

ẢNH HƯỞNG CỦA ĐỘ MẶN ĐẾN QUÁ TRÌNH THỤ TINH VÀ PHÁT TRIỂN PHÔI CỦA CÁ TRA NGHỆ (*Pangasius kunyit*)

Vương Học Vinh¹, Tống Minh Chánh², Trần Thị Kim Tuyền¹, Bùi Thị Kim Xuyên¹

¹ Bộ môn Thủy sản, Khoa Nông Nghiệp & TNTN, Đại Học An Giang

Email: vhvinh@agu.edu.vn; vhvinh@gmail.com.

² Công ty TNHH Minh Chánh

ABSTRACT

The study of **Effects of salinity to fertilization and development process of catfish (*Pangasius kunyit*) embryo** was carried out from September to October in 2010 to determine fertilization ability of eggs and embryo development in different salinity. This study content was a completely randomized design with 5 treatments and 4 replicates. Two contents of the study were fertilization and hatching rate. Results showed that there was no significant difference of the fertilization rate. The highest fertilization rate was of the second treatment ($39.67 \pm 11.78\%$) and the lowest is of the fourth treatment ($30.79 \pm 13.87\%$). The hatching period for all treatments was no different, from 26 to 29 hours. The temperature fluctuated from 27 to 29°C. There was significantly difference of the hatching rate. The highest was of the fourth treatment (65.2%) and the lowest was of the control treatment (27.93%). From the above results, we could conclude that *Pangasius kunyit* is one of euryhaline fish and it is predicted that artificial reproduction process and breeding product will be applied on practice in marine, brackish areas appropriately in the future.

Keywords: fertilization; embryo development; hatching

TÓM TẮT

Đề tài “**Ảnh hưởng của độ mặn đến quá trình thụ tinh và phát triển phôi của cá tra nghệ (*Pangasius kunyit*)**” được thực hiện từ tháng 9 đến tháng 10/2011, với mục tiêu xác định khả năng thụ tinh của trứng và sự phát triển của phôi cá trong nước ở độ mặn khác nhau. Nghiên cứu được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với 5 nghiệm thức 3 lần lặp lại. Hai nội dung chính của thí nghiệm là: Tỷ lệ thụ tinh và tỉ lệ nở. Kết quả nghiên cứu cho thấy: Tỷ lệ thụ tinh ở các nghiệm thức không khác biệt về thống kê nhưng về số học cao nhất là nghiệm thức NT 2 ($39,67 \pm 11,78\%$) và thấp nhất ở nghiệm thức NT 4 ($30,79 \pm 13,87\%$) Thời gian cá nở ở các nghiệm thức không có khác biệt, cá bột bắt đầu nở ở giờ áp thứ 26 và kết thúc ở giờ thứ 29; nhiệt độ áp dao động 27 -29°C. Tỷ lệ nở có khác biệt về thống kê cao nhất là nghiệm thức NT 4 với nở là tỉ lệ 65,2%. Qua kết quả thí nghiệm bước đầu có thể kết luận cá tra là một loài cá rộng muối và triển vọng ứng dụng qui trình sinh sản nhân tạo và sản xuất giống cá tra nghệ ở vùng nước lợ rất lớn.

Từ khóa: thụ tinh, phát triển phôi, nở

GIỚI THIỆU

Trong nghiên cứu của Pouyaud *et al* (1999) cá tra nghệ (*Pangasius kunyit*) là loài cá da trơn nước ngọt có khả năng thích nghi với điều kiện nước lợ, mặn. Kết quả nghiên cứu của đề tài ‘Thử nghiệm khả năng thích nghi nồng độ muối của cá tra nghệ ương từ cá bột đến 60 ngày tuổi’ (Vương Học Vinh, 2011) cho thấy khi ương ở các độ mặn khác nhau nghiệm thức 6‰ có cá bột và cá giống có tỉ lệ sống cao, trong nội dung nghiên cứu về khả năng thích nghi về nồng độ muối cá trong môi trường nước có độ mặn 27‰ cá vẫn phát triển (ăn môi và tăng trưởng). Hiện nay, khi nguồn nước ngọt ngày càng khan hiếm do sự xâm nhập mặn vào mùa

khô, và dự đoán về biến đổi khí hậu mực nước biển trong năm 2050 sẽ dâng cao thêm 50 cm (Khang *et al.*, 2008) sự nhiễm mặn vào vùng nuôi cá nước ngọt của vùng Đồng bằng sông Cửu Long là điều khó tránh. Trong nuôi thủy sản những loài cá nước ngọt có khả năng thích nghi rộng muối sẽ trở thành một trong những loài lợi thế phát triển trong tương lai vì thế đề tài “**Ảnh hưởng của độ mặn đến quá trình thụ tinh và phát triển phôi của cá tra nghệ (*Pangasius kunyit*)**” được thực hiện.

Mục tiêu nghiên cứu

- Xác định khả năng thụ tinh của trứng và sự phát triển của phôi cá trong nước ở độ mặn khác nhau.

- Cung cấp một số dẫn liệu ban đầu về sinh học sinh sản làm nền tảng cho việc sản xuất giống loài cá này ở các vùng nước lợ.

Nội dung nghiên cứu

- Khảo sát ảnh hưởng độ mặn 3‰ và 5‰ trong dung dịch thụ tinh đến tỉ lệ thụ tinh của trứng cá tra nghệ.

- So sánh tỉ lệ nở của phôi cá tra nghệ trong nước ấp có độ mặn 0‰, 3‰ và 5‰.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Vật liệu nghiên cứu

Thời gian và địa điểm thực hiện

- Thời gian thực hiện: Từ tháng 9 đến 10 năm 2011

- Địa điểm thực hiện:

1- Trại thực nghiệm Bộ môn Thủy Sản, Khoa Nông Nghiệp & TNTN, Trường Đại Học An Giang (Phường Mỹ Xuyên, Thành Phố Long Xuyên)

2- Bè nuôi vỗ cá bố mẹ tra nghệ của Công ty TNHH Minh Chánh (Xã Long Hòa, Huyện Phú Tân, Tỉnh An Giang)

Vật liệu nghiên cứu

- Đối tượng nghiên cứu: Cá tra nghệ bố mẹ và trứng cá, phôi cá và cá bột

- Dụng cụ: Cân, kính hiển vi, kính lúp, thước đo, khúc xạ kế và một số dụng cụ khác.

- Dung dịch Tanin 1,5‰, nước muối sinh lý (Sodium Chloride 0,9‰), nước ót 70% và hormon sinh dục HCG (Human Chorionic Gonadotropin).

Phương pháp nghiên cứu và bố trí thí nghiệm

Chuẩn bị trước thí nghiệm

Chọn cá bố mẹ cho sinh sản

Cá bố mẹ được nuôi vỗ trong bè, chọn cá cái và đực khỏe mạnh, có hình dáng đẹp, không bị dị tật, mỗi con có khối lượng lần lượt từ 3 kg trở lên. Với cá cái dùng que thăm trứng để lấy trứng quan sát, chọn những cá thể có đường kính trứng từ 1,4 – 1,5 mm cho sinh sản. Cá đực vuốt nhẹ phần bụng thì có tinh dịch màu trắng sữa chảy ra, chọn những con cá đực có tinh nhiều và đặc.



Hình 1: Tuyển chọn cá cho thí nghiệm



Hình 2: Thăm trứng cá cái

Chuẩn bị nước cho quá trình thí nghiệm

+ Chuẩn bị nước ngọt 0‰: bơm nước sông lên bể có sử dụng lưới lọc để lọc sạch nước, sau đó nước được xử lý bằng PAC (Poly aluminium chloride) liều lượng 5 g/m³, sục khí khoảng 15 phút sau đó để lắng, đến khi nước trong thì hút bỏ cặn.

+ Sử dụng nước sạch đã xử lý để thụ tinh và ấp nghiệm thức đối chứng và pha với nước ót 70‰ để thành nước có độ mặn 3‰ và 5‰.

+ Sau khi thụ tinh trứng được khử dính bằng dung dịch tanin 1,5%. Các nghiệm thức được ấp riêng trong xô nhựa có sục khí và cách 2 giờ thay 90% nước ấp.

Tiêm kích dục tố

Sử dụng HCG với phương pháp tiêm 4 liều (2 liều dẫn 1 liều sơ bộ và 1 liều quyết định), khoảng cách giữa các liều tiêm dẫn là 24 giờ, khoảng cách giữa liều sơ bộ và liều quyết định là 8 giờ. Sau khi tiêm liều quyết định khoảng 8 - 14 giờ cá sẽ rụng trứng.

Cho cá đẻ

Lấy tinh trùng cá đực: Dùng ống tiêm hút phần sệt trắng đục chảy ra từ lỗ sinh dục. Pha loãng tinh với nước muối sinh lý (3 tinh: 1 nước) đem bảo quản trong ngăn mát của tủ lạnh
Thăm trứng: dùng que thăm trứng lấy một ít trứng cho vào đĩa petri và một ít nước lã đều thấy hạt trứng trong, rồi, dính vào đĩa petri, vuốt nhẹ xoang bụng có ít trứng chảy ra tiến hành vuốt trứng cá vào thau nhựa. Trứng vuốt tới đâu cho tinh trùng vào tới đó, dùng lông gà khuấy đều tay sao cho tinh và trứng được trộn đều với nhau, cho nước sạch 0‰, 3‰ hoặc 5‰ vào tùy theo nghiệm thức bố trí, tiếp tục khuấy đều 30 giây rồi chắt bỏ nước đó. Lập lại thao tác từ 1 – 2 lần cho đến khi trứng sạch thì tiến hành khử dính. Trứng sau khi được khử dính sẽ được rửa lại bằng nước sạch (có độ mặn 0‰, 3‰ hoặc 5‰ vào tùy theo nghiệm thức bố trí) từ 6 – 7 lần cho đến khi hết tanin thì tiếp hành ấp cho đến khi trứng nở. Tùy theo nghiệm thức và giai đoạn khác nhau mà sử dụng nước có độ mặn khác nhau trong suốt quá trình thụ tinh, ấp nở.



Hình 3: Vuốt trứng cá cái



Hình 4: Thu tinh trùng cá đực



Hình 5; Thụ tinh cho trứng

Bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm được bố trí theo khối hoàn toàn ngẫu nhiên (Randomized Complete Block – RCB) với 5 nghiệm thức và 3 lần lặp lại. Ba lần lặp lại ở 3 cá cái khác nhau. Năm nghiệm thức trong thí nghiệm gồm:

- + **NT DC:** Đối chứng (0‰) trứng được thụ tinh và ấp bằng nước ngọt 0‰.
- + **NT 1 (0 – 3‰)** trứng được thụ tinh bằng nước ngọt 0‰ và ấp bằng nước lợ 3‰ cho đến khi trứng nở.
- + **NT 2 (0 – 5‰)** trứng được thụ tinh bằng nước ngọt 0‰ và ấp bằng nước lợ 5‰ cho đến khi trứng nở.
- + **NT 3 (3‰)** trứng được thụ tinh và ấp bằng nước lợ 3‰.
- + **NT 4 (5‰)** trứng được thụ tinh và ấp bằng nước lợ 5‰.

- Sơ đồ bố trí thí nghiệm

NT 1 ₋₁	NT 3 ₋₁	NT 2 ₋₁	NT DC ₋₁	NT 4 ₋₁
NT 3 ₋₂	NT 4 ₋₂	NT 1 ₋₂	NT 2 ₋₂	NT DC ₋₂
NT DC ₋₃	NT 4 ₋₃	NT 3 ₋₃	NT 2 ₋₃	NT 1 ₋₃

Các công thức tính các chỉ tiêu trong thí nghiệm

* Tỷ lệ thụ tinh

$$\text{Tỷ lệ thụ tinh (\%)} = \frac{\text{Số trứng thụ tinh}}{\text{Tổng số trứng thu mẫu.}} \times 100$$

Phương pháp thu và tính tỷ lệ thụ tinh: Thu mẫu ngẫu nhiên trứng đã thụ tinh đang ấp cho vào đĩa petri và quan sát dưới kính hiển vi. Thời điểm thu mẫu 8-10 giờ sau khi trứng thụ tinh (trứng đang phát triển ở giai đoạn phôi thuận). Phương pháp đánh giá: Trứng không thụ tinh có màu trắng đục, trứng thụ tinh có hình phôi thuận, trong suốt. Đếm tổng số trứng đã thụ tinh.

* Tỷ lệ nở được xác định khi cá đã nở hoàn toàn, theo công thức

$$\text{Tỷ lệ nở (\%)} = \frac{\text{Số cá nở}}{\text{Số trứng thụ tinh}} \times 100$$

Phương pháp xử lý số liệu

Sử dụng phần mềm MS Excell nhập và xử lý số liệu. Dùng phần mềm Minitab 13 phân tích thống kê.

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Tỉ lệ thụ tinh

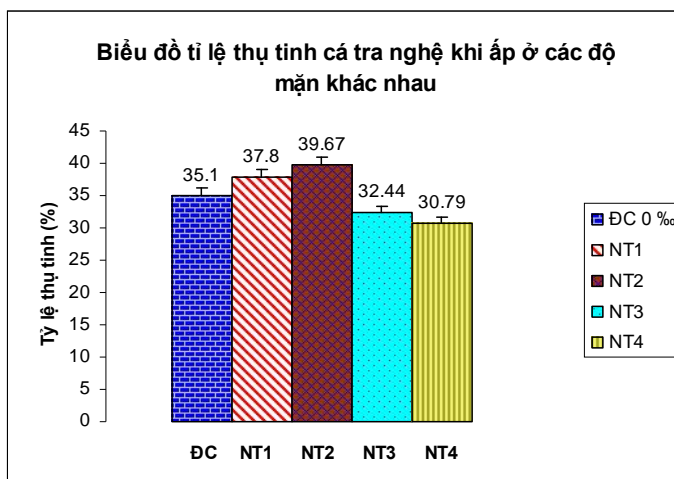
Theo Nguyễn Tường Anh (2005). Tỉ lệ thụ tinh cho phép đánh giá chất lượng tinh dịch, chất lượng trứng cũng như thao tác kỹ thuật gieo tinh. Trong thí nghiệm các nghiệm sử dụng cùng một dung dịch bảo quản chứa tinh trùng 2 cá đực, các thao tác kỹ thuật đều chuẩn. Nên có kết quả nghiên cứu có sự khác biệt là do những yếu tố khác.

Bảng 1: So sánh tỉ lệ thụ tinh ở các nghiệm thức trong thí nghiệm (n = 45)

Nghiệm thức	Tỉ lệ thụ tinh (%)
NT DC Đối chứng (0‰)	35,10 ± 28,50
NT 1 (0 – 3‰)	37,80 ± 20,28
NT 2 (0 – 5‰)	39,67 ± 11,28
NT 3 (3‰)	32,44 ± 23,90
NT 4 (5‰)	30,75 ± 13,87
Mức ý nghĩa	ns

Ghi chú: ns khác biệt không có ý nghĩa thống kê

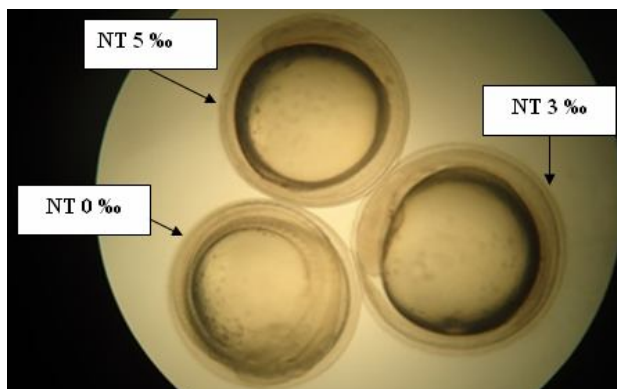
Kết quả phân tích thống kê cho thấy không có sự khác biệt về tỉ lệ thụ tinh giữa 2 phương pháp thụ tinh trong nước ngọt và nước lợ. Nhưng có sai khác về số học hai nghiệm thức độ mặn tỉ lệ thụ tinh thấp hơn các nghiệm thức thụ tinh trong nước ngọt. Sai khác ở các nghiệm thức tuy không lớn, nhưng kết quả này không bằng kết quả nghiên cứu của đề tài “Nghiên cứu ứng dụng hoàn chỉnh quy trình sinh sản nhân tạo và sản xuất giống cá tra nghệ” (Vương học Vinh, 2011) được thực hiện trên cùng đàn cá có tỉ lệ thụ tinh là $89,64 \pm 17,75$ (%). Có hai nguyên nhân dẫn đến sự khác biệt trên. Thứ nhất, thời điểm thực hiện thí nghiệm này vào tháng 10 là thời điểm cuối vụ mùa sinh sản của cá. Thứ hai, trong thí nghiệm thời gian thụ tinh được thực hiện đồng nhất với các nghiệm thức là 30 giây. Đây là quy trình đã hoàn chỉnh về sinh sản nhân tạo cá nước ngọt. Nhưng trong thí nghiệm lại có 2 nghiệm thức nước có độ mặn 3 và 5‰, trong khi đó chúng tôi chưa có thông tin về thời gian mở nõn khổng của trứng và độ di động của tinh trùng trong nước có độ mặn đó là những yếu tố quan trọng ảnh hưởng đến kết quả.



Hình 6: Tỉ lệ thụ tinh ở các nghiệm thức

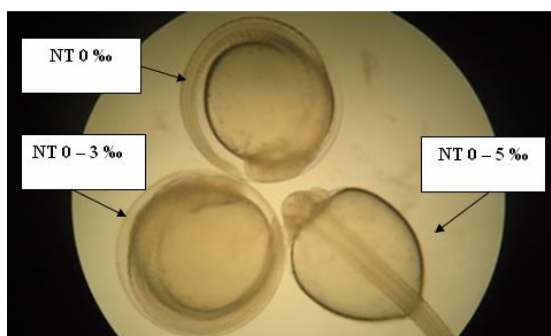
Thời gian nở

Thời gian cá bắt đầu nở và kết thúc ở phôi cá tra nghệ trong 5 nghiệm thức của thí nghiệm không có sự khác biệt cá bắt đầu nở ở giờ áp thứ 26 và kết thúc ở giờ thứ 29. Như vậy độ mặn 3‰ và 5‰ trong môi trường nước áp không ảnh hưởng đến quá trình phát triển phôi của trứng.



Hình 7: Giai đoạn phôi thể ở nghiệm thức

Chữ ghi trên ảnh: NT 0‰ là NTDC, NT 3‰ là NT 3 và NT 5‰ là NT 4 trong thí nghiệm



Hình 8: Giai đoạn cá nở ở nghiệm thức

Chữ ghi trên ảnh: NT 0‰ là NTDC, NT 0-3‰ là NT 1 và NT 0-5‰ là NT 2 trong thí nghiệm

Tỉ lệ nở

Bảng 2: So sánh tỉ lệ nở của phôi cá (n = 45)

Nghiệm thức	Tỉ lệ nở (%)
NT DC Đối chứng (0‰)	27,93 ± 25,22 ^a
NT 1 (0 – 3‰)	41,48 ± 18,88 ^a
NT 2 (0 – 5‰)	39,94 ± 17,93 ^a
NT 3 (3‰)	48,24 ± 32,01 ^b
NT 4 (5‰)	65,20 ± 14,90 ^b

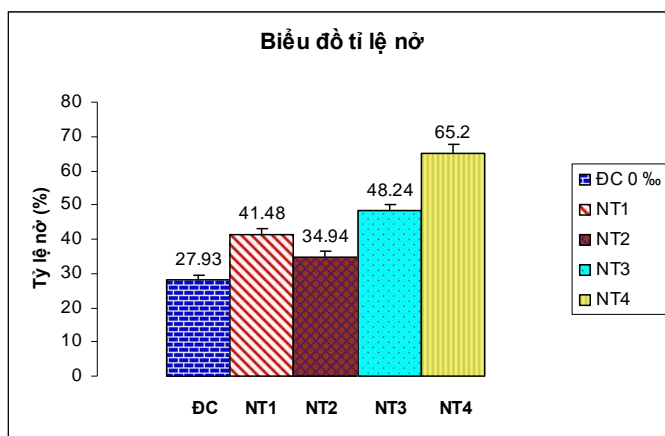
Mức ý nghĩa

**

Ghi chú: Các số trong cùng một cột có chữ cái theo sau khác nhau có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 1%

Kết quả thí nghiệm và phân tích thống kê ở giai đoạn nở cho thấy có sự khác biệt có ý nghĩa giữa các nghiệm thức. Các nghiệm thức áp trong nước 3 và 5‰ đều có tỉ lệ nở cao hơn đối chứng. Theo Nguyễn Tường Anh (2005), tỉ lệ nở là kết quả cuối của chất lượng trứng và chất lượng tinh trùng. Chúng tôi đồng ý với kết luận trên nhưng trong thí nghiệm này yếu tố môi trường nhất là độ mặn có ý nghĩa quyết định đến tỉ lệ nở của phôi cá. Trong thí nghiệm ở

thực nghiệm đối chứng có tỉ lệ nở thấp là do sự phát triển của nấm thủy mi trên các trứng hươ và lan qua làm chết các phôi thể đang phát triển.



Hình 9: Tỉ lệ thụ tinh ở các nghiệm thức

Các yếu tố môi trường

Các yếu tố môi trường trong thí nghiệm nằm trong giới hạn cho cá nuôi phát triển. Nhiệt độ dao động từ 27 – 29°C, pH từ 7 - 7,5, oxy hoà tan 5 - 6 mg/lít.

KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

Kết luận

- Tỉ lệ thụ tinh ở các nghiệm thức không khác biệt có ý nghĩa về thống kê.
- Thời gian cá nở ở các nghiệm thức không có khác biệt, ở nhiệt độ 27 -29°C cá bột bắt đầu nở ở giờ áp thứ 26 và kết thúc ở giờ thứ 29.
- Tỉ lệ nở có khác biệt về thống kê. Các nghiệm thức áp trong nước 3 và 5‰ đều có tỉ lệ nở cao hơn đối chứng. Sử dụng nước áp có nồng độ muối 5‰ để áp trứng cá tra nghệ là hiệu quả nhất.
- Qua kết quả thí nghiệm bước đầu có thể kết luận cá tra là một loài cá rộng muối và triển vọng ứng dụng qui trình sinh sản nhân tạo và sản xuất giống cá tra nghệ ở vùng nước lợ rất lớn.

Kiến nghị

- Cần có nghiên cứu về trứng và tinh trùng cá tra nghệ nhất là thời gian mở của noãn khổng và độ di động của tinh trùng trong nước ở các độ mặn khác nhau để cung cấp đầy đủ dẫn liệu, hỗ trợ tốt cho qui trình sinh sản nhân tạo và sản xuất giống loài cá này.
- Ứng dụng phương pháp áp trứng trong nước có nồng độ muối 3 và 5‰ vào qui trình sinh sản nhân tạo và sản xuất giống cá tra nghệ

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Tài liệu tiếng Việt

Bộ Thủy Sản, 2004. Tiêu chuẩn ngành thủy sản 28 TCN 211: 2004 Quy trình kỹ thuật sản xuất giống cá Tra.

Nguyễn Tường Anh, 1999. *Một số vấn đề nội tiết học sinh sản cá*. NXB Nông nghiệp.

Nguyễn Tường Anh, 2005. *Kỹ thuật sản xuất giống một số loài cá nuôi (cá trê, cá tra, cá sặc rằn, cá thát lác, cá tai tượng, cá rô phi toàn đực)*. NXB Nông nghiệp.

Vương Học Vinh, 2007. *Khảo sát một số đặc điểm hình thái sinh sản sinh trưởng của cá tra bạch tạng và cá lai giữa cá bạch tạng với cá bình thường (Pangasius hypophthalmus)*, Luận văn Thạc sĩ khoa học ngành Nuôi trồng Thủy sản, Trường Đại Học Cần Thơ.

Tài liệu tiếng Anh

Pouyaud, Gustiana and Teugels, 2002. Systematic revision of *Pangasius polyuranodon* (Siluriformes, Pangasiidae) with description of two new species, *Cybium* 26 (4): 243-252.

Pouyaud, Gustiana and Teugels, 2004. *Pangasius bedado* Roberts, 1999: A junior synonym of *Pangasius djambal* Bleeker, 1846 (Siluriformes, Pangasiidae), *Cybium* 28 (1): 13-18.