiễm bẩn. Cho ăn và quản lý ao nuôi vỗ thực hiện như bảng sau:

Bảng 3.16. Chế độ cho cá ăn và quản lý bể nuôi

Chăm sóc Chế độ nuôi	Thức ăn		Thức ăn bổ sung (Vitamin, khoáng)	Thay nước, vệ sinh ao bể	Thời gian
	Tự chế (Cám gạo, cá tạp)	Công nghiệp (hãng CP)			
<i>Nuôi vỗ thành thục</i>	1% khối lượng cá nuôi	1,5 - 2% khối lượng cá nuôi	2 ngày/lần	100%	3 - 4 ngày/lần

- *Kích thích cá sinh sản*

- *Chọn cá cho đẻ*

+ Cá cái: Chọn cá khỏe mạnh, thân hình cân đối, bụng to, có thể thấy rõ buồng trứng nằm hai bên lườn bụng, buồng trứng giai đoạn II - III. Cơ quan sinh dục sưng và có màu hồng.

+ Cá đực: Chọn cá khỏe mạnh, hình dáng cân đối, không có dấu hiệu bệnh lý; chiều dài cá ≈ 15 cm. Cơ quan sinh dục hình nhọn và có màu hồng thẫm ở phần cuối mút nhọn.

- *Kích thích cá đẻ:* Lượng kích dục tố đối với cá cái: Liều tiêm sơ bộ: LRHa₃ 3μg và liều tiêm quyết định LRHa₃ 4μg + HCG 1.500UI + DOM 5mg/kg; lượng thuốc với cá đực: 3μg LRHa/kg, tiêm cùng với lần quyết định của cá cái; vị trí tiêm ở phía trong của góc vây ngực; Thời gian hiệu ứng thuốc: 48 – 52 giờ.

- *Cho cá đẻ và ấp trứng:*

- Bể cho cá đẻ: Nhiệt độ nước 28 -30°C, Độ muối 18 - 20‰, DO ≥ 5 mg/l; cá sau khi tiêm lần 2 được thả vào bể đẻ, mật độ thả 1kg cá/m³ nước, tỷ lệ đực/cái là 1/1. Cá bố mẹ tiêm kích dục tố xong được thả vào giai lưới đã được chuẩn bị sẵn giá thể bám cho trứng (lưới, ống PVC,). Sau 36 – 48 giờ cá bắt đầu đẻ trứng, tiến hành bắt cá bố mẹ ra khỏi bể chuyển trứng sang bể ấp. Thao tác chuyển trứng bám từ bể đẻ sang bể ấp nhẹ nhàng, tránh làm rụng trứng.

- Bể ấp trứng và ương: Chuyển giá thể có trứng bám sang bể ấp có Độ muối 18 - 20‰, nhiệt độ 28 - 30°C , DO >5 mg/l; sục khí nhẹ. Thời gian ấp từ 110 - 120 giờ trứng bắt đầu nở cá bột.

- *Ương cá bột thành cá giống*

- *Điều kiện bể ương:* Bể có thể tích bể 3 - 5m³; nhiệt độ nước 28 - 30°C, Độ muối 18 - 12‰, DO ≥5mg/l, pH 7,5 - 8,5; mật độ ương: 40 cá thể/lít, thời gian ương 60 - 65 ngày.

- *Quản lý các yếu tố môi trường:*

Các thông số môi trường nước được duy trì theo Bảng 3.17.

Bảng 3.17. Một số yếu tố môi trường nước thích hợp cho bể ương

Chỉ số	S‰	T°C	pH	DO (mg/lít)	NH ₃ (mg/lít)	NO ₂ (mg/lít)	COD (mg/lít)	BOD (mg/lít)
Cá bột	18-19	28-30	7,5-8,5	5-6	0,05-0,30	0,01-0,10	<5,0	<2,0
Cá hương	18-19	26-30	7,5-8,5	4-5	0,05-0,30	0,01-0,10	<5,0	<2,0
Cá giống	10-15	26-30	7,5-8,5	4-5	0,05-0,10	0,01-0,10	<10,0	<5,0

- *Quản lý bể ương:* Bể đặt trong nhà hoặc ngoài trời có mái che; thay nước và vệ sinh bể ương định kỳ như sau.

+ Từ ngày thứ 3 - 10, thay 20% thể tích nước/ngày vào buổi sáng.

+ Từ ngày thứ 5 - 6, loại bỏ giá thể và siphon đáy bể.

+ Từ ngày thứ 11 trở đi vệ sinh đáy bể 1 ngày/lần vào buổi sáng và thay 20 - 30% thể tích nước/ngày.

Cách thay nước: Nước trong bể ương được xiphon qua lồng lưới có mắt lưới nhỏ hơn cá bột tránh làm thất thoát cá. Nước thay có các điều kiện môi trường tương đương với nước trong bể ương, nước được cấp qua túi vải tránh tạo dòng chảy mạnh trong bể.

- Cho cá ăn:

+ Giai đoạn cá bột lên cá hương: cho ăn với khẩu phần: 50% (*P. similis* (50 - 70 μm) + 20% (naupliis của copepoda và copepod loại nhỏ dòng *Labidocera pavo* và *Calanopia thompsoni* < 80 μm), mật độ thức ăn 10 ct/ml + Lansy 10% + Fippak 10% + Tảo khô 10%. Bắt đầu cho cá ăn sau khi nở 2 ngày.

+ Giai đoạn cá hương lên cá giống: Copepoda với mật độ 4 - 5 ct/ml + Artemia 4 - 5 ct/ml + thức ăn tổng hợp 10 - 12 g/vạn cá/ngày

- Cách cho ăn: Cho cá ăn 4 - 5 lần/ngày, thức ăn tổng hợp hay thức ăn chế biến được lọc qua lưới lọc thức ăn phù hợp với kích thước bắt mồi của cá. Lượng thức ăn có sự điều chỉnh theo khả năng bắt mồi của cá.

• Thu hoạch cá giống, đóng túi và vận chuyển

Khi cá đạt chiều dài 2,5cm thu hoạch chuyển sang giai đoạn ương cá giống cỡ lớn 4-5cm hoặc thả nuôi trực tiếp nuôi hành cá thương phẩm

- Thu cá giống:

+ Rút nước, dùng vợt nhẹ nhàng vớt cá cho vào chậu nước có sục khí.

+ Đếm xác định số lượng bằng cách cân hoặc so mẫu.

- Đóng túi: Sử dụng túi nilong 5lít bơm ôxy. Mật độ: 1000 - 1200 con/túi.

- Vận chuyển: Vận chuyển bằng: xe máy, tàu thủy, ô tô chuyên dụng

KẾT LUẬN VÀ KHUYẾN NGHỊ

1. Kết luận

1.1. Đặc điểm sinh học sinh sản cá nác

- Cá nác phân bố vùng nước lợ cửa sông, rừng ngập mặn ở các nước Châu Á (Trung Quốc, Hàn Quốc, Nhật Bản...) và Việt Nam từ Quảng Ninh đến Nghệ An.
- Cá đực và cá cái phân tính, mùa vụ cá sinh sản bắt đầu từ cuối tháng 3 đầu tháng 4 đến tháng 8 hàng năm. Cá nác có thể tham gia sinh sản ở độ tuổi 1+, cá đẻ nhiều lần trong năm, sức sinh sản tuyệt đối dao động từ 2.843 - 6.463 trứng/cá và sức sinh sản tương đối trung bình: 342 ± 23 trứng/g cá cái.

1.2. Kết quả nghiên cứu sinh sản cá nác trong điều kiện nhân tạo

- Cá nác có thể nuôi vỗ thành thực trong điều kiện nhân tạo, tỷ lệ thành thực đạt từ 46,67 - 80%. Sức sinh sản tuyệt đối cá nuôi vỗ trung bình 4.561 ± 278 trứng/cá thể và sức sinh sản tương đối trung bình: 355 ± 23 trứng/g.
- Cá bố mẹ sinh sản tốt khi sử dụng kích dục tố LRHa₃ 2 μ g ở liều tiêm sơ bộ và LRHa₃ 3 μ g + HCG 1000UI + DOM 5mg/kg cá cái ở liều tiêm quyết định cho kết quả cá sinh sản cao nhất.
- Trong điều kiện nhiệt độ từ 25 đến 31^oC ở trong ngưỡng phát triển phôi cá nác, thích hợp nhất 28^oC. Độ muối từ 15 - 24‰ phù hợp cho phôi cá nác phát triển, thích hợp nhất: 18-21‰.
- Giai đoạn ương ấu trùng mới nở lên cá hương, tỷ lệ sống và sinh trưởng của cá có xu hướng giảm khi tăng mật độ nuôi, mật độ ương cá nác thích hợp là 40 con/lít. Cá sử dụng thức ăn: 50% (*P. similis* (50 - 70 μ m) + 20% (naupliis của *copepoda* và *copepod* loại nhỏ dòng *Labidocera pavo* và *Calanopia thompsoni* < 80 μ m), mật độ thức ăn 10 ct/ml + Lansy 10% + Fippak 10% + Tảo khô 10% phù hợp nhất.
- Giai đoạn ương nuôi từ cá hương lên cá giống, thức ăn phù hợp nhất là cho ăn *Copepoda* với mật độ 4 - 5 ct/ml + *Artemia* 4 - 5 ct/ml + thức ăn tổng hợp 10 -12g/vạn cá/ngày cho tỷ lệ sống đạt cao nhất sau 30 ngày ương nuôi đạt tỷ lệ sống từ 80,5 – 81,3%.

1.3. Đề xuất giải pháp và xây dựng dự thảo quy trình sản xuất giống nhân tạo

Đề xuất được 8 giải pháp kỹ thuật và xây dựng được dự thảo quy trình sản xuất

giống nhân tạo cá nác.

2. Khuyến nghị

2.1. Nghiên cứu chỉ là những nghiên cứu cơ bản về sản xuất giống cá nác trong điều kiện nhân tạo với quy mô còn hạn chế. Cần có những nghiên cứu nâng cao chất lượng dinh dưỡng, bổ sung nguyên tố vi lượng vào thức ăn nuôi vỗ cá bố mẹ, đồng thời có những biện pháp khắc phục hiện tượng cá đẻ không đều, nâng cao chất lượng trứng và tỷ lệ nở nhằm nâng cao hiệu quả để áp dụng vào quy mô sản xuất.

2.2. Ương nuôi cá biển nói chung, ấu trùng cá nác nói riêng còn tồn tại một số hạn chế nhất định về kỹ thuật, do vậy để hoàn thiện quy trình và nâng cao hiệu quả sản xuất. Cần tiếp tục các nghiên cứu sâu hơn nhằm nâng cao tỷ lệ sống của cá trong quá trình ương. Các giải pháp nên tập trung vào việc làm giàu thức ăn sống (Rotifer, Copepoda và Artemia nauplius). Đánh giá ảnh hưởng của ánh sáng, chế độ sục khí và thay nước đến khả năng chịu sốc của ấu trùng, cá con nhằm nâng cao tỷ lệ sống, sinh trưởng của ấu trùng và cá các giai đoạn trong ương nuôi cá nác.

2.3. Nghiên cứu các giải pháp bổ sung vitamin A, C, D và khoáng cho ấu trùng cá nác giai đoạn ấu trùng, cá con nhằm cải thiện sinh trưởng, tỷ lệ sống và chất lượng giống.

2.4. Cá nác là một trong những sinh vật chỉ thị môi trường vùng cửa sông, bãi triều ven biển do đó cần có các nghiên cứu sâu về đánh giá mối liên quan giữa môi trường và phân bố của cá nác..., đặc biệt là tầm quan trọng trong việc phát hiện mức độ ô nhiễm trong các hệ sinh thái nước ven biển. Sự phong phú và phân bố của cá trên cạn cũng như ở vùng nước ven biển có thể được coi là một chỉ số trực tiếp về sức khỏe của môi trường sống.

DANH MỤC CÔNG TRÌNH ĐÃ CÔNG BỐ

1. Đặng Minh Dũng, 2016. Nghiên cứu ảnh hưởng của nhiệt độ và độ muối đến sự phát triển phôi cá nác (*Boleophthalmus pectinirostris*) Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn, chuyên đề 55 Viện nghiên cứu Hải sản. Một số kết quả nghiên cứu Khoa học giai đoạn 2011 - 2016.
2. Đặng Minh Dũng, 2018. Ảnh hưởng của mật độ lên tốc độ sinh trưởng và tỷ lệ sống của cá nác (*Boleophthalmus pectinirostris*) giai đoạn từ cá bột lên cá hương. Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn, chuyên đề Nghiên cứu nghề cá biển năm 2018.
3. Đặng Minh Dũng, 2019. Ảnh hưởng của thức ăn lên tốc độ sinh trưởng và tỷ lệ sống của cá nác (*Boleophthalmus pectinirostris*) giai đoạn từ cá bột lên cá hương. Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn, chuyên đề Nghiên cứu nghề cá biển năm 2019.
4. Đặng Minh Dũng, Phạm Thành Công, Đỗ Mạnh Dũng, Lại Duy Phương, 2020. Nghiên cứu xác định thức ăn nuôi vỗ và liều lượng kích dục tố phù hợp trong sinh sản nhân tạo cá nác (*Boleophthalmus pectinirostris*). Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn, chuyên đề Nghiên cứu nghề cá biển năm 2020.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Tài liệu tiếng Việt

1. Nguyễn Tường Anh, 1999. Một số vấn đề về nội tiết học sinh sản cá. Nhà Xuất bản Nông nghiệp Hà Nội, 238 trang.
2. Đặng Minh Dũng và cs., 2012. Báo cáo tổng kết đề tài Nghiên cứu khả năng sinh sản nhân tạo cá nác (*Boleophthalmus pectinirostris*). Lưu trữ tại thư viện Viện Nghiên cứu Hải sản.
3. Đỗ Mạnh Dũng, Phạm Thành Công, 2015. Một số đặc điểm sinh học và sinh sản của cá bóng tro (*Bathygobius fuscus* Ruppell, 1830) phân bố ở Hải Phòng. *Bản tin Viện Nghiên cứu Hải Sản*, trang 12 - 13.
4. Vương Dĩ Khang. Ngư loại phân loại học, bản tiếng Việt, người dịch Nguyễn Bá Mão, tập 2. Nhà xuất bản Nông thôn, Hà Nội, 1963.
5. Pravdin, I. F., 1973. Hướng dẫn nghiên cứu cá, Nxb Khoa học và Kỹ thuật nông thôn, Hà Nội, 260 tr, Nguyễn Thị Minh Giang, dịch.
6. Nguyễn Nhật Thi, 1991. Cá biển Việt Nam, cá xương vịnh Bắc Bộ, Nhà xuất bản khoa học và kỹ thuật.
7. Xakun, O.F và N.A. Buskaia, 1968. Xác định các giai đoạn phát dục và nghiên cứu chu kỳ sinh dục cá. Bản dịch từ tiếng Nga của Lê Thành Lựu và Trần Mai Thiên. Nhà xuất bản Nông nghiệp Hà Nội, 1982.
8. Trần Văn Đan, 1998. Một số đặc điểm sinh học của cá bớp (*Bostrichthys sinensis* Lacépède, 1801) ở Hải Phòng. Tuyển tập các công trình nghiên cứu nghề cá biển, tập I; NXB Nông Nghiệp, 1998, trang 359.
9. Trần Văn Đan, 2002. Nghiên cứu cơ sở khoa học cho sản xuất giống và nuôi cá bớp (*Bostrichthys sinensis* Lacépède, 1801) ở ven biển miền Bắc Việt Nam. Luận án tiến sỹ chuyên ngành thủy sinh vật.
10. Trần Văn Đan và ctv., 1998. Nghiên cứu xây dựng quy trình kỹ thuật nuôi thương phẩm và thăm dò khả năng sản xuất giống tự nhiên cá bớp (*Bostrichthys sinensis* Lacépède, 1801)". Tuyển tập các công trình nghiên cứu khoa học công nghệ thủy sản 1991-1995. Nhà xuất bản Hà Nội, trang 191.
11. Trần Đắc Định, Hà Phước Hùng, Nguyễn Trọng Hồ và Nguyễn Văn Lành, 2002. Nghiên cứu đặc điểm sinh học của cá kèo (*Pseudapocryptes elongatus*, Cuvier, 1816) phân bố vùng Đồng Bằng Sông Cửu Long. Báo cáo đề tài nghiên cứu khoa học cấp

trường. Trường Đại Học Cần Thơ, 15 trang.

12. Bùi Văn Điền và cs., 2012. Nghiên cứu công nghệ sản xuất giống và nuôi thương phẩm cá Hồng bạc (*Lutjanus argentimaculatus*). Báo cáo Tổng kết đề tài. Viện Nghiên cứu Nuôi trồng thủy sản I.

13. Lại Văn Hùng và cs, 2011. Thử nghiệm sản xuất giống cá chim vây vàng (*Trachinotus blochii* Lacepede, 1801) tại Khánh Hòa. Báo cáo tổng kết đề tài cấp tỉnh. Trường Đại học Nha Trang, 78 trang.

14. Cao Văn Hạnh và Nguyễn Trung Thành., 2014. Nghiên cứu ứng dụng Copepod (*Oithona rigida*) trong ương một số loài cá biển giai đoạn đầu. *Tạp chí Thủy sản* số 1.

15. Ngô Văn Mạnh., 2008. Ảnh hưởng của mật độ, cỡ cá thả ban đầu, loại thức ăn và chế độ cho ăn lên cá chêm (*Lates calcarifer* Bloch 1790) giống ương trong ao bằng mương nổi. Luận văn cao học, Chuyên ngành nuôi trồng thủy sản. Trường Đại học Nha Trang, 86 trang.

16. Nguyễn Trọng Nho., 2003. Nghiên cứu sản xuất giống nhân tạo cá chêm mõm nhọn *Psammoperca waigiensis* (Cuvier & Valenciennes, 1828). Báo cáo khoa học, Trường Đại học Thủy sản Nha Trang, Khánh Hoà, 67 trang.

17. Nguyễn Xuân Sinh, Đỗ Mạnh Dũng, Lại Duy Phương, Phạm Thành Công, 2020. Nuôi vỗ thành thực và kích thích sinh sản cá bóng tro (*Bathygobius fuscus* Ruppell, 1830) tại Hải Phòng. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ - Đại học Đà Nẵng* số 18 tháng 11 năm 2020, trang 62 – 65.

18. Nguyễn Đức Tuấn, Lê Xuân, Nguyễn Hữu Tích và Hoàng Nhật Sơn., 2013. Nghiên cứu ảnh hưởng của một số loại thức ăn tươi sống đến sinh trưởng và tỷ lệ sống của cá Song chuột (*Cromileptes altivelis* Valenciennes, 1828) giai đoạn 0 - 40 ngày tuổi. *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn*, trang 113 - 117.

19. Đặng Ngọc Thanh, Thái Trần Bái, Phạm Văn Miên. Định loại động vật không xương sống nước ngọt Bắc Việt Nam. Nxb Khoa học và Kỹ thuật, 1980, 573 trang.

20. Lê Thị Xuân Thắm, 2004. Khảo sát sự tăng trưởng và thành thực của cá kèo (*Pseudapocrytes elongatus* Cuvier, 1816) ở vùng bãi bồi Tây Ngọc Hiển – Cà Mau và vùng ven biển Bạc Liêu. Đại học Cần Thơ, 2004.

21. Phạm Huy Trung, 2016. Nghiên cứu hoàn thiện quy trình nuôi cá nác hoa (*Boleophthalmus pectinirostris* Linnaeus, 1758) thương phẩm tại vùng bãi bồi ven biển huyện Kim Sơn. Báo cáo tổng kết đề tài cấp tỉnh Ninh Bình.

22. Dương Đức Tiến, 1981. Phân loại thực vật, Thực vật bậc thấp, Nxb Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội, 260 trang.
23. Bùi Minh Tâm, Nguyễn Thanh Phương và Dương Nhựt Long, 2008. Ảnh hưởng của liều lượng và phương pháp tiêm HCG đến sinh sản bán nhân tạo cá lóc bông (*Channa micropeltes*). *Tạp chí Khoa học* 2008 (2), Trường Đại học Cần Thơ, trang 76 - 81.
24. Trương Quốc Phú, Nguyễn Lê Hoàng Yên và Huỳnh Trường Giang, 2006. Giáo trình quản lý chất lượng nước trong nuôi trồng thủy sản. Khoa Thủy sản, trường Đại Học Cần Thơ, 199 trang.
25. Mai Đình Yên, Vũ Trung Tạng, Bùi Lai, Trần Mai Thiên., 1979. *Ngư loại học*. Nxb Đại học và Trung học Chuyên nghiệp.
26. Trần Thanh Lâm, Đinh Minh Quang, Hoàng Đức Huy, 2019. Hình thái ổng tiêu hóa, tính ăn và phổ thức ăn của cá Thòi lòi *Periophthalmodon schlosseri* (Pallas, 1770) phân bố ven biển Trần Đề, Sóc Trăng. *Tạp chí khoa học* 35 – 2019, Trường đại học Cần Thơ, trang 30-38.
27. Trần Thanh Lâm, Đinh Minh Quang, Hoàng Đức Huy, Võ Ngọc Minh Châu, Sơn Sa Men., 2019. Đặc điểm sinh sản của cá thòi lòi *Periophthalmodon schlosseri* (Pallas, 1770) ở ven biển Sóc Trăng và Bạc Liêu. *Tạp chí khoa học* 41 – 2019, Trường đại học Cần Thơ, trang 229-240.
28. Lê Xuân., 2010. Nghiên cứu công nghệ sản xuất giống và nuôi một số loài cá biển giá trị kinh tế cao. *Báo cáo Tổng kết đề tài*. Trung tâm tư liệu Quốc gia.

Tài liệu tiếng nước ngoài

29. Abid A Ansari, Subrata Trivedi., Shalini Saggi, Hasibur Rehman, 2014. Mudskipper: A biological indicator for environmental monitoring and assessment of coastal waters. *Journal of Entomology and Zoology Studies* 2014; 2 (6): 22-33.
30. Ayson F.G., 1991. Induced spawning of rabbitfi sh, *Siganus guttatus* Bloch. Using human chorionic gonadotropin (HCG). *Aquaculture* 95: 133–137.
31. Alayse J.P., (1983). "Application of techniques used for temperate marine fish in breeding *Amphirion ocellaris* Cuvier, 1830", *Proceedings of Marine Aquariology of the Oceanographical Institue*, (10 (5)), pp. 505 – 519.
32. Benemann J. R., 1992. Microalgae aquaculture feeds. *J. Appl. Phyco.*, 4, 233-245.

33. Bell, J. G., McEvoy, L. A., Estevez, A., Shields, R. J., and Sargent, J. R. (2003). Optimising lipid nutrition in first-feeding flatfish larvae. *Aquaculture*, 227(1), 211-220
34. Boyd C.E., 1990. Water quality in ponds for aquaculture. Birmingham Publishing Co. *Birmingham Alabama*. 482p.
35. Boyd C.E., 1998. Water quality for pond aquaculture. Research and development series No. 43 August 1998 international center for aquaculture and aquatic environments Alabama agricultural experiment station Auburn University.
36. Buskey E.J., Coulter C., and Strom S., 1993. Locomotory patterns of microzooplankton: potential effects on food selectivity of larval fish. *Bulletin of Marine Science*, 53(1): 29 - 43.
37. Bunker A. J., and Hirst A. G., 2004. Fecundity of marine planktonic copepods: global rates and patterns in relation to chlorophyll a, temperature and body weight. *Marine Ecology Progress Series*, 279: 161-181.
38. Brilllet C., 1976. Structure du terrier, reproduction et comportement des jeunes chez le poisson amphibie *Periophthalmus sobrinus* Eggert – *Terre et la Vie*, 30 (3): 465 - 483.
39. Chen S. X., Hong W. S., Su Y. Q., and Zhang Q. Y., 2008. Microhabitat selection in the early juvenile mudskipper *Boleophthalmus pectinirostris* (L.). *Journal of Fish Biology*, 72: 585 – 593.
40. Cintra A.K.A., Afdal., Oktaviyani S., Fitriani T., Sjafrie N.D.M., 2020. Pengaruh liang *Boleophthalmus pectinirostris* (Linnaeus, 1758) (Actinopterygii: Gobiidae) terhadap biomassa mikrofitobenthos di ekosistem mangrove Pandansari Brebes Jawa Tengah J. Kelaut. Trop. 23: 90-183.
41. Choi D. U., and Kim J. Y., 2016. Feeding Habits of *Boleophthalmus pectinirostris* in the Intertidal Zone of Beolgyo, Korea Korean Journal of Ichthyology, Vol. 28, (2): 87 - 92.
42. Chung E.Y.; An C.M., and Lee T.Y., 1991. Sexual maturation of the bluespotted mud hopper, *Boleophthalmus pectinirostris* (Linnaeus) – *Bulletin of the Korean Fisheries Society*, 24(3): 167–176.
43. Clayton D.A., 1993. Mudskippers, *Oceanogr. Mar. Bull. Annu. Rev. A.D.* Ansell, R.N. Gibson and Margaret Barnes (eds), UCL Press, 31: 507–577.

44. Caylor E., Biesiot M., Franks S., 1994. Culture of cobia (*R. canadum*) cryopreservation of sperm and induced spawning. *Aquaculture* 125: 81–92.
45. Coutteau P., and Sorgeloos P., 1992. The use of algal substitutes and the requirement for live algae in the hatchery and nursery rearing of bivalve molluscs: an international survey. *Journal of Shellfish Research*, 11(2): 467-476.
46. Cunha I., and Planas M., 1999. Optimal prey size for early turbot larvae (*Scophthalmus maximus* L.) based on mouth and ingested prey size. *Aquaculture*, 175(1): 103-110.
47. Doi M., Ohno A., Taki Y., Singhagraiwan T., and Kohno H., 1997. Nauplii of the calanoid copepod, *Acartia sinjiensis* as an initial food organism for larval red snapper (*Lutjanus argentimaculatus*). *Suisanzoshoku (Japan)*, 45(1): 31-40.
48. Ee-Yung Chung., Ki-Ho Choi., Je-Cheon Jun., Moon-Sul Choi., and Ki-Young Lee., 2009. Ultrastructural Studies on Oocyte Development and Vitellogenesis During Oogenesis in Female. *Animal cells and Systems* 13:49-57.
49. Emata C., Eullaran B., Bagarinao U., 1994. Induced spawning and early life description of the mangrove red snapper, *Lutjanus argentimaculatus*. *Aquaculture* 121: 381-387.
50. Eschmeyer W.N., and etc, 2006. Catalog of fishes. Updated database version of April 2006, Catalog databases as made available to FishBase.
51. Faulk, C.K., Holt, G.J., 2005. Advances in rearing cobia *Rachycentron canadum* larvae in recirculating aquaculture systems: Live prey enrichment and greenwater culture. *Aquaculture* 249, 231-243.
52. Graham J.B., 1997. Air-breathing Fishes. *Evolution, Diversity and Adaptation* – Academic Press, San Diego California, 299.
53. Hagiwara A., Wullur S., Marcial H.S., Hirai N., and Sakakura Y., 2014. Euryhaline rotifer *Proales similis* as initial live food for rearing fish with small mouth. *Aquaculture* 432: 470-474.
54. Hansen M.H., 2011. Effects of feeding with copepod nauplii (*Acartia tonsa*) compared to rotifers (*Brachionus ibericus*, Cayman) on quality parameters in Atlantic cod (*Gadus morhua*) larvae.
55. Harris V.A., 1961. On the locomotion of the mudskipper *Periophthalmus koelreuteri* (Pallas): Gobiidae, *Proceedings of the Zoological Society of London*, 134:

pp. 107-135.

56. Hatzianthanasios A., Paspatis M., Houbart M., Kestemont P., Stefanakis S., Kentouri M., 2002. Survival, growth and feeding in early life stages of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) intensively cultured under different stocking densities. *Aquaculture* 205: 89-102.
57. Head D., Watanabe O., Ellis C., Ellis P., 1996. Hormone-induced multiple spawning of captive Nassau grouper broodstock. *Prog. Fish-Cult.* 58: 65–69.
58. Hoff F., and Snell T., 2008. *Plankton Culture Manual*, 6th edition. Florida Aqua Farms. Inc., Dade City, FL. USA.
59. Hong W., Dai Q.Y., Zhang Q.Y., Zhang J. and Cai Y.Y., 1988. Observations on the early development of the mudskipper *Boleophthalmus pectinirostris* (Linnaeus), *Tropical Oceanology* 2: 1-8.
60. Hong W., and Wang Y.L., 1989. Induction of ovulation in female mudskipper (*Boleophthalmus pectinirostris*), by HCG, analogue of LHRH and Pimozide, *Chinese Journal of Oceanology and Limnology*, 7(3): 283-287.
61. Huys R., and Boxshall G.A., 1991. *Copepod evolution*. Ray Society.
62. Inendino K.R., Grant E.C., Philipp D.P., Goldberg T.L., 2005. Effect of factors related to water quality and population density on the sensitivity of juvenile large mouth bass to mortality induced by viral infection. *Journal of aquatic animal health* 17; 104 – 314.
63. Ip Y.K., and Low W.P., 1990. Lactate Production in the Gills of Mudskipper *Periophthalmodon schlosseri* Exposed to Hypoxia, *Journal of Experimental Zoology*, 253 (1): pp. 99–101.
64. Ishimatsu A., Hishida Y., Takita T., Kanda T., Oikawa S., Takeda T., and Khoo K.H., 1998, Mudskipper Store Air in Their Burrows, *Nature*, 391: 237-238.
65. Ishimatsu A., Takeda T., Kanda T., Oikawa S. & Khoo K.H., 2000. Burrow environment of mudskippers in Malaysia, *Journal of Bioscience*, 11 (1,2):pp. 17-28.
66. Kleppel G.S., Hazzard, S.E., and Burkart C.A., 2005. Maximizing the nutritional values of copepods in aquaculture: managed versus balanced nutrition. *Copepods in Aquaculture*, 352.
67. Knuckey R.M., Semmens G.L., Mayer R.J., and Rimmer M.A., 2005. Development of an optimal microalgal diet for the culture of the calanoid copepod

- (*Acartia sinjiensis*): effect of algal species and feed concentration on copepod development. *Aquaculture*, 249(1): 339-351.
68. Koven W., Barr Y., Lutzky S., Ben-Atia I., Weiss R., Harel M., and Tandler A., 2001. The effect of dietary arachidonic acid (20: 4n- 6) on growth, survival and resistance to handling stress in gilthead seabream (*Sparus aurata*) larvae. *Aquaculture*, 193(1): 107-122.
69. Kreibich, T., Saborowski, R., Hagen, W., and Niehoff, B., 2011. Influence of short-term nutritional variations on digestive enzyme and fatty acid patterns of the calanoid copepod (*Temora longicornis*). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 407(2), 182-189.
70. Kinne O., and Kinne E.M., 1962. Rates of development in embryos of a cyprinodont fish exposed to different temperature - salinity-oxygen combinations. *Canadian Journal of Zoology*, 40(2): 231-253.
71. Kim JK and Jeong S.J., 2007. Growth estimation of 0-aged blue spot mudskipper *Boleophthalmus pectinirostris* using length frequency data. *J Korean Fish Soc* 40, 50-52.
72. King M., 2001. *Fisheries biology assessment and management*, Osney, Oxford, England.
73. Kobayashi T., Dotsu Y., and Takita T., 1971. Nest and Nesting Behaviour of the Mudskipper *Periophthalmus cantonensis* in the Ariake Sound Bulletin of the Faculty of Fisheries, *Nagasaki University*, 32:pp: 27-39.
74. Laurence W.C. và Briand G. (1990). *Reproduction trong Method for Fish Biology*, American Fisheries Society, Bethesda, Maryland, USA.
75. Leatherland J.F; and Cho C.Y; (1985). Effect of rearing density on thyroid and interrenal gland activity and plasma hepatic metabolite levels in rainbow trout, *Salmo gairdneri*, Richardson. *Journal of Fish Biology* 27: 583-592.
76. Lee H.J., and Graham B.J., 2002. Their Game is Mud, *Natural History*, 9/02: pp: 42-47.
77. Lee H.J., Martinez C.A., Hertzberg K.J., Hamilton A.L. and Graham J.B., 2005. Burrow air phase maintenance and respiration by the mudskipper *Scartelaos histophorus* (Gobiidae: Oxudercinae), *The Journal of Experimental Biology*, 208: pp:169–177.

78. Lee Y.J., Choi Y., and Ryu B.S., 1995. A taxonomic revision of the genus *Periophthalmus* from Korea with a description of a new species, *The Korean Journal of Ichthyology*, 7 (2): 120-127.
79. Lee C.S., and Ostrowski A.C., 2001. Current status marine finfish larviculture in the United States. *Aquaculture* 200: 89-109.
80. Liao I.C., Su H.M., Chang E.Y., 2001. Techniques in finfish larviculture in Taiwan. *Aquaculture* 200: 1-31.
81. Lin S., and Fang J.Z., 1995. Studies on the Aquaculture Technique of the Mudskipper (*Boleophthalmus pectinirostris* Linnaeus). *J. Zhejiang college Fish.* 14: 96-104.
82. Lin H.R., and Peter R.E., 1996. Hormones and Spawning in fish. *Asian Fisheries Science*, Manila, Philippines, pp 21-33.
83. Li D., J. Liu, C. Xie., 2012. Effect of stocking density on growth and serum concentrations of thyroid hormones and cortisol in Amur sturgeon, *Acipenser schrenckii*. *Fish Physiology and Biochemistry*, 38 (2): 511-515.
84. Luquet P. và Watanabe T., 1986. "Interaction "nutrition-reproduction" in fish", *Fish Physiology and Biochemistry*, 2(1-4), pp. 121-129.
85. Milward N.E., 1974. Studies on the taxonomy, ecology and physiology of Queensland mudskippers unpub. Ph D. dissertation, *Univ. Of Queensland, Brisbane, Australia*, 276 pp.
86. Miura T., Yamauchi K., Nagahama Y., Takahashi H., 1991. Induction of spermatogenesis in male Japanese eel, *Anguilla japonica*, by a single injection of human chorionic gonadotropin. *Zool. Sci.* 8: 63-73
87. Murdy E.O., 1989. A Taxonomic Revision and Cladistic Analysis of the Oxudercine Gobies (Gobiidae: Oxudercinae) – *Records of the Australian Museum Suppl.* N°11: 1-93.
88. Murdy E.O., Takita T., 1999. *Periophthalmus spilotus*, a new species of mudskipper from Sumatra (Gobiidae: Oxudercinae), *Ichthyological Research*, 46 (4): 367-370.
89. Muller-Feuga, A., Moal, J. & Kaas, R., 2003. The Microalgae of Aquaculture. In *Live feeds in marine aquaculture*. Støttrup, J. G. & McEvoy, L. A. (eds.). Blackwell science Ltd. Oxford. 206-252.

90. Nanami A., and Takegaki T., 2005. Age and growth of the mudskipper *Boleophthalmus pectinirostris* in Ariake Bay, Kyushu, Japan – *Fisheries Research*, 74: 24–34
91. Nelson J.S., (ed), 1994. *Fishes of the World*, 3rd edition. John Wiley & Sons, Inc. Interscience. New York: 600 pp.
92. Ni Y., Q.Y., Zhang. D. F., Chen., 1993. Studies on the larval cultural techniques in the mudskippers. *Ocean Fish*. 15: 56 - 62.
93. Noda S., and Koga H., 1990. Studies on artificial propagation of mud skipper *Boleophthalmus pectinirostris* (Linnaeus) : V. Rearing young fishes in winter. *Bull Saga Prefect Ariake Fish Exp Stn* 12: 7-13
94. O'Bryen P.J., and Lee C.S., 2005. Culture of copepods and applications to marine finfish larval rearing workshop discussion summary. *Copepods in Aquaculture*: 245-253.
95. Papoutsoglou S.B., G Tziha., X Vrettos & A Athanasiou., 1998. Effects of stocking density on behavior and growth rate of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles reared in a closed circulated system. *Aquaculture Engineering*, 18: 135-144.
96. Parenti L R., Jaafar Z., 2017. The natural distribution of mudskipper Fishes Out of Water Ed Z Jaafar and E O Murdy, *Taylor & Francis* chapter 2: 37-68.
97. Patki L.R., Bhalchandra B.L. và Jeevaji I.H.(1989), *An Introduction to microtechnique*, S. Chand & Company, Ltd. Ram Nagar, New Delhi-110055, pp. 28-78.
98. Piper R., 2007. *Extraordinary Animals: An Encyclopedia of Curious and Unusual Animals*, Greenwood Press.
99. Polgar G., Burreson E.M., Stefani F. and Kamrani E., 2009. Leeches on mudskippers: host-parasite interaction at the water's edge, *Journal of Parasitology*, 95(4): 1021-1025. (DOI: 10.1645/GE-1718.1)
100. Qiong Wang., Wanshu Hong., Shixi Chen., and Qiyong Zhang., 2008. Variation with semilunar periodicity of plasma steroid hormone production in the mudskipper *Boleophthalmus pectinirostris*. *Gen Comp Endocrinol. Laboratory of Marine Environmental Science, Xiamen University, Xiamen 361005, China.*
101. Reitan, K.I., Natvik, C.M., Vadstein, O., 1998. Drinking rate, uptake of bacteria

- and microalgae in turbot larvae. *Journal of Fish Biology* 53, 1145-1154.
102. Rowland S.J., Allan G.L., Hollis M., Pontifex T., 2004. Production of silver perch (*Bidyanus bidyanus*) fingerlings at three stocking densities in cages and tanks. *Aquaculture* 229 (1 - 4): 193-202.
103. Rowland S.J., Mifsud C., Nixon M., Boyd P., 2006. Effects of stocking density on the performance of the Australian freshwater silver perch (*Bidyanus bidyanus*) in cages. *Aquaculture* 253: 301-308.
104. Ryu B.S., Kim I.S., and Choi Y., 1995. Ecology and life history of *Boleophthalmus pectinirostris* in Korea. *J Kor Fish Soc* 28: 316-324.
105. Sargent, J., McEvoy, L., Estevez, A., Bell, G., Bell, M., Henderson, J., and Tocher, D., 1999. Lipid nutrition of marine fish during early development: current status and future directions. *Aquaculture*, 179(1), 217-229
106. Shixi Chen, Wanshu Hong, Qiyong Zhang, and Yongquan Su, 2007. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom, Cambridge University Press* 87:2:615-619.
107. Shiota T., Ishimatsu A., and Soyano K., 2003. Effects of temperature on gonadal development of mudskipper (*Periophthalmus modestus*), *Fish Physiology and Biochemistry*. Volume 28: 1-4.
108. Southgate P.C., 2012. Foods and Feeding, In *Aquaculture: Farming aquatic animals and plants*. John Wiley & Sons.
109. Spolaore, P., Joannis-Cassan, C., Duran, E. & Isambert., A. 2006. Commercial applications of microalgae. *J. Bio & Bioengi.*, 101, 87-96.
110. Suteemechaikul N., & Petchrid S., 1986. Effect of stocking density on survival of sea bass (*Lates calcarifer*). In: International Workshop on Management of Wild and Cultured Sea Bass/Barramundi (*Lates calcarifer*), Darwin (Australia), 24-30 Sep 1986. Copland, JW; Grey, DL (Eds). Australian Centre for International Agricultural Research, Canberra (Australia), 142-143.
111. Swanson B.O., Gibb A.C., 2004. "Kinematics of aquatic and terrestrial escape responses in mudskippers." *The Journal of Experimental Biology*, 207 pages: 4037-4044.
112. Tamura S.O., Morii H., and Yuzuriha M., 1976. Respiration of the amphibious fishes *Periophthalmus cantonensis* and *Boleophthalmus chinensis* in water and on land

- faculty of fisheries, nagasaki university, *Japan 7. exp. Biol.* (1976), 65: 97-107.
113. Takegaki T., Fujii T., and Ishimatsu A., 2006. Overwintering habitat and low-temperature tolerance of the young mudskipper *Boleophthalmus pectinirostris*, *Nippon Suisan Gakkaishi*, 72: 880-885.
114. Turker J.W., 2000. Marine fish culture. Kluwer Academic Publishers. Boston/Dordrecht/ London, 750pp.
115. Thornhill D.J. (2012), "Ecological impacts and practices of the coral reef wildlife trade", *Defenders of Wildlife*, 187.
116. Wang jun., Su Yong-quan., 1995. Studies on the biochemical composition energetics and essential amino acids of three mudskippers in xiamen harbour, *institutue of Subtropical Oceanography*, Xiamen University, 361005, Xiamen, Chin.J. Oceanol. Limnol, vol.13 (4).
117. Watanabe T., Kiron V. and Satoh S. (1997), "Trace minerals in fish nutrition", *Aquaculture*, 151(1-4), pp. 185-207.
118. Washio M., Tsutsui M. and Takita T., 1991. Age and growth of the mudskipper *Boleophthalmus pectinirostris* distributed in the mud flat of the Midori River, Kumamoto prefecture, *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries (Nippon Suisan Gakkaishi)*, 57(4): 637–644.
119. Washio M, Komiya S and Takita T., 1993. Maturation of the mudskipper *Boleophthalmus pectinirostris* distributed in the mud flats of the Midori river, Kumamoto Prefecture. *Nippon Suisan Gakkaishi* 59, 575-580.
120. Wullur S., Sakakura Y., and Hagiwara A., 2009. The minute monogonont rotifer (*Proales similis* de Beauchamp): Culture and feeding to small mouth marine fishlarvae. *Aquaculture*, 293(1): 62-67.
121. Wullur S., Sakakura Y., and Hagiwara A., 2011. Application of the minute monogonont rotifer (*Proales similis* de Beauchamp) in larval rearing of seven-band grouper (*Epinephelus septemfasciatus*). *Aquaculture*, 315(3), 355-360.
122. Yang K.Y.; Lee S.Y., and Williams G.A., 2003. Selective feeding by the mudskipper (*Boleophthalmus pectinirostris*) on the microalgal assemblage of a tropical mudflat, *Marine Biology*, 143: 245–256.
123. Yúfera M., and Darias M. J., 2007. The onset of exogenous feeding in marinefish larvae. *Aquaculture*, 268(1): 53-63.

124. Zhang Q.Y., Hong W.S., Y. Q.W., Chen S. J., G. Q., 2005. Initial feeding of early larvae *Boleophthalmus pectinirostris* in ear then pond rearing, *Marine fisheries research*, Vol.26 (4).
125. Zhang Q.Y., Hong W.S., Dai Q.N., Zhang J., Cai Y.Y., Huang J.L., 1989. Studies on induced ovulation, embryonic development and larval rearing of the mudskipper (*Boleophthalmus pectinirostris*), *Aquaculture*, 83: pp.375–385.
126. Zhang Q.Y., Hong W.S., Chen S. J., 2006. Spawning habits of *Boleophthalmus pectinirostris* in intertidal mudflat and hatching experiment of natural fertilized eggs. *Journal of tropical oceanography*. Vol. 25.

Tài liệu trang web

127. [Http://www.FAO.org](http://www.FAO.org)
128. [Http://www.fishbase.org](http://www.fishbase.org)
129. http://translate.googleusercontent.com/translate_c?hl=vi&sl=zh-N&u=http://shuichan.d288.com/scfz/345668533.html&prev=/search%3Fq%3D%2522Boleophthalmus%2Bpectinirostris%2522%26start%3D50%26hl%3Dvi%26lr%3D%26cr%3DcountryCN%26sa%3DN%26as_qdr%3Dall&rurl=translate.google.com.vn&usg=ALkJrhgT1I9RracpFqofkATOwKkaWZjJfg

PHỤ LỤC

Phụ lục 1: Số liệu thu mẫu sinh học cá nóc

Số liệu điều tra cá nóc cái tháng 1											
TT	L _{tt} (cm)	L _{bò đuôi} (cm)	W _{tt} (g)	W _{bò nội quan} (g)	Độ béo Fullton	Độ béo Clack	W _{buồng trứng}	Hệ số thành thực	W _{bt} kiểm tra	Số trứng	Tuổi
1	9,10	7,77	8,87	7,22	1,89	1,54	0,01	0,14			1+
2	9,42	8,15	9,50	8,52	1,75	1,57	0,02	0,23			2+
3	9,37	8,03	9,46	7,91	1,83	1,53	0,03	0,38			1+
4	10,48	9,02	12,07	10,23	1,64	1,39	0,03	0,29			2+
5	10,22	9,45	11,43	9,89	1,35	1,17	0,04	0,37			2+
6	11,76	10,60	16,32	14,87	1,37	1,25	0,05	0,34			2+
7	12,40	11,06	16,58	15,02	1,23	1,11	0,06	0,37			3+
8	8,76	7,40	9,09	7,33	2,24	1,81	0,06	0,82			1+
9	8,50	7,53	8,66	7,10	2,03	1,66	0,06	0,86			1+
10	12,76	11,67	17,37	15,56	1,09	0,98	0,07	0,45			3+
11	10,45	9,19	12,00	9,94	1,55	1,28	0,08	0,80			2+
12	10,39	8,85	11,76	9,71	1,70	1,40	0,09	0,93			2+
13	10,38	8,56	11,74	9,80	1,87	1,56	0,08	0,82			2+
14	12,64	11,83	17,26	15,78	1,04	0,95	0,05	0,32			2+
15	12,72	11,79	17,80	16,10	1,09	0,98	0,06	0,37			3+
16	12,51	11,77	17,35	15,48	1,06	0,95	0,06	0,39			3+
17	10,70	9,64	13,16	11,54	1,47	1,29	0,05	0,43			3+
18	10,80	9,57	12,80	10,98	1,46	1,25	0,09	0,82			3+
19	10,64	9,48	12,39	10,54	1,45	1,24	0,09	0,85			2+
20	10,94	9,86	13,16	11,31	1,37	1,18	0,05	0,44			2+
TB	10, 75±0,63	9, 56±0,69	12, 93±1,48	11, 24±1,46	1, 522±0,15	1, 30±0,12	1, 69±0,12	0, 06±0,01			

Số liệu điều tra cá nác cái tháng 2											
TT	Ltt (cm)	Lbỏ đuôi (cm)	Wtt (g)	W bỏ nội Quan (g)	Độ béo Fullton	Độ béo Clack	Wbùng trứng	Hệ số thành thực	Wbt kiểm tra	Số trứng	Tuổi
1	9,31	8,45	9,32	8,42	1,55	1,40	0,01	0,18			1+
2	9,44	8,56	9,61	8,76	1,53	1,40	0,04	0,46			1+
3	10,73	8,76	12,83	11,57	1,91	1,72	0,08	0,69			2+
4	9,3	7,43	9,34	8,34	2,28	2,03	0,11	1,34			1+
5	9,35	7,90	9,41	8,41	1,91	1,71	0,11	1,34			1+
6	10,38	8,52	11,95	10,66	1,93	1,72	0,13	1,22			2+
7	12,32	10,46	14,35	12,53	1,25	1,09	0,13	1,04			2+
8	12,8	10,94	14,67	13,33	1,12	1,02	0,13	0,98			3+
9	12,72	10,80	15,44	14,20	1,23	1,13	0,14	0,99			2+
10	12,3	10,35	14,34	13,10	1,29	1,18	0,15	1,14			2+
11	11,8	9,94	15,93	14,69	1,62	1,50	0,16	1,09			2+
12	10,4	8,54	11,87	10,64	1,91	1,71	0,17	1,60			2+
13	12,87	11,01	16,28	14,67	1,22	1,10	0,17	1,16			3+
14	10,34	8,47	11,64	10,41	1,92	1,71	0,18	1,73			2+
15	9,85	7,99	10,54	9,46	2,07	1,85	0,19	2,06			2+
16	10,33	8,47	11,76	10,51	1,94	1,73	0,13	1,24			2+
17	10,95	9,06	13,36	12,27	1,80	1,65	0,14	1,14			2+
18	9,86	8,00	10,49	9,40	2,05	1,84	0,12	1,28			2+
19	10,24	8,47	11,48	10,35	1,89	1,70	0,18	1,74			2+
20	10,26	8,40	11,52	10,38	1,94	1,75	0,15	1,45			2+
TB	10,78±0,58	9,03±0,52	12,31±1,05	11,10±0,98	1,72±0,16	0,13±0,02	1,19±0,20				

Số liệu điều tra cá nác cái tháng 3											
TT	L _{tt} (cm)	L _{bỏ đuôi} (cm)	W _{tt} (g)	W _{bỏ nội quan} (g)	Độ béo Fullton	Độ béo Clack	W _{buồng trứng}	Hệ số thành thực	W _{bt} kiểm tra	Số trứng	Tuổi
1	10,48	9,84	11,71	11,10	1,23	1,17	0,53	4,74			3+
2	10,48	9,83	11,79	11,18	1,24	1,18	0,53	4,74			2+
3	9,55	8,93	9,58	8,92	1,34	1,25	0,58	6,47			1+
4	10,45	9,82	11,63	10,30	1,23	1,09	1,25	12,15	0,19	980	3+
5	9,74	9,10	10,01	9,34	1,33	1,24	0,59	6,31			2+
6	9,41	8,73	9,26	8,59	1,39	1,29	0,59	6,92			1+
7	9,47	8,81	9,40	8,72	1,37	1,28	0,60	6,86			1+
8	9,56	8,91	9,53	8,84	1,35	1,25	0,61	6,91			1+
9	9,47	8,80	9,45	8,76	1,39	1,29	0,61	6,98			1+
10	9,82	9,15	10,19	9,50	1,33	1,24	0,61	6,47			2+
11	10,24	9,60	11,24	10,54	1,27	1,19	0,62	5,92			2+
12	9,81	9,18	10,17	9,46	1,31	1,22	0,63	6,67			2+
13	10,46	9,80	11,66	10,94	1,24	1,16	0,64	5,82			2+
14	10,00	9,32	10,54	9,76	1,30	1,21	0,70	7,19	0,12	630	2+
15	11,74	11,10	13,70	12,78	1,00	0,93	0,84	6,57			3+
16	13,24	12,62	18,57	17,62	0,92	0,88	0,87	4,96	0,23	1. 147	2+
17	11,72	11,03	14,04	13,07	1,05	0,97	0,89	6,81	0,26	1. 319	2+
18	10,29	9,62	11,24	10,26	1,26	1,15	0,90	8,75	0,28	1.417	2+
19	11,87	11,23	14,76	13,78	1,04	0,97	0,90	6,53	0,3	1.487	2+
20	12,44	11,84	16,08	15,03	0,97	0,91	0,97	6,45	0,18	937	3+
21	12,02	11,36	14,85	13,75	1,01	0,94	1,00	7,27	0,26	1.310	3+
22	12,49	11,80	16,02	14,73	0,98	0,90	1,19	8,08	0,42	2.169	2+
23	11,70	11,04	14,26	12,96	1,06	0,96	1,20	9,26	0,22	1.162	3+
24	11,54	10,91	14,34	12,86	1,10	0,99	1,08	8,40	0,16	858	3+
25	10,22	9,58	11,26	9,56	1,28	1,09	1,24	12,97	0,32	1.647	3+
26	13,62	12,97	19,21	17,22	0,88	0,79	1,23	7,14	0,35	1.823	3+
TB	10,84±0,50	10,19±0,50	12,48±1,15	11,52±1,06	1,19±0,07	1,10±0,06	0,82±0,10	7,21±0,77			

Số liệu điều tra cá nác cái tháng 4

TT	L _{tt} (cm)	L _{bỏ đuôi} (cm)	W _{tt} (g)	W _{bỏ nội quan} (g)	Độ béo Fullton	Độ béo Clack	W _{buồng trứng}	Hệ số thành thực	W _{bt} kiểm tra	Số trứng	Tuổi
1	10,41	9,21	12,01	11,33	1,54	1,45	0,08	0,71			1+
2	8,46	7,25	9,02	8,32	2,37	2,18	0,10	1,20			1+
3	9,14	7,95	9,68	8,96	1,93	1,78	0,12	1,34			1+
4	9,65	8,40	10,08	9,34	1,70	1,58	0,14	1,53			1+
5	9,33	8,09	9,37	8,72	1,77	1,65	0,15	1,72			2+
6	9,28	8,30	9,20	8,43	1,61	1,47	0,17	1,96			1+
7	10,10	8,88	11,14	10,36	1,59	1,48	0,18	1,70			1+
8	9,35	8,46	9,41	8,83	1,55	1,46	0,20	2,27			2+
9	10,14	8,96	11,15	10,35	1,55	1,44	0,20	1,98			2+
10	11,84	10,63	15,01	12,96	1,25	1,08	0,24	1,85			2+
11	11,35	10,15	14,54	13,20	1,39	1,26	0,25	1,89			2+
12	9,15	8,00	8,98	8,12	1,75	1,59	0,26	3,19			1+
13	10,64	9,40	12,48	11,12	1,50	1,34	0,27	2,43			2+
14	9,37	8,17	9,41	8,54	1,73	1,57	0,27	3,19			2+
15	11,37	10,14	14,48	12,49	1,39	1,20	0,29	2,32			2+
16	14,70	13,46	16,37	14,44	0,67	0,59	0,31	2,15			2+
17	12,36	11,10	15,60	13,60	1,14	0,99	0,35	2,57			3+
18	14,02	12,86	16,48	14,32	0,77	0,67	0,36	2,51			2+
19	13,61	12,37	15,74	13,68	0,83	0,72	0,40	2,92			3+
20	10,38	9,10	11,74	10,72	1,56	1,42	0,42	3,90			2+
21	10,01	8,80	10,92	9,84	1,60	1,44	0,48	4,89			2+
22	9,52	8,31	9,79	8,64	1,71	1,51	0,55	6,36			2+
23	10,25	9,08	11,55	10,33	1,54	1,38	0,62	5,99			2+
24	10,33	9,15	11,76	10,54	1,54	1,38	0,62	5,90			2+
25	10,46	9,20	12,43	11,09	1,60	1,42	0,74	6,67	0,41	2,017	2+
26	10,52	9,32	12,09	10,39	1,49	1,28	1,10	10,55	0,37	1,968	3+
TB	10,61±0,63	9,41±0,63	11,94±0,99	10,72±0,81	1,50±0,14	1,36±0,14	0,34±0,09	3,22±0,91			

Số liệu điều tra cá nác cái tháng 5											
TT	L _{tt} (cm)	L _{bó đuôi} (cm)	W _{tt} (g)	W _{bó nội quan} (g)	Độ béo Fullton	Độ béo Clack	W _{buồng trứng}	Hệ số thành thực	W _{bt} kiểm tra	Số trứng	Tuổi
1	13,07	12,00	16,24	15,41	0,94	0,89	0,38	2,47			3+
2	10,95	9,83	13,19	12,30	1,39	1,29	0,44	3,57			2+
3	11,62	10,53	15,93	14,99	1,36	1,28	0,49	3,26			3+
4	11,45	10,36	14,18	13,24	1,28	1,19	0,49	3,70			2+
5	10,00	8,92	10,90	9,91	1,54	1,40	0,54	5,43			1+
6	10,90	9,81	13,06	12,07	1,38	1,28	0,54	4,46			2+
7	11,34	10,20	14,63	13,64	1,38	1,29	0,54	3,96			1+
8	10,74	9,62	12,73	11,74	1,43	1,32	0,54	4,62			2+
9	10,68	9,60	12,65	11,65	1,43	1,32	0,55	4,72			1+
10	10,64	9,52	12,53	11,52	1,45	1,34	0,56	4,84			2+
11	9,31	8,20	9,26	8,25	1,68	1,50	0,56	6,79			1+
12	10,41	9,35	11,81	10,80	1,45	1,32	0,56	5,21			1+
13	10,84	9,71	13,12	12,10	1,43	1,32	0,57	4,70			2+
14	10,58	9,46	12,32	11,30	1,46	1,33	0,57	5,07			2+
15	10,53	9,40	12,26	11,23	1,48	1,35	0,58	5,20			1+
16	13,42	12,36	16,41	15,37	0,87	0,81	0,59	3,84			1+
17	10,84	9,74	12,90	11,86	1,40	1,28	0,59	4,99			2+
18	11,84	10,71	15,81	14,76	1,29	1,20	0,60	4,09			3+
19	12,67	11,57	15,38	14,32	0,99	0,92	0,61	4,26			3+
20	10,75	9,70	12,88	11,82	1,41	1,30	0,61	5,18			2+
21	10,64	9,51	12,39	11,32	1,44	1,32	0,62	5,47	0,32	1,556	1+
22	11,38	10,22	15,34	14,25	1,44	1,33	0,64	4,49	0,32	1,545	1+
23	13,24	12,15	16,95	15,83	0,95	0,88	0,67	4,23			2+
24	13,60	12,52	17,35	16,13	0,88	0,82	0,77	4,77			3+
25	10,65	9,56	11,62	10,25	1,33	1,17	0,92	8,93	0,30	1,494	2+
TB	1,28±0,46	10,18±0,46	13,64±0,85	1,32±0,80	1,22±0,08	0,5±0,04	4,73±0,50				

Số liệu điều tra cá nác cái tháng 6											
TT	L_{tt} (cm)	L_{bỏ đuôi} (cm)	W_{tt} (g)	W_{bỏ nội quan} (g)	Độ béo Fullton	Độ béo Clack	W_{buồng trứng}	Hệ số thành thực	W_{bt} kiểm tra	Số trứng	Tuổi
1	9,54	8,60	9,77	9,18	1,54	1,44	0,14	1,51			1+
2	9,6	8,68	9,91	9,31	1,52	1,42	0,14	1,49			1+
3	10,43	9,51	11,80	11,15	1,37	1,30	0,19	1,72			2+
4	10,18	9,20	11,32	10,64	1,45	1,37	0,22	2,04			2+
5	10,49	9,58	11,95	11,23	1,36	1,28	0,26	2,33			2+
6	10,33	9,40	11,56	10,81	1,39	1,30	0,29	2,64			2+
7	9,25	8,31	9,07	8,36	1,58	1,46	0,29	3,47			1+
8	11,12	10,23	13,64	12,87	1,27	1,20	0,31	2,41			2+
9	10,43	9,53	11,95	11,18	1,38	1,29	0,31	2,79			2+
10	10,54	9,60	13,23	12,46	1,50	1,41	0,31	2,51			2+
11	10,37	9,44	12,72	11,84	1,51	1,41	0,42	3,58			2+
12	9,32	8,37	9,29	8,39	1,58	1,43	0,44	5,23			1+
13	9,65	8,74	10,02	9,12	1,50	1,37	0,44	4,81			1+
14	10,35	9,42	11,69	10,79	1,40	1,29	0,44	4,06			2+
15	9,30	8,37	9,40	8,39	1,60	1,43	0,55	6,58			1+
16	14,25	13,36	16,71	15,67	0,70	0,66	0,58	3,70			2+
17	11,9	11,05	14,70	13,56	1,09	1,01	0,68	5,01			2+
18	15,4	14,45	18,40	17,22	0,61	0,57	0,72	4,18			2+
19	11,33	10,46	14,56	13,34	1,27	1,17	0,76	5,70			2+
20	10,73	9,76	14,26	13,00	1,53	1,40	0,80	6,18	0,32	1.641	2+
21	13,46	12,54	16,32	14,81	0,83	0,75	1,05	7,09	0,14	758	3+
22	10,32	9,41	11,53	9,87	1,38	1,18	1,20	12,17	0,20	1.047	3+
TB	10,83±0,71	9,91±0,72	12,45±1,14	11,51±1,0	1,34±0,13	1,23±0,11	0,48±0,13	4,15±1,09			

Số liệu điều tra cá nác cái tháng 7

TT	L _{tt} (cm)	L _{bó đuôi} (cm)	W _{tt} (g)	W _{bó nội quan} (g)	Độ béo Fullton	Độ béo Clack	W _{buồng trứng}	Hệ số thành thực	W _{bt} kiểm tra	Số trứng	Tuổi
1	13,24	11,64	18,26	17,15	1,16	1,09	0,56	3,27			3+
2	11,45	9,89	13,41	12,26	1,39	1,27	0,60	4,90			2+
3	10,69	9,14	12,73	11,57	1,67	1,52	0,61	5,24			2+
4	11,87	10,30	15,54	14,38	1,42	1,32	0,61	4,24			2+
5	10,45	8,86	11,91	10,75	1,71	1,55	0,61	5,69			2+
6	10,21	8,63	11,32	10,16	1,76	1,58	0,61	6,04			2+
7	9,58	8,01	9,92	8,76	1,93	1,70	0,61	7,02			1+
8	11,67	10,11	17,91	16,74	1,73	1,62	0,62	3,71			3+
9	10,84	9,27	12,90	11,73	1,62	1,47	0,62	5,31			2+
10	10,83	9,20	12,97	11,79	1,67	1,51	0,63	5,31			2+
11	9,94	8,32	10,76	9,57	1,87	1,66	0,64	6,64	0,19	889	1+
12	10,16	8,54	11,33	10,14	1,82	1,63	0,64	6,30	0,20	1.009	1+
13	10,66	9,06	12,44	11,24	1,67	1,51	0,65	5,78			2+
14	11,76	10,18	14,17	12,97	1,34	1,23	0,65	5,01			3+
15	9,57	8,00	9,83	8,63	1,92	1,69	0,65	7,57	0,17	768	1+
16	9,94	8,33	10,76	9,55	1,86	1,65	0,66	6,86	0,26	1.203	1+
17	12,96	11,38	15,47	14,26	1,05	0,97	0,66	4,63			2+
18	9,35	7,75	9,41	8,20	2,02	1,76	0,66	8,08	0,42	2.085	1+
19	10,11	8,51	11,08	9,87	1,80	1,60	0,66	6,72	0,40	2.001	1+
20	10,50	8,92	12,04	10,82	1,70	1,52	0,67	6,16			2+
21	10,26	8,68	11,59	10,37	1,77	1,59	0,67	6,45			2+
22	10,39	8,82	11,91	10,68	1,74	1,56	0,68	6,38			2+
23	13,32	11,73	18,24	17,00	1,13	1,05	0,69	4,06			3+
24	12,88	10,30	15,62	14,26	1,43	1,30	0,81	5,68	0,26	1.347	2+
25	11,48	9,03	13,36	12,00	1,81	1,63	0,81	6,76			3+
26	13,15	11,53	17,62	16,21	1,15	1,06	0,86	5,31			3+
TB	11,05±0,49	9,39±0,48	13,17±1,08	11,96±1,07	1,62±0,11	1,46±0,09	0,66±0,03	5,73±0,48			

Số liệu điều tra cá nác cái tháng 8

TT	L _{tt} (cm)	L _{bỏ đuôi} (cm)	W _{tt} (g)	W _{bỏ nội quan} (g)	Độ béo Fullton	Độ béo Clack	W _{buồng trứng}	Hệ số thành thực	W _{bt} kiểm tra	Số trứng	Tuổi
1	9,16	7,90	8,94	8,03	1,81	1,63	0,56	6,95			1+
2	9,24	8,03	9,17	8,21	1,77	1,59	0,61	7,46			1+
3	9,74	8,52	10,29	9,32	1,66	1,51	0,62	6,65	0,18	826	1+
4	10,21	8,93	11,32	10,20	1,59	1,43	0,78	7,61	0,35	1.756	1+
5	10,40	9,14	11,94	10,81	1,56	1,42	0,78	7,19	0,20	1.028	2+
6	10,32	9,12	11,80	10,67	1,56	1,41	0,78	7,33	0,32	1.639	1+
7	10,30	9,03	11,62	10,47	1,58	1,42	0,80	7,67	0,36	1.836	1+
8	10,18	8,98	11,33	10,17	1,56	1,40	0,81	7,96	0,21	1.084	2+
9	10,51	9,24	12,06	10,89	1,53	1,38	0,82	7,54			2+
10	10,68	9,48	12,58	11,38	1,48	1,34	0,85	7,45	0,24	1.240	2+
11	10,72	9,51	12,80	11,59	1,49	1,35	0,86	7,46	0,21	1.052	2+
12	10,76	9,50	12,86	11,62	1,50	1,36	0,89	7,62	0,24	1.224	2+
13	12,78	11,52	13,61	12,34	0,89	0,81	0,92	7,46	0,22	1.122	2+
14	13,26	12,00	15,62	14,34	0,90	0,83	0,93	6,49	0,28	1.402	2+
15	13,38	12,10	15,87	14,58	0,90	0,82	0,94	6,45	0,36	1.876	2+
16	12,92	11,70	14,33	13,04	0,89	0,81	0,94	7,21	0,40	2.048	2+
17	12,84	11,63	13,72	12,42	0,87	0,79	0,95	7,64			3+
18	13,94	12,73	16,04	14,72	0,78	0,71	0,97	6,59	0,25	1.305	3+
19	14,35	13,16	17,15	15,81	0,75	0,69	0,99	6,23	0,32	1.615	3+
20	14,37	13,11	17,19	15,84	0,76	0,70	1,00	6,32	0,24	1.251	3+
21	14,26	13,05	16,31	14,94	0,73	0,67	1,02	6,83	0,22	1.159	3+
TB	11, 63±0,82	10, 40±0,83	13, 17±1,12	11, 97±1,07	1, 27±0,18	1, 15±0,16	0, 85±0,06	7, 15±0,24			

Số liệu điều tra cá nác cái tháng 9

TT	L _{tt} (cm)	L _{bỏ đuôi} (cm)	W _{tt} (g)	W _{bỏ nội quan} (g)	Độ béo Fullton	Độ béo Clack	W _{buồng trứng}	Hệ số thành thực	W _{bt} kiểm tra	Số trứng	Tuổi
1	10,24	9,73	13,14	12,32	1,43	1,34	0,22	1,76			2+
2	10,35	9,86	11,75	10,93	1,23	1,14	0,22	2,01			2+
3	10,93	10,40	13,38	12,56	1,19	1,12	0,22	1,75			2+
4	10,37	9,84	12,86	12,03	1,35	1,26	0,23	1,92			2+
5	10,47	10,00	12,96	12,13	1,30	1,21	0,23	1,91			2+
6	10,36	9,88	12,89	12,05	1,34	1,25	0,24	1,95			2+
7	10,38	9,82	12,74	11,90	1,35	1,26	0,24	2,01			2+
8	9,35	8,79	9,35	8,50	1,38	1,25	0,25	2,91			2+
9	10,16	9,68	11,20	10,31	1,24	1,14	0,29	2,84			2+
10	9,25	8,76	9,19	8,30	1,37	1,23	0,29	3,55			2+
11	11,80	11,37	15,70	14,80	1,07	1,01	0,30	2,01			3+
12	9,64	9,12	10,06	9,16	1,33	1,21	0,30	3,28			2+
13	10,94	10,43	13,26	12,35	1,17	1,09	0,31	2,47			2+
14	9,25	8,73	9,19	8,28	1,38	1,24	0,31	3,80			1+
15	9,15	8,65	8,98	8,06	1,39	1,25	0,32	3,96			1+
16	12,18	11,62	17,11	16,18	1,09	1,03	0,33	2,07			3+
17	9,21	8,70	9,11	8,30	1,38	1,26	0,34	4,10			1+
18	10,84	10,36	13,90	12,12	1,25	1,09	0,34	2,81			2+
19	10,23	9,74	11,37	10,42	1,23	1,13	0,35	3,38			2+
20	11,32	10,81	14,24	12,65	1,13	1,00	0,46	3,64			2+
21	10,65	10,13	13,62	12,02	1,31	1,16	0,51	4,24			2+
22	9,40	8,91	9,56	8,44	1,35	1,19	0,52	6,19			2+
TB	10, 29±0,37	9, 79±0,38	12, 07±1,01	11, 08±0,99	1, 28±0,05	1, 18±0,04	0, 31±0,04	2,93±0,49			

Số liệu điều tra cá nác cái tháng 10

TT	L _{tt} (cm)	L _{bỏ đuôi} (cm)	W _{tt} (g)	W _{bỏ nội quan} (g)	Độ béo Fullton	Độ béo Clack	W _{buồng trứng}	Hệ số thành thực	W _{bt} kiểm tra	Số trứng	Tuổi
1	10,25	9,27	11,61	10,87	1,46	1,36	0,02	0,18			1+
2	9,84	8,91	10,52	9,76	1,49	1,38	0,02	0,20			1+
3	9,84	8,90	10,52	9,75	1,49	1,38	0,02	0,21			2+
4	10,25	9,32	11,50	10,72	1,42	1,32	0,03	0,28			2+
5	10,25	9,30	11,42	10,64	1,42	1,32	0,04	0,38			2+
6	9,27	8,31	9,24	8,45	1,61	1,47	0,04	0,47			2+
7	9,41	8,43	9,54	8,75	1,59	1,46	0,02	0,23			2+
8	9,35	8,38	9,46	8,67	1,61	1,47	0,04	0,46			2+
9	10,32	9,36	11,72	10,92	1,43	1,33	0,06	0,55			2+
10	10,36	9,42	11,84	11,03	1,42	1,32	0,05	0,45			2+
11	9,54	8,45	9,70	8,89	1,61	1,47	0,05	0,56			2+
12	10,84	9,00	13,14	12,32	1,80	1,69	0,06	0,49			2+
13	11,23	10,27	11,13	10,31	1,03	0,95	0,02	0,19			2+
14	11,4	10,47	11,54	10,72	1,01	0,93	0,06	0,56			2+
15	10,84	9,90	13,12	12,26	1,35	1,26	0,01	0,08			2+
16	10,84	9,91	12,99	12,12	1,33	1,25	0,01	0,08			2+
17	11,29	10,32	11,28	10,36	1,03	0,94	0,10	0,97			2+
18	11,45	10,51	11,66	10,72	1,00	0,92	0,05	0,47			2+
19	11,83	10,89	12,62	11,67	0,98	0,90	0,06	0,51			2+
20	12	11,08	16,63	15,66	1,22	1,15	0,06	0,38			2+
TB	10, 52±0,39	9, 52±0,40	11, 56±0,79	10, 73±0,77	1, 36±0,11	1, 27±0,11	0, 04±0,01	0, 39±0,1			

Số liệu điều tra cá nác cái tháng 11											
TT	L _{tt} (cm)	L _{bỏ đuôi} (cm)	W _{tt} (g)	W _{bỏ nội quan} (g)	Độ béo Fullton	Độ béo Clack	W _{bùồng trứng}	Hệ số thành thực	W _{bt} kiểm tra	Số trứng	Tuổi
1	9,12	8,51	8,91	8,18	1,45	1,33	0,04	0,49			1+
2	9,31	8,70	9,26	8,49	1,41	1,29	0,02	0,24			1+
3	9,35	8,76	9,41	8,70	1,40	1,29	0,03	0,37			1+
4	9,37	8,78	9,41	8,64	1,39	1,28	0,03	0,35			1+
5	9,45	8,84	9,63	8,86	1,39	1,28	0,02	0,23			1+
6	9,47	8,88	9,68	8,91	1,38	1,27	0,01	0,11			1+
7	10,34	9,75	11,84	11,00	1,28	1,19	0,02	0,18			1+
8	10,47	9,83	12,05	11,17	1,27	1,18	0,01	0,09			2+
9	10,84	10,23	13,12	12,32	1,23	1,15	0,01	0,08			2+
10	10,90	10,32	13,06	12,15	1,19	1,11	0,01	0,08			2+
11	10,93	10,31	12,54	11,66	1,14	1,06	0,01	0,09			2+
12	10,79	10,20	12,99	12,16	1,22	1,15	0,02	0,16			2+
13	10,86	10,25	12,95	12,13	1,20	1,13	0,02	0,16			2+
14	10,46	9,84	12,14	11,32	1,27	1,19	0,03	0,27			2+
15	10,60	10,05	12,29	11,47	1,21	1,13	0,03	0,26			2+
16	10,90	10,28	13,30	12,38	1,22	1,14	0,03	0,24			2+
17	10,17	9,54	11,23	10,36	1,29	1,19	0,05	0,48			2+
18	10,28	9,67	11,70	10,91	1,29	1,21	0,02	0,18			2+
19	10,98	10,40	13,44	12,70	1,19	1,13	0,02	0,16			2+
20	10,96	10,35	13,38	12,51	1,21	1,13	0,01	0,08			2+
21	10,25	9,67	11,42	10,68	1,26	1,18	0,06	0,57			2+
22	10,22	9,63	11,43	10,63	1,28	1,19	0,01	0,09			2+
23	9,60	9,01	10,01	9,24	1,37	1,26	0,02	0,22			2+
24	11,34	10,76	14,39	13,56	1,16	1,09	0,01	0,07			2+
25	11,34	10,71	14,59	13,72	1,19	1,12	0,03	0,22			2+
26	12,34	11,80	17,30	16,32	1,05	0,99	0,01	0,06			2+
27	9,50	8,92	9,89	8,91	1,39	1,26	0,03	0,34			2+
28	11,39	10,79	15,53	14,54	1,24	1,16	0,02	0,14			2+
TB	10, 41±0,31	9, 81±0,31	12, 03±0,80	11, 20±0,78	1, 27±0,04	1, 18±0,03	0, 02±0,00	0, 21±0,05			

Số liệu điều tra cá nác cái tháng 12

TT	L _{tt} (cm)	L _{bó đuôi} (cm)	W _{tt} (g)	W _{bó nội quan} (g)	Độ béo Fullton	Độ béo Clack	W _{buồng trứng}	Hệ số hành thực	W _{bt} kiểm tra	Số trứng	Tuổi
1	9,00	8,41	7,96	7,11	1,34	1,20	0,01	0,14			1+
2	9,40	8,76	8,86	8,66	1,32	1,29	0,01	0,07			1+
3	9,47	8,84	8,91	8,70	1,29	1,26	0,01	0,07			1+
4	10,32	9,71	10,97	10,62	1,20	1,16	0,01	0,09			1+
5	10,43	9,84	11,16	10,71	1,17	1,12	0,01	0,09			1+
6	10,75	10,46	12,18	11,74	1,06	1,03	0,01	0,09			1+
7	10,82	10,23	12,15	11,70	1,13	1,09	0,01	0,09			2+
8	10,94	10,30	12,28	11,20	1,12	1,02	0,01	0,09			2+
9	10,62	10,06	11,79	11,35	1,16	1,11	0,01	0,09			2+
10	10,34	9,76	10,94	10,53	1,18	1,13	0,02	0,19			2+
11	10,67	10,08	11,85	11,47	1,16	1,12	0,01	0,09			2+
12	10,00	9,42	10,32	9,86	1,23	1,18	0,02	0,20			2+
13	11,39	10,80	14,82	14,32	1,18	1,14	0,01	0,07			2+
14	11,95	11,35	15,44	14,98	1,06	1,02	0,01	0,07			2+
15	10,26	9,62	10,94	10,45	1,23	1,17	0,01	0,10			2+
16	10,95	10,36	12,49	11,48	1,12	1,03	0,01	0,09			2+
17	11,81	11,23	15,03	14,63	1,60	1,03	0,01	0,07			2+
18	12,11	11,52	15,73	15,28	1,03	1,00	0,01	0,07			2+
19	12,16	11,60	16,29	15,87	1,04	1,02	0,01	0,06			2+
20	12,47	11,89	16,81	16,39	1,47	0,98	0,01	0,06			2+
21	9,86	9,28	9,87	9,32	1,23	1,17	0,02	0,21			2+
22	9,36	8,75	8,73	7,89	1,30	1,18	0,02	0,25			2+
23	9,46	8,88	8,96	8,41	1,28	1,20	0,01	0,12			2+
24	10,19	9,57	10,65	10,20	1,22	1,16	0,03	0,29			2+
TB	10, 61±0,41	10, 03±0,42	11, 88±1,09	11, 37±1,10	1, 21±0,06	1, 12±0, 04	0, 01±0,00	0, 12±0,03			

TT	Số liệu điều tra cá nác đực tháng 1									
	L _{tt} (mm)	L _{bỏ đuôi} (mm)	W _{tt} (gr)	W _{bỏ đuôi} (gr)	Độ béo		Tuổi	Khối lượng TSD (gr)	HSTT (%)	Giai đoạn TSD
					Fullton	Clack				
1	9,6	8,42	8,66	7,26	0,98	0,82	1 ⁺	0,11	0,013	
2	9,41	8,23	7,19	6,08	0,86	0,73	2	0,32	0,045	
3	7,927	6,75	6,49	5,14	0,00	0,00	1 ⁺	0,08	0,012	
4	9,65	8,47	10,14	8,7	1,13	0,97	2 ⁺	0,2	0,020	
5	9,31	8,13	7,96	6,63	0,99	0,82	2 ⁺	0,23	0,029	
6	9,12	7,94	7,61	6,61	1,00	0,87	1 ⁺	0,1	0,013	
7	10,35	9,17	10,42	9,14	0,94	0,82	2 ⁺	0,25	0,024	
8	10,18	9	9,89	8,86	0,94	0,84	2 ⁺	0,26	0,026	
9	10,27	9,09	10,17	9,13	0,94	0,84	2 ⁺	0,2	0,020	
10	10,95	9,77	12,42	11,66	0,95	0,89	2 ⁺	0,23	0,019	
11	9,85	8,67	8,92	7,59	0,93	0,79	1 ⁺	0,12	0,013	
12	9,34	8,16	7,56	6,32	0,93	0,78	1 ⁺	0,15	0,020	
13	9,27	8,09	8,76	7,44	1,10	0,93	1 ⁺	0,12	0,014	
14	10,8	9,62	10,89	9,75	0,86	0,77	2 ⁺	0,03	0,003	
15	10,59	9,41	10,25	9,21	0,86	0,78	2 ⁺	0,31	0,030	
16	10	8,82	9,57	8,57	0,96	0,86	2 ⁺	0,25	0,026	
17	11,62	10,44	13,69	12,33	0,87	0,79	3 ⁺	0,28	0,020	
18	11,25	10,07	14,37	13,01	1,01	0,91	3 ⁺	0,28	0,019	
19	11,04	9,86	11,67	10,27	0,87	0,76	2 ⁺	0,26	0,022	
20	8,62	7,44	6,22	5,04	0,97	0,79	1 ⁺	0,15	0,024	
21	8,7	7,52	6,4	5,04	0,97	0,77	1 ⁺	0,14	0,022	
22	9,64	8,46	7,60,0	6,24	0,85	0,70	1 ⁺	0,26	0,034	
23	12,3	11,12	15,35	14,98	0,82	0,81	3 ⁺	0,24	0,016	
TB					0,89	0,78			0,021	

TT	Số liệu điều tra cá nác đực tháng 2										
	L _{tt} (mm)	L _{bỏ đuôi} (mm)	W _{tt} (gr)	W _{bỏ đuôi} (gr)	Độ béo		Tuổi	Khô lượng TSD (gr)	HSTT (%)	Giai đoạn TSD	
					Fullton	Clack					
1	9,52	8,42	7,46	6,49	0,865	0,75	1 ⁺	0,2	0,027		
2	9,13	8,03	6,55	5,73	0,861	0,75	1 ⁺	0,35	0,053		
3	7,83	6,73	5,29	4,42	1,102	0,92	1 ⁺	0,18	0,034		
4	7,74	6,64	5,09	4,24	1,098	0,91	1 ⁺	0,16	0,031		
5	9,61	8,51	8,69	6,84	0,979	0,77	2 ⁺	0,24	0,028		
6	9,42	8,32	7,22	6,38	0,864	0,76	2 ⁺	0,25	0,035		
7	10,98	9,88	12,53	11,63	0,947	0,88	2 ⁺	0,28	0,022		
8	10,12	9,02	9,72	8,84	0,938	0,85	2 ⁺	0,3	0,031		
9	10,87	9,77	13,14	11,29	1,023	0,88	2 ⁺	0,28	0,021		
10	10,68	9,58	12,49	10,61	1,025	0,87	2 ⁺	0,27	0,022		
11	9,54	8,44	8,8	7,2	1,014	0,83	2 ⁺	0,28	0,032		
12	9,85	8,75	8,93	8,03	0,934	0,84	2 ⁺	0,25	0,028		
13	10,7	9,6	10,58	9,69	0,864	0,79	2 ⁺	0,35	0,033		
14	10,66	9,56	10,46	9,56	0,863	0,79	3 ⁺	0,31	0,030		
15	11,62	10,52	13,69	12,79	0,873	0,82	3 ⁺	0,34	0,025		
16	11,32	10,22	13,62	11,72	0,939	0,81	3 ⁺	0,28	0,021		
17	11,34	10,24	12,69	11,84	0,870	0,81	2 ⁺	0,35	0,028		
18	11,25	10,15	13,37	11,5	0,939	0,81	2 ⁺	0,36	0,027		
19	11,44	10,34	13,04	12,19	0,871	0,81	2 ⁺	0,28	0,021		
20	11,6	10,5	13,62	12,76	0,873	0,82	2 ⁺	0,25	0,018		
21	8,46	7,36	6,87	6,1	1,135	1,01	1 ⁺	0,24	0,035		
22	8,51	7,41	5,98	5,11	0,970	0,83	1 ⁺	0,26	0,043		
23	12,4	11,3	16,76	15,87	0,879	0,83	3 ⁺	0,34	0,020		
24	12,07	10,97	15,41	14,54	0,876	0,83	3 ⁺	0,35	0,023		
25	12,3	11,2	14,33	13,61	0,770	0,73	2 ⁺	0,31	0,022		
26	12,41	11,31	14,74	14,01	0,771	0,73	2 ⁺	0,28	0,019		
27	12,1	11	15,77	15,09	0,890	0,85	3 ⁺	0,32	0,020		
28	12,06	10,96	15,61	14,71	0,890	0,84	3 ⁺	0,21	0,013		
29	8,64	7,54	7,6	5,73	1,178	0,89	1 ⁺	0,19	0,025		
30	8,35	7,25	5,03	4,17	0,864	0,72	1 ⁺	0,17	0,034		
TB					0,903	0,801			0,026		

TT	Số liệu điều tra cá nác dực tháng 3									
	L _{tt} (mm)	L _{bỏ đuôi} (mm)	W _{tt} (gr)	W _{bỏ nội tạng} (gr)	Độ béo		Tuổi	Khối lượng TSD (gr)	HSTT (%)	Giai đoạn TSD
					Fullton	Clack				
1	9,17	8,18	8,65	7,41	1,12	0,96	1 ⁺	0,25	0,029	
2	9,54	8,55	10,79	9,65	1,24	1,11	2 ⁺	0,28	0,026	
3	9,84	8,85	9,27	7,94	0,97	0,83	1 ⁺	0,25	0,027	
4	10,41	9,42	10,61	9,29	0,94	0,82	1 ⁺	0,32	0,030	
5	10,72	9,73	11,63	10,28	0,94	0,83	2 ⁺	0,34	0,029	
6	9,47	8,48	7,9	6,51	0,93	0,77	2 ⁺	0,24	0,030	
7	9,8	8,81	8,05	6,9	0,86	0,73	1 ⁺	0,28	0,035	
8	11,48	10,49	13,18	11,84	0,87	0,78	1 ⁺	0,35	0,027	
9	10,3	9,31	10,4	8,9	0,95	0,81	2 ⁺	0,36	0,035	
10	11,28	10,29	12,48	11,13	0,87	0,78	2 ⁺	0,29	0,023	
11	8,73	7,74	6,47	5,370	0,97	0,81	1 ⁺	0,25	0,039	
12	11,07	10,08	11,77	10,39	0,87	0,77	1 ⁺	0,2	0,017	
13	11,84	10,85	12,73	11,35	0,77	0,68	2 ⁺	0,26	0,020	
14	12,3	11,31	14,08	13,74	0,76	0,74	2 ⁺	0,31	0,022	
15	8,24	7,25	4,83	3,43	0,86	0,61	1 ⁺	0,25	0,052	
TB					0,928	0,803			0,029	

TT	Số liệu điều tra cá nác đực tháng 4									
	L _{tt} (mm)	L _{bỏ đuôi} (mm)	W _{tt} (gr)	W _{bỏ nội tạng} (gr)	Độ béo		Tuổi	Khối lượng TSD (gr)	HSTT (%)	Giai đoạn TSD
					Fullton	Clack				
1	9,12	8,15	8,51	7,71	1,12	1,02	2 ⁺	0,3	0,035	
2	9,35	8,38	9,19	8,4	1,12	1,03	2 ⁺	0,32	0,035	
3	9,82	8,85	8,22	7,54	0,87	0,80	2 ⁺	0,35	0,043	
4	10,62	9,65	11,29	10,2	0,94	0,85	2 ⁺	0,48	0,043	
5	10,24	9,27	10,08	9,19	0,94	0,86	2 ⁺	0,52	0,052	
6	9,65	8,68	7,67	6,17	0,85	0,69	2 ⁺	0,34	0,044	
7	9,74	8,77	7,89	7,14	0,85	0,77	1 ⁺	0,38	0,048	
8	11,3	10,33	12,55	10,86	0,87	0,75	2 ⁺	0,45	0,036	
9	11,93	10,96	14,86	12,06	0,88	0,71	3 ⁺	0,38	0,026	
10	8,24	7,27	5,4	4,72	0,97	0,84	1 ⁺	0,29	0,054	
11	11,93	10,96	14,86	13,18	0,88	0,78	2 ⁺	0,45	0,030	
12	10,2	9,23	7,99	7,1	0,75	0,67	1 ⁺	0,45	0,056	
13	12,08	11,11	15,69	14,2	0,89	0,81	3 ⁺	0,51	0,033	
14	11,7	10,73	12,05	10,05	0,75	0,63	1 ⁺	0,48	0,040	
15	8,74	7,77	5,8	5,1	0,87	0,76	1 ⁺	0,25	0,043	
TB					0,90	0,80			0,0411	

TT	Số liệu điều tra cá nác đực tháng 5									
	L _{tt} (mm)	L _{bỏ đuôi} (mm)	W _{tt} (gr)	W _{bỏ đuôi} (gr)	Độ béo		Tuổi	Khối lượng TSD (gr)	HSTT (%)	Giai đoạn TSD
					Fullton	Clack				
1	9,79	8,89	8,14	7,27	0,87	0,77	2 ⁺	0,25	0,031	
2	9,32	8,42	9,1	8,26	1,12	1,02	1 ⁺	0,15	0,016	
3	9,16	8,26	7,12	6,26	0,93	0,81	1 ⁺	0,12	0,017	
4	10,28	9,38	10,2	9,33	0,94	0,86	1 ⁺	0,24	0,024	
5	10,71	9,81	11,59	10,87	0,94	0,88	2 ⁺	0,24	0,021	
6	9,25	8,35	6,72	6,03	0,85	0,76	2 ⁺	0,22	0,033	
7	7,94	7,04	6,1	5,25	1,22	1,05	1 ⁺	0,15	0,025	
8	11,47	10,57	12,15	11,39	0,81	0,75	3 ⁺	0,3	0,025	
9	11,91	11,01	14,78	12,31	0,87	0,73	3 ⁺	0,28	0,019	
10	8,34	7,44	5,61	4,74	0,97	0,82	1 ⁺	0,22	0,039	
11	8,39	7,49	5,72	4,87	0,97	0,82	1 ⁺	0,2	0,035	
12	8,1	7,2	5,12	4,31	0,96	0,81	1 ⁺	0,21	0,041	
13	11,82	10,92	14,43	13,6	0,87	0,82	2 ⁺	0,25	0,017	
14	11,4	10,5	11,3	10,43	0,76	0,70	3 ⁺	0,25	0,022	
15	10,32	9,42	8,15	7,29	0,74	0,66	2 ⁺	0,26	0,032	
16	8,35	7,45	5,03	4,18	0,86	0,72		0,19	0,038	
TB					0,92	0,81	0,00		0,027	

TT	Số liệu điều tra cá nác đực tháng 6									
	L _{tt} (mm)	L _{bò đuôi} (mm)	W _{tt} (gr)	W _{bò đuôi} (gr)	Độ béo		Tuổi	Khối lượng TSD (gr)	HSTT (%)	Giai đoạn TSD
					Fullton	Clack				
1	8,87	7,68	7,8	6,92	1,12	0,99	2 ⁺	0,18	0,023	
2	9,41	8,22	9	8,7	1,13	1,04	1 ⁺	0,16	0,017	
3	9,28	8,09	7,41	6,45	0,93	0,81	2 ⁺	0,14	0,019	
4	10,27	9,08	10,17	9,49	0,94	0,88	2 ⁺	0,21	0,021	
5	10,3	9,11	10,26	9,47	0,94	0,87	1 ⁺	0,25	0,024	
6	9,61	8,42	7,57	6,6	0,85	0,74	1 ⁺	0,12	0,016	
7	7,87	6,68	5,93	5,25	1,22	1,08	1 ⁺	0,23	0,039	
8	11,42	10,23	12,97	12,07	0,87	0,81	3 ⁺	0,24	0,019	
9	11,25	10,06	12,37	11,69	0,87	0,82	2 ⁺	0,25	0,020	
10	8,34	7,15	5,61	4,78	0,97	0,82	1 ⁺	0,15	0,027	
11	11,84	10,65	14,51	13,63	0,87	0,82	2 ⁺	0,26	0,018	
12	10,39	9,2	8,47	7,6	0,76	0,68	2 ⁺	0,29	0,034	
13	11,34	10,15	12,69	11,81	0,87	0,81	3 ⁺	0,27	0,021	
14	10,14	8,95	7,71	6,87	0,74	0,66	2 ⁺	0,22	0,029	
15	8,76	7,57	5,84	5,05	0,87	0,75	1 ⁺	0,15	0,026	
TB					0,93	0,84			0,023	

TT	Số liệu điều tra cá nác đực tháng 7									
	L _{tt} (mm)	L _{bỏ đuôi} (mm)	W _{tt} (gr)	W _{bỏ đuôi} (gr)	Độ béo		Tuổi	Khối lượng TSD (gr)	HSTT (%)	Giai đoạn TSD
					Fullton	Clack				
1	9,23	8,04	8,83	7,93	1,123	1,01	1 ⁺	0,25	0,028	
2	9,18	7,99	8,68	7,8	1,122	1,01	1 ⁺	0,24	0,028	
3	9,49	8,3	7,95	7,15	0,930	0,84	1 ⁺	0,25	0,031	
4	10,46	9,27	10,77	10,23	0,941	0,89	2 ⁺	0,32	0,030	
5	10,06	8,87	9,54	8,58	0,937	0,84	2 ⁺	0,29	0,030	
6	9,84	8,65	8,15	7,35	0,855	0,77	2 ⁺	0,24	0,029	
7	7,83	6,64	5,84	4,94	1,217	1,03	1 ⁺	0,22	0,038	
8	11,95	10,76	14,94	14,11	0,875	0,83	3 ⁺	0,32	0,021	
9	10,6	9,41	10,28	9,39	0,863	0,79	3	0,28	0,027	
10	8,56	7,37	6,09	5,29	0,971	0,84	1 ⁺	0,29	0,048	
11	11,9	10,71	14,74	13,79	0,875	0,82	3 ⁺	0,25	0,017	
12	11,62	10,43	13,69	12,89	0,873	0,82	3	0,21	0,015	
13	10,47	9,28	8,67	7,99	0,755	0,70	2 ⁺	0,26	0,030	
14	10,46	9,27	10,01	9,23	0,875	0,81	2 ⁺	0,28	0,028	
15	7,76	6,57	4	3,23	0,856	0,69	1 ⁺	0,15	0,038	
16	8,9	7,71	6,14	5,39	0,871	0,76	1 ⁺	0,16	0,026	
TB					0,934	0,840	0,375		0,029	

TT	Số liệu điều tra cá nác đực tháng 8									
	L _{tt} (mm)	L _{bỏ đuôi} (mm)	W _{tt} (gr)	W _{bỏ đuôi} (gr)	Độ béo		Tuổi	Khối lượng TSD (gr)	HSTT (%)	Giai đoạn TSD
					Fullton	Clack				
1	9,37	8,49	9,15	8,18	1,11	0,99	1 ⁺	0,26	0,028	
2	9,24	8,36	8,06	7,79	1,02	0,99	2 ⁺	0,28	0,035	
3	9,52	8,64	8,03	6,96	0,93	0,81	2 ⁺	0,35	0,044	
4	10,45	9,57	10,74	9,07	0,94	0,79	2 ⁺	0,32	0,030	
5	10,83	9,95	11,2	10,95	0,88	0,86	2 ⁺	0,41	0,037	
6	9,34	8,46	6,92	5,88	0,85	0,72	1 ⁺	0,39	0,056	
7	7,92	7,04	5,05	4,01	1,02	0,81	1 ⁺	0,28	0,055	
8	11,62	10,74	12,69	11,54	0,81	0,74	3 ⁺	0,35	0,028	
9	11,21	10,33	12,24	10,09	0,87	0,72	2 ⁺	0,35	0,029	
10	10,03	9,15	8,65	7,3	0,86	0,72	1 ⁺	0,39	0,045	
11	8,31	7,43	5,55	4,09	0,97	0,71	1 ⁺	0,25	0,045	
12	11,67	10,79	11,87	11,78	0,75	0,74	3 ⁺	0,45	0,038	
13	11,95	11,07	13,1	12,08	0,77	0,71	3 ⁺	0,36	0,027	
14	10	9,12	7,51	6,46	0,75	0,65	2 ⁺	0,45	0,060	
15	9,51	8,63	7,55	5,79	0,88	0,67	2 ⁺	0,35	0,046	
16	7,46	6,58	5,13	3,77	1,24	0,91	1 ⁺	0,25	0,049	
17	9	8,12	6,36	5,26	0,87	0,72	1 ⁺	0,29	0,046	
TB					0,912	0,780			0,041	

TT	Số liệu điều tra cá nác đực tháng 9									
	L _{tt} (mm)	L _{bỏ đuôi} (mm)	W _{tt} (gr)	W _{bỏ đuôi} (gr)	Độ béo		Tuổi	Khối lượng TSD (gr)	HSTT (%)	Giai đoạn TSD
					Fullton	Clack				
1	8,74	8,56	7,45	6,66	1,12	0,998	1 ⁺	0,15	0,020	
2	8,67	8,49	7,26	6,58	1,11	1,010	1 ⁺	0,14	0,019	
3	9,61	9,43	7,69	7,19	0,87	0,810	2 ⁺	0,16	0,021	
4	9,84	9,66	8,27	7,6	0,87	0,798	2 ⁺	0,19	0,023	
5	9,84	9,66	8,9	8,22	0,93	0,863	2 ⁺	0,22	0,025	
6	10,41	10,23	10,61	9,93	0,94	0,880	2 ⁺	0,24	0,023	
7	10,28	10,1	10,2	9,53	0,94	0,877	2 ⁺	0,22	0,022	
8	10,32	10,14	10,33	9,71	0,94	0,883	2 ⁺	0,26	0,025	
9	9,33	9,15	7,54	6,91	0,93	0,851	2 ⁺	0,18	0,024	
10	9,71	9,53	8,54	7,9	0,93	0,863	2 ⁺	0,19	0,022	
11	9,6	9,42	7,54	6,9	0,85	0,780	2 ⁺	0,25	0,033	
12	10,31	10,13	9,43	8,77	0,86	0,800	2 ⁺	0,26	0,028	
13	11,9	11,72	14,74	14,07	0,87	0,835	3 ⁺	0,26	0,018	
14	10	9,82	8,57	7,9	0,86	0,790	2 ⁺	0,24	0,028	
15	10,88	10,7	11,15	10,53	0,87	0,818	3 ⁺	0,25	0,022	
16	10,7	10,52	10,58	9,96	0,86	0,813	2 ⁺	0,26	0,025	
17	9,08	8,9	6,34	5,71	0,85	0,763	1 ⁺	0,18	0,028	
18	8,1	7,92	5,12	4,45	0,96	0,837	1 ⁺	0,16	0,031	
19	11,6	11,42	11,94	11,31	0,76	0,725	2 ⁺	0,28	0,023	
20	11,4	11,22	12,9	12,25	0,87	0,827	2 ⁺	0,29	0,022	
21	11,21	11,03	12,05	11,37	0,86	0,807	2 ⁺	0,32	0,027	
22	7,84	7,66	4,13	3,5	0,86	0,726	1 ⁺	0,18	0,044	
23	7,84	7,46	4,13	3,52	0,86	0,730	1 ⁺	0,16	0,039	
TB					0,90	0,83			0,026	

TT	Số liệu điều tra cá nác đực tháng 10									
	L _{tt} (mm)	L _{bỏ đuôi} (mm)	W _{tt} (gr)	W _{bỏ đuôi} (gr)	Độ béo		Tuổi	Khối lượng TSD (gr)	HSTT (%)	Giai đoạn TSD
					Fullton	Clack				
1	9	8,04	8,16	7,44	1,119	1,021	2 ⁺	0,16	0,020	
2	8,89	7,93	7,85	7,12	1,117	1,013	2 ⁺	0,19	0,024	
3	9,24	8,28	6,8	6,06	0,862	0,768	1 ⁺	0,22	0,032	
4	9,7	8,74	7,91	7,17	0,867	0,786	2 ⁺	0,24	0,030	
5	9,72	8,76	8,57	7,81	0,933	0,850	2 ⁺	0,22	0,026	
6	9,86	8,9	8,96	8,19	0,935	0,854	2 ⁺	0,26	0,029	
7	10,98	10,02	12,53	11,75	0,947	0,888	2 ⁺	0,18	0,014	
8	10,04	9,08	9,48	8,73	0,937	0,863	2 ⁺	0,19	0,020	
9	10,79	9,83	11,87	11,08	0,945	0,882	3 ⁺	0,15	0,013	
10	10,62	9,66	11,29	10,58	0,943	0,883	2 ⁺	0,16	0,014	
11	9,38	8,42	7,02	6,29	0,851	0,762	2 ⁺	0,16	0,023	
12	12,06	11,1	15,37	14,64	0,876	0,835	3 ⁺	0,24	0,016	
13	11,84	10,88	14,51	13,77	0,874	0,830	3 ⁺	0,21	0,014	
14	11,21	10,25	12,24	11,48	0,869	0,815	3 ⁺	0,12	0,010	
15	11,62	10,66	13,69	12,92	0,873	0,823	3 ⁺	0,18	0,013	
16	10,08	9,12	8,78	8,01	0,857	0,782	2 ⁺	0,16	0,018	
17	8,2	7,24	5,32	4,55	0,965	0,825	1 ⁺	0,24	0,045	
18	11,8	10,84	12,59	11,81	0,766	0,719	3 ⁺	0,19	0,015	
19	10,07	9,11	8,76	8,02	0,858	0,785	2 ⁺	0,22	0,025	
20	8,26	7,3	4,87	4,16	0,864	0,738	1 ⁺	0,11	0,023	
TB					0,913	0,836			0,021	

TT	Số liệu điều tra cá nác đực tháng 11									
	L _{tt} (mm)	L _{bò đuôi} (mm)	W _{tt} (gr)	W _{bò đuôi} (gr)	Độ béo		Tuổi	Khối lượng TSD (gr)	HSTT (%)	Giai đoạn TSD
					Fullton	Clack				
1	9,46	8,81	9,53	8,86	1,126	1,047	2 ⁺	0,18	0,019	
2	9,26	8,58	6,85	6,17	0,863	0,777	2 ⁺	0,15	0,022	
3	9,34	8,69	7,56	6,89	0,928	0,846	2 ⁺	0,15	0,020	
4	10,24	9,57	10,08	9,45	0,939	0,880	2 ⁺	0,21	0,021	
5	10,84	10,17	12,04	11,35	0,945	0,891	3 ⁺	0,18	0,015	
6	9,31	8,64	6,86	6,17	0,850	0,765	2 ⁺	0,18	0,026	
7	12,01	11,34	14,17	12,46	0,818	0,719	3 ⁺	0,25	0,018	
8	11,84	11,18	14,51	12,79	0,874	0,771	3 ⁺	0,16	0,011	
9	11,04	10,39	11,67	10,95	0,867	0,814	3 ⁺	0,18	0,015	
10	8,37	7,74	5,68	4,95	0,969	0,844	1 ⁺	0,16	0,028	
11	11,64	11,02	12,76	10,46	0,809	0,663	3 ⁺	0,16	0,013	
12	11,01	10,4	10,15	9,43	0,761	0,707	2 ⁺	0,19	0,019	
13	8,84	8,19	6,01	5,24	0,870	0,759	2 ⁺	0,12	0,020	
14	9,46	8,81	9,53	8,86	1,126	1,047	2 ⁺	0,14	0,015	
TB					0,910	0,823			0,019	

TT	Số liệu điều tra cá nóc đực tháng 12									
	L _{tt} (mm)	L _{bỏ đuôi} (mm)	W _{tt} (gr)	W _{bỏ đuôi} (gr)	Độ béo		Tuổi	Khối lượng TSD (gr)	HSTT (%)	Giai đoạn TSD
					Fullton	Clack				
1	8,59	8,49	7,06	6,67	1,114	1,052	2 ⁺	0,1	0,014	
2	8,02	7,92	5,7	5,32	1,105	1,031	1 ⁺	0,11	0,019	
3	9,65	9,56	7,79	7,44	0,867	0,828	2 ⁺	0,12	0,015	
4	9,2	9,11	6,81	6,45	0,875	0,828	1 ⁺	0,11	0,016	
5	10,22	10,15	10,02	9,68	0,939	0,907	2 ⁺	0,15	0,015	
6	10,21	10,12	9,99	9,62	0,939	0,904	1 ⁺	0,16	0,016	
7	10,62	10,55	11,29	10,9	0,943	0,910	2 ⁺	0,16	0,014	
8	10,08	10,03	9,6	9,2	0,937	0,898	2 ⁺	0,15	0,016	
9	9,84	9,75	8,9	8,17	0,934	0,858	2 ⁺	0,12	0,013	
10	9,61	9,54	8,28	7,15	0,933	0,806	2 ⁺	0,14	0,017	
11	9,54	9,47	7,4	7,05	0,852	0,812	2 ⁺	0,11	0,015	
12	10,12	10,03	8,89	8,1	0,858	0,782	2 ⁺	0,12	0,013	
13	11	10,9	10,54	9,19	0,792	0,690	3 ⁺	0,14	0,013	
14	11,28	11,19	12,48	10,13	0,870	0,706	3 ⁺	0,18	0,014	
15	9,04	8,95	6,25	5,08	0,846	0,688	1 ⁺	0,13	0,021	
16	8,27	7,45	5,07	4,31	0,896	0,762	1 ⁺	0,1	0,020	
17	8,12	8,03	5,16	4,08	0,964	0,762	1 ⁺	0,12	0,023	
18	9,34	9,27	7,99	7,07	0,981	0,868	2 ⁺	0,13	0,016	
19	11,76	11,71	12,46	10,24	0,766	0,630	1 ⁺	0,12	0,010	
20	12,04	11,95	13,41	11,03	0,768	0,632	3 ⁺	0,14	0,010	
21	11,65	11,58	12,74	10,37	0,806	0,656	3 ⁺	0,15	0,012	
22	7,9	7,84	4,23	3,88	0,858	0,787	1 ⁺	0,1	0,024	
TB					0,902	0,809			0,016	

Phụ lục 2: Mẫu phiếu điều tra phỏng vấn

I. THÔNG TIN CHUNG	
1. Mẫu số:	
2. Họ tên người phỏng vấn:	
3. Ngày phỏng vấn:	
4. Họ tên người được phỏng vấn:	
5. Địa chỉ:	
II. HIỆN TRẠNG KHAI THÁC	
6. Ngư cụ khai thác	
<input type="checkbox"/> Câu tay	
<input type="checkbox"/> Đơm bằng lò	
<input type="checkbox"/> Bạt bằng tay	
<input type="checkbox"/> Hình thức khác	
7. Khu vực khai thác:	
<input type="checkbox"/> Vùng bãi triều	<input type="checkbox"/> Vùng bãi bồi
<input type="checkbox"/> Vùng rừng ngập mặn	<input type="checkbox"/> Hải đảo
<input type="checkbox"/> Vùng cửa sông	<input type="checkbox"/> Khác:
8. Thời gian khai thác trong ngày	
<input type="checkbox"/> Buổi sáng	<input type="checkbox"/> Buổi tối
<input type="checkbox"/> Buổi chiều	
9. Thời điểm khai thác	
<input type="checkbox"/> Thủy triều lên	<input type="checkbox"/> Con nước lớn
<input type="checkbox"/> Thủy triều xuống	<input type="checkbox"/> Con nước ròng
10. Sản lượng khai thác:	
- Bao nhiêu kg/người/ngày:	
- Bao nhiêu kg/người/tháng:	
11. Mùa vụ khai thác trong năm	
<input type="checkbox"/> Quanh năm	<input type="checkbox"/> Mùa Xuân
<input type="checkbox"/> Mùa hè	<input type="checkbox"/> Mùa thu
<input type="checkbox"/> Mùa đông	
12. Kích thước cá khai thác chủ yếu	

- Cá 2 - 5 cm	<input type="checkbox"/> Có	<input type="checkbox"/> Không
- Cá 6 - 9 cm	<input type="checkbox"/> Có	<input type="checkbox"/> Không
- Cá 10 -15 cm	<input type="checkbox"/> Có	<input type="checkbox"/> Không
- Cá > 15 cm	<input type="checkbox"/> Có	<input type="checkbox"/> Không
13. Thông môi trường cơ bản vùng khai thác		
- Độ sâu TB: (m)	- Cao triều: (m)	- Thấp triều: (m)
- Độ muối TB: (‰)	- Cao: (‰)	- Thấp: (‰)
- Nhiệt độ TB: (°C)	- Cao: (°C)	- Thấp: (°C)
- pH TB:	- Cao:	- Thấp:
14. Chất đáy địa điểm khai thác.		
- Bùn pha sét		
<input type="checkbox"/> Nhiều ≥ 4 con/m ²	<input type="checkbox"/> Trung bình 1-2 con/m ²	<input type="checkbox"/> ít ≤ 1 con/m ² <input type="checkbox"/> Không có
- Bùn cát		
<input type="checkbox"/> Nhiều ≥ 4 con/m ²	<input type="checkbox"/> Trung bình 1-2 con/m ²	<input type="checkbox"/> ít ≤ 1 con/m ² <input type="checkbox"/> Không có
- Bùn đen		
<input type="checkbox"/> Nhiều ≥ 4 con/m ²	<input type="checkbox"/> Trung bình 1-2 con/m ²	<input type="checkbox"/> ít ≤ 1 con/m ² <input type="checkbox"/> Không có

II. NHỮNG QUAN ĐIỂM VỀ CUỘC SỐNG

1. Thu nhập của Anh/Chị so với 5 năm trước

Lớn hơn Bằng Nhỏ hơn

Tại sao?.....

2. Anh/Chị có nghĩ nghề khai thác cá nác đảm bảo cuộc sống tương lai cho mình không?

Có Không Còn tùy

3. Anh/Chị có ý định chuyển nghề không?

Có Không Còn tùy

Anh/Chị định chuyển sang nghề gì:.....

4. Anh/Chị có ý định cho con của mình tiếp tục theo nghề khai thác này không?

Có Không Còn tùy

Người phỏng vấn

Phụ lục 3: Quy trình làm tiêu bản tổ chức học tuyến sinh dục cá nác

- Xử lý mẫu tuyến sinh dục và quan sát tổ chức mô phôi học. Bao gồm các bước sau đây.

- Cố định mẫu tuyến sinh dục: bằng chất định hình Bouin có công thức như sau:

+ 750 ml dung dịch acid picric bão hoà.

+ 250 ml formalin 40 %.

+ 50 ml acid axetic đậm đặc.

+ Định hình mẫu trong 24h sau đó ngâm trong nước từ 1 -3h.

- Khử nước ở mẫu cố định: Lần lượt đưa mẫu qua cồn Etluylic với các nồng độ khác nhau tăng dần.

+ Cồn 70% : 1 lần từ 30 - 60 phút.

+ Cồn 95% : 3 lần mỗi lần 30 - 60 phút.

+ Cồn 100% : 3 lần, mỗi lần 30 - 60 phút.

- Làm trong mẫu: Mẫu đã khử nước và được làm trong bằng xylene.

+ Xylene lần I : 30 phút.

+ Xylene lần II : 30 phút.

- Thấm Parafin: mẫu đã được làm trong chuyển vào Parafin đun nóng ở nhiệt độ từ 56 - 58⁰C, trong 4h.

- Đúc Parafin:

+ Sử dụng máy để đổ Parafin đã nóng chảy vào khuôn đã có mẫu, sau đó đặt khuôn lên dàn lạnh cho Parafin đông lại tạo ra khối Parafin chứa mẫu. Nên giữ mẫu chung ở một mặt khuôn để khi cắt được thuận tiện.

+ Cắt gọt khối Parafin chứa mẫu: Dùng dao mỏng cắt gọt bỏ những phần Parafin thừa và mặt của khối mẫu sâu vào 3 - 5µm.

- Cắt lát mẫu.

+ Gắn khối Parafin chứa mẫu vào máy Microtom.

+ Tiến hành cắt lát độ dày của lát cắt từ 5 - 7 µm.

+ Đưa lát cắt vào nước ấm (40 - 50°C) khoảng 1 - 2 phút để lát cắt giãn, không bị nhăn.

+ Dùng slide (lam) để lấy lát cắt ra khỏi nước có miết qua albumin.

+ Đặt lên máy sấy slide ở nhiệt độ 40 – 60°C trong thời gian 1 – 4h.

- Nhuộm Hematocilin và Eosin.

+ Loại bỏ Parafin ở lát cắt bằng Xilen I: 5 phút, Xylen II: 5 phút.

+ Làm no mẫu nước:

• Còn 100% lần I : 2 - 3 phút

• Còn 100% lần II : 2 - 3 phút

• Còn 95% lần I : 2 - 3 phút

• Còn 95% lần II : 2 - 3 phút

• Còn 80% lần I : 2 - 3 phút

• Còn 80% lần II : 2 - 3 phút

• Còn 50% : 2 - 3 phút

+ Nhúng mẫu trong nước ngọt 3 - 6 lần.

+ Nhuộm Hematocilin - Mayer: 4 - 6 phút.

+ Rửa qua nước chảy nhẹ : 4 - 6 phút.

+ Nhuộm Eosin : 2 - 3 phút

+ Làm mất nước trong mẫu:

• Còn 95% I: 10 lần nhúng

• Còn 95% II: 10 lần nhúng

• Còn 100% I: 10 lần nhúng

• Còn 100% II: 10 lần nhúng

+ Làm trong mẫu: Xilen I: 2 - 3 phút; Xylen II: 2 - 3 phút

+ Dùng lamen sạch dán lên lam mẫu bằng keo bomcanada để bảo quản và quan sát mẫu dưới kính hiển vi.

Phụ lục 4: Một số hình ảnh trong quá trình thực hiện luận án



Miệng tổ cá nác trong tự nhiên



Cá nác phân bố ở bãi triều



Cơ sở thu mua cá nác thương phẩm



Kiểm tra thu mẫu cá nác tại các chợ đầu mối



Kiểm tra thu mẫu cá nác tại các chợ đầu mối



Kiểm tra chiều dài mẫu cá nác



Mổ kiểm tra tuyến sinh dục



Chiều dài ruột cá nác



Buồng trứng cá nác



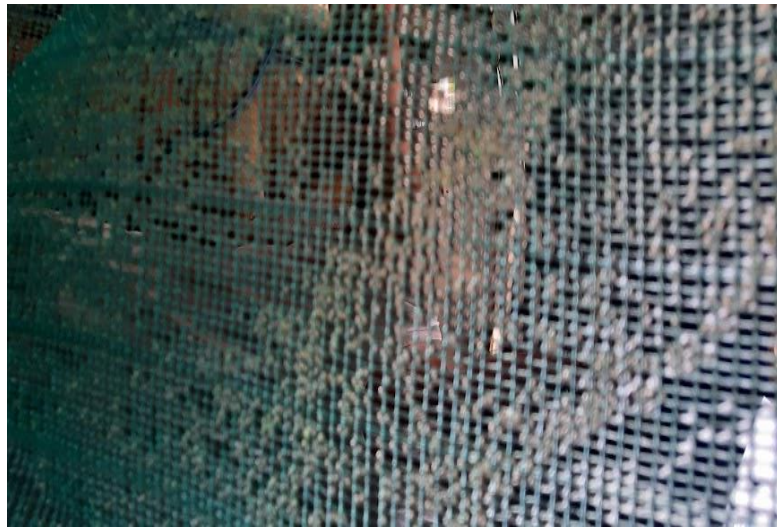
Chọn cá cho đẻ



Thí nghiệm cho cá cho đẻ trong giai lưới



Cá kết đôi trước khi đẻ trứng



Trứng bám trên vật bám



Theo dõi các giai đoạn phát triển phôi cá nác



Nhà xưởng thí nghiệm ương nuôi cá bột lên cá giống



Bể thí nghiệm cho cá đẽ



Kiểm tra cá đẽ



Phôi cá nác 72 giờ



Áu trùng cá nác 4 ngày tuổi



Cá nác giống 2,5cm



Cá nác sau 3 tháng nuôi