

# NGHIÊN CỨU SINH SẢN VÀ ƯƠNG NUÔI ẤU TRÙNG CÁ SONG CHẤM NÂU (*EPINEPHELUS COIODES HAMILTON, 1822*)

Hoàng Nhật Sơn<sup>1</sup>, Trần Thế Mười<sup>1</sup>, Lê Xuân<sup>1</sup>

## TÓM TẮT

Nghiên cứu nhằm xác định phương pháp sinh sản và ương nuôi ấu trùng cá song chấm nâu (*Epinephelus coioides*) tại Việt Nam. Các thí nghiệm được triển khai đã xác định được phương pháp nuôi vỗ thành thực đàn cá bố mẹ khi sử dụng các loại thức ăn giàu dinh dưỡng khác nhau; xác định được 2 phương pháp cho sinh sản tự nhiên và sử dụng kết hợp hoóc môn (liều lượng cá cái: 500 UI HCG + 25 µg LHRH a3; liều lượng cho cá đực = 1/2 cá cái) đều cho tỷ lệ cá tham gia sinh sản (100%), tỷ lệ thụ tinh (62,7-81,3%), tỷ lệ nở (68,5-87,1%). Nghiên cứu cũng đã theo dõi và phân biệt các giai đoạn phát triển của phôi và ấu trùng. Nghiên cứu thành công trong xây dựng quy trình sản xuất giống cá song chấm nâu với các loại thức ăn phù hợp là: vi tảo *Nannochloropsis oculata*, *Isochrysis galbana*; luân trùng (*B. rotundiformis*, *B. plicatilis*), nauplii artemia, thức ăn tổng hợp viên ẩm với thành phần: thịt cá tươi (47%), bột cá (35%), bột cám (17%), vitamin (0,5%), khoáng, men tiêu hóa (5%) với tỷ lệ sống trung bình đạt  $3,72 \pm 0,24\%$ , chiều dài cá hương (40 ngày tuổi) đạt  $35,1 \pm 5,85$  mm.

Từ khóa: Cá song chấm nâu, *Epinephelus coioides*, ấu trùng, ương nuôi, tỷ lệ sống.

## 1. BẬT VẤN ĐỀ

Công nghệ sản xuất giống và ương nuôi các loài cá song (*Epinephelus sp*) đã được quan tâm nghiên cứu tại nhiều nước trên thế giới, đặc biệt là các quốc gia và vùng lãnh thổ khu vực Đông Nam Á, Trung Quốc, Đài Loan và Australia. Đến những năm cuối của thập niên 1980, các nhà khoa học đã bước đầu chủ động sinh sản và ương nuôi thành công một số đối tượng như cá song mỡ *Epinephelus tauvina* (Chen et al., 1977), cá song chanh *E. malabaricus* (Ruangpanit et al., 1986), cá song chấm nâu *E. coioides* (Toledo et al., 1993), cá song chuột *Cromileptes altivelis* (Sugama & Ikenoue, 1999)..... Tại Việt Nam, do đặc điểm sinh trưởng nhanh, dễ thích ứng với điều kiện môi trường nuôi, thịt ngon nên cá song chấm nâu (*Epinephelus coioides* Hamilton, 1822) là đối tượng được lựa chọn như là đối tượng đầu tiên trong nghiên cứu xây dựng quy trình công nghệ.

<sup>1</sup>Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản 1

Qua các tài liệu thu thập được, việc sinh sản cá song (*Epinephelus sp*) nói chung đều trải qua các công đoạn khó khăn do sự thay đổi giới tính, ấu trùng có kích thước nhỏ ( $1,8\text{ mm}$  < chiều dài <  $2,1\text{ mm}$ , kích thước miệng <  $130\text{ }\mu\text{m}$ ) và phát triển trải qua nhiều giai đoạn với các thay đổi về hình dáng cũng như tập tính sinh học, đặc biệt ấu trùng rất nhạy cảm với môi trường. Đây là những khó khăn dẫn đến tỷ lệ sống (giai đoạn 0 - 40 ngày tuổi) thấp, nguyên nhân chủ yếu được xác định là do chất lượng đàn cá bố mẹ, các loại thức ăn tươi sống, quy trình ương nuôi,.... sử dụng với từng đối tượng là chưa phù hợp.

Bài viết này trình bày kết quả một số thí nghiệm trong nghiên cứu chuyển đổi giới tính, sinh sản, sự phát triển phôi - ấu trùng và ương nuôi ấu trùng cá song chấm nâu (*Epinephelus coioides* Hamilton, 1822) thuộc đề tài "Nghiên cứu công nghệ sản xuất giống và nuôi thương phẩm một số loài cá song phục vụ xuất khẩu" tại Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản 1. Sau nghiệm thu, các kết quả nghiên cứu của đề tài cũng đã góp phần định hướng trong việc triển khai nghiên cứu công nghệ sản xuất giống một số đối tượng cá biển có giá trị kinh tế cao ở những năm kế tiếp như: cá hồng Mỹ (*S. ocellatus*), cá song chuột (*C. altivelis*), cá song hổ (*E. fuscoguttatus*), cá song da báo (*P. leopardus*), cá hồng bạc (*L. argentimaculatus*),...

## 2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

### 2.1. Vật liệu và thời gian nghiên cứu

#### a) Vật liệu

\* Ấu trùng, cá hương, cá bố mẹ cá song chấm nâu (*Epinephelus coioides* Hamilton, 1822).

\* Các loại thức ăn sử dụng:

+ Luân trùng (rotifer): 02 dòng luân trùng *Branchionus rotundiformis* (kích thước: 60-150  $\mu\text{m}$ ) và *Branchionus plicatilis* (kích thước: 120-180  $\mu\text{m}$ ), luân trùng được nuôi bằng các loài tảo: *Nannochloropsis oculata*, *Isochrysis galbana*, bổ sung 1 lần/ngày men bánh mì (*Sacharomyces cerevisiae*) nhãn hiệu saf-instant (Pháp).

+ Tảo (*Nannochloropsis oculata*, *Isochrysis galbana*): được nuôi trong các bình nhựa hoặc túi nilông trắng với dung tích 20-80 lít, nước biển được xử lý bằng Clo A (Nhật Bản); bổ sung môi trường dinh dưỡng Conway, sử dụng khi mật độ tảo đạt  $5-6.10^6$  tế bào/ml.

+ Artemia (Vĩnh Châu-Việt Nam), dung dịch cường hóa supe Selco (INVE-Thái Lan).

\* Thiết bị, vật tư chính khác: Kính hiển vi, trắc vi: Hund (Đức); hoóc môn (HCG, LHRH a3): Ningbo Shangsheng Pharmaceutical (Trung Quốc).

b) Thời gian nghiên cứu: 01/2002-12/2004.

c) Địa điểm triển khai: Trạm Nghiên cứu Nước mặn Cát Bà - Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản 1 (Cát Bà - Cát Hải - Hải Phòng).

## 2.2. Phương pháp nghiên cứu

### 2.2.1. Phương pháp nghiên cứu sinh sản, ương nuôi

#### 2.2.1.1. Nghiên cứu chuyển đổi giới tính

a) Chuyển đổi giới tính: Thí nghiệm được bố trí với 2 lô thí nghiệm:

+ Lô thí nghiệm 1 (ký hiệu HM): Số lượng 50 cá thể (độ tuổi >4\*, khối lượng 5-7 kg), sử dụng hoóc môn  $17\alpha$  - metyla testosterone ( $17\alpha$ -MT), liều lượng và thời gian theo bảng 2.

**Bảng 1. Liều lượng và tần suất sử dụng hoóc môn  $17\alpha$ -MT**

Thời gian	Cho ăn		Tiêm	
	Liều lượng	Tần xuất	Liều lượng	Tần xuất
Tháng 1 - tháng 3	3,5 (mg/kg)	5 (ngày/lần)	1,0 (mg/kg)	20 (ngày/lần)
Tháng 4 - tháng 6	5,0 (mg/kg)	5 (ngày/lần)	1,5 (mg/kg)	20 (ngày/lần)

+ Lô đối chứng (ký hiệu ĐCHM): Số lượng 37 cá thể (độ tuổi >4\*, khối lượng 5-7 kg), không sử dụng hoóc môn.

b) Nuôi giữ, nuôi vỗ thành thực

+ Đàn cá song chấm nâu được nuôi giữ, nuôi vỗ trong lồng (Việt Hải - Cát Bà) với kích thước (3x3x3 m) hoặc (3x6x3 m), kích thước mắt lưới (a=2 cm). Mỗi bè có thể có 6 hoặc 4 ô lồng. Mật độ: 10-15 con/lồng (khối lượng 100-200 kg/lồng). Điều kiện môi trường khu vực bè nuôi: Độ mặn 26 - 32‰ và ít biến động. Độ trong > 2 m, dòng chảy 0,1-0,3 m/s, pH 8,0-8,2; DO: 4-5 mg/lít, ít sóng gió. Với từng cá thể được theo dõi, quản lý bằng số điện tử (Pittag); được kiểm tra và loại bỏ các cá thể có kết quả (+) với vi rút VNN.

+ Thức ăn được sử dụng là các loại cá, mực tươi như cá nhâm, cá nục, cá trích, mực, cua, ghẹ,... định kỳ bổ sung vitamin và khoáng chất (Bảng 2).

+ Tổng số cá nuôi vỗ: 90 cá cái và 75 cá đực.

**Bảng 2: Lượng khoáng và vitamine bổ xung cho đàn cá đực và cá cái**

Lượng	Vit-AD	Canxi	Vit-B1	Vit-TA	Vit-C	Khoáng	Vit-E	17 $\alpha$ -MT
1 kg cá đực	190 UI	11 mg	1 mg	112 mg	6,5mg	7 mg	24 UI	0,5 mg
1 kg cá cái	100 UI	7 mg	0,4 mg	52 mg	3,5mg	5 mg	16 UI	

**2.2.1.2. Thí nghiệm kích thích sinh sản**

**a) Thí nghiệm kích thích sinh sản**

\* Kiểm tra chọn cá cho sinh sản: - cá cái: sử dụng ống silicon có đường kính trong là 800  $\mu$ m để thăm trứng, lựa chọn cá cái có trứng tròn đều, rời nhau, đường kính >550  $\mu$ m; - cá đực: vuốt giữa bụng xuống lỗ sinh dục; lựa chọn cá có sẹ đặc, trắng, tan nhanh trong môi trường nước biển.

+ Lô thí nghiệm cho sinh sản tự nhiên (ký hiệu SSTN): Cho đẻ trong các bể có thể tích 90 m<sup>3</sup>, sâu 2,5 m, kích thích sinh sản bằng chảy tràn nhẹ đảm bảo thay 200 – 300%; chảy liên tục 24/24 h với tốc độ 20 m<sup>3</sup>/h, sự thay đổi nước mới kết hợp dòng chảy sẽ kích thích cá đẻ trứng và phóng tinh.

+ Lô thí nghiệm sử dụng hoóc môn HCG + LHRH-a<sub>3</sub> (ký hiệu SSNT) với liều lượng như sau:

- Cá cái: 500 UI HCG + 25  $\mu$ g LHRH-a<sub>3</sub> /1 kg; - Cá đực: 500 UI HCG + 15  $\mu$ g LHRH-a<sub>3</sub>/1 kg.

**b) Khử trùng và ấp nở**

+ Tách trứng nổi (trứng thụ tinh), xử lý bằng nước biển pha dung dịch iốt 10 ppm/15 phút.

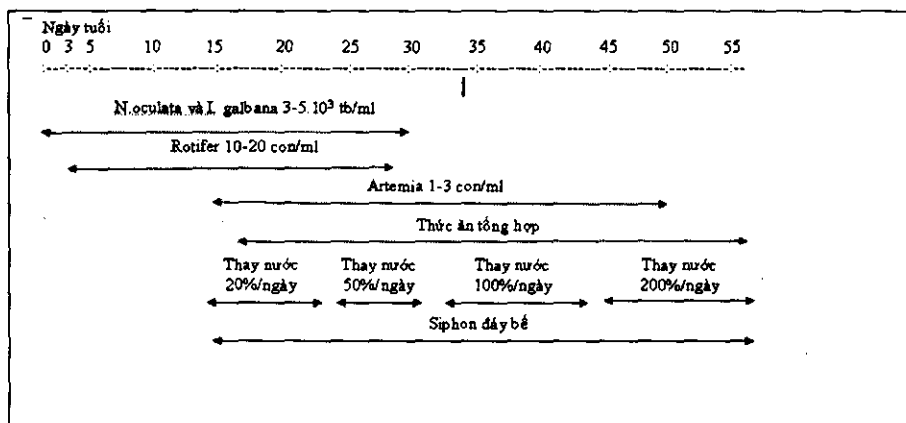
+ Bể ấp đều có hình trụ, đáy hình nón dung tích 500 lit; mật độ trứng ấp khoảng 500-700 trứng/l. Bể được sục khí nhẹ và có hệ thống nước chảy tràn đảm bảo thay tối thiểu 200% nước trong suốt thời gian ấp (khoảng 24 h).

**2.2.1.3. Thí nghiệm ương nuôi ấu trùng thành cá giống**

Chia làm 2 lô thí nghiệm bố trí sử dụng thức ăn tổng hợp khác nhau (giai đoạn sau 18 ngày tuổi):

+ Lô thí nghiệm sử dụng thức ăn tôm, cá băm nhuyễn (ký hiệu TB): 03 bể

+ Lô thí nghiệm sử dụng thức ăn viên ẩm tự chế biến (ký hiệu TATH): 03 bể



Hình 1: Chế độ cho ăn và quản lý bể ương ấu trùng cá song chấm nâu

Phương pháp chăm sóc quản lý chung (Hình 1): Trứng thụ tinh trước khi nở 30-60 phút được thu và chuyển vào các bể 06 bể thí nghiệm xi măng hình vuông (chiều cao 1,5 m, thể tích 25 m<sup>3</sup>), mật độ 20 trứng/l. Giai đoạn đầu sục khí nhẹ, điều chỉnh sục khí tăng dần tùy theo giai đoạn phát triển ấu trùng, sử dụng dầu ăn Neptune để hạn chế cá bột chết nổi (0-9 ngày tuổi), xi phông đáy bể 2 lần/ngày. Nước bể ương được duy trì mật độ tảo *Isochrysis galbana* và *Nannochloropsis oculata* 3-5x10<sup>3</sup> tế bào/ml (0-30 ngày tuổi). Luân trùng *B. rotundiformis* và *B. plicatilis* (trước khi sử dụng) được cường hóa bằng dung dịch supe Selco (10-15 ml supe Selco/100 lít bể luân trùng); mật độ luân trùng 10-20 con/ml trong bể ương được duy trì đến ngày khi ấu trùng đạt 30 ngày tuổi. Từ ngày 12, cung cấp Nauplii artemia với mật độ 1-3 con/ml. Chế độ thay nước: trong giai đoạn đến 12 ngày tuổi, bể ương chỉ được bổ sung vi tảo; lượng nước thay gia tăng đến 200% trong giai đoạn hậu biến thái (từ 30 ngày tuổi). Điều kiện môi trường trong bể thí nghiệm (nhiệt độ: 28-30°C; độ mặn 30 - 31‰; pH 7,5-8,3; DO 5,0-6,2 mg/l, điều chỉnh ánh sáng bằng đèn neon 80 W với cường độ: 1000-1200 lux, thời gian chiếu sáng: 12-15 giờ/ngày).

### 2.2.2. Phương pháp thu thập số liệu

- Xác định các chỉ tiêu môi trường: nhiệt độ (kể thủy ngân); pH, DO, độ mặn (đo bằng máy đo cầm tay Martini - EU).

- Xác định các giai đoạn phát triển của phôi: theo phương pháp của Nguyễn Mộng Hùng (1993), Branko và đồng tác giả (2000), Blaxter (1969).

- Xác định giai đoạn phát triển của ấu trùng: theo phương pháp của Branko và đồng tác giả (2000), Blaxter (1969), Hiroshi Kohno và đồng tác giả (1993).

- Tỷ lệ thành thực (%) = (số lượng cá đực, cái thành thực / tổng số cá nuôi vỗ) x 100%.

- Tỷ lệ chuyển đổi giới tính (%) = (số cá đực / số cá theo dõi) x 100%.

- Tỷ lệ thụ tinh (%) = (số trứng thụ tinh/ tổng số trứng thu được) x 100%.

- Tỷ lệ nở (%) = (số lượng cá bột/ số lượng trứng thụ tinh) x 100%.

- Tỷ lệ sống (%) = (tổng số lượng cá thể thời điểm đếm/ tổng số lượng cá thể ban đầu) x 100%.

- Chiều dài toàn thân trung bình (Ltb) được đo lần đầu khi cá vừa nở, sau đó tần suất thu mẫu là 5 ngày/1 lần, đo từ trước phần miệng đến hết phần đuôi.

### 2.2.3. Phương pháp xử lý số liệu

Xử lý số liệu bằng phần mềm Microsoft office Excel 2003, phân tích phương sai một nhân tố với mức ý nghĩa ( $p < 0,05$ ).

## 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 3.1. Kết quả chuyển đổi giới tính

Các loài cá thuộc họ *Serranidae*, đặc biệt là họ phụ *Epinephelinae* có đặc điểm chung là biến tính cái-đực. Khi nhỏ cho đến tuổi thứ 3-4 hầu hết là con cái, rất ít cá thể (thường khoảng <10%) tự chuyển đổi giới tính trở thành con đực. Đến tuổi thứ 6-7 các con cái mới tự chuyển thành con đực. Ngoài tự nhiên, đối với loài cá song chấm nâu (*E. coioides*), con cái thành thực khi khối lượng 3-5 kg, con đực 6-12 kg (Toledo, 1999; Marte et al., 1999). Trong nghiên cứu sản xuất giống các loài cá song *Epinephelus*, việc chuyển đổi thành công cá đực là vấn đề cần thiết trong sinh sản.

**Bảng 3. Kết quả chuyển đổi giới tính cá song chấm nâu<sup>(\*)</sup>**

TT	Lô thí nghiệm	Số lượng cá thí nghiệm (con)	Tuổi	Số cá đực (con)	Tỷ lệ %
1	ĐCHM	37	>5*	2	5,4
2	HM	75	>5*	64	85,3

<sup>(\*)</sup> Kết quả 2 đợt thí nghiệm chuyển đổi giới tính

Đợt 1 (năm 2002): chuyển đổi giới tính 47 cá thể, đối chứng 20 cá thể

Đợt 2 (năm 2003): chuyển đổi giới tính 28 cá thể, đối chứng 17 cá thể

Trong 02 đợt thí nghiệm chuyển đổi giới tính cá song chấm nâu (năm 2002 và 2003), tại lô thí nghiệm không sử dụng hoóc môn (ĐCHM) chỉ có 2 cá thể cái tự chuyển giới tính thành cá đực, chiếm tỷ lệ 5,4%. Trong khi đó, 75 cá thể được bổ sung *17 $\alpha$ -Metyltestosteron (17 $\alpha$ -MT)* với liều lượng tiêm 0,5 mg/kg cá (tiêm 3 lần, tiêm 2 lần/ tháng) kết hợp cho ăn 2 mg/kg cá (cho ăn 6 lần/ngày) đã có 64 cá thể chuyển thành cá đực (85,3%) (Bảng 3). Kết quả nghiên cứu cho thấy sử dụng hoóc môn *17 $\alpha$ -MT* kết hợp với chế độ nuôi vỗ tích cực tốt có thể chủ động số lượng cá đực cho sinh sản nhân tạo. Kết quả nghiên cứu tương tự kết quả thí nghiệm chuyển đổi giới tính ở cá song chấm nâu (*E. coioides*) của Shin-Lih Yeh và đồng tác giả (2003). Nhóm tác giả đã sử dụng *17 $\alpha$ -MT* trộn vào thức ăn với liều lượng cao (1000  $\mu$ g, 10000  $\mu$ g, 20000  $\mu$ g /kg khối lượng cơ thể) kết quả sau 90 ngày 86 - 90% cá đã hoàn toàn chuyển thành con đực. Nhóm tác giả cũng tiến hành thí nghiệm tiêm *17 $\alpha$ -MT* cho cá song chấm nâu 3 lần với liều lượng cao: 1,0 mg, 10,0 mg và 20 mg/ kg (tổng cộng 31 mg/kg khối lượng cơ thể) đạt tỷ lệ chuyển đổi giới tính 86-90%. Josefa và đồng tác giả (1993) đã thí nghiệm trên cá song *E. suilus* và đã tiêm *17 $\alpha$ -MT* với liều lượng từ 0 đến 5 mg/kg khối lượng cơ thể, tần suất 15 ngày/lần. Lô thí nghiệm liều hoóc môn 5,0 mg/kg, sau từ 6 lần tiêm (với cá có khối lượng 1,2-1,6 kg) - 12 lần tiêm (với cá có khối lượng 0,8 kg) (trong 3-6 tháng), kết quả là 100% số cá thí nghiệm đã chuyển hoàn toàn thành cá đực.

### 3.2. Kết quả nuôi vỗ thành thực

**Bảng 4. Kết quả nuôi vỗ thành thực cá song chấm nâu<sup>(\*)</sup>**

Lô thí nghiệm nuôi vỗ thành thực				
Chỉ tiêu	Số cá cái thành thực/cá nuôi vỗ	(%)	Số cá đực thành thực/cá nuôi vỗ	(%)
Tỉ lệ sống	54/60 (con)	90,0	56/60 (con)	93,3
Tỉ lệ thành thực	45/54 (con)	83,3	53/56 (con)	94,6
Lô thí nghiệm đối chứng				
Chỉ tiêu	Số cá thành thực/cá nuôi vỗ	(%)	Số cá thành thực/cá nuôi vỗ	(%)
Tỉ lệ sống	26/30 (con)	86,7	12/15 (con)	80,0
Tỉ lệ thành thực	2/27 (con)	7,4	3/12 (con)	25,0

<sup>(\*)</sup> Kết quả thí nghiệm năm 2002, 2003

Thức ăn và chế độ chăm sóc đàn cá bố mẹ chuẩn bị cho sinh sản là rất quan trọng nhằm đảm bảo đầy đủ chất dinh dưỡng cho tuyến sinh dục

phát triển, nâng cao chất lượng ấu trùng. Trong điều kiện nuôi vỗ được triển khai tại khu vực biển miền Bắc Việt Nam, trong các tháng 12-3, nước biển thường có nhiệt độ thấp 19,5-22,4°C, độ mặn cao (32-33%), hoạt động ăn mỗi kém thì thời điểm thực hiện và chế độ nuôi vỗ là rất quan trọng. Kết quả thí nghiệm tại bảng 4 cho thấy, trong lô thí nghiệm nuôi vỗ thành thực, tỷ lệ sống đàn cá bố mẹ đạt cao (cá đực 93,3%, cá cái 90%). Tỷ lệ thành thực: cá cái 83,3%, cá đực 94,6%. Lô đối chứng không nuôi vỗ (chỉ sử dụng các loại cá tạp) tỷ lệ sống đạt 80-86,7%; tỷ lệ thành thực với cá cái đạt 7,4% và với cá đực đạt 25,0% (tinh loãng, tỷ lệ tinh trùng bất hoạt cao >50% khi quan sát trên kính hiển vi).

Kết quả nghiên cứu của Ruangpanit (1993) cho thấy thức ăn là cá mòi tươi, mực với khẩu phần ăn hàng ngày 1-2%/kg khối lượng cá, bổ sung vitamin C, Premix và dầu gan cá với tỷ lệ 0,4, 0,3 và 0,35 g, vitamin E 400 mg/kg thức ăn cho ăn 4-5 lần/tuần đã thúc đẩy sự thành thực của cá song chanh bố mẹ (*Epinephelus malabaricus*). Quintilio và đồng tác giả (1996) cũng cho rằng, khả năng sinh sản, số lượng và chất lượng trứng phụ thuộc rất lớn bởi tác động của điều kiện môi trường và chế độ dinh dưỡng của cá bố mẹ.

### 3.3. Kết quả thử nghiệm sinh sản

Nghiên cứu thử nghiệm phương pháp kích thích sinh sản với cá song chấm nâu (độ tuổi 5-6<sup>+</sup>) được triển khai trong năm 2002-2003, 30 cặp cá bố mẹ (khối lượng 6-9,5 kg) đã được lựa chọn để tiến hành cho sinh sản theo 2 phương pháp: cho đẻ tự nhiên (SSTN) và cho đẻ bằng cách tiêm hoóc môn HCG + LHRH-a3 (sinh sản nhân tạo). Phân tích kết quả tại bảng 5, cả 2 phương pháp đều cho tỷ lệ 100% số cá tham gia sinh sản. So sánh tổng số trứng sinh sản, lượng trứng thu được từ lô SSNT cao hơn lô SSTN. Sức sinh sản thực tế của cá song chấm nâu khi được tiêm hoóc môn là tốt hơn (18,7:15,3). Tuy nhiên, khi đánh giá các chỉ tiêu tỷ lệ thụ tinh, tỷ lệ nở, lô thí nghiệm SSTN đạt lần lượt 79,5-81,3% (trung bình 80,2±5,6%) cao hơn so với SSNT là 57,6-65,8% (trung bình 59,8±7,5%). Tỷ lệ dị hình của ấu trùng cá song chấm nâu nở từ phương pháp sinh sản tự nhiên trung bình đạt 3,5±0,65% cũng thấp hơn so với SSNT (9,3±1,9%).

Trong phương pháp cho đẻ tự nhiên, cá song chấm nâu (*E. coioides*) thường sinh sản vào thời gian 17 h - 20 h, chúng thường đẻ rải rác nhiều ngày trong một đợt, lượng trứng đẻ, tỷ lệ thụ tinh và tỷ lệ nở thường thấp ở các lần sinh sản đầu và cuối mỗi đợt. Nghiên cứu cũng đã xác định mùa vụ sinh sản chính của cá song chấm nâu tại miền Bắc Việt Nam trong khoảng 3 tháng (từ tháng 4-6) có một số khác biệt với Toledo et al., 1993, tác giả đã

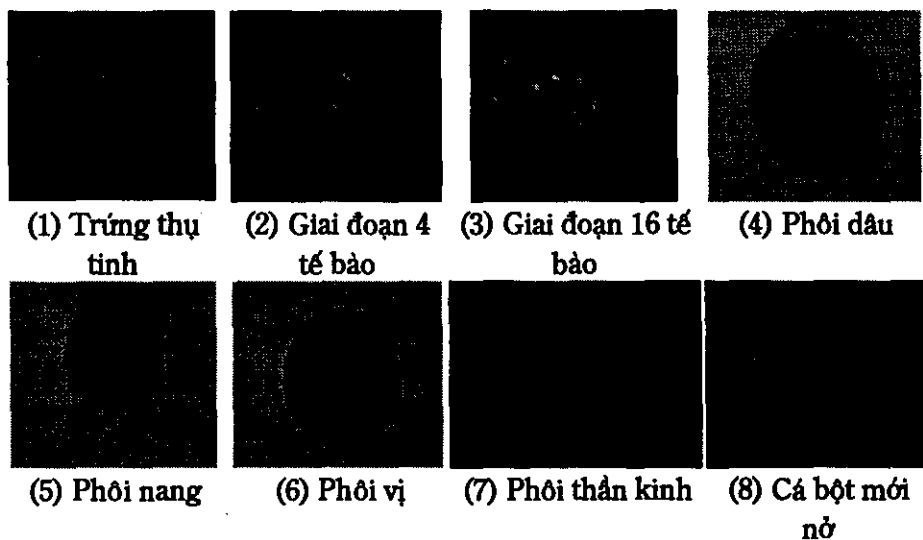


cho sinh sản tự nhiên cá song chấm nâu (*E. coioides*) với 6 cá cái (3,5 – 5,0 kg) và 4 cá đực (7 - 12 kg) thành thực trong bể 50 m<sup>3</sup>, kết quả đã cho đẻ thành công 5 - 17 lần/tháng trong 11 tháng năm 1991 (trừ tháng 5). Sự khác biệt này có thể do điều kiện thời tiết tại Phi-lip-pin là ổn định, nhiệt độ trung bình cao hơn khu vực nghiên cứu của đề tài.

**Bảng 5. Kết quả thí nghiệm sinh sản cá song chấm nâu**

Chỉ tiêu theo dõi	Phương pháp sinh sản			
	SSTN (2002)	SSTN (2003)	SSNT (2002)	SSNT (2003)
Số lượng cá cái (con)	15	15	15	15
Tỷ lệ đực : cái	1 : 1	1 : 1	1 : 1	1 : 1
T. khối lượng cá cái (kg)	127	145,5	121,5	143
T. số trứng đẻ thực tế (triệu)	7,1	8,2	9,0	9,7
Tỷ lệ thụ tinh (tb) (%)	81,3±4,5	79,5±3,5	65,8±5,6	62,7±4,8
Tỷ lệ nở (tb) (%)	87,1±5,8	85,3±6,6	68,5±7,1	70,6±8,7
Tỷ lệ dị hình (tb) (%)	3,2±0,5	4,1±0,7	8,4±1,8	11,6±2,1
Số đợt sinh sản (đợt)	8	9	3	2

### 3.4. Quá trình phát triển phôi



**Hình 2: Hình ảnh một số giai đoạn phát triển phôi cá song chấm nâu**

Trứng thụ tinh của cá song chấm nâu có đường kính trung bình 0,85-0,95 mm, đường kính giọt dầu 0,15-0,2 mm (trung bình đạt 0,16 mm), noãn hoàng dạng hạt nhỏ, màng trứng trong suốt và nhẵn bóng. Quan sát quá trình phát triển phôi cá song chấm nâu cơ bản cũng trải qua các giai đoạn

phát triển chính như phôi của các đối tượng cá song khác như: cá song mỡ (*E. tauvina*) (Hussain N. A. & Higuchi M., 1980), cá song (*E. microdon*) (Tawada S., 1989b); cá song (*E. costae*) (Branko Glamuzila et al., 2000).... Trứng thụ tinh cá song chấm nâu (*E. coioides*) phát triển bình thường trải qua các giai đoạn: thụ tinh, phân cắt tế bào, phôi dâu, phôi nang, phôi vị, phôi thần kinh và nở thành cá bột (Bảng 6, Hình 2).

Thời gian phát triển phôi, tỷ lệ nở, tỷ lệ dị hình của ấu trùng phụ thuộc vào nhiệt độ và độ mặn. Qua các thí nghiệm, đã xác định được tại điều kiện tối ưu cho ấp nở trứng thụ tinh là: độ mặn: 28-30‰, nhiệt độ: 27-29°C, mật độ: 500-700 trứng/lít, nước chảy tràn với tỷ lệ thay đạt 300%/chu trình ấp nở, thời gian nở thành ấu trùng trung bình 22±0,5 giờ.

**Bảng 6. Thời gian phát triển của phôi cá song chấm nâu.**

Giai đoạn	Thời gian*	Giai đoạn	Thời gian*
2 tế bào	16 – 18 phút	Phôi dâu	2-3 giờ
4 tế bào	25 – 30 phút	Phôi nang	3,5-4,5 giờ
8 tế bào	40 – 45 phút	Phôi vị	5 – 6 giờ
16 tế bào	55 – 60 phút	Phôi thần kinh	10 – 12 giờ
32 tế bào	80 – 90 phút	Ấu trùng	22 – 24 giờ

(\* tính từ thời điểm trứng thụ tinh)

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cũng tương tự với một số tác giả khác. Theo Duray và đồng tác giả (1997), phôi cá song chấm nâu loài nở sau 18-20 giờ ở nhiệt độ 28-30°C. Trứng cá song chanh (*E. malabaricus*) nở thành ấu trùng trong thời gian 17-19 giờ tại nhiệt độ 26-29°C (Ruangpanit, 1993). Với loài cá song chuột (*Cromileptes altivelis*), quá trình phát triển phôi trong khoảng thời gian sau 20 giờ tại nhiệt độ 28-29°C (Sugama et al., 2001).

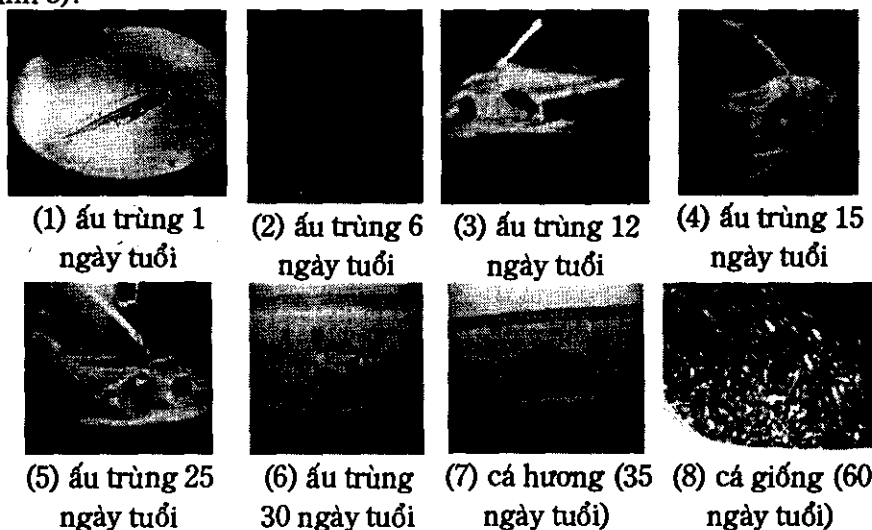
### 3.5. Kết quả ương nuôi ấu trùng cá song chấm nâu

#### 3.5.1. Một số đặc điểm sinh học ấu trùng

Ấu trùng cá song chấm nâu mới nở có chiều dài thân trung bình 28,79 mm (Hình 2(8)). Ấu trùng mới nở có khối noãn hoàng lớn, chiếm gần 2/3 chiều dài thân. Cơ thể trong suốt, có thể nhìn thấy cấu trúc bên trong. Giọt dầu nằm phía gần cuối khối noãn hoàng. Bọng mắt là một khối mờ nhìn được viền nhưng chưa có sắc tố và hơi lồi.

Chiều dài cá bột khi mới nở đạt 2,1-2,2 mm và miệng chưa mở. Ấu trùng 3 ngày tuổi có chiều dài thân khoảng 54 mm, chiều cao thân khoảng 9,1 mm và miệng bắt đầu mở với đường kính miệng 137,2± 20 µm. Trên kính hiển vi có thể quan sát được xương hàm dưới tách khỏi hàm trên và

cử động. Đây là thời điểm ấu trùng chuyển từ dinh dưỡng bằng noãn hoàng sang dinh dưỡng bằng thức ăn ngoài. Từ 9 đến 12 ngày tuổi, ấu trùng phát triển 01 gai vây lưng và 02 gai vây bụng. Chiều dài gai giảm dần từ 25 đến 28 ngày tuổi, giai đoạn này, ấu trùng dần hình thành và hoàn thiện lớp vẩy, vây, đuôi và vượt qua biến thái (cá hương) sau 35-40 ngày tuổi (2,2-3 cm), cá đạt kích thước 5-6 cm (cá giống) sau 55-60 ngày tuổi (Hình 3).



Hình 3: Hình ảnh một số giai đoạn phát triển của ấu trùng cá song chấm nâu (*E. coioides*)

Phân tích quá trình phát triển của ấu trùng cá song chấm nâu cũng tương tự với kết quả đã công bố của các tác giả khác (Ruangpanit, 1993; Toledo et al., 1999; Sugama et al., 2001; Duray et al., 2001; Liao et al., 2001). Phân chia thành 4 giai đoạn phát triển chính với đặc điểm sau:

- + Giai đoạn 0-8 ngày tuổi: miệng mở, noãn hoàng tiêu giảm, sắc tố thân, dinh dưỡng ngoài.
- + Giai đoạn 9-25 ngày tuổi: vây lưng và vây bụng xuất hiện và kéo dài.
- + Giai đoạn 25-32 ngày tuổi: vây lưng, vây bụng ngắn lại; vẩy, vây, đuôi, ... dần hoàn thiện.
- + Giai đoạn sau 35 ngày tuổi: cá biến thái thành cá hương, sống ẩn nấp.

### 3.5.2. Kết quả thí nghiệm ương nuôi cá song chấm nâu

Trong suốt quá trình thí nghiệm, điều kiện môi trường bể ương được duy trì ổn định trong ngưỡng phát triển tốt cho ấu trùng (nhiệt độ 27 - 30°C, độ mặn 28-32 ppt, pH: 8,0-8,2). Ấu trùng bắt đầu mở miệng và bắt mồi khi đạt 3 ngày tuổi. Kích thước miệng lúc này khoảng 130-150 µm, nhưng

ấu trùng chỉ có thể ăn con mồi có kích thước < 100  $\mu\text{m}$ . Trong các loại thức ăn ban đầu, luân trùng *B. rotundiformis* (90-150  $\mu\text{m}$ ); *B. plicatilis* (180 - 230  $\mu\text{m}$ ) có kích thước phù hợp; luân trùng được cường hóa bằng supe Selco, bổ sung axit béo không no cho ấu trùng phát triển.

Trong thí nghiệm ương nuôi ấu trùng cá song chấm nâu (*E. coioides*), các chỉ tiêu đánh giá là tỷ lệ sống và tăng trưởng chiều dài thân, Kết quả đã được tổng hợp và phân tích tại bảng 7.

**Bảng 7: Kết quả tỷ lệ sống và tăng trưởng chiều dài thân ấu trùng cá song chấm nâu**

Ngày tuổi	Tỷ lệ sống (%)		Chiều dài thân (mm)	
	TB	TATH	TB	TATH
0	100	100	2,05 $\pm$ 0,03 <sup>a</sup>	2,01 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>
5	75,10 $\pm$ 6,12 <sup>a</sup>	73,95 $\pm$ 5,86 <sup>a</sup>	3,1 $\pm$ 0,36 <sup>a</sup>	3,09 $\pm$ 0,23 <sup>a</sup>
10	21,40 $\pm$ 4,53 <sup>a</sup>	20,75 $\pm$ 5,08 <sup>a</sup>	3,52 $\pm$ 0,39 <sup>a</sup>	3,5 $\pm$ 0,45 <sup>a</sup>
15	11,30 $\pm$ 2,51 <sup>a</sup>	10,5 $\pm$ 3,02 <sup>a</sup>	4,41 $\pm$ 0,53 <sup>a</sup>	4,39 $\pm$ 0,63 <sup>a</sup>
20	8,32 $\pm$ 1,35 <sup>a</sup>	8,14 $\pm$ 1,51 <sup>a</sup>	8,95 $\pm$ 0,91 <sup>a</sup>	9,01 $\pm$ 0,85 <sup>a</sup>
25	5,65 $\pm$ 0,64 <sup>ab</sup>	6,72 $\pm$ 0,54 <sup>a</sup>	13,5 $\pm$ 1,38 <sup>a</sup>	13,6 $\pm$ 1,42 <sup>a</sup>
30	4,25 $\pm$ 0,25 <sup>a</sup>	5,56 $\pm$ 0,17 <sup>b</sup>	20,15 $\pm$ 2,46 <sup>a</sup>	21,08 $\pm$ 3,51 <sup>a</sup>
35	1,36 $\pm$ 0,59 <sup>a</sup>	4,83 $\pm$ 0,29 <sup>b</sup>	25,8 $\pm$ 3,73 <sup>ab</sup>	26,56 $\pm$ 3,93 <sup>b</sup>
40	0,98 $\pm$ 0,17 <sup>a</sup>	3,72 $\pm$ 0,24 <sup>b</sup>	31,1 $\pm$ 4,92 <sup>a</sup>	35,1 $\pm$ 5,85 <sup>b</sup>

*Các giá trị (tỷ lệ sống, chiều dài thân) trên cùng một hàng có chữ cái khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ )*

Giống với hầu hết ấu trùng các loài cá song, ấu trùng cá song chấm nâu có xu hướng phát triển chậm trong giai đoạn đầu, kết quả tăng trưởng chiều dài của ấu trùng trong thí nghiệm được trình bày trong bảng 2. Phân tích tăng trưởng chiều dài, giai đoạn ấu trùng đạt 40 ngày tuổi, ấu trùng trong các bể sử dụng thức ăn viên ẩm (TATH) có chiều dài trung bình đạt 35,1  $\pm$  5,85 mm cao hơn lô sử dụng thức ăn là tôm băm (31,1  $\pm$  4,92 mm). Sự sai khác này mang ý nghĩa thống kê ( $P > 0,05$ ). Điều này có thể giải thích là ở giai đoạn 35 - 40 ngày tuổi, thức ăn tổng hợp đã sử dụng có kích thước, mùi vị phù hợp kích thích ấu trùng bắt mồi.

Phân tích kết quả về tỷ lệ sống ấu trùng trong 2 lô thí nghiệm: Giai đoạn 5 ngày tuổi, tỷ lệ sống của của ấu trùng đạt 73,95 - 75,1% và không có sự sai khác giữa 2 lô thí nghiệm. Giai đoạn 10 ngày tuổi, tỷ lệ sống của ấu trùng cá song chấm nâu giảm nhanh ở các bể thí nghiệm, chỉ còn 20,75-21,4%. Số lượng chết chủ yếu tại thời điểm ấu trùng 6 - 7 ngày tuổi, giai đoạn khối noãn hoàng hoàn toàn tiêu biến, ấu trùng chết chủ yếu do

không bắt được mồi hoặc khó tiêu thụ thức ăn. Phân tích cho thấy không có sự sai khác về tỷ lệ sống của ấu trùng giữa TB và TATH ( $P > 0,05$ ). Tại thời điểm ấu trùng đạt 30 ngày tuổi, tỷ lệ sống thấp nhất của ấu trùng tại lô thí nghiệm TB khi chỉ đạt 4,25% và giảm nhanh tại các thời điểm ấu trùng đạt 35 - 40 ngày tuổi (tương ứng tỷ lệ 1,36 - 0,98%). Theo nhận định của chúng tôi, nguyên nhân chủ yếu do ấu trùng không ăn thức ăn tôm băm nên yếu và chết. Kết thúc thí nghiệm, tỷ lệ sống của ấu trùng giữa 2 lô thí nghiệm là khác nhau mang ý nghĩa thống kê, cao nhất tại lô TATH (sử dụng thức ăn viên ảm) đạt  $3,7 \pm 0,24\%$ , tỷ lệ sống của ấu trùng lô thí nghiệm TB chỉ đạt  $0,98 \pm 0,17\%$ . So sánh với kết quả ương nuôi cá bột của một số tác giả nước ngoài thì tỷ lệ sống cá bột trong thí nghiệm của chúng tôi tương tự với một số kết quả nghiên cứu của một số tác giả khác (Bảng 8)

**Bảng 8. So sánh tỷ lệ sống ấu trùng cá song chấm nâu của một số tác giả**

Loài cá	Ngày tuổi	Tỷ lệ sống (%)	Tác giả
<i>Epinephelus coioides</i>	40	0,98	Nhóm thực hiện đề tài
	40	3,72	Nhóm thực hiện đề tài
	50	3-5 <30	Toledo, 1999 Liao, 2001
<i>Epinephelus tauvina</i>	50	< 2	Lim, 1983
<i>Epinephelus fuscoguttatus</i>	50	10	Lim, 1983
<i>Epinephelus malabaricus</i>	50	3,21	Ruangpanit et al., 1993

Như vậy, trong quy trình sản xuất giống cá song chấm nâu, thức ăn tự chế biến với thành phần: Thịt cá tươi (47%), bột cá (35%), bột cám (17%), Vitamin (0,5%), khoáng, men tiêu hóa (5%) có thể sử dụng làm thức ăn cho ấu trùng giai đoạn hậu biến thái thành cá hương, cá giống.

#### 4. KẾT LUẬN

Sử dụng hoóc môn  $17\alpha$ -MT (tiêm kết hợp cho ăn) trong chủ động chuyển đổi giới tính cá song chấm nâu (*Epinephelus coioides*); tỷ lệ cá chuyển đổi thành cá đực trong thí nghiệm đạt 85,3%.

Phương pháp sinh sản tự nhiên đạt tỷ lệ thụ tinh (79,5-81,3%), tỷ lệ nở (85,3-87,1%) cao hơn phương pháp sử dụng kết hợp hoóc môn (HCG + LHRH-a3) (62,7-65,8%, 65,8-70,6%).

Đề xuất quy trình sản xuất giống cá song chấm nâu với thức ăn sử dụng giai đoạn ấu trùng 30-40 ngày tuổi là thức ăn tự chế biến với thành

phần: Thịt cá tươi (47%), bột cá (35%), bột cám (17%), vitamin (0,5%), khoáng, men tiêu hóa (5%).

### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Blaxter J. H. S. (1969). Development: eggs and larvae. In: W. S. Hoar and D. J. Randal (Editors). Fish physiology. Vol. 11. Academic Press, San Diego C. A. 1-58.
2. Branko Glamuzila, Niska Glavic, Pero Tutman, Valter Kozul and Bosvko Skaramuca (2000). Egg and early larval development of laboratory reared goldblotch grouper, *Epinephelus costae* (Steindachner, 1878). Sci. Mar., 64(3); pp. 341 - 345.
3. Chao T. M., Lim L. C. & Khoo L. T. (1993). Studies on the breeding of brown-marbled grouper (*Epinephelus fuscoguttatus*) in Singapore. In: Finfish Hatchery in Asia (ed. By C. S. Lee, M. S. Su & I. C. Liao), pp. 143-156. TML Conference Proceedings 3. Tungkang, Taiwan.
4. Chen F. Y., Chow M., Chao T. M. & Lim R. (1977). Artificial spawning and larval rearing of the grouper, *Epinephelus tauvina* (Forsk.) in Singapore. Singapore Journal of Primary Industry 5, 1-21.
5. Duray M. N., Kohno H. (1990). The relationship between mouth width and larval length to prey size in three marine fish species. Philipp. J. Sci. 119, 237-245.
6. Hiroshi Kohno, Susanti Diani and Ateng Supriatna, (1993). Morphological development of larval and juvenile grouper, *Epinephelus fuscoguttatus*. Japan. J., Ichthyol. 40(3), 307-316
7. Hussain N. A. & Higuchi M. (1980). Larval rearing and development of the brown-spotted grouper, *Epinephelus tauvina* (Forsk.). Aquaculture 19, 339-350.
8. Josefa D. Tan-Fermin, Luis Maria B. Garcia and Antonio R. Castillo, Jr, (1994). Induction of sex inversion in Juvenile Grouper, *Epinephelus suillus* (Valenciennes) by Injections of 17 $\alpha$ -Methyltestosterone. Japan. J. Ichthyol 40 (4), 413-420.
9. Liao I. C., Su H. M., and Chang E. Y. (2001). Techniques in finfish larviculture in Taiwan. In: Aquaculture 200 (2001): 1-31.

10. Lim L. C. (1983). Larviculture of the greasy grouper *Epinephelus tauvina* F. & the brown-marbled grouper *Epinephelus fuscoguttatus* F. In Singapore. Journal of the World Aquaculture Society 24, 262-274.
11. Marte C. L. (2003). Laviculture of marine species in Southeast Asia: current research and industry prospects. Aquaculture 227 (2003): 293-304.
12. Nguyễn Mộng Hùng (1993). Bài giảng sinh học và phát triển. NXB Khoa học và Kỹ thuật.
13. Quintitio G. F. et al. (1996). Egg quality of grouper *E. coioides* fed different fatty acid sources. Biology and culture. San Francisco State University, USA. P 103-107.
14. Ruangpanit N., Boonliptanon P. & Kongkumnerd J. (1993). Progress in the propagation and larval rearing of the grouper *Epinephelus malabaricus*. In: Grouper Culture, The Proceedings of Grouper Culture, pp. 32-44.
15. Shinn - Lin Yeh, Quen - Chai Dai, Yeong - Torng Chu, Ching - Ming Kuo, Yun - Yuan Ting, Ching - Fong Chang (2003). Induced sex change, spawning and larviculture of potato grouper, *Epinephelus tukula*. Aquaculture 228, 371 - 381.
16. Sugama K., Tridjoko, Bejo Slamet, Suko Ismi, Eri Setiadi and Shogo Kawahara (2001). Manual for the seed production technique of Humpback grouper *Cromileptes altivelis*. Gondol Research Institute for Mariculture (Indonesia).
17. Tawada S. (1989a). Development of eggs, larvae and juvenile of the grouper *Epinephelus microdon* (Bleeker) reared in the hatchery. Suisanzoshoku H1, 99-103 (in Japanese).
18. Tawada S. (1989b). Spawning of brood stock of the grouper *Epinephelus microdon* (Bleeker). Suisanzoshoku H1, 105-108 (in Japanese).
19. Toledo J. D., (1993). Successive spawning of grouper, *E. suillus* in a tank and a floating net cage. Aquaculture, 115: p 361-367.
20. Toledo J. D., (1996). Preliminary Studies on the Rearing of the Red-spotted Grouper, *Epinephelus coioides* Larvae Using Copepod Nauplii as Initial Food. Aquaculture Department. Southeast Asian Fisheries Development Center. Tigbauan 5021, Iloilo, Philippines.

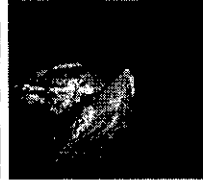
## MỘT SỐ HÌNH ẢNH TRONG QUÁ TRÌNH NGHIÊN CỨU



(1) Bè cá Việt  
Hải



(2) Thăm  
trứng



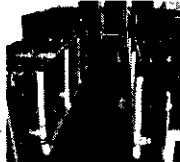
(3) cá bố mẹ



(4) Nuôi sinh  
khối tảo



(5) Bể nuôi  
luân trùng



(6) Khu thí  
nghiệm



(7) Chế biến  
thức ăn



(8) Cá giống

### RESEARCH ON SPAWNING AND LARVA REARING OF ORANGE SPOTTED GROUPER (*EPINEPHELUS COIODES* HAMILTON, 1822)

Hoang Nhat Son<sup>1</sup>, Tran The Muu<sup>1</sup>, Le Xan<sup>1</sup>

#### Summary

This study aimed to identify spawning and larval rearing methods for Orange spotted grouper (*Epinephelus coioides*) in Vietnam. These experiments determined the method to culture broodstocks with different nourishing nutrients; two methods of spawning which were natural and combining between natural and hormone (500 UI HCG + 25 µg LHRH a3 per kg female and a half per male) achieved promising results with the spawning rate being 100%, fertilizing rates (62.7-81.3%), and hatching rates (68.5-87.1%). This study also was conducted to observe and differentiate detail stage of embryogenesis and larval development. This study was success to contribute for reproduction process on Orange spotted grouper with several appropriate feeds such as microalgae *Nannochloropsis oculata*, *Isochrysis galbana*; rotifer (*B. rotundiformis*, *B. plicatilis*), artemia nauplius, and artificial feed which consisted of raw fish (47%), powder fish (35%), vitamin (0.5%), and mineral, enzyme (5%) with average survival rate and total length achieved  $3.72 \pm 0.24\%$  and  $35.1 \pm 5.85$  mm (40 days after hatched) respectively.

**Key words:** *Orange spotted grouper, Epinephelus coioides, larva, rearing, survival rate.*