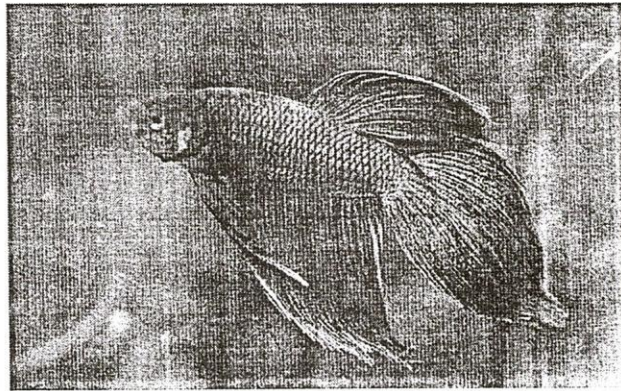


THỬ NGHIỆM NÂNG CAO TỶ LỆ ĐỰC CỦA CÁ XIÊM (BETTA SPLENDENS REGAN) BẰNG CÁCH NGÂM TRONG NƯỚC CÓ PHA 17 α -METHYLTESTOSTERONE (MT)

Trịnh Quốc Trọng - Nguyễn Tường Anh
Trường Đại học Khoa học Tự nhiên
(Bài nhận ngày 05/08/1999)



TÓM TẮT : Thí nghiệm khảo sát hiệu lực của 17 α -methyltestosterone (MT) lên sự đực hóa ở cá xiêm (*Betta splendens* Regan). Thí nghiệm được thực hiện bằng hai phương pháp ngâm và cho ăn với MT. Cá 12, 17, và 22 ngày tuổi được ngâm trong nước có pha MT ở các nồng độ 0,1; 0,2; 0,5; 1,0; 2,5; và 5,0mg/lít; thời khoảng xử lý 3giờ/lần đã thu được tỉ lệ cá đực đạt được tương ứng là 60,51; 64,53; 63,75; 76,46; 83,03; và 84,16%; với tỷ lệ sống tương ứng là 78,67; 75,67; 74,33; 74,00; 71,00; và 69,00%. Bằng phương pháp trộn MT vào thức ăn với liều 40mg/kg thức ăn, bắt đầu cho ăn từ ngày tuổi 21 và kéo dài trong 30 ngày đã thu được tỷ lệ đực là 83,72%, nhưng tỷ lệ chết khá cao, tới 63%.

Chúng tôi muốn đưa ra một khái niệm mới là "hiệu suất đực hóa" [(tỉ lệ đực của nghiệm thức - tỉ lệ đực của đối chứng) \times tỉ lệ sống của nghiệm thức / tỉ lệ cái của đối chứng]. Giá trị này đạt cao nhất là 49,55 và 49,54% ở liều 2,5mg/lít, và cao hơn giá trị tương tự của việc xử lý bằng cách cho ăn (42,27%).

GIỚI THIỆU

Cá xiêm (*Betta splendens* Regan) là loài cá cảnh khá phổ biến. Đặc biệt cá đực có giá trị và nhu cầu cao hơn hẳn so với cá cái, do chúng đẹp và chọi đực. Tuy nhiên tỉ lệ đực

trong các lần sinh sản tự nhiên thường chỉ xấp xỉ 50%. Làm sao để đạt được tỉ lệ đực cao trong một bầy cá xiêm là một vấn đề có ý nghĩa thực tiễn và đã từng được đặt ra.

Phương pháp đổi giới tính cá bằng cách ngâm cá trong nước có pha steroid tuy mới mẻ, chưa được thử nghiệm nhiều, nhưng đã đạt được một số thành công, đặc biệt trên họ cá hồi và rô phi (Varadaraj và Pandian, 1987; Pandian và Varadaraj, 1990; Torrains et al., 1988; Gale et al., 1994) (Bảng 1).

Bảng 1 Một số nghiên cứu đổi giới tính cá bằng phương pháp ngâm trong nước có pha androgen

Loài cá	Steroid	Liều (mg/lít)	Tỉ lệ đực (%)	Tác giả
<i>Oreochromis mossambicus</i>	17 α -methyl-5-androsten-3 β -17 β -diol	0,0005	100	Varadaraj và Pandian (1987)
<i>O. mossambicus</i>	ET	5	100	Pandian và Varadaraj (1990)
<i>O. aureus</i>	Mibolerone	0,6-1	82	Torrains et al. (1988)
<i>O. niloticus</i>	MDHT	0,1-0,5	94-100	Gale et al. (1994)

Ghi chú : ET : Ethynyltestosterone - MDHT : Methyl-dihydrotestosterone

Những nghiên cứu đổi giới tính cá xiêm ban đầu được tiến hành bằng cách cắt bỏ tuyến sinh dục, cụ thể là cắt bỏ buồng trứng (Noble và Kumpf, 1937; Kaiser và Schimdt, 1951; trích qua Yamamoto, 1969; Lowe và Larkin, 1975; trích qua Kavum-purath và Pandian, 1994) đã tạo ra được những con đực chức phận. Tuy nhiên phương pháp này cho tỉ lệ thành công thấp (khoảng 42% cá cái đã đực hóa trong thí nghiệm của Lowe và Larkin) và khó áp dụng trong thực tế.

Kavumpurath và Pandian (1992) thông qua những nghiên cứu của mình đã kết luận phương pháp tốt nhất để đực hóa cá xiêm là xử lý bằng các steroid sinh dục.

Các nghiên cứu đực hóa cá xiêm trước đây bằng cách trộn androgen vào thức ăn (Lương Tuấn Kiệt, 1993; Kavumpurath và Pandian, 1994; Nguyễn Thị Thanh Thúy, 1997) tuy đã nâng tỉ lệ đực lên một cách đáng kể nhưng tỉ lệ sống của cá còn thấp (có thể tới 100% trong thí nghiệm của Kavumpurath và Pandian, nhưng tỉ lệ sống chỉ đạt 36%), do đó mà số cá đực thực tế thu được không cao (Bảng 2).

Bảng 2 Một số kết quả đực hóa cá xiêm bằng MT

Liều (mg/kg thức ăn)	Tỉ lệ đực (%)	Tác giả
80-140	91	Varghese (1989)
100	95	Lương Tuấn Kiệt (1993)
15-50	100	Kavumpurath và Pandian (1994)
40	87,61	Nguyễn Thị Thanh Thúy (1997)

Kirshenblat (1952) lần đầu tiên đã ngâm cá chạch cái, *Misgurnus fossilis*, trong nước có pha MT ở các nồng độ 5-20 mg/lít, thời khoảng từ 30 phút đến 3 giờ, kết quả là cá đã rụng trứng và đẻ. Điều này cho phép chúng ta suy luận rằng bằng cách ngâm thì steroid có thể tới được tuyến sinh dục của cá.

Dựa trên cơ sở thí nghiệm của Kirshenblat và kết quả nghiên cứu của các tác giả nêu trên, kết hợp với nhu cầu thực tế chúng tôi đã tiến hành thử nghiệm đực hóa cá xiêm bằng phương pháp ngâm cá bột trong nước có pha MT.

TƯ LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Cá xiêm bố mẹ được nuôi vỗ tại Bộ môn Động Vật và Sinh lý Động Vật, ĐHKHTN Tp.HCM. Cá đực có chiều dài 4,5-6 cm, cá cái cỡ 4-5 cm. Cá đực được nuôi vỗ riêng trong lọ truyền dịch bằng thủy tinh dung tích 0,5 lít, cá cái được nuôi vỗ chung trong chậu nhựa thể tích 30 lít. Thức ăn để nuôi vỗ cá là loăng quăng và trùn chỉ, cá được cho ăn 2 lần/ngày và được ăn thỏa mãn (*ad libitum*). Thời gian nuôi vỗ là một (1) tháng cho cả hai giới tính. Cá bố mẹ đã qua sinh sản ít nhất hai lần. Cá đực cho sinh sản tự nhiên trong các chậu nhựa thể tích 30 lít. Cá con thu được dùng để đổi giới tính. Cá thí nghiệm được chứa trong các chậu nhựa, mỗi chậu 100 con. Thí nghiệm được bố trí với 9 nghiệm thức (NT), mỗi NT lập lại 3 lần theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên (Bảng 3).

Bảng 3 Các liều MT thí nghiệm

Nghiệm thức	Liều MT (mg/kg)	Liều MT (mg/L)	Ghi chú
1	0,1		Ngâm MT
2	0,2		Ngâm MT
3	0,5		Ngâm MT
4	1,0		Ngâm MT
5	2,5		Ngâm MT
6	5,0		Ngâm MT
7	0		Đối chứng của pp ngâm
8		40,0	Ăn MT
9		0	Đối chứng của pp cho ăn

Ở cách ngâm cá trong nước có pha MT : cá được xử lý 3 lần vào các thời điểm ngày tuổi 12, 17 và 22; thời khoảng 3 giờ/lần. MT được hòa tan trong cồn với nồng độ xác định, khi xử lý dùng ống tiêm hút một lượng xác định (tùy theo liều thí nghiệm) và cho vào nước chứa cá con cần xử lý. Sau khi xử lý xong cá con được chuyển trở lại môi trường nước bình thường để nuôi.

Ở cách cho ăn MT : MT được trộn vào thức ăn (theo phương pháp cồn bốc hơi của Guerro, 1976) cho cá ăn, liều 40mg/kg thức ăn, bắt đầu cho ăn từ ngày tuổi 21 và kéo dài trong 30 ngày. Thức ăn cho cá xiêm trong thí nghiệm gồm 75g cám gạo mịn, 25g tròng đỏ trứng gà luộc, thêm 4mg (trong 0,8 ml cồn 95°) được trộn kĩ, sấy khô ở 45°C trong 2 ngày, sau đó được bảo quản và cho ăn dần. Mỗi ngày cá được cho ăn 2 lần (lúc 8-9 h và 15-16 h) trong khoảng nửa giờ. Thức ăn được cung cấp thỏa mãn. Thức ăn của NT đối chứng có thành phần và khẩu phần tương đương, nhưng không trộn thêm MT.

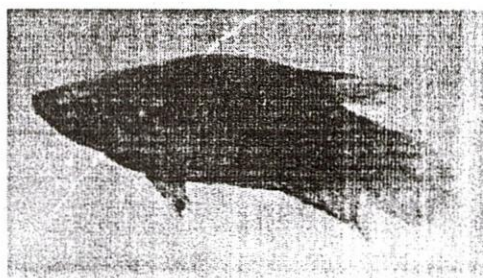
Ở thời điểm 120 ngày Tỷ lệ sống của cá được xác định bằng cách đếm số con còn lại. Cùng lúc này Tỷ lệ đực cũng được xác định thông qua một số đặc điểm ngoại hình như sau :

Cá đực

Mình thon dài.
Các vây đơn to rộng, vây lưng và vây đuôi xoè tròn (ở cá xiêm). Ở cá lai phươn các vây đơn rất dài.
Màu sắc sặc sỡ và hiệu chiến hơn.
Khi nhốt chung với cá cái, làm tổ bọt.

Cá cái

Mình mập, ngắn, bụng to.
Vây lưng nhọn và nhỏ hơn, nhìn chung các vây đơn nhỏ hơn cá đực.
Màu sắc kém sặc sỡ hơn.
Nhốt chung với cá cái không làm tổ.



Theo Hunter và Donaldson (1983) thì cách đánh giá chính xác nhất kết quả của việc xử lý (chuyển đổi giới tính cá) là thông qua trắc nghiệm thế hệ con, vì ngay cả phương pháp khảo sát tổ chức học tuyến sinh dục cá đôi khi cũng cho kết quả không chính xác. Trong thí nghiệm này chúng tôi không có đủ thời gian cũng như điều kiện để kiểm tra toàn bộ số cá thu được sau khi xử lý bằng cách trắc nghiệm thế hệ con, do đó mà việc xác định giới tính đực cái của cá được xử lý dựa vào các tiêu chuẩn ngoại hình như đã trình bày ở trên.

Tuy nhiên, thực chất con số tỷ lệ đực chưa nói lên đầy đủ hiệu quả của việc xử lý. Để đánh giá chính xác kết quả của các phương pháp xử lý, chúng tôi sử dụng khái niệm *hiệu suất đực hóa*:

$$\text{Hiệu suất đực hóa} = \frac{(\text{Tỷ lệ đực của NT}) - (\text{Tỷ lệ đực của ĐC})}{\text{Tỷ lệ cái của ĐC}} \times \text{Tỷ lệ sống của NT}$$

Trắc nghiệm F được dùng để so sánh các giá trị trung bình.

Hiệu suất này sẽ có giá trị từ 0 đến 100%. Giá trị bằng không (0) khi không có cá cái nào được chuyển đổi giới tính (Tỷ lệ đực của NT = đực của ĐC) hay Tỷ lệ sống của NT = 0 và bằng một (1) khi Tỷ lệ đực của NT = 100% và Tỷ lệ sống của NT = 100%.

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Tỉ lệ cá đực tự nhiên

Tỉ lệ đực ở hai NT đối chứng (ĐC) rất thấp, lần lượt là 43,84% và 43,39% ở NT 8 và 9 (Bảng 4). Điều này có thể do chúng tôi sử dụng cá cái tái thành thực để cho đẻ. Theo Dương Thị Thúy Nga (1993, trích qua Nguyễn Thị Thanh Thúy, 1997) thì cá xiêm cái ở lần đẻ thứ nhất và lần thứ hai cho tỉ lệ cá đực cao (65-80%), từ lần sinh sản thứ ba trở đi thì tỉ lệ đực rất thấp (5-20%).

Kavumpurath và Pandian (1992) khi cái hóa cá xiêm đã kết luận tỉ lệ đực:cái ở nhóm đối chứng gần bằng 1:1. Cũng hai tác giả này (1994) khi đực hóa cá xiêm đã thu được tỉ lệ ở nhóm đối chứng là 46%.

Những kết quả này có thể phù hợp với nguyên tắc kinh nghiệm của Haldane (1922) : “Trong các thí nghiệm lai giữa các loài và sự vắng hay hiếm một giới tính chứng tỏ tính dị giao tử của giới tính ấy”. Thực tế nhiều tác giả cho rằng cá xiêm thuộc cơ chế XY, tức con đực là dị giao tử và con cái là đồng giao tử (Kaiser và Schmidt, 1951, trích qua Yamamoto, 1969; Kavumpurath và Pandian, 1992, 1994).

Bảng 4 Tỉ lệ đực và hiệu suất đực hóa của các nghiệm thức

NT	Liều		Còn sống	Cá đực	Hiệu suất	Ghi chú
	(mg/L)	mg/kg	Tỉ lệ ^(*) (%)	Tỉ lệ ^(*) (%)	(%)	
1	0,1		78,67±3,53	60,51±1,99	23,26	Ngâm MT
2	0,2		75,67±5,69	64,53±2,51	27,78	Ngâm MT
3	0,5		74,33±2,33	63,74±2,07	26,53	Ngâm MT
4	1,0		74,00±2,65	76,46±1,62	42,98	Ngâm MT
5	2,5		71,00±1,53	83,03±2,39	49,55	Ngâm MT
6	5,0		69,00±3,05	84,16±1,83	49,54	Ngâm MT
7	0		76,33±2,96	43,83±2,49		ĐC của pp ngâm
8		40	47,00±2,52	83,72±1,49	42,77	Ăn MT
9		0	59,33±0,33	43,39±1,36		ĐC của pp cho ăn

Ghi chú : Mỗi nghiệm thức (NT) lập lại 3 lần, mỗi lần 100 con.

^(*) : Trung bình của 3 lần lập lại.

Tỉ lệ đực ở các nghiệm thức xử lý với MT

Kết quả của việc đổi giới tính cá xiêm cũng tương tự như trên các loài cá khác, phụ thuộc vào liều steroid, thời điểm và thời khoảng xử lý (xem các bài tổng quan của Vanyakina, 1969; Yamamoto, 1969; Hunter và Donaldson, 1983; Pandian và Sheela, 1995).

Tất cả 7 NT xử lý MT, bao gồm : 6 NT ngâm trong nước có pha MT (ngâm MT) và 1 NT trộn MT vào thức ăn (ăn MT) đều cho tỉ lệ đực cao hơn hẳn so với 2 NT đối chứng. Sự

sai khác này là có ý nghĩa ở mức độ tin tưởng 95% ($P < 0,05$) (Bảng 4). Điều này chứng tỏ MT có hiệu lực đực hóa ở cá xiêm, dù xử lý theo cách nào.

Tỉ lệ đực ở phương pháp ngâm MT

Tỉ lệ đực của các NT nhìn chung là có gia tăng khi tăng liều : ở các liều 0,1; 0,2; 0,5; 1,0; 2,5 và 5,0 mg/lít cho tỉ lệ đực tương ứng là 60,51; 64,53; 63,74 ; 76,46; 83,03; và 84,16% (Bảng 4). Duy chỉ có NT 3 (0,5 mg/L) có tỉ lệ đực hơi thấp hơn so với NT 2 (0,2 mg/L) : 63,75% so với 64,53%. Tuy nhiên sự sai khác này không có ý nghĩa về mặt thống kê.

Tỉ lệ đực ở các NT 1, 2, và 3 tuy cao hơn một cách có ý nghĩa so với NT đối chứng nhưng thấp hơn một cách có ý nghĩa so với 3 NT 4; 5 và 6 ($P < 0,05$) (Bảng 4). Tỉ lệ đực cao nhất được tìm thấy ở NT5 và NT6; sự sai khác có ý nghĩa so với 4 NT còn lại. Như vậy rõ ràng phương pháp ngâm cá trong MT có hiệu quả đực hóa ở cá xiêm.

Tỉ lệ đực ở phương pháp cho ăn MT

Tỉ lệ đực ở NT 8 (40mg/kg thức ăn) đạt 83,72%, tương đương với kết quả cao nhất đạt được ở phương pháp ngâm cá trong nước pha MT (Bảng 4). Như vậy trộn MT vào thức ăn có tác dụng đực hóa ở cá xiêm.

Hiệu suất đực hóa

Chúng tôi đưa ra khái niệm “hiệu suất đực hóa” nhằm để đánh giá một cách chính xác hơn hiệu quả của việc xử lý.

Hiệu suất đực hóa cao nhất ở NT 5 và 6 : 49.55 và 49.54. Hiệu suất đực hóa của NT 8 thấp hơn : 42,77% (Bảng 4).

Phương pháp ngâm cá trong nước có pha steroid và phương pháp trộn steroid vào thức ăn đều có tác dụng đực hóa cá xiêm. Nhưng bằng cách ngâm thì tỉ lệ sống cá cao hơn, do đó mà hiệu suất đực hóa cao hơn (Bảng 4). Vì vậy phương pháp ngâm có triển vọng hơn để áp dụng vào thực tiễn sản xuất.

KẾT LUẬN

Có thể đực hóa cá xiêm (*Betta splendens* Regan) bằng phương pháp ngâm cá trong nước có pha 17 α -methyltestosterone (MT) ở các liều 0,1; 0,2; 0,5; 1,0; 2,5; & 5,0 mg/L, thời điểm xử lý : ngày tuổi 12, xử lý ba lần vào các ngày tuổi 12, 17 và 22; thời khoảng 3giờ/lần.

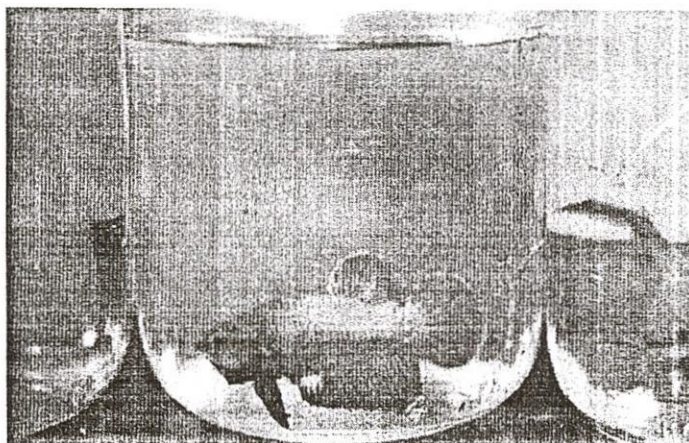
Đồng thời cũng có thể đực hóa cá xiêm bằng phương pháp trộn MT vào thức ăn, với liều 40 mg/kg thức ăn, bắt đầu từ ngày tuổi 21 và kéo dài trong 30 ngày.

Tỉ lệ đực cao nhất là 83,03% và 84,16% khi xử lý MT ở liều 2,5 và 5,0 mg/L bằng phương pháp ngâm trong nước có pha MT. Đối với phương pháp trộn MT vào thức ăn thì tỉ lệ đực là 83,72% ở liều 40 mg/kg thức ăn.

Hiệu suất đực hóa của phương pháp ngâm cao hơn phương pháp cho ăn, do tỉ lệ sống của phương pháp ngâm cao hơn. Và giá trị này đạt cao nhất là 58,95%, tương ứng với liều 2,5 mg/lít.

EXPERIMENT FOR INCREASING THE MALE RATIO OF FIGHTING FISH, *BETTA SPLENDENS* REGAN, BY IMMERSION TREATMENT IN SOLUTION OF 17 α -METHYLTESTOSTERONE (MT)

Trinh Quoc Trong – Nguyen Tuong Anh



*In our study the effect of 17 α -methyltestosterone soluted in water for masculinization of fighting fish, *Betta splendens* Regan, was investigated. The fish at age of 12, 17, and 22 days were treated in solution of 0.1; 0.2; 0.5; 1.0; 2.5; and 5.0 ppm of MT. Duration of each treatment is 3hrs. The male ratio were 60.51; 64.53; 63.74; 76.46; 83.03; and 84.16%; respectively. The survival rate were 78.67; 75.67; 74.33; 74.00; 71.00; and 69.00%; respectively. Dietary treatment with MT at 40 ppm applied at the age of fry of 21 days and lasted for 30 days produced 83.72% of male fish with death rate of 63.00%.*

We would like to introduce the conception “effectiveness of masculinization” [(male ratio of treatment–male ratio of control) \times survival rate / female ratio of control]. This value is highest at 2.5 ppm and 5.0 ppm (49.55% and 49.54%) of imersion treatment, and higher than that of dietary treatment (42,27%).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Lương Tuấn Kiệt, 1993. Nghiên cứu bước đầu về khả năng tạo thể hệ con toàn trống ở hai loài cá đá : cá Xiêm (*Betta splendens*) và Lia thia (*Macropodus opercularis*). Tiểu luận tốt nghiệp, Đại Học Tổng Hợp Tp.HCM.
- [2] Nguyễn Thị Thanh Thúy, 1997. Ảnh hưởng của Methyltestosterone đến sự chuyển đổi giới tính ở cá xiêm (*Betta splendens*). Báo cáo tốt nghiệp, Đại Học Nông Lâm Tp.HCM.
- [3] George, T., Pandian, T.J., Kavumpurath, S., 1994. Invibility of YY zygotes of the fighting fish, *Betta splendens*. *Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh*, 46, pp.3-8.

- [4] Hunter, G. A, and Donaldson, E. M., 1983. Hormonal sex control and its application to fish culture. In : W. S. Hoar, D. J. Randal and E. M. Donaldson (Editors). *Fish Physiology*, Vol.9B, Academic Press, New York, pp.223-303.
- [5] Kavumpurath, S., and Pandian, T.J, 1992. The development of all-male sterile triploid fighting fish (*Betta splendens* Regan) by integrating hormonal sex reversal of broodstock and chromosome-set manipulation. *Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh*, 144, pp.111-119.
- [6] Kavumpurath, S., and Pandian, T.J., 1994a. Induction of heterozygous and homozygous diploid gynogenesis in *Betta splendens* (Regan) using hydrostatic pressure. *Aquaculture and Fisheries Management*, 25, pp.133-142.
- [7] Kavumpurath, S., and Pandian, T.J., 1994b. Masculinization of fighting fish *Betta splendens* Regan, using synthetic or natural androgens. *Aquaculture and Fisheries Management*, 25, pp.373-381.
- [8] Kirpichnikov, V.S., 1987. *Di truyền và chọn giống cá*. Nxb Leningrad. Trang 98-129 (Tiếng Nga).
- [9] Pandian, T.J., and Varadaraj, K.,1990. Techniques to Produce 100% Male Tilapia. *Naga ICLARM Quarterly*, 13, pp.3-5.
- [10] Pandian, T.J., and Sheela, S.G., 1995. Hormonal induction of sex reversal in fish. *Aquaculture*, 138, pp.1-22.
- [11] Torrans, Meriwether, F., Lowell, F., Wyatt, B., and P. D. Gwinup, 1988. Sex reversal of *Oreochromis aureus* by Imersion in Mibolerone, a Synthetic Steroid. *Journal of the World Aquaculture Society*, Vol 19, No.3, pp.97-102.
- [12] Varghese, T.J., Basavaraja, N.T., Nandeesh, M.C., Keshavanath, P., and Shetty, H.P.C., 1989. Use of Hormones for Sex Manipulation and Growth Promotion in Cultivable Fishes. *Aquaculture Productivity* , 55, pp.607-622.
- [13] Vanyakina, E.D (1969). Di truyền học về xác định giới tính và một số vấn đề điều khiển giới tính bằng hormon ở cá xương. Trong sách : *Di truyền, chọn giống và lai cá*. Nxb Khoa Học Moskva, trang 25-41 (tiếng Nga).
- [14] Yamamoto, T., 1969. Sex differentiation. In : W.S. Hoar and D.J. Randall, (eds.), *Fish Physiology*, Vol.3, Academic Press, New York, pp.117-175.