

# MỘT SỐ KẾT QUẢ BAN ĐẦU VỀ KÍCH THÍCH SINH SẢN NHÂN TẠO ỄNH ƯƠNG (*Kaloula pulchra*) BẰNG LH-RHa

Nguyễn Công Tráng<sup>1</sup>

## PRELIMINARY RESULTS ON ARTIFICIAL PROPAGATION OF ASIAN PAINTED FROG (*Kaloula pulchra*) USING LH-RHa

Nguyen Cong Trang<sup>1</sup>

**Tóm tắt –** Nghiên cứu sản xuất giống ẽnh ương (*Kaloula pulchra*) bằng LH-RHa được tiến hành nhằm đánh giá khả năng sinh sản của ẽnh ương trong điều kiện nhân tạo. Mỗi nghiệm thức có nồng độ LH-RHa (60, 80, 100 và 120µg/kg ẽnh ương) khác nhau và được lặp lại bốn lần. Kết quả cho thấy, tất cả các liều của LH-RHa từ 60-120µg/kg đều kích thích ẽnh ương sinh sản. Tuy nhiên, liều 60 µg LH-RHa (nghiệm thức 1) đã cho kết quả ẽnh ương sinh sản tốt nhất. Nghiên cứu đã ghi nhận được một số chỉ tiêu sinh sản của ẽnh ương ở nghiệm thức 1: thời gian hiệu ứng  $5,2 \pm 0,65$  giờ ở nhiệt độ  $29,2 \pm 0,17^\circ\text{C}$ ; tỉ lệ sinh sản  $91,8 \pm 8,25\%$ ; sức sinh sản thực tế  $47.866 \pm 2.377$  trứng/kg ẽnh ương cái; tỉ lệ thụ tinh  $96,8 \pm 0,63\%$ ; thời gian phát triển phôi  $16,2 \pm 1,23$  giờ ở nhiệt độ  $29,2 \pm 0,17^\circ\text{C}$  với tỉ lệ nở  $96,6 \pm 1,03\%$ ; thời gian biến đổi hình thái  $14,5 \pm 0,2$  ngày (sau khi nở) ở nhiệt độ  $30,5 \pm 0,31^\circ\text{C}$  và tỉ lệ sống của nòng nọc, ẽnh ương con sau 30 ngày ương là  $26,7 \pm 1,33\%$ . Nghiên cứu này là một trong những nghiên cứu đầu tiên về sản xuất giống nhân tạo loài ẽnh ương (*Kaloula pulchra*) tại Việt Nam.

**Từ khóa:** ẽnh ương, *Kaloula pulchra*, kích thích sinh sản.

**Abstract –** This study on artificial propagation of the Asian painted frog (*Kaloula pulchra*) was conducted to evaluate the reproductive efficiency of LH-RHa stimulation. The experiment samples were randomized into 4 different dosage groups with LH-RHa, including 60, 80, 100 and 120µg/kg of body weight, and each trial was repeated four times. The results showed that the appropriate dose for Asian painted frog reproduction was the 60mg/kg of LH-RHa (treatment 1). Some reproductive parameters were documented on treatment 1 including: latency time ( $5.2 \pm 0.65$  hours at  $29.2 \pm 0.17^\circ\text{C}$ ), spawning rate ( $91.8 \pm 8.25\%$ ), fecundity ( $47.866 \pm 2.377$  eggs per kg of female), fertilization rate ( $96.8 \pm 0.63\%$ ), hatching time ( $16.2 \pm 1.23$  hours at  $29.2 \pm 0.17^\circ\text{C}$ ), hatching rate ( $96.6 \pm 1.03\%$ ), and metamorphosis duration ( $14.5 \pm 0.2$  days at  $30.5 \pm 0.31^\circ\text{C}$ ). The average survival rate of the froglets in the treatment 1 group during 30 days of nursing was at  $26.7 \pm 1.33\%$ . Moreover, this is one of the first preliminary studies about propagation of the Asian painted frog (*Kaloula pulchra*) in Vietnam.

**Keywords:** *Kaloula pulchra*, induced breeding, seed production.

<sup>1</sup>Khoa Nông nghiệp và CNTP, Trường Đại học Tiền Giang

Ngày nhận bài: 03/09/2019, Ngày nhận kết quả bình duyệt: 12/9/2019, Ngày chấp nhận đăng: 23/10/2019

Email: [nguyenccongtrang@tgu.edu.vn](mailto:nguyenccongtrang@tgu.edu.vn)

<sup>1</sup>Faculty of Agriculture and Food Science, Tien Giang University

Received date: 03<sup>rd</sup> September 2019 ; Revised date: 12<sup>th</sup> September 2019; Accepted date: 23<sup>rd</sup> October 2019

## I. GIỚI THIỆU

Ênh ương (Kaloula pulchra) phân bố ở nhiều nơi trên thế giới, trong đó có vùng Đông Nam Á [1]. Do thịt ênh ương thơm ngon, giàu dinh dưỡng nên chúng được người dân rất ưa thích. Trong các nhà hàng, ênh ương được chế biến thành nhiều món ăn khác nhau như um, chả, chiên giòn, nấu cháo với đậu xanh... Bên cạnh đó, do ênh ương ăn một lượng lớn thức ăn là sâu bọ, côn trùng gây hại mùa màng nên ênh ương còn được người dân nuôi trong các nông trại để tiêu diệt côn trùng gây hại cây trồng [2]. Hiện nay, nguồn lợi ênh ương trong tự nhiên đã suy giảm do bị khai thác quá mức để làm thực phẩm, cùng với hậu quả của việc sử dụng thuốc bảo vệ thực vật và ô nhiễm nguồn nước [1], [3]. Những tác động bất lợi này làm ảnh hưởng trực tiếp tới môi trường sống của ênh ương, vì vậy, chúng ngày càng cạn kiệt. Hiện nay, chúng ta đã có nhiều nghiên cứu sản xuất giống nhân tạo ênh ương tại Việt Nam như nghiên cứu của Võ Trường Giang, Nguyễn Công Tráng và Huỳnh Thanh Duy [1], [4]. Tuy nhiên, tỉ lệ sống của ênh ương con thu được rất thấp, chỉ khoảng 20% trở lại. Vì vậy, tiếp tục nghiên cứu một số biện pháp kỹ thuật giúp nâng cao tỉ lệ sống của ênh ương trong sản xuất giống nhân tạo là cần thiết. Để thực hiện đề tài này, nghiên cứu đã thực hiện một số nội dung như tuyển chọn và thuần dưỡng ênh ương bố mẹ, kích thích ênh ương sinh sản bằng hormone và thực hiện ương nuôi nòng nọc ênh ương.

## II. TỔNG QUAN NGHIÊN CỨU

Trên thế giới, hiện tại chưa ghi nhận được một nghiên cứu nào về sản xuất giống nhân tạo loài ênh ương. Các nghiên cứu về ênh ương hiện nay chỉ dừng lại ở việc nghiên cứu sự phân bố, môi trường sống, tập tính ăn và mô tả các đặc điểm hình thái của các loài ênh ương [1], [3], [5]. Tại Việt Nam, bước đầu đã có một vài nghiên cứu về sản xuất giống ênh ương nhân tạo [1], [4], [6]. Tuy nhiên, các nghiên cứu này hiện đang dừng lại ở mức thăm dò khả năng sinh sản nhân tạo của ênh ương dưới tác động của các loại hormone sinh sản. Tỉ lệ sống của ênh ương

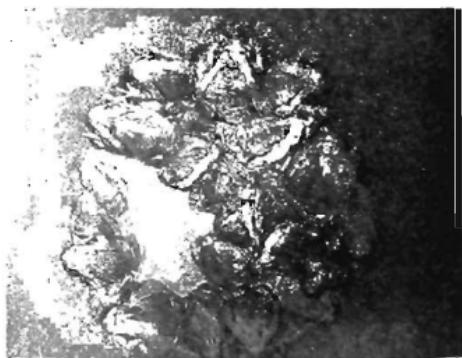
con thu được trong quá trình sản xuất giống nhân tạo chưa cao, dao động từ 10,5-20,9% [6]. Với tỉ lệ sống này, quy trình sản xuất giống nhân tạo ênh ương chưa thể áp dụng vào thực tiễn sản xuất vì chi phí sản xuất để tạo ra một con ênh ương giống rất cao, chưa mang lại hiệu quả kinh tế cho người sản xuất. Theo Nguyễn Công Tráng [6], nguyên nhân làm tỉ lệ sống của ênh ương giống trong quá trình sản xuất giống nhân tạo thấp là do sau khi biến đổi hình thái, trong điều kiện nhân tạo, ênh ương con chưa tìm được loại thức ăn thích hợp. Vì vậy, khả năng bắt mồi yếu, kém ăn, suy nhược dẫn đến không tăng trưởng và chết.

## III. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Nghiên cứu được thực hiện từ tháng 01 đến tháng 06/2019 tại xã Tân Bình, huyện Mỏ Cày Bắc, tỉnh Bến Tre.

### A. Thu gom và thuần dưỡng ênh ương bố mẹ

Ênh ương bố mẹ có khối lượng 50 - 60 g/con, chiều dài cơ thể 6-8 cm/con có nguồn gốc từ tự nhiên, được thu gom và tuyển chọn từ địa bàn nghiên cứu.



Hình 1: Énh ương bố mẹ dùng cho sinh sản nhân tạo

Ênh ương bố mẹ sau khi thu gom, được nuôi riêng đực, cái trong các bể bạt (có giá thể lá dừa khô cho ênh ương ăn nấp) với mật

dộ 30 con/m<sup>2</sup> cho thích nghi dần với điều kiện nuôi nhốt từ 7-10 ngày rồi mới cho sinh sản. Ăn ương bồ mè hằng ngày được cho ăn bằng sáu gạo tươi với khẩu phần 10% khối lượng thân.

Chọn ẽnh ương bồ mè cho sinh sản: Con cái (hàm dưới không có túi âm thanh-Hình 2), chọn những con có ngoại hình cân đối, bụng to, mềm dều. Con đực (hàm dưới có túi âm thanh sậm màu). Chọn con khỏe mạnh, linh hoạt, chai tay nhám.



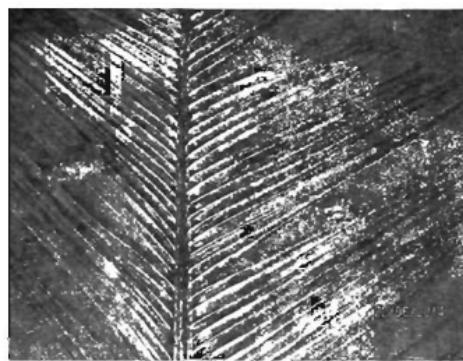
Hình 2: Ăn ương đực (phải-có túi âm thanh sậm màu) và cái (phải-không có túi âm thanh)

### B. Bố trí thí nghiệm sinh sản

Bố trí thí nghiệm sinh sản: Thí nghiệm (TN) được bố trí ngẫu nhiên với 4 nghiệm thức (NT) và 4 lần lặp lại/NT. Theo kết quả của TN thăm dò [6], ẽnh ương cái chỉ dễ trứng dưới tác dụng của LH-RHa+Domperidon ở liều từ 60-120mg LH-RHa/kg ẽnh ương. TN gồm 4 NT: với NT1 ẽnh ương được tiêm 60µg LH-RHa+5 mg Domperidon/kg, NT2 ẽnh ương được tiêm 80µg LH-RHa+5 mg Domperidon/kg, NT3 ẽnh ương được tiêm 100µg LH-RHa+5 mg Domperidon/kg và NT4 ẽnh ương được tiêm 120µg LH-RHa+5mg Domperidon/kg. Liều tiêm chất kích thích sinh sản (KTSS) của ẽnh ương đực và ẽnh ương cái là như nhau.

Tiêm chất KTSS vào bắp của chi trước ẽnh ương với hình thức tiêm một lần duy nhất. Sau khi đã tiêm chất KTSS, ẽnh ương được bố trí vào bể bạt 1 m<sup>2</sup>, mực nước trong bể cao 10 cm (có giá thể là lá dừa). Tỉ lệ đực/cái ghép cặp là 1/1, mỗi bể 5 cặp, mỗi NT 20 cặp. Theo dõi thời gian để xác định thời gian

hiệu ứng của chất KTSS lên ẽnh ương bồ mè, thời gian hiệu ứng được tính bằng giờ và xác định bằng khoảng thời gian tính từ lúc kết thúc tiêm chất KTSS đến lúc trong bể có ẽnh ương cái bắt đầu đẻ trứng.



Hình 3: ẽnh ương bắt cặp trong bể đẻ

### C. Áp trứng và ương nòng nọc

Áp trứng: ẽnh ương bồ mè được vớt ra khỏi bể sau khi đẻ, trứng được áp ngay trong bể. Riêng số trứng mẫu để xác định tỉ lệ nở thì vớt ra các xô nhựa khác nhau (diện tích 0,15m<sup>2</sup>/xô) có cùng chất lượng nước để áp, trứng được áp với mật độ như nhau là 500 trứng/m<sup>2</sup>.

Ương nòng nọc: Nòng nọc thu được của các NT sinh sản nêu trên được ương riêng trong các bể nhựa hình chữ nhật có thể tích 0,3 m<sup>3</sup>. Phía trên khu nhà ương, có lưới lan che bớt nắng. Trong bể ương có bố trí rau muống, để che bớt nắng cho nòng nọc (Hình 4). Nòng nọc thu được trong các bể đẻ khác nhau được ương tương ứng với các bể khác nhau để đảm bảo đủ số lần lặp lại của mỗi NT. Nòng nọc được ương với mật độ 500 con/m<sup>2</sup> trong thời gian 30 ngày. Thức ăn sử dụng trong ương nuôi nòng nọc là lòng đỏ trứng gà công nghiệp (luộc chín) kết hợp với Moina sp. theo tỉ lệ 1/1 (tính theo khối lượng), cho ăn với khẩu phần 3%/ngày. Hàng ngày, kiểm tra các yếu tố chất lượng nước, từ ngày thứ 7 trở đi, định kì thay nước 5

## I. GIỚI THIỆU

Ễnh ương (*Kaloula pulchra*) phân bố ở nhiều nơi trên thế giới, trong đó có vùng Đông Nam Á [1]. Do thịt ễn ương thơm ngon, giàu dinh dưỡng nên chúng được người dân rất ưa thích. Trong các nhà hàng, ễn ương được chế biến thành nhiều món ăn khác nhau như um, chả, chiên giòn, nấu cháo với đậu xanh... Bên cạnh đó, do ễn ương ăn một lượng lớn thức ăn là sâu bọ, côn trùng gây hại mùa màng nên ễn ương còn được người dân nuôi trong các nông trại để tiêu diệt côn trùng gây hại cây trồng [2]. Hiện nay, nguồn lợi ễn ương trong tự nhiên đã suy giảm do bị khai thác quá mức để làm thực phẩm, cùng với hậu quả của việc sử dụng thuốc bảo vệ thực vật và ô nhiễm nguồn nước [1], [3]. Những tác động bất lợi này làm ảnh hưởng trực tiếp tới môi trường sống của ễn ương, vì vậy, chúng ngày càng cạn kiệt. Hiện nay, chúng ta đã có nhiều nghiên cứu sản xuất giống nhân tạo ễn ương tại Việt Nam như nghiên cứu của Võ Trường Giang, Nguyễn Công Tráng và Huỳnh Thanh Duy [1], [4]. Tuy nhiên, tỉ lệ sống của ễn ương con thu được rất thấp, chỉ khoảng 20% trở lại. Vì vậy, tiếp tục nghiên cứu một số biện pháp kỹ thuật giúp nâng cao tỉ lệ sống của ễn ương trong sản xuất giống nhân tạo là cần thiết. Để thực hiện đề tài này, nghiên cứu đã thực hiện một số nội dung như tuyển chọn và thuần dưỡng ễn ương bố mẹ, kích thích ễn ương sinh sản bằng hormone và thực hiện ương nuôi nòng nọc ễn ương.

## II. TỔNG QUAN NGHIÊN CỨU

Trên thế giới, hiện tại chưa ghi nhận được một nghiên cứu nào về sản xuất giống nhân tạo loài ễn ương. Các nghiên cứu về ễn ương hiện nay chỉ dừng lại ở việc nghiên cứu sự phân bố, môi trường sống, tập tính ăn và mô tả các đặc điểm hình thái của các loài ễn ương [1], [3], [5]. Tại Việt Nam, bước đầu đã có một vài nghiên cứu về sản xuất giống ễn ương nhân tạo [1], [4], [6]. Tuy nhiên, các nghiên cứu này hiện đang dừng lại ở mức thăm dò khả năng sinh sản nhân tạo của ễn ương dưới tác động của các loại hormone sinh sản. Tỉ lệ sống của ễn ương

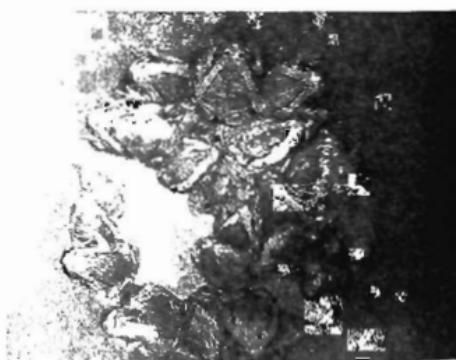
con thu được trong quá trình sản xuất giống nhân tạo chưa cao, dao động từ 10,5-20,9% [6]. Với tỉ lệ sống này, quy trình sản xuất giống nhân tạo ễn ương chưa thể áp dụng vào thực tiễn sản xuất vì chi phí sản xuất để tạo ra một con ễn ương giống rất cao, chưa mang lại hiệu quả kinh tế cho người sản xuất. Theo Nguyễn Công Tráng [6], nguyên nhân làm tỉ lệ sống của ễn ương giống trong quá trình sản xuất giống nhân tạo thấp là do sau khi biến đổi hình thái, trong điều kiện nhân tạo, ễn ương con chưa tìm được loại thức ăn thích hợp. Vì vậy, khả năng bắt mồi yếu, kém ăn, suy nhược dẫn đến không tăng trưởng và chết.

## III. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Nghiên cứu được thực hiện từ tháng 01 đến tháng 06/2019 tại xã Tân Bình, huyện Mỏ Cày Bắc, tỉnh Bến Tre.

### A. Thu gom và thuần dưỡng ễn ương bố mẹ

Ễnh ương bố mẹ có khối lượng 50 - 60 g/con, chiều dài cơ thể 6-8 cm/con có nguồn gốc từ tự nhiên, được thu gom và tuyển chọn từ địa bàn nghiên cứu.



Hình 1: Ễnh ương bố mẹ dùng cho sinh sản nhân tạo

Ễnh ương bố mẹ sau khi thu gom, được nuôi riêng biệt, cái trong các bể bạt (có giá thể lá dừa khô cho ễn ương ẩn nấp) với mật

dộ 30 con/m<sup>2</sup> cho thích nghi dần với điều kiện nuôi nhốt từ 7-10 ngày rồi mới cho sinh sản. Ăn ương bồ mè hằng ngày được cho ăn bằng súp gạo tươi với khẩu phần 10% khối lượng thân.

**Chọn ễn ương bồ mè cho sinh sản:** Con cái (hàm dưới không có túi âm thanh-Hình 2), chọn những con có ngoại hình cân đối, bụng to, mềm đều. Con đực (hàm dưới có túi âm thanh đậm màu), chọn con khỏe mạnh, linh hoạt, chai tay nhám.



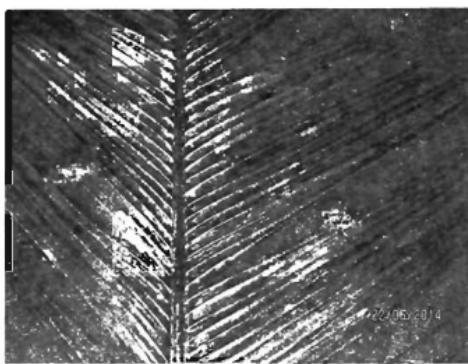
Hình 2: Ăn ương đực (phải-có túi âm thanh đậm màu) và cái (phải-không có túi âm thanh)

### B. Bố trí thí nghiệm sinh sản

**Bố trí thí nghiệm sinh sản:** Thí nghiệm (TN) được bố trí ngẫu nhiên với 4 nghiệm thức (NT) và 4 lần lặp lại/NT. Theo kết quả của TN thăm dò [6], Ăn ương cái chỉ để trứng dưới tác dụng của LH-RHa+Domperidon ở liều từ 60-120mg LH-RHa/kg Ăn ương. TN gồm 4 NT; với NT1 Ăn ương được tiêm 60µg LH-RHa+5 mg Domperidon/kg, NT2 Ăn ương được tiêm 80µg LH-RHa+5 mg Domperidon/kg, NT3 Ăn ương được tiêm 100µg LH-RHa+5 mg Domperidon/kg và NT4 Ăn ương được tiêm 120µg LH-RHa+5mg Domperidon/kg. Liều tiêm chất kích thích sinh sản (KTSS) của Ăn ương đực và Ăn ương cái là như nhau.

Tiêm chất KTSS vào bắp của chi trước Ăn ương với hình thức tiêm một lần duy nhất. Sau khi đã tiêm chất KTSS, Ăn ương được bố trí vào bể bạt 1 m<sup>2</sup>, mực nước trong bể cao 10 cm (có giá thể là lá dừa). Tỉ lệ đực/cái ghép cặp là 1/1, mỗi bể 5 cặp, mỗi NT 20 cặp. Theo dõi thời gian để xác định thời gian

biệu ứng của chất KTSS lên ễn ương bồ mè, thời gian hiệu ứng được tính bằng giờ và xác định bằng khoảng thời gian tính từ lúc kết thúc tiêm chất KTSS đến lúc trong bể có ễn ương cái bắt đầu đẻ trứng.



Hình 3: Ăn ương bắt cặp trong bể đẻ

### C. Áp trống và ương nòng nọc

**Áp trứng:** Ăn ương bồ mè được vớt ra khỏi bể sau khi đẻ, trứng được áp ngay trong bể. Riêng số trứng mẫu để xác định tỉ lệ nở thì vớt ra các xô nhựa khác nhau (diện tích 0,15m<sup>2</sup>/xô) có cùng chất lượng nước để áp, trứng được áp với mật độ như nhau là 500 trứng/m<sup>2</sup>.

**Ương nòng nọc:** Nòng nọc thu được của các NT sinh sản nêu trên được ương rieng trong các bể nhựa hình chữ nhật có thể tích 0,3 m<sup>3</sup>. Phía trên khu nhà ương, có lưới lan che bớt nắng. Trong bể ương có bố trí rau muống, để che bớt nắng cho nòng nọc (Hình 4). Nòng nọc thu được trong các bể đẻ khác nhau được ương tương ứng với các bể khác nhau để đảm bảo đủ số lần lặp lại của mỗi NT. Nòng nọc được ương với mật độ 500 con/m<sup>2</sup> trong thời gian 30 ngày. Thức ăn sử dụng trong ương nuôi nòng nọc là lòng đỏ trứng gà công nghiệp (luộc chín) kết hợp với Moina sp. theo tỉ lệ 1/1 (tính theo khối lượng), cho ăn với khẩu phần 3%/ngày. Hàng ngày, kiểm tra các yếu tố chất lượng nước, từ ngày thứ 7 trở đi, định kì thay nước 5

ngày/lần, mỗi lần thay 50% lượng nước trong bể ương.



Hình 4: Bể ương nòng nọc của ếch ương

#### D. Thu thập và xử lý số liệu

1) Các chỉ tiêu về môi trường nước: Nhiệt độ ( $^{\circ}\text{C}$ ) do bằng nhiệt kế, pH được đo bằng bút đo pH của Hanna, DO (mg/L) được đo bằng máy đo DO của Hanna, các chỉ tiêu này được đo trong quá trình sinh sản và ương nòng nọc.

Hàm lượng  $\text{NH}_4^+$  (mg/L),  $\text{NO}_2^-$  (mg/L) được đo định kì 7 ngày/lần trong quá trình ương nòng nọc và được đo bằng các bộ test Sera (Đức).

2) Các chỉ tiêu sinh sản: Nghiên cứu theo dõi các chỉ tiêu sinh sản gồm: thời gian hiệu ứng (TGHU), tỉ lệ sinh sản (TLSS), sức sinh sản thực tế (SSSTT), tỉ lệ thụ tinh (TLTT), thời gian phát triển phôi (TGPTP), tỉ lệ nở (TLN) và thời gian biến đổi hình thái (TGBT). Trong đó:

- TGHU (giờ): Tính từ lúc kết thúc tiêm LH-RHa đến lúc ếch ương cái bắt đầu đẻ.

TLSS (%) =  $[\text{Số ếch ương cái đẻ trứng}/\text{Số ếch ương cái bố trí TN}] \times 100$ .

- SSSTT (trứng/kg) = Tổng số trứng thu được/Tổng khối lượng ếch ương cái đẻ.

- TLTT (%) =  $[\text{Số trứng thụ tinh}/\text{Tổng số trứng đẻ ra}] \times 100$ .

- TGPTP (giờ): Tính từ lúc đẻ xong đến lúc có trứng bắt đầu nở.

- TLN (%) =  $[\text{Số nòng nọc nở}/\text{Số trứng đã thụ tinh}] \times 100$ .

- TGBT (ngày): Tính từ lúc nòng nọc mới nở đến lúc bắt đầu có con nòng nọc mọc đủ 4 chân, đuôi dài tiêu biến, nhảy lên cạn.

3) Các chỉ tiêu tăng trưởng và tỉ lệ sống:

Tăng trưởng: Đo chiều dài (mm), nòng nọc do từ đầu mõm đến chót đuôi, ếch ương con thì do từ đầu mõm đến cuống đuôi (vết tích của đuôi còn lại sau tiêu biến) và đo bằng thước kẻ chia vạch đến 1 mm. Cân khối lượng (mg) bằng cân điện tử 3 số lẻ. Lúc bô trí TN thì cân, do 20 con/bể; khi kết thúc TN thì cân, do hết tất cả cá thể còn trong các bể.

Tăng trưởng về khối lượng (WG-weight gain):  $WG = W_f - W_0$

Tăng trưởng khối lượng theo ngày (DWG-daily weight gain):  $DWG (\text{g/ngày}) = (W_f - W_0)/t$

Tăng trưởng về chiều dài (LG-length gain):  $LG = L_f - L_0$

Tăng trưởng chiều dài theo ngày (DLG-daily length gain):  $DLG (\text{mm/ngày}) = (L_f - L_0)/t$

(Trong đó: (W-weight, L-length)  $W_f/L_f$  là khối lượng/chều dài cá thể ở thời điểm kết thúc TN,  $W_0/L_0$  là khối lượng/chieu dài cá thể lúc bô trí TN, t là số ngày ương)

Tỉ lệ sống (%) =  $[(\text{Số cá thể thu được})/\text{Số cá thể thả ương ban đầu}] \times 100$ .

4) Xử lý số liệu: Sự khác biệt giá trị trung bình (Mean) của các chỉ tiêu nghiên cứu giữa các NT được so sánh dựa trên phân tích ANOVA 1 nhân tố với phép thử Duncan ( $\alpha=0,05$ ) bằng phần mềm SPSS 16.0.

## IV. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### A. Các chỉ tiêu chất lượng nước

1) Chất lượng nước trong quá trình sinh sản và ấp trứng: Một số chỉ tiêu môi trường nước ghi nhận trong quá trình sinh sản và ấp trứng được thể hiện qua Bảng 1.

Qua Bảng 1, các chỉ tiêu môi trường nước như pH, nhiệt độ, DO và ánh sáng trong quá trình sinh sản và ấp trứng nằm trong khoảng thích hợp cho các loài thủy sản sinh sống và sinh sản. Vì vậy, các chỉ tiêu chất lượng nước trong nghiên cứu, thích hợp cho sự sinh sản,

Bảng 1: Các chỉ tiêu môi trường nước trong quá trình sinh sản và ấp trứng

Chỉ tiêu	NT1	NT2	NT3	NT4
Nhiệt độ (°C)	29.2 ± 0.17	29.1 ± 0.15	29.0 ± 0.20	28.8 ± 0.11
pH	7.6 ± 0.10	7.4 ± 0.09	7.5 ± 0.10	7.4 ± 0.12
DO (mg/L)	4.7 ± 0.06	4.6 ± 0.03	4.7 ± 0.04	4.5 ± 0.05

(Ghi chú: Các giá trị trong bảng là giá trị trung bình ± S.E)

quá trình phát triển phôi và nở của trứng ếnh ương. Các chỉ tiêu này giữa các NT khác biệt không có ý nghĩa thống kê ( $p>0,05$ ).

Bảng 2: Chất lượng nước trong quá trình ương nòng nọc

Chỉ tiêu	NT1	NT2	NT3	NT4
Nhiệt độ (°C)	30.5 ± 0.31	30.1 ± 0.20	30.3 ± 0.12	30.3 ± 0.20
pH	8.6 ± 0.20	8.4 ± 0.12	8.5 ± 0.28	8.4 ± 0.12
DO (mg/L)	5.1 ± 0.17	5.3 ± 0.14	5.2 ± 0.17	5.3 ± 0.25
$\text{NH}_4^+$ (mg/L)	0.2 ± 0.10	0.3 ± 0.20	0.2 ± 0.06	0.3 ± 0.15
$\text{NO}_2^-$ (mg/L)	0.1 ± 0.11	0.1 ± 0.21	0.1 ± 0.22	0.2 ± 0.18

(Ghi chú: Các giá trị trong bảng là giá trị trung bình ± S.E)

2) Môi trường nước trong quá trình ương nòng nọc: Hệ thống ương được bô trí ngẫu nhiên ngoài trời (có che lưỡi lan phía trên) nên chịu ảnh hưởng trực tiếp của nhiều điều kiện bên ngoài. Nhiệt độ ảnh hưởng đến sự tăng trưởng và biến đổi hình thái của ếnh ương giai đoạn nòng nọc. Tuy nhiên, sự dao động về nhiệt độ nước giữa các NT là không lớn 30,1-30,5°C (Bảng 2) nên ảnh hưởng của

nhiệt độ đến sự khác biệt về tăng trưởng của nòng nọc là không đáng kể. Giá trị pH của các bể ương khá cao, dao động từ 8,4-8,6, tuy nhiên sự khác biệt giữa các NT là không lớn. Giữa các NT dao động không lớn (5,1-5,3 mg/L) và thích hợp cho nòng nọc phát triển. Ngoài ra, hàm lượng các ion  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{NO}_2^-$  trong thí nghiệm không cao. Nhìn chung, một số yếu tố môi trường trong thí nghiệm hoàn toàn phù hợp với sự tăng trưởng của nòng nọc ếnh ương, vì theo Trương Quốc Phú và Vũ Ngọc Út [7], các giá trị này vẫn thích hợp cho thủy sinh động vật sinh sống.

### B. Kết quả kích thích sinh sản

Một số chỉ tiêu sinh sản của loài ếnh ương thể hiện qua Bảng 3.

Bảng 3 cho thấy, ếnh ương cái đẻ trứng sau 5,2-6,6 giờ tiêm chất KTSS và TGHU khác biệt không có ý nghĩa ( $p>0,05$ ) giữa các NT. So với những loài lưỡng cư khác, ví dụ ếch Thái Lan [8], TGHU của ếnh ương khi sử dụng LH-RHa kích thích sinh sản sẽ ngắn hơn.

TLSS của ếnh ương cái ở các NT khác biệt có ý nghĩa ( $p<0,05$ ), nguyên nhân có thể là do liều lượng của chất KTSS dâ ánh hưởng đến sự rụng trứng và đẻ của ếnh ương. Bảng 3 cho thấy, NT1 (liều 60 $\mu\text{g}$  LH-RHa/kg) có tỉ lệ ếnh ương cái tham gia sinh sản cao nhất trong tất cả NT với 91,8%, nhưng khác biệt không có ý nghĩa với NT2 và NT3 ( $p>0,05$ ), nhưng khác biệt có ý nghĩa so với NT4 ( $p<0,05$ ). NT4 (liều 120 $\mu\text{g}$  LH-RHa/kg) là NT có tỉ lệ ếnh ương sinh sản thấp nhất với 45,3%, nó khác biệt không có ý nghĩa ( $p>0,05$ ) với NT2 và NT3 nhưng khác biệt có ý nghĩa ( $p<0,05$ ) với NT1. Từ kết quả ở Bảng 3 cho thấy, TLSS của ếnh ương ở các NT cao hay thấp có thể tùy thuộc vào sự tối ưu về liều lượng cũng như tác dụng của chất KTSS dâ sử dụng.

SSSTT của ếnh ương dao động từ 31.254-47.866 trứng/kg ếnh ương cái. SSSTT có xu hướng giảm theo sự gia tăng của liều tiêm chất KTSS từ NT1 đến NT4. Tuy nhiên, sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê ( $p>0,05$ ).

TN áp dụng phương pháp tiêm kích thích tố và cho bắt cặp tự nhiên để sinh sản nên

Bảng 3: Một số chỉ tiêu sinh sản của ếnh ương

Chỉ tiêu theo dõi	NT1	NT2	NT3	NT4
Thời gian hiệu ứng (TGUH, giờ)	5,2 ± 0,65 <sup>a</sup>	5,5 ± 0,61 <sup>a</sup>	6,4 ± 0,80 <sup>a</sup>	6,6 ± 0,19 <sup>a</sup>
Tỉ lệ sinh sản (TLSS, %) (n=40)	91,8 ± 8,25 <sup>b</sup>	75,8 ± 16,02 <sup>ab</sup>	50,5 ± 9,11 <sup>ab</sup>	45,3 ± 11,33 <sup>a</sup>
Sức sinh sản thực tế (SSSTT, trứng/kg)	47.866 ± 2.377 <sup>a</sup>	42.649 ± 2.147 <sup>a</sup>	35.032 ± 2.003 <sup>a</sup>	31.254 ± 2.355 <sup>a</sup>
Tỉ lệ thụ tinh (TLTT, %)	96,8 ± 0,63 <sup>a</sup>	93,0 ± 3,15 <sup>a</sup>	92,2 ± 0,48 <sup>a</sup>	91,4 ± 3,77 <sup>a</sup>
Thời gian phá triển phôi (TGPTP, giờ)	16,2 ± 1,23 <sup>a</sup>	16,5 ± 2,12 <sup>a</sup>	19,1 ± 1,51 <sup>a</sup>	20,5 ± 2,02 <sup>a</sup>
Tỉ lệ nở (TLN, %)	96,6 ± 1,03 <sup>a</sup>	93,9 ± 1,55 <sup>a</sup>	92,9 ± 1,62 <sup>a</sup>	91,7 ± 1,35 <sup>a</sup>
Thời gian biến đổi hình thái (TGBT, ngày)	14,5 ± 0,2 <sup>a</sup>	15,5 ± 0,5 <sup>a</sup>	15,8 ± 0,1 <sup>a</sup>	16,6 ± 1,2 <sup>a</sup>

(Ghi chú: Các giá trị trong bảng là giá trị trung bình ± sai số chuẩn. Các giá trị trong cùng một hàng có chứa các kí tự chìa khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p<0,05$ ))

TLTT của trứng trung bình của các NT là rất cao, các tỉ lệ này đều cao hơn 90% ở tất cả 4 NT. Trứng ở NT1 có tỉ lệ thụ tinh đạt 96,8%, cao nhất trong các NT, nhưng khác biệt không có ý nghĩa thống kê ( $p>0,05$ ) với các NT còn lại. Kết quả ở Bảng 3 cho thấy, liều của LH-RHa không ảnh hưởng đến chất lượng sản phẩm sinh dục nên khả năng thụ tinh của trứng ở các NT cao.

TGPTP của trứng thủy sinh vật phụ thuộc rất nhiều vào nhiệt độ của nước. Nhiệt độ nước tỉ lệ nghịch với TGPTP, nhiệt độ càng cao (trong khoảng thích ứng) thì TGPTP càng ngắn và ngược lại. TN cho thấy, ở nhiệt độ 28,8-29,20C, TGPTP của trứng ếnh ương dao động từ 16,2-20,5 giờ. TGN này cũng tương tự như TGPTP của trứng ếch Thái Lan, đồng thời khác biệt không có ý nghĩa ( $p>0,05$ ) giữa 4 NT với nhau.

TLN của trứng đều cao hơn 90% và khác biệt không có ý nghĩa ( $p>0,05$ ) giữa các NT dù có xu hướng giảm dần theo sự tăng dần của LH-RHa. Điều này, chứng tỏ liều của chất KTSS không ảnh hưởng lên TLN của trứng ếnh ương.

Khi nòng nọc được chăm sóc và quản lý tốt, tích lũy hàm lượng dinh dưỡng dày dặn, chúng mới đủ điều kiện để thực hiện quá trình biến đổi hình thái. Nòng nọc mới nở phải trải qua một quá trình biến đổi hình thái cơ thể mới thành ếnh ương con. Nghiên cứu cho thấy, nòng nọc ở NT1 có TGBT nhanh

nhanh là 14,5 ngày, nòng nọc ở NT4 thì TGBT chậm nhất 16,6 ngày. TGBT của nòng nọc ếnh ương nhanh hơn so với TGBT của nòng nọc ếch Thái Lan (19 ngày) trong nghiên cứu của Lê Trần Trí Thức [9] tại tỉnh Đồng Tháp.

### C. Kết quả ương nòng nọc lên ếnh ương con

#### I) Sự tăng trưởng trong quá trình ương:

Tăng trưởng là sự gia tăng về kích thước và khối lượng diễn ra liên tục trong cơ thể động vật theo thời gian. Sự tăng trưởng của động vật thủy sản nói chung và ếnh ương nói riêng phụ thuộc rất nhiều vào các yếu tố như đặc tính sinh học của loài, chế độ dinh dưỡng, giới tính, chất lượng nước, mật độ ương.

#### Tăng trưởng về khối lượng

Kết quả về sự tăng trưởng của khối lượng của các cá thể được thể hiện ở Bảng 4.

Bảng 4 cho thấy, lúc bô trí TN, khối lượng (W0) của nòng nọc ở các NT khá nhỏ, dao động từ 30-39 mg/con và khác biệt không có ý nghĩa ( $p>0,05$ ) giữa 4 NT. Khi kết thúc TN (ngày 30), hầu hết ếnh ương con thu được đều có khối lượng (Wf) gia tăng nhiều so với khối lượng nòng nọc lúc bô trí TN (W0). Khối lượng các cá thể tại ngày kết thúc TN (30) dao động từ 155-313 mg và khác biệt có ý nghĩa ( $p<0,05$ ) giữa các NT với nhau. NT2 là nghiệm thức có WG (274 mg) và DWG (9,1 mg/ngày) lớn nhất và khác biệt có ý nghĩa ( $p<0,05$ ) với NT3, NT4 nhưng khác biệt không có ý nghĩa ( $p>0,05$ ) với NT1. NT4

**Bảng 4:** Tăng trưởng về khối lượng (WG) và tăng trưởng theo ngày về khối lượng (DWG)

Thời gian	Chỉ tiêu	NT1	NT2	NT3	NT4
Lúc bô trĩ	W <sub>0</sub> (mg/con)	33 ± 2,4 <sup>a</sup>	39 ± 3,2 <sup>a</sup>	30 ± 2,1 <sup>a</sup>	38 ± 3,2 <sup>a</sup>
Khi kết thúc	W <sub>30</sub> (mg/con)	211 ± 42 <sup>b</sup>	313 ± 21 <sup>b</sup>	172 ± 23 <sup>a</sup>	155 ± 12 <sup>a</sup>
Tăng trưởng	WG (mg)	178 ± 55 <sup>ab</sup>	274 ± 83 <sup>b</sup>	142 ± 83 <sup>a</sup>	117 ± 53 <sup>a</sup>

(*Ghi chú: Các giá trị trong bảng là giá trị trung bình ± sai số chuẩn. Các giá trị trong cùng một hàng có chứa các kí tự chữ khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa ( $p<0,05$ )*)

là nghiệm thức có WG (117 mg) và DWG (3,9 mg/ngày) thấp nhất trong các NT, nhưng khác biệt không có ý nghĩa ( $p>0,05$ ) với NT3 và NT1.

#### Tăng trưởng về chiều dài

Sự tăng trưởng về chiều dài của các cá thể được thể hiện qua Bảng 5.

**Bảng 5:** Tăng trưởng về chiều dài (LG) và tăng trưởng theo ngày về chiều dài (DLG)

Thời gian	Chỉ tiêu	NT1	NT2	NT3	NT4
Lúc bô trĩ	L <sub>0</sub> (mm/con)	7.6 ± 0.13 <sup>a</sup>	7.7 ± 0.17 <sup>a</sup>	7.7 ± 0.21 <sup>a</sup>	7.7 ± 0.23 <sup>a</sup>
Khi kết thúc	L <sub>30</sub> (mm/con)	15.2 ± 0.24 <sup>ab</sup>	15.2 ± 0.21 <sup>a</sup>	14.3 ± 0.09 <sup>a</sup>	12.1 ± 0.12 <sup>a</sup>
Tăng trưởng	LG (mm)	7.6 ± 0.11 <sup>a</sup>	7.5 ± 0.16 <sup>a</sup>	6.6 ± 0.23 <sup>ab</sup>	4.4 ± 0.22 <sup>a</sup>

(*Ghi chú: Các giá trị trong bảng là giá trị trung bình và sai số chuẩn. Các giá trị trong cùng một hàng có chứa các kí tự chữ giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa ( $p>0,05$ )*)

Lúc bô trĩ TN, chiều dài (L<sub>0</sub>) của nòng nọc từ 7,6-7,7 mm/con và khác biệt không có ý nghĩa ( $p>0,05$ ) giữa các NT. Khi kết thúc TN (ngày 30), hầu hết ẽnh ương con

thu được đều có chiều dài (L<sub>30</sub>) gia tăng so với chiều dài nòng nọc lúc bô trĩ TN (L<sub>0</sub>). Chiều dài ẽnh ương con tại ngày kết thúc TN (30) dao động từ 12,1-15,2 mm nhưng cũng khác biệt không có ý nghĩa ( $p>0,05$ ) giữa các NT với nhau. Bảng 5 cho thấy, các chỉ tiêu LG, DLG giữa các NT khác biệt không có ý nghĩa ( $p>0,05$ ) với nhau.

**2) Tỉ lệ sống:** Tỉ lệ sống của ẽnh ương con trong quá trình ương được ghi nhận tại thời điểm kết thúc thí nghiệm và biểu thị ở Bảng 6.

**Bảng 6:** Tỉ lệ sống của các cá thể từ giai đoạn nòng nọc đến ẽnh ương con

Nghiệm thức	NT1	NT2	NT3	NT4
Tỉ lệ sống (%)	26,7 ± 1,33 <sup>ab</sup>	23,2 ± 1,42 <sup>ab</sup>	18,8 ± 2,70 <sup>a</sup>	17,5 ± 2,23 <sup>a</sup>

(*Ghi chú: Các giá trị trong bảng là giá trị trung bình và sai số chuẩn. Các giá trị trong cùng một hàng có chứa các kí tự chữ khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa ( $p<0,05$ )*)

Kết quả tại thời điểm 30 ngày ương, tỉ lệ sống của ẽnh ương khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p>0,05$ ) giữa các NT. NT1 có TLS cao nhất, đạt 26,7% và khác biệt có ý nghĩa ( $p<0,05$ ) với NT3 và NT4, nhưng khác biệt ý nghĩa ( $p>0,05$ ) với NT2. NT2 và NT3 có TLS lần lượt là 23,2% và 18,8%. TLS thấp nhất là ở NT4 (17,5%) và khác biệt có ý nghĩa với NT1, nhưng khác biệt không có ý nghĩa ( $p>0,05$ ) với NT2 và NT3. TLS trung bình ở 4 NT sau 30 ngày ương là 21,6%, TLS này thấp hơn rất nhiều so với TLS của éch Thái Lan (64,8%) ương ở cùng mật độ trong nghiên cứu của Lê Trần Trí Thức [9] tại tỉnh Đồng Tháp. Khác với éch Thái Lan, ẽnh ương là đối tượng mới, đang trong quá trình thuần dưỡng nên tính hoang dã cao, chưa thích nghi tốt trong điều kiện nuôi nhốt nhân tạo, nguồn thức ăn cho nòng nọc chưa phù hợp, đó có thể là những nguyên nhân dẫn đến TLS của ẽnh ương con trong nghiên cứu này còn thấp.

## V. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ XUẤT

### A. Kết luận

Sử dụng LH-RHa liều từ 60-120 µg/kg ẽnh ương đều kích thích được ẽnh ương sinh sản, nhưng liều 60 µg LH-RHa/kg ẽnh ương cho hiệu quả sinh sản cao nhất.

Một số chỉ tiêu sinh sản của ẽnh ương khi kích thích sinh sản bằng LH-RHa liều 60µg/kg ẽnh ương như sau: thời gian hiệu ứng 5,2 giờ ở nhiệt độ 29,2; tỉ lệ sinh sản 91,8%; sức sinh sản thực tế 47.866 trứng/kg ẽnh ương cái; tỉ lệ thụ tinh 96,8 ±%; thời gian phát triển phôi 16,2 giờ ở nhiệt độ 29,2°C với tỉ lệ nở 96,6% và thời gian biến đổi hình thái 14,5 ngày.

### B. Đề xuất

Thực hiện thêm một số nghiên cứu như ảnh hưởng của mật độ ương, các yếu tố chất lượng nước, khảo sát phổ thức ăn và loại thức ăn khác nhau để ương nòng nọc nhằm nâng cao tỉ lệ sống, từng bước hoàn thiện quy trình sản xuất giống nhân tạo ẽnh ương.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Raju V. B M Parasharya. Painted frog (*Kaloula pulchra*) from Anand and Sura, Gujarat, India. *Zoo's Print Journal*. 2004;19(4):1444.
- [2] Võ Trường Giang. Nghiên cứu sử dụng LH-RHa+Dom kích thích sinh sản ẽnh ương (*Kaloula pulchra*) [Luận văn tốt nghiệp]. Trường Đại học Tiền Giang; 2016.
- [3] Patrick W K. M Massam. Asiatic painted frog (*Kaloula pulchra*) risk assessment for Australia. Amanda Page. Department of Agriculture and Food. Western Australian University; 2008.
- [4] Nguyễn Công Tráng, Huỳnh Thanh Duy. Nghiên cứu sản xuất giống nhân tạo ẽnh ương (*Kaloula pulchra*). *Tạp chí Khoa học Đại học Đồng Tháp*, 2018;32:85–92.
- [5] Sengupta Saibal, Abhijit Das, Sandeep Das, Bakhtiar Hussain, Nripendra Kumar Choudhury, Sushil Kumar Dutta. Taxonomy and biogeography of *Kaloula* species of Eastern India. *Natural History Journal of Chulalongkorn University* 2009;9:209–222
- [6] Nguyễn Công Tráng. Nghiên cứu sử dụng một số hormone sinh sản khác nhau để sản xuất giống nhân tạo ẽnh ương (*Kaloula pulchra*) tại trại thử nghiệm. Báo cáo nghiên cứu đề tài nghiên cứu khoa học cấp trường, Trường Đại học Tiền Giang; 2018.
- [7] Quốc Phá, Vũ Ngọc Út. *Giáo trình quản lý chất lượng nước trong nuôi trồng thủy sản*. Nhà Xuất bản Đại học Cần Thơ; 2006.
- [8] Lê Thành Hùng. *So sánh sự sinh sản và khả năng nuôi thảm canh của ẽnh đồng Việt Nam (*Rana rugulosa*) và ẽnh Thái Lan (*Rana tigrina*)*. Thành phố Hồ Chí Minh. Nhà Xuất bản Nông nghiệp; 2005
- [9] Lê Trần Tri Thức. Xây dựng quy trình kỹ thuật sản xuất giống ẽnh Thái Lan (*Rana tigrina*) tại Cao Lãnh, Đồng Tháp. *Tạp chí Khoa học Đại học Đồng Tháp*. 2013;12:344–353