

MỘT SỐ ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC SINH SẢN CỦA CÁ KHOANG CỔ *Amphiprion clarkii* (Bennett) VÙNG BIỂN KHÁNH HÒA

Trương Sĩ Kỳ, Hà Lê Thị Lộc
Viện Hải Dương Học (Nha Trang)

TÓM TẮT 1.444 mẫu cá Khoang Cổ loài *Amphiprion clarkii* đã được thu thập hàng tháng tại các đảo vùng biển Nha Trang trong thời gian từ tháng 2/2000 đến tháng 8/2001. Kết quả nghiên cứu cho thấy cá Khoang Cổ *A. clarkii* là loài cá lưỡng tính với tính đực có trước và tính cái có sau tùy thuộc kích thước cơ thể. Chúng có khả năng sinh sản quanh năm nhưng tập trung chính vào tháng 3, tháng 4 và tháng 9, tháng 10. Sức sinh sản tuyệt đối của cá Khoang Cổ dao động từ 33.651 trứng/cá thể đến 158.137 trứng/cá thể. Sức sinh sản tương đối của cá Khoang Cổ dao động từ 2.506 trứng/gr cá thể đến 3.970 trứng/gr cá thể. Sức sinh sản tương đối trung bình của cá Khoang Cổ là 3.091 trứng/gr cá thể.

A STUDY ON REPRODUCTIVE BIOLOGY OF ANEMONEFISH *Amphiprion clarkii* (Bennett) IN THE SEAWATERS OF KHANH HOA

Truong Si Ky, Ha Le Thi Loc
Institute of Oceanography (Nha Trang)

ABSTRACT 1,444 samples of Anemonefish *Amphiprion clarkii* were collected monthly at Nha Trang bay from February/2000 to August/2001. The results showed that *Amphiprion clarkii* is protandrous hermaphrodite depending on the length size. In the wild, they are able to spawn round the year but main spawning periods are in March, April and September, October. Absolute fecundity ranges from 33,651 eggs/female to 158,137 eggs/female. Relative fecundity of Anemonefish ranges from 2,506 eggs/gr of total weight to 3,970 eggs/gr of total weight. Average relative fecundity is 3,091 eggs/gr of total weight.

I. MỞ ĐẦU

Cá Khoang Cổ (*Amphiprion clarkii*) thuộc Họ cá Rô biển (Pomacentridae), là loại cá có nhiều màu sắc sặc sỡ với đặc điểm luôn luôn sống cộng sinh cùng với Hải Quỳ. Trong những năm gần đây, do việc tăng

cường khai thác nhằm mục đích thương mại, những loài cá này đang có nguy cơ bị đe dọa đến nguồn lợi.

Do vậy, vấn đề nghiên cứu các đặc điểm sinh học sinh sản của cá Khoang Cổ đã được đặt ra trong hai năm qua (2000 – 2001) nhằm cung cấp

những thông số sinh học làm cơ sở nghiên cứu cho sinh sản nhân tạo loài cá này với mục đích sản xuất được con giống nhân tạo nhằm phục hồi nguồn lợi tự nhiên, duy trì nguồn giống để bảo vệ loài và phục vụ cho nhu cầu xuất khẩu cá cảnh biển của nước ta hiện nay.

II. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Nghiên cứu đã được tiến hành tại phòng Công Nghệ Sinh Học Viện Hải Dương Học Nha Trang từ tháng 2/2000 đến tháng 8/2001.

Mẫu vật được thu thập hằng tháng tại các khu vực Hòn Một, Hòn Mun, Hòn Tre, Hòn Miếu, Hòn Rùa và vùng ven bờ vịnh Nha Trang.

Tổng số mẫu đã tiến hành nghiên cứu là 1.444 cá thể, được thu một cách ngẫu nhiên từ các ngư dân lặn bắt không có thiết bị.

Chiều dài toàn thân (Lt) được đo từ mõm cá đến mép cuối của vây đuôi. Cân khối lượng cá có nội quan và không có nội quan bằng cân điện tử độ chính xác 0,001g.

Xác định sức sinh sản tuyệt đối của cá Khoang Cổ theo công thức sau:

a. Wsd

$$x = \frac{Wb}{a}$$

Wb

Trong đó:

x : Sức sinh sản tuyệt đối

a : Số lượng trứng trong mẫu

Wb : Trọng lượng mẫu

Wsd: trọng lượng tuyến sinh dục

Xác định sức sinh sản tương đối:

Sức sinh sản tương đối = sức sinh sản tuyệt đối / trọng lượng cá thể cái.

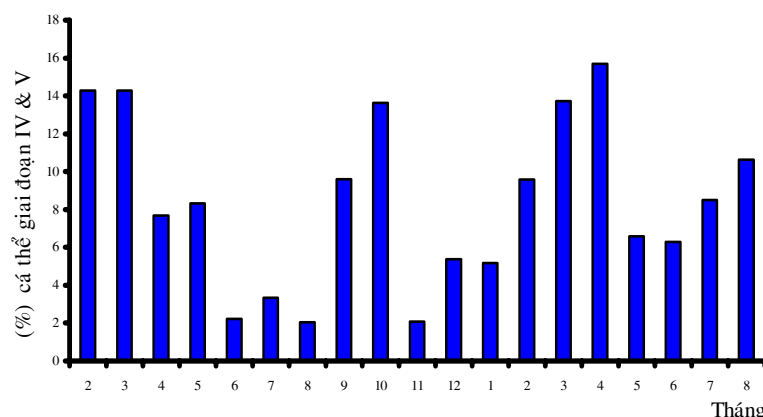
Xác định các giai đoạn chín muồi noãn bào theo các phương pháp nghiên cứu thông thường của Pravdin (1977), Woodton (1995) dựa trên các lát cắt mô phôi tế bào.

Phương pháp làm tiêu bản buồng trứng: Buồng trứng được cố định bằng Bouin hoặc Formol 10%. Vùi Parafin, làm khối đúc. Cắt bằng micrôtôm, độ dày lát cắt từ 4 - 6 μ . Tiêu bản được nhuộm bằng Hematoxylin và Eosin. Phân tích và chụp ảnh tiêu bản dưới kính hiển vi có độ phóng đại 40 - 100 lần.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

1. Mùa vụ sinh sản

Kết quả phân tích các giai đoạn chín muồi tuyến sinh dục của cá Khoang Cổ qua các tháng nghiên cứu từ tháng 2/2000 đến tháng 8/2001 cho thấy hầu như các tháng nghiên cứu đều có cá thể cái có tuyến sinh dục đang phát triển thành thực sinh dục (giai đoạn IV, V). Điều đó cho thấy rằng trong tự nhiên cá Khoang Cổ có khả năng sinh sản quanh năm nhưng đỉnh cao tập trung vào tháng 3, tháng 4 và đỉnh thứ hai vào tháng 9 và tháng 10 trong năm.



Hình 1: Tỷ lệ (%) cá có tuyến sinh dục chín mùi (giai đoạn IV & V) biến đổi theo tháng (năm 2000-2001) ở vùng biển Khánh Hòa

2. Các giai đoạn phát triển tuyến sinh dục

Kết quả nghiên cứu tiêu bản tuyến sinh dục cá Khoang Cổ ở vùng biển Khánh Hòa cho thấy có sự giống nhau với các kết quả nghiên cứu trước đây. Trong tuyến sinh dục của cá Khoang Cổ dục, noãn bào chiếm ưu thế về mặt thể tích, tinh tử hoặc tinh trùng chiếm một phần rất nhỏ. Do đó, khi đọc giai đoạn tuyến sinh dục bằng mắt thường sẽ xác định tất cả là tuyến sinh dục cái, nhưng khi quan sát lát cắt tiêu bản tuyến sinh dục dưới kính lúp có độ phóng đại lớn thì thấy có hiện tượng lưỡng tính ở các cá thể có kích thước nhỏ, nghĩa là có sự hiện diện của tinh tử hoặc tinh trùng lẫn noãn bào trong cùng một tiêu bản.

a) Hình dạng buồng trứng

Buồng trứng của cá Khoang Cổ gồm có hai thùy thường không bằng nhau trong quá trình phát triển, một thùy lớn và một thùy nhỏ nằm hai bên xoang bụng và được treo vách của xoang cơ thể nhờ màng treo buồng trứng. Phần sau buồng trứng là ống

dẫn trứng ngắn, hai ống dẫn trứng hợp lại thành một và thông với bên ngoài qua lỗ sinh dục.

b) Các giai đoạn phát triển của tuyến sinh dục

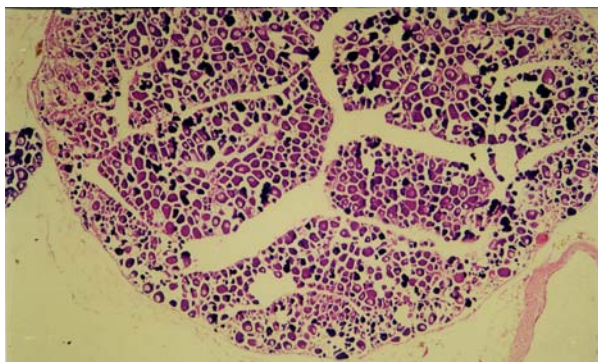
Cá Khoang Cổ là loài cá lưỡng tính, chúng có thể chuyển đổi giới tính từ cá thể cái sang cá thể dục tùy thuộc kích thước cơ thể. Đối với cá thể cái, tuyến dục được chia thành 6 giai đoạn tùy thuộc vào sự phát triển của các noãn bào trong buồng trứng.

GIAI ĐOẠN I: Các tế bào sinh dục là các nguyên bào và các noãn bào rất trẻ ở thời kỳ lớn nguyên sinh. Nguyên bào là những tế bào sinh dục nguồn gốc của tất cả các tế bào trứng được cá cái đẻ ra sau này, là các tế bào hình tròn có kích thước không lớn và không thể nhận thấy các tế bào này bằng mắt thường mà chỉ nhìn thấy chúng trên các tiêu bản tế bào dưới kính hiển vi.

Hình dạng ngoài của tuyến sinh dục mảnh và trong suốt, bằng mắt thường không thể phân biệt được dục cái.

GIAI ĐOẠN II: Đặc điểm chủ yếu của tế bào sinh dục ở giai đoạn này là các noãn bào ở thời kỳ lớn nguyên sinh nên có kích thước khá lớn, có thể phân biệt chúng bằng mắt thường hoặc bằng kính lúp. Khác với các loài cá khác, các noãn bào của cá Khoang Cổ có nhân

nằm lệch về một cực. Cùng với các noãn bào đã qua giai đoạn lớn nguyên sinh, trong buồng trứng giai đoạn hai còn có các noãn bào ở pha một của thời kỳ lớn nguyên sinh và các nguyên bào (Hình 2).

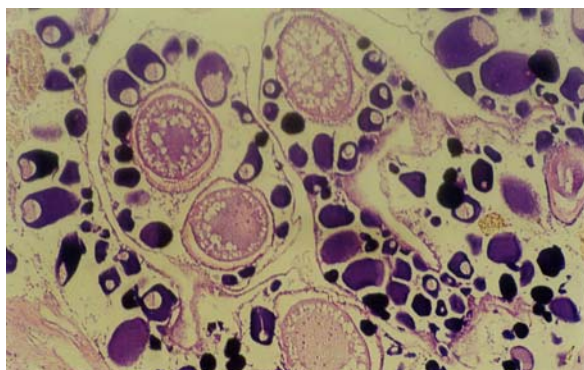


Hình 2: Tuyến sinh dục cái *A. clarkii* giai đoạn II (độ phóng đại 4 x10)

Hình dạng ngoài của tuyến sinh dục buồng trứng vẫn trong suốt và hầu như không màu. Tuyến sinh dục có hình dải lụa mảnh và nằm ở phần cuối của ruột.

GIAI ĐOẠN III: Khi buồng trứng chuyển từ giai đoạn II sang giai đoạn III, đặc tính sinh trưởng của các noãn bào bị thay đổi, các noãn bào lúc này lớn lên không chỉ do gia tăng về thể tích chất nguyên sinh mà còn do hậu quả của việc tích lũy các chất dinh

dưỡng. Vì vậy thời kỳ này có thể gọi là thời kỳ lớn nguyên sinh - dinh dưỡng. Các chất dinh dưỡng trong các noãn bào của cá Khoang Cổ được tạo ra dưới dạng các hạt noãn hoàng có màu vàng. Do đó màu của trứng và buồng trứng được thay đổi. Ngoài các chất dinh dưỡng trong thời kỳ lớn noãn hoàng, ở noãn bào còn xuất hiện các không bào, có thể nhìn thấy rõ ràng các không bào trên các hình chụp tiêu bản (Hình 3).

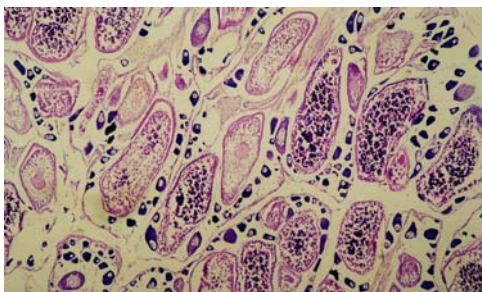


Hình 3: Tuyến sinh dục cái *A. clarkii* giai đoạn III (độ phóng đại 10 x10)

Hình dạng ngoài của trứng vẫn tròn, có nhân nhỏ ở giữa. Hình dạng ngoài của buồng trứng gia tăng đáng kể về kích thước, trứng trở nên đục và chuyển sang màu vàng, do đó màu của buồng trứng cũng thay đổi.

GIAI ĐOẠN IV: Đặc điểm điển hình nhất của trứng cá Khoang Cổ là trứng tăng trưởng tích lũy noãn hoàng phát triển thành hình hạt đậu, nhân

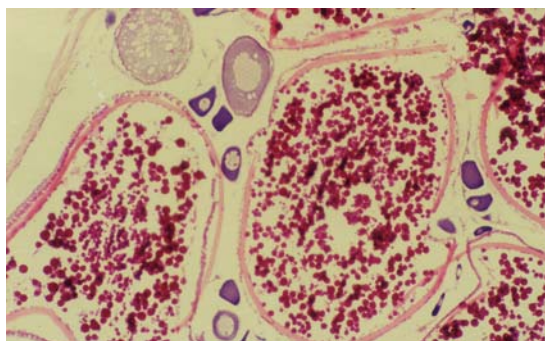
bắt đầu di chuyển lệch về một cực, trong nhân có nhiều hạt nhân. Các hạt noãn hoàng lớn dần trở thành thể noãn hoàng. Khi thể noãn hoàng gia tăng về kích thước và số lượng đã làm cho các noãn bào lớn lên đạt được kích thước tới hạn, nhân còn dạng tròn và bắt đầu nằm lệch về một hướng. Buồng trứng phình to (Hình 4).



Hình 4: Tuyến sinh dục cái A. clarkii giai đoạn IV (độ phóng đại 4x10)

GIAI ĐOẠN V: Nhân bắt đầu di chuyển đến cực động vật và cuối giai đoạn này nhân mờ đi và biến mất, không nhìn thấy ranh giới giữa chất nhân và tế bào chất. Quá trình di

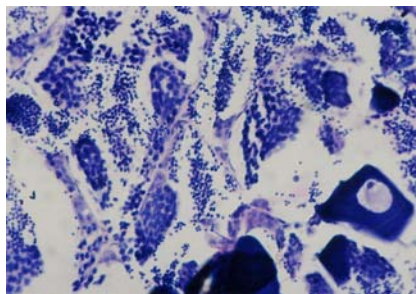
chuyển của nhân từ trung tâm ra biên tạo một sự phân cực của noãn bào. Khi sinh sản, cá mẹ đưa phần bụng dán trứng vào các vật bám (đá, san hô chết hoặc những vật thể khác...) (Hình 5).



Hình 5: Tuyến sinh dục cái A. clarkii giai đoạn V (độ phóng đại 10 x10)

GIAI ĐOẠN VI: Các cá thể sau khi đẻ chuyển sang giai đoạn VI – IV, thể tích buồng trứng nhỏ lại, mềm nhão có hiện tượng xuất huyết nhẹ do các nang trứng bị vỡ nên buồng trứng

có màu tím thẫm. Trong buồng trứng có sự hiện diện của nang trứng rỗng và các noãn bào thoái hóa còn sót lại sau một đợt đẻ (Hình 6).



Hình 6: Các tinh tử ở tuyến sinh dục đực *A. clarkii* (độ phóng đại 10x40)

3. Tỷ lệ đực cái

Theo Allen (1972) và Wootton (1995), cá Khoang Cỏ thuộc nhóm cá lưỡng tính với tính đực có trước. Điều này có nghĩa là tất cả các cá Khoang Cỏ nhỏ đều là con đực, đến một kích thước và một điều kiện thích hợp thì một số sẽ chuyển sang cá cái. Tuyến sinh dục của cá con bao gồm các mô buồng trứng chưa thành thực (immature ovarian tissue), chức năng của tuyến sinh dục cá đực là tinh và noãn sào (ovotestes), trong khi đó con cái chỉ có mô buồng trứng (ovarian tissue) (Godwin, 1994). Thông thường trong "tập đoàn" thì cá thể lớn nhất là cá cái mang tuyến sinh dục có chức năng là buồng trứng với một số mô của tinh sào đã bị thoái hóa (Allen, 1972). Khi con cái bị chết hoặc biến mất vì một lý do nào đó, con đực thành thực sinh dục sẽ chuyển đổi giới tính để thành con cái, con đực lớn thứ hai chưa thành thực sinh dục sẽ nhanh chóng phát triển thành con đực thành thực sinh dục và kết cặp với con cái. Những con đực còn lại trong "tập đoàn" bị ức chế bởi sự kết cặp đực cái đã thành thực như đã nói ở trên, chúng thường không thành thực sinh dục và sự tăng trưởng của chúng bị kìm hãm (Allen, 1972). Xuất phát từ tính chất này của cá

Khoang Cỏ nên không tiến hành phân tích tỉ lệ đực cái như những loài cá khác.

4. Sức sinh sản tuyệt đối và tương đối

Kết quả phân tích 41 cá thể cái có buồng trứng đang phát triển (giai đoạn IV và V) được chia thành 7 nhóm kích thước khác nhau với chiều dài toàn thân dao động từ 8cm đến 16cm cho thấy sức sinh sản tuyệt đối của cá Khoang Cỏ dao động khá lớn từ 33.651 trứng/cá thể cái đến 158.137 trứng/ cá thể cái. Sức sinh sản tuyệt đối có xu hướng tăng dần khi kích thước cơ thể cá tăng lên. Sức sinh sản tuyệt đối đạt cao nhất ở nhóm có chiều dài toàn thân đạt từ 130cm - 139cm nhưng sau đó sức sinh sản giảm ở nhóm cá có kích thước lớn hơn (>140cm).

So sánh với các loài cá chăm sóc trứng khác thì sức sinh sản tuyệt đối của cá Khoang Cỏ khá cao, điều này cũng hoàn toàn hợp lý do cá có khả năng đẻ nhiều đợt trong năm và tuổi thọ của chúng cũng khá dài.

Sức sinh sản tương đối của cá Khoang Cỏ dao động từ 2.506 trứng/gr trọng lượng thân đến 3.970 trứng/gr trọng lượng thân. Sức sinh sản tương đối trung bình của cá Khoang Cỏ là 3.091 trứng/gr trọng lượng thân.

Bảng 1: Sức sinh sản tuyệt đối và tương đối của cá Khoang Cổ *A. clarkii* vùng biển Khánh Hòa năm 2000-2001

Số TT	Nhóm chiều dài (cm)	Số lượng cá	Trọng lượng buồng trứng	Sức sinh sản tuyệt đối (trứng/cá thể)	Sức sinh sản tương đối (Trứng/gr trọng lượng thân)
1	8 - 8,9	2	0,26 ± 0,04	33.651 ± 19.083	2.506 ± 929
2	9 - 9,9	9	0,50 ± 0,26	94.254 ± 46.884	3.970 ± 1.679
3	10 - 10,9	6	0,45 ± 0,33	102.277 ± 35.625	3.265 ± 1.329
4	11 - 11,9	13	0,83 ± 0,56	119.459 ± 46.639	3.060 ± 1.133
5	12 -12,9	6	1,29 ± 0,73	135.398 ± 37.861	2.786 ± 652
6	13 - 13,9	4	2,17 ± 0,13	158.137 ± 39.421	2.871 ± 619
7	> 14	1	0,75	142.000	3.183

5. Tập tính sinh sản

Theo Allen (1972) nghiên cứu trước đây cho rằng trong tự nhiên, quá trình sinh sản của cá Khoang Cổ được tiến hành hầu như quanh năm, thời gian tham gia sinh sản thường chịu ảnh hưởng của kỳ trăng tròn hằng tháng (Randall, 1961). Quá trình sinh sản diễn ra trước hoặc sau kỳ trăng tròn 6 ngày.

Qua thời gian theo dõi trong phòng thí nghiệm, tập tính sinh sản được thể hiện từng bước như sau:

- Chọn vị trí làm tổ trong khu vực cư trú: cá lựa chọn một vị trí trong khu vực đang cư trú để thực hiện quá trình sinh sản sau này.

- Chuẩn bị cho nơi đẻ: cá dùng miệng và các vây để dọn sạch nơi sẽ làm tổ đẻ.

- Ve vãn và kết cặp: cá cái sẽ tìm cách ve vãn con đực mà nó ưng ý bằng cách đến gần, rủ con đực cùng vào tổ. Nếu con đực chấp thuận nó sẽ có những biểu hiện như cùng lúc lắc đầu, cùng bơi lượn với nhau và sau đó vào cư trú cùng nơi với cá cái.

- Sinh sản và thụ tinh: khi cá chuẩn bị sinh sản, con đực đứng gần

liên tục vào vị trí sẽ làm tổ, sau đó con cá cái cũng đến và dùng miệng cắn vào nơi con đực đã chọn tổ thái độ đồng tình. Sau đó cả con đực và cái cùng cắn vào một nơi. Con cái thỉnh thoảng bơi vòng quanh ra ngoài quan sát phòng địch hại. Những động tác này kéo dài trong khoảng gần 1 giờ trước khi sinh sản.

- Biểu hiện rõ ràng nhất khi con cá sắp sinh sản là ống niệu sinh dục của cá cái lộ ra dài khoảng 4 – 5mm. Tương tự, phần hậu môn của con đực cũng lộ một ống niệu nhỏ dài khoảng 3mm, cá cái bơi hình ziczắc dán trứng vào nền đáy, cá đực bơi theo sau và thụ tinh cho trứng cho tới khi quá trình sinh sản hoàn thành.

- Chăm sóc trứng: sau khi sinh sản, cá đực thường xuyên ở trong tổ để chăm sóc và bảo vệ trứng. Chúng dùng miệng nhặt sạch những trứng ung do nấm hoặc vi khuẩn xâm nhập và làm vệ sinh vật bám bám vào, thỉnh thoảng cá dùng vây bụng và vây ngực quạt trứng để tăng lượng oxy cung cấp cho trứng. Cá cái thỉnh thoảng vào cùng giúp sức với con đực nhưng phần lớn thời gian ở vòng ngoài để đánh đuổi những địch hại dám bén mảng tới khu

vực đó. Càng gần tới ngày nở, cá bố mẹ càng tăng cường quạt oxy cho trứng để tránh trường hợp trứng bị thiếu oxy cục bộ.

- Sau khi trứng nở, cá đực và cái ăn rất khỏe để chuẩn bị cho đợt đẻ tiếp theo.

IV. KẾT LUẬN

- Trong tự nhiên, cá Khoang Cổ có khả năng sinh sản quanh năm nhưng tập trung chính vào tháng 3, tháng 4 và tháng 9, tháng 10.

- Cá Khoang Cổ là loại cá lưỡng tính nhưng tính đực có trước. Chúng có thể chuyển đổi giới tính từ cá thể đực sang cá thể cái tùy thuộc kích thước cơ thể. Trong tuyến sinh dục đực của *Amphiprion clarkii*, noãn bào chiếm ưu thế về mặt thể tích, tinh tử hoặc tinh trùng chiếm một phần rất nhỏ bao bọc bên ngoài. Trong tuyến sinh dục cái luôn luôn tồn tại các noãn nguyên bào và các noãn bào ở những giai đoạn phát triển khác nhau.

- Sức sinh sản tuyệt đối của cá Khoang Cổ dao động từ 33.651 trứng/cá thể cái đến 158.137 trứng/cá thể cái. Sức sinh sản tương đối của cá Khoang Cổ dao động từ 2.506 trứng/gr trọng lượng thân đến 3.970 trứng/gr trọng lượng thân. Sức sinh sản tương đối trung bình của cá Khoang Cổ là 3.091 trứng/gr trọng lượng thân.

LỜI CẢM ƠN

Xin chân thành cảm ơn các đồng nghiệp trong phòng Công Nghệ Sinh Học và đặc biệt là chị Nguyễn Thị Kim Bích đã giúp đỡ chúng tôi trong quá trình thu thập cũng như phân tích mẫu vật.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Allen G. R., 1972. Anemonefishes. T.F.H. Publication. Inc. Ltd. 288pp.
2. Godwin J. R., 1994. Histological aspects of protandrous sex change in the anemonefishes *Amphiprion melanopus*. Journal of Zoology (Lond.) 232:199-213.
3. Godwin J. R. and D. F. Fautin, 1992. Defense of host actinians by anemonefishes. Copeia, 1992(3):902-908.
4. Godwin J. R. and P. Thomas, 1993. Sex change and steroid profiles in the protandrous anemonefishes, *Amphiprion melanopus*. (Pomacentridae, Teleostei). General and Comparative Endocrinology 91: 144-157.
5. Mariscal R. N., 1970. A field and laboratory study of the symbiotic behavior of fishes and sea anemones from the tropical Indo-Pacific. Univ. Calif. Pub. In Zoology, vol. 91, 33p.
6. Mariscal R. N., 1970. The nature of the symbiosis between Indo-Pacific anemone fishes and sea anemones. Mar. Biol., 6(1):58-65.
7. Moyer J. T. and L. J. Bell, 1976. Reproductive behaviour of the anemonefish *Amphiprion clarkii* at Miyake-Jima, Japan. Jpn. J. Ichthyol. 23(1):23-32.
8. Ochi H., 1989. Mating behaviour and sex change of the anemonefish, *Amphiprion clarkii*, in the temperate waters of southern Japan. Environ. Biol. Fishes 26:257-275.
9. Wootton R. J., 1995. Ecology of Teleost Fishes. Chapman & Hall. 404p.

