

**BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
TRƯỜNG ĐẠI HỌC NHA TRANG**

NGUYỄN HỮU HÙNG

**NGHIÊN CỨU ĐA DẠNG DI TRUYỀN VÀ CÁC THÔNG SỐ
DI TRUYỀN THEO TÍNH TRẠNG TĂNG TRƯỞNG PHỤC
VỤ CHỌN GIỐNG TÔM SÚ (*PENAEUS MONODON* FABRICIUS,
1798)**

LUẬN ÁN TIẾN SĨ

KHÁNH HÒA - 2020

**BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
TRƯỜNG ĐẠI HỌC NHA TRANG**

NGUYỄN HỮU HÙNG

**NGHIÊN CỨU ĐA DẠNG DI TRUYỀN VÀ CÁC THÔNG SỐ
DI TRUYỀN THEO TÍNH TRẠNG TĂNG TRƯỞNG PHỤC
VỤ CHỌN GIỐNG TÔM SÚ (*PENAEUS MONODON* FABRICIUS,
1798)**

**Ngành đào tạo: Nuôi trồng thủy sản
Mã số: 9620301**

LUẬN ÁN TIẾN SĨ

NGƯỜI HƯỚNG DẪN KHOA HỌC:

- 1. TS. NGUYỄN VĂN HẢO**
- 2. PGS.TS . LẠI VĂN HÙNG**

KHÁNH HÒA - 2020

Công trình được hoàn thành tại Trường Đại học Nha Trang

Người hướng dẫn khoa học:

- 1. TS. Nguyễn Văn Hảo**
- 2. PGS. TS. Lại Văn Hùng**

Phản biện 1: TS Nguyễn Minh Thành

Phản biện 2: TS Trần Thị Thúy Hà

Phản biện 3: TS Đặng Thúy Bình

**Luận án được bảo vệ tại Hội đồng đánh giá luận án cấp trường họp tại
Trường Đại học Nha Trang vào hồi giờ ngày tháng năm 2020**

**Có thể tìm hiểu luận án tại : Thư viện Quốc gia và Thư viện Trường Đại
học Nha Trang**

LỜI CAM ĐOAN

Tôi xin cam đoan đây là công trình nghiên cứu khoa học do tôi thực hiện dưới sự hướng dẫn của TS. Nguyễn Văn Hào, PGS. TS. Lại Văn Hùng và sự hỗ trợ của các đồng nghiệp. Số liệu trong luận án là trung thực chưa được công bố trong bất kỳ công trình nghiên cứu nào khác.

Khánh Hòa, ngày 02 tháng 04 năm 2020

Tác giả luận án

Nguyễn Hữu Hùng

LỜI CẢM ƠN

Tôi xin bày tỏ lòng biết ơn chân thành và sâu sắc tới TS. Nguyễn Văn Hảo, PGS. TS. Lại Văn Hùng – những người thầy đã tận tình hướng dẫn tôi trong suốt thời gian nghiên cứu và luận án sẽ không thể hoàn thành nếu không có sự giúp đỡ quý báu đó.

Xin chân thành cảm ơn Lãnh đạo Viện Nghiên cứu Nuôi trồng thủy sản III cùng các phòng chức năng đã tạo mọi điều kiện cho tôi trong suốt quá trình nghiên cứu.

Xin chân thành cảm ơn Ban giám hiệu Đại học Nha Trang, Lãnh đạo Viện Nuôi trồng thủy sản, Phòng sau Đại học và toàn thể thầy cô đã tạo mọi điều kiện tốt nhất cho tôi trong suốt quá trình học tập và nghiên cứu tại trường.

Xin chân thành cảm ơn Lãnh đạo Viện Nghiên cứu Nuôi trồng thủy sản II đã giúp đỡ và tạo mọi điều kiện về cơ sở vật chất, con người trong suốt quá trình thực hiện luận án.

Xin chân thành cảm ơn Lãnh đạo Trung tâm Quốc gia giống Hải sản Nam bộ, Trại thực nghiệm Bạc Liêu, Trung tâm Quan trắc môi trường và dịch bệnh Thủy sản Nam bộ, Phòng Sinh học Thực nghiệm - Viện Nghiên cứu Nuôi trồng thủy sản II, Doanh nghiệp tư nhân Đặng Lâm (Vũng Tàu) và cùng tất cả các đồng nghiệp đã hết sức giúp đỡ tôi triển khai các nội dung nghiên cứu trong suốt thời gian thực hiện luận án.

Cuối cùng, xin cảm ơn gia đình, người thân, bạn bè đã luôn sát cánh, động viên, chia sẻ với tôi trong suốt quá trình học tập và nghiên cứu.

Một lần nữa tôi xin bày tỏ lòng biết ơn chân thành, sâu sắc với tất cả sự giúp đỡ quý báu trên.

Khánh Hòa, ngày 02 tháng 04 năm 2020

Tác giả luận án

Nguyễn Hữu Hùng

MỤC LỤC

LỜI CAM ĐOAN	i
LỜI CẢM ƠN	v
MỤC LỤC	vi
DANH MỤC BẢNG	xi
DANH MỤC HÌNH	xii
DANH MỤC CÁC CHỮ VIẾT TẮT	xiii
TÓM TẮT NHỮNG ĐÓNG GÓP MỚI CỦA LUẬN ÁN	xiv
SUMMARY OF NEW FINDINGS OF PhD DISSERTATION	xvi
MỞ ĐẦU	1
CHƯƠNG I: TỔNG QUAN	4
1.1. Thành tựu chương trình chọn giống các đối tượng thủy sản trong nước và trên thế giới	4
1.1.1. Các chương trình chọn giống trên đối tượng thủy sản	4
1.1.2. Tính đa dạng về mặt địa lý của thu thập vật liệu ban đầu để hình thành quần thể chọn giống	7
1.1.3. Đánh giá vật liệu ban đầu cho chương trình chọn giống	9
1.1.4. Đảm bảo an toàn sinh học và sạch bệnh trong chọn giống tôm	10
1.1.5. Kỹ thuật đánh dấu trong chọn giống thủy sản	12
1.1.6. Các đánh giá tương tác kiểu gen và môi trường	14
1.1.7. Hệ số di truyền và tương quan di truyền	15
1.1.8. Hiệu quả chọn lọc	17
1.2. Gia hóa và khép kín vòng đời các đối tượng chọn giống trong điều kiện nhân tạo ở Việt Nam và trên thế giới	19

1.3. Ứng dụng chỉ thị microsatellite để đánh giá biến dị di truyền trong chọn giống các đối tượng trồng thủy sản	23
1.4. Ứng dụng các phương pháp hiện đại (MAS – Marker Assisted Selection; GWS – Genome Wide Selection) trong chọn giống	26
CHƯƠNG II: PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	28
2.1. Đối tượng, thời gian, địa điểm và phạm vi nghiên cứu.....	28
2.1.1. Đối tượng nghiên cứu	28
2.1.2. Thời gian nghiên cứu	28
2.1.3. Địa điểm nghiên cứu.....	28
2.1.4. Phạm vi nghiên cứu	28
2.2. Vật liệu nghiên cứu	30
2.2.1. Vật liệu nghiên cứu cho đánh giá biến dị di truyền bằng microsatellite .	31
2.2.1.1. Vật liệu sinh học	31
2.2.1.2. Dụng cụ	31
2.2.1.3. Hóa chất sử dụng.....	31
2.2.2. Vật liệu nghiên cứu cho đánh giá dòng bằng phép lai hỗn hợp và ước tính một số thông số di truyền cơ bản	34
2.3. Phương pháp nghiên cứu.....	34
2.3.1. Phương pháp đánh giá biến dị di truyền bằng microsatellite	34
2.3.1.1. Phương pháp tách chiết ADN tổng số	34
2.3.1.2. Khuếch đại microsatellite bằng PCR	35
2.3.1.3. Phương pháp điện di kiểm tra sản phẩm PCR	37
2.3.1.4 Phân tích allele	37
2.3.2. Phương pháp đánh giá tăng trưởng các dòng tôm bằng phương pháp lai hỗn hợp	37

2.3.2.1. Phương pháp đảm bảo an toàn sinh học (Chi tiết tại phụ lục 7)	37
2.3.2.2. Phương pháp sàng lọc bệnh tôm bố mẹ đầu vào và các giai đoạn phát triển chính trong vòng đời tôm sú (Chi tiết tại phụ lục 8)	37
2.3.2.3. Phương pháp phân tích chất lượng nước	37
2.3.2.4. Phương pháp nuôi thành thực, cho sinh sản tôm bố mẹ và ương nuôi ấu trùng.....	38
2.3.2.5. Phương pháp nuôi tăng trưởng các gia đình tôm thế hệ G ₀ và G ₁ ...	42
2.3.2.6. Phương pháp đánh dấu cá thể	44
2.4. Bố trí thí nghiệm.....	45
2.4.1. Bố trí thí nghiệm chọn lọc cặp môi sử dụng để đánh giá biến dị di truyền bằng microsatellite	45
2.4.2. Bố trí các tổ hợp lai toàn phần của 4 dòng tôm sú	45
2.4.3. Bố trí lai tạo các gia đình thế hệ G ₀ tạo thế hệ G ₁	45
2.4.3.1. Các tiêu chí chọn ghép cặp các gia đình thế hệ G ₀ tạo G ₁	45
2.4.3.2. Bố trí ghép cặp tôm bố mẹ G ₀ tạo thế hệ G ₁	46
2.4.4. Nuôi tăng trưởng đánh giá tương tác kiểu gen và môi trường	48
2.5. Phương pháp phân tích và xử lý số liệu	48
2.5.1. Phương pháp phân tích và xử lý số liệu đánh giá đa dạng di truyền.....	48
2.5.2. Phương pháp phân tích và xử lý số liệu phục vụ đánh giá tăng trưởng các dòng tôm khác nhau bằng phép lai hỗn hợp	49
2.5.3. Phương pháp thu thập, phân tích và xử lý số liệu phục vụ tính toán các thông số di truyền cơ bản.....	50
2.5.3.1. Phương pháp ước tính các thành phần phương sai phục vụ đánh giá tương tác kiểu gen - môi trường (G x E).....	50
2.5.3.2 Phương pháp tính các ảnh hưởng cố định và ước tính các thành phần phương sai phục vụ tính hệ số di truyền	51

CHƯƠNG III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN	55
3.1. Đánh giá biến dị di truyền tôm sú bằng chỉ thị microsatellite.....	55
3.1.1. Kết quả chọn microsatellite đánh giá biến dị di truyền	55
3.1.2. Các thông số đa dạng di truyền dựa trên 15 microsatellite của bốn dòng tôm sú bố mẹ vật liệu ban đầu	56
3.1.3. Đa dạng di truyền của từng dòng tôm sú vật liệu ban đầu	59
3.1.3.1. Đa dạng kiểu gen (G)	62
3.1.3.2. Dị hợp tử quan sát (H ₀)	62
3.1.3.3. Thông tin đa hình (PIC)	63
3.1.3.4. Sai khác so với cân bằng Hardy-Weinberg.....	63
3.1.3.5. Giá trị cận huyết (FIS)	63
3.1.3.6. Sai khác di truyền giữa các dòng tôm (FST)	64
3.2. Đánh giá tăng trưởng các dòng tôm sú.....	66
3.2.1. Sàng lọc bệnh trên các dòng tôm bố mẹ vật liệu ban đầu	66
3.2.2. Tạo các gia đình và tổ hợp lai.....	67
3.2.3. Ương nuôi các gia đình tôm thế hệ G ₀	68
3.2.3.1. Ương nuôi từ nauplius đến hậu ấu trùng 15.....	68
3.2.3.2. Nuôi từ hậu ấu trùng 15 đến kích cỡ đánh dấu	70
3.2.4. Tăng trưởng của tôm nuôi trong bể an toàn sinh học	71
3.2.4.1. Thống kê mô tả và các yếu tố ảnh hưởng đến tăng trưởng của tôm thế hệ G ₀	71
3.2.4.2. Tăng trưởng của tôm giữa các tổ hợp lai	73
3.3. Ước tính một số thông số di truyền cơ bản trên quần đàn được thiết lập	79
3.3.1. Đánh giá tương tác kiểu gen và môi trường (G × E)	79
3.3.1.1. Các yếu tố môi trường nuôi chính.....	79

3.3.1.2. Thống kê mô tả và các yếu tố ảnh hưởng	80
3.3.1.3. Tương quan giữa kiểu gen và môi trường ($G \times E$)	81
3.3.2. Hệ số di truyền.....	83
3.3.2.1. Thống kê mô tả về tăng trưởng của tôm sú thế hệ G1	83
3.3.2.2. Ước tính hệ số di truyền.....	85
3.3.3. Hiệu quả chọn lọc sau một thế hệ của tính trạng tăng trưởng	90
3.3.3.1. Hiệu quả chọn lọc	90
3.3.3.2. Ước tính hiệu quả chọn lọc bằng phân tích xu hướng di truyền thông qua khác biệt EBV giữa hai nhóm chọn lọc của G0 và G1	90
3.3.3.3. Ước tính hiệu quả chọn lọc thông qua khác biệt EBV của nhóm chọn lọc và trung bình của thế hệ G1	91
CHƯƠNG IV: KẾT LUẬN VÀ ĐỀ XUẤT Ý KIẾN	94
4.1. Kết luận	94
4.2. Đề xuất ý kiến.....	96
TÀI LIỆU THAM KHẢO.....	
Tài liệu tham khảo tiếng Việt.....	
Tài liệu tham khảo tiếng Anh	

DANH MỤC BẢNG

Bảng 1. 1. Hệ số di truyền một số tính trạng chọn giống trên tôm	16
Bảng 2. 1 Số lượng, địa điểm thu thập bốn dòng tôm sú bố mẹ ban đầu	30
Bảng 2. 2 Số lượng mẫu của bốn dòng tôm sú bố mẹ	31
Bảng 2. 3 Trình tự 29 cặp môi microsatellite sử dụng	32
Bảng 2. 4 Nhiệt độ bắt cặp (Ta) thích hợp cho 15 cặp môi microsatellite.	36
Bảng 2. 5 Phương pháp phân tích mẫu môi trường	38
Bảng 2. 6 Thức ăn và phương pháp cho ăn.....	42
Bảng 2. 7 Bảng bố trí các tổ hợp lai toàn phần của 4 dòng tôm	45
Bảng 2. 8 Sơ đồ ghép cặp 16 tổ hợp tôm thế hệ G_0 tạo thế hệ G_1	47
Bảng 3. 1 Kết quả đánh giá 29 microsatellite (n= 28)	55
Bảng 3. 2 Đa dạng di truyền của 15 microsatellite trên 4 dòng tôm sú (n = 137)	56
Bảng 3. 3 Đa dạng di truyền của bốn dòng tôm sú	59
Bảng 3. 4 Sai khác di truyền giữa các dòng tôm.....	64
Bảng 3. 5 Kết quả sàng lọc bệnh trên các dòng tôm làm vật liệu ban đầu	66
Bảng 3. 6 Số lượng gia đình ương nuôi thành công từ 16 tổ hợp lai	67
Bảng 3. 7 Tỷ lệ tham gia của các dòng tôm vật liệu ban đầu vào 16 phép lai.....	68
Bảng 3. 8 Kết quả ương nuôi 69 gia đình thế hệ G_0 từ nauplius đến hậu ấu trùng 15	69
Bảng 3. 9 Khối lượng và chiều dài tôm nuôi từ hậu ấu trùng 15.....	70
Bảng 3. 10 Tỷ lệ sống (%) từ hậu ấu trùng 15 đến cỡ đánh dấu.....	70
Bảng 3. 11 Thống kê mô tả tính trạng khối lượng của tôm thế hệ G_0	71
Bảng 3. 12 Các yếu tố ảnh hưởng cố định trong mô hình tuyến tính.....	72
Bảng 3. 13 Kết quả phân tích số liệu tăng trưởng (khối lượng thân tính.....	73
Bảng 3. 14 Khối lượng thân (tính theo LSM) của tôm ở các tổ hợp lai	76
Bảng 3. 15 Khối lượng thân (tính theo LSM)) của tôm ở các tổ hợp lai.....	76
Bảng 3. 16 Biến động các yếu tố môi trường tại bốn điểm nuôi	79
Bảng 3. 17 Kết quả tăng trưởng của tôm thế hệ G_0 ở các môi trường.....	80
Bảng 3. 18 Các yếu tố ảnh hưởng cố định trong mô hình tuyến tính	81

Bảng 3. 19 Tương quan kiểu gen (rg) của tính trạng khối lượng thân ở các môi trường nuôi khác nhau thế hệ G_0 và G_1	82
Bảng 3. 20 Số lượng các gia đình cùng cha khác mẹ và các gia đình cùng cha cùng mẹ tôm sú chọn giống G_1	83
Bảng 3. 21 Thời điểm sinh sản, đánh dấu, thả nuôi, thu hoạch và tỉ lệ sống của 3 đợt tôm nuôi trong ao tại Khánh Hòa và trong bể ATSH thế hệ G_1	84
Bảng 3. 22 Số lượng và khối lượng tôm thế hệ G_1 thu hoạch ở hai môi trường nuôi trong ao tại Khánh Hòa và trong bể ATSH.....	85
Bảng 3. 23 Ảnh hưởng cố định và ngẫu nhiên thế hệ G_1 và dữ liệu kết hợp $G_0 - G_1$ cho ước tính các thành phần phương sai	86
Bảng 3. 24 Các thành phần phương sai (σA^2 , σC^2 , σTN^2 , σE^2 , và σP^2), hệ số di truyền (h^2) và ảnh hưởng của môi trường (c^2) đến khối lượng tôm thế hệ G_1	86
Bảng 3. 25 Hệ số di truyền (h^2) của tỉ lệ sống và tương quan di truyền (r_g) giữa tỉ lệ sống cá thể và khối lượng tôm thu hoạch nuôi tại Khánh Hòa và bể ATSH.....	87
Bảng 3. 26 Tương quan giữa tỉ lệ sống và giá trị giống ước tính (EBV) của tỉ lệ sống tại hai môi trường nuôi Khánh Hòa và bể ATSH	88
Bảng 3. 27 Tỉ lệ chọn lọc, cường độ chọn lọc, hệ số di truyền, độ lệch chuẩn của tính trạng khối lượng và hiệu quả chọn lọc của hai quần thể tôm sú G_0 và G_1	90

DANH MỤC HÌNH

Hình 1. 1. Quy trình sản xuất tôm sú bố mẹ gia hóa và cải tiến di truyền tại công ty Moana - Hawaii.....	22
--	----

DANH MỤC CÁC CHỮ VIẾT TẮT

ADN:	Acid Deoxyribonucleic - Axit Đêôxyribônucleic
AFLP:	Amplified Fragments Length Polymorphism - Đa hình độ dài đoạn nhân chọn lọc
ATSH:	An toàn sinh học
ARN:	Axit Ribônucleic
CSIRO:	Commonwealth Scientific and Industrial Research Organisation - Tổ chức nghiên cứu khoa học và công nghiệp Úc
EBV:	Estimated Breeding Value - Giá trị chọn giống ước tính
GWS:	Genome Wide Selection – Chọn lọc dựa trên toàn bộ bộ gen
GIFT	Dòng cá rô phi văn thuần chủng Oreochromis niloticus
HPV:	hepatopancreatic parvovirus - Bệnh gan tụy do Parvovirus
IHHNV:	Hypodermal and Hematopoietic Necrosis Virus - Bệnh hoại tử dưới vỏ và cơ quan tạo máu
LSM:	Least Squared Mean - Trung bình bình phương tối thiểu
LSNV:	Laem Singh Virus - Vi rút gây bệnh chậm lớn
MBV:	Monodon Baculovirus - Bệnh còi
MAS	Marker Assisted Selection – Chỉ thị phân tử liên kết với tính trạng quan tâm
NBC:	Nuclear Brood stock Center - Trung tâm tôm bố mẹ gốc
NOVIT	Norwegian-Vietnamese-Tilapia – Dòng cá rô phi lai tạo giữa dòng cá Việt Nam và Na Uy
OI:	Ocean Institute - Viện Hải Dương Học Hawaii
OIE:	The World Organisation for Animal Health - Tổ chức Thú y thế giới
PCR:	Polymerase Chain Reaction - Phản ứng chuỗi polymerase
Pit tag:	Dấu từ
PIC:	Polymorphic Information Content – Thông tin đa hình/ giá trị đa dạng di truyền
PL:	Post Larvae - Hậu ấu trùng
SEAFDEC	The Southeast Asian Fisheries Development Center - Trung tâm Phát triển Thủy sản Đông Nam Á
SNP:	Single nucleotide polymorphism - Đa hình nucleotide đơn
SSR:	Simple sequence repeat – Chuỗi lặp lại đơn giản
TSV:	Taura syndrome Virus: Hội chứng Taura
VIE:	Visible Implant Elastomer Tags - Dấu màu phát xạ huỳnh quang
WSSV:	White spot syndrome virus - Bệnh đốm trắng
YHV:	Yellow head virus - Bệnh đầu vàng

TÓM TẮT NHỮNG ĐÓNG GÓP MỚI CỦA LUẬN ÁN

Tên luận án: Nghiên cứu đa dạng di truyền và các thông số di truyền theo tính trạng tăng trưởng phục vụ chọn giống tôm sú (*Penaeus monodon* Fabricius, 1798).

Chuyên ngành: Nuôi trồng Thủy sản

Mã số: 9620301

Nghiên cứu sinh: Nguyễn Hữu Hùng

Khóa: 2013 - 2017

Người hướng dẫn: 1. TS. Nguyễn Văn Hào

2. PGS.TS. Lại Văn Hùng

Cơ sở đào tạo: Trường Đại học Nha Trang

Nội dung: Luận án đã thu được kết quả mới bổ sung vào lĩnh vực nghiên cứu chọn giống tôm sú tại Việt Nam:

1. Một số kết quả nghiên cứu mới theo cách tiếp cận đa ngành phối hợp giữa lĩnh vực di truyền phân tử, di truyền số lượng và các kỹ thuật gia hóa, sinh sản và ương nuôi tôm sú trong điều kiện an toàn sinh học được công bố một cách có hệ thống và đầy đủ. Đây là tiền đề mở ra cơ hội và điều kiện cho những nghiên cứu tiếp theo và dài hơi hơn trên đối tượng này.

2. Cung cấp cơ sở khoa học về đánh giá mức độ đa dạng di truyền của các dòng tôm thu thập (3 dòng tôm tự nhiên và 1 dòng tôm gia hóa) bằng 15 chỉ thị microsatellite. Các kết quả nghiên cứu có giá trị cho việc định hướng thu thập quần đàn vật liệu ban đầu cho các nghiên cứu tiếp theo.

3. Việc nuôi khép kín vòng đời, ghép cặp, cho sinh sản và ương nuôi thành công một số lượng lớn các gia đình của các cặp phối ghép tôm sú có nguồn gốc khác nhau trong điều kiện an toàn sinh học là một đóng góp có ý nghĩa lớn về mặt kỹ thuật và quản lý. Tổng số 69 gia đình tôm sú thế hệ G_0 và 76 gia đình hệ G_1 đã được phối ghép thành công, hoàn toàn sạch bệnh tương đương với các nghiên cứu khác trên thế giới là một đảm bảo tốt cho phân tích và xử lý số liệu.

4. Phương pháp đánh giá dòng bằng phép lai hỗn hợp cho phép hình thành được quần đàn chọn giống ban đầu có tính đa dạng di truyền cao. Kết quả nghiên cứu cho thấy tác động đến tăng trưởng của thế hệ con lai là do nguồn gốc tôm bố mẹ, ảnh hưởng của yếu tố tôm mẹ và/hoặc tôm bố là không rõ ràng. Kết quả so sánh tăng

trường giữa các phép lai nội dòng và các phép lai khác dòng cho thấy có sự khác nhau khá rõ rệt. Phép lai khác dòng cho kết quả tăng trưởng cao hơn.

5. Việc thiết lập các mô hình toán và sử dụng các phần mềm chuyên dụng trong lĩnh vực di truyền số lượng để xử lý một khối lượng lớn dữ liệu thu thập được cho độ tin cậy cao về ước tính các thông số di truyền chính. Tương quan di truyền của tính trạng khối lượng thân thu hoạch ở những môi trường nuôi khác nhau đều là tương quan thuận cho phép dự đoán có tương tác $G \times E$ ở mức độ nhẹ. Hệ số di truyền về tính trạng khối lượng tôm được ước tính ở mức cao, cho tôm nuôi tại Khánh Hòa là $0,60 \pm 0,17$ và cho tôm nuôi tại bể ATSH là $0,56 \pm 0,15$. Hiệu quả chọn lọc cho G_0 là 3,3% và cho G_1 là 18,1% - 19,2%.

6. Kết quả nghiên cứu đã tạo ra sản phẩm là đàn tôm chọn giống thế hệ G_1 sạch bệnh với các thông số di truyền rất khả quan. Đây là nguồn vật liệu ban đầu cho các chương trình chọn tạo giống ở các thế hệ tiếp theo.

Nghiên cứu sinh

Nguyễn Hữu Hùng

SUMMARY OF NEW FINDINGS OF PhD DISSERTATION

Title: Study on genetic diversity and quantitative genetic parameters for growth traits of black tiger shrimp (*Penaeus monodon* Fabricius, 1798) in selective breeding program.

Major: Aquaculture

Major code: 9620301

PhD Student: Nguyen Huu Hung

Supervisors: 1. Dr. Nguyen Van Hao

2. Associate Prof. Dr. Lai Van Hung

Institution: Nha Trang University

Key Findings: The Study has obtained new findings added to the field of black tiger shrimp breeding and genetic selection research in Vietnam:

1. Some new findings based on the holistic approach among different fields of molecular genetic, quantitative genetic and different techniques of domestication in the bio-security condition were reported. This is a good chance to open opportunities and conditions for future study on this specie. .
2. Genetic diversity of collected populations by applying 15 microsatellite markers was evaluated. This finding significantly contributes a good strategy for suitable shrimp population recruitment in the coming research program.
3. A life cycle manipulation of large amount of full sibs and half sibs family with good survival rate in the strict bio-security condition is a great contribution in term of technology and management aspects. The total of 69 families of base generations (G0) and 76 families of G1 generation of black tiger shrimp were successfully established. This figure is equivalent to other international published research works and sufficient for data analysis.
4. Method of strain evaluation by mixed hybrids was allowed to establish a good population base with high genetic variation. Research finding shows that the growth impact to the offspring generated by parents. The paternal and maternal affect to its

growth rate is not clear. The growth rate between cross-bred line and in-bred line is quite different. Most hybrids give the best growth in phenotype are cross-bred lines.

5. The establishment of suitable mathematic models and applying specific soft ware in the field of quantitative genetic supports to estimate a reliable outputs of some key genetic parameters. Genetic correlations of growth trait in different geography cultured areas were full positive with light interaction. Heritability of growth trait is highly estimated, for Khanh Hoa is 0.60 ± 0.17 and biosecurity tank is 0.56 ± 0.15 . The response to selection for G_0 is 3.3% and for G_1 is 18.1% - 19.2%.

6. Research material established a selected back tiger shrimp G_1 generation, pathogen free and acceptable genetic parameters. This can be an initial population served for next selective breeding program.

PhD Student

Nguyen Huu Hung

MỞ ĐẦU

Nghề nuôi tôm nước lợ ở Việt Nam phát triển mạnh cả về quy mô và mức độ thâm canh trong những năm gần đây. Theo Tổng cục Thủy sản, năm 2017, tổng diện tích nuôi tôm nước lợ gồm tôm sú và tôm thẻ chân trắng của cả nước đạt 721.100 ha, trong đó diện tích nuôi tôm sú 595.000 ha (chiếm 82,5%) và diện tích nuôi tôm thẻ chân trắng 110.100 ha (chiếm 17,5%). Tổng sản lượng tôm nước lợ nuôi đạt 701.000 tấn, trong đó 270.500 tấn tôm sú và 430.500 tấn tôm thẻ chân trắng. Sản lượng giống tôm nước lợ cả nước đạt hơn 104,4 tỷ con, được sản xuất từ 1.863 cơ sở sản xuất giống. Nhu cầu con giống cho nuôi thương phẩm tôm sú khoảng 30 tỷ con/năm (Tổng cục thủy sản, 2017). Tuy nhiên, phần lớn tôm sú bố mẹ cung cấp cho các trại sản xuất giống đều phải nhập từ nước ngoài và khai thác tự nhiên. Thực tiễn cho thấy nhu cầu tôm sú giống hiện nay của người nuôi hoàn toàn được đáp ứng bằng sản xuất trong nước, nhưng chất lượng tôm giống luôn là vấn đề nan giải, tốc độ tăng trưởng chậm, kích cỡ không đồng đều là những trở ngại chính của nghề nuôi tôm sú trong những năm qua. Tôm sú giống không được kiểm soát chặt chẽ về các tiêu chuẩn chất lượng nguồn tôm bố mẹ cũng như mầm bệnh dẫn đến những tổn thất to lớn cho người nuôi tôm do năng suất ngày càng giảm và dịch bệnh xảy ra thường xuyên. Do vậy việc chủ động phát triển dòng tôm sú bố mẹ chất lượng cao tăng trưởng nhanh và sạch bệnh thông qua chọn giống tại Việt Nam là hết sức cần thiết.

Ở Việt Nam, các nghiên cứu về tôm sú trước năm 2000 tập trung vào lĩnh vực sinh học, sinh sản và sản xuất giống. Từ năm 2000 đến nay, các nghiên cứu gia hóa tôm sú đã thực hiện chủ yếu là phát triển công nghệ nuôi khép kín vòng đời (kỹ thuật ương nuôi từ giai đoạn hậu ấu trùng PL15 đến kích cỡ tôm bố mẹ không qua chọn giống). Mặc dù đã có một số chương trình chọn giống tôm sú tiến hành trên thế giới nhưng vì những lý do liên quan đến việc bảo mật công nghệ nên những công trình này không được công bố và cũng không được chuyển giao.

Từ các phân tích trên cho thấy sự cần thiết phải tiến hành một chương trình nghiên cứu về chọn giống cho đối tượng này ở Việt nam. Đề tài nghiên cứu sinh “Nghiên cứu đa dạng di truyền và các thông số di truyền theo tính trạng tăng trưởng phục vụ chọn giống tôm sú” được thực hiện dựa trên những thành công trong thực

tiền sản xuất và các thông tin được công bố của các công trình nghiên cứu có tính cơ bản và thực nghiệm trong lĩnh vực ứng dụng di truyền số lượng và di truyền phân tử trong chọn tạo giống của một số đối tượng thủy sản trong đó có tôm sú được công bố trong và ngoài nước. Các công trình nghiên cứu trong nước chủ yếu thuộc lĩnh vực sản xuất giống, gia hóa trên tôm sú và chọn tạo giống trên tôm càng xanh thuộc các đơn vị như trường Đại học Cần thơ, Đại học Nha trang và các Viện nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản I, II, III thuộc Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn. Các công trình nghiên cứu ngoài nước trong lĩnh vực gia hóa trên tôm sú, di truyền số lượng và di truyền phân tử trên các đối tượng giáp xác phần lớn phần lớn do các tổ chức như CSIRO (Úc), Viện Hải Dương Hawaii thực hiện. Luận án Nghiên cứu sinh thực hiện là một trong những nội dung quan trọng của đề tài cấp nhà nước “ Ứng dụng di truyền số lượng và di truyền phân tử để tạo vật liệu ban đầu cho chọn giống tôm sú theo tính trạng tăng trưởng” thuộc Đề án phát triển và ứng dụng công nghệ sinh học trong nông nghiệp và thủy sản đến năm 2020 của Bộ NN&PTNT do Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản II chủ trì thực hiện.

Mục tiêu của luận án:

Xác định được đa dạng di truyền và các thông số di truyền cơ bản làm cơ sở tạo được quần đàn tôm sú có biến dị di truyền cao làm vật liệu ban đầu phục vụ cho chọn giống tôm sú theo tính trạng tăng trưởng.

Để đạt được mục tiêu trên, luận án đã thực hiện các nội dung sau:

1. Đánh giá biến dị di truyền của các dòng tôm sú vật liệu ban đầu bằng kỹ thuật Microsatellite.
2. Đánh giá tăng trưởng các dòng tôm bằng phương pháp lai hỗn hợp làm cơ sở hình thành vật liệu ban đầu cho chương trình chọn giống.
3. Ước tính một số thông số di truyền cơ bản trên quần đàn tôm sú đã được thiết lập.

Ý nghĩa của luận án:

- Ý nghĩa khoa học:

Cung cấp cơ sở khoa học về đánh giá mức độ biến dị của các dòng tôm sú thu thập về tạo quần đàn chọn giống ban đầu có tính đa dạng di truyền cao bằng phép lai hỗn hợp, kết quả ước tính các thông số di truyền chính với bộ dữ liệu phong phú và các phương pháp ước tính có độ tin cậy cao.

Kết quả nghiên cứu đã cung cấp cơ sở khoa học về lý luận và thực tiễn của quần đàn chọn giống có nhiều triển vọng về cải thiện chất lượng di truyền trong các thế hệ kế tiếp. Đây chính là nền tảng quan trọng cho các nghiên cứu tiếp theo trên đối tượng này.

- Ý nghĩa thực tiễn:

Đề tài đã tạo ra sản phẩm là đàn tôm sú chọn giống thế hệ thứ nhất (G_1), sạch bệnh với các thông số di truyền khả quan. Đây là nguồn vật liệu ban đầu cho các thế hệ chọn giống tiếp theo. Tôm chọn giống sạch bệnh và tăng trưởng nhanh hơn so với tôm giống được sản xuất từ tôm bố mẹ đánh bắt tự nhiên, khi được thương mại hóa sẽ cung cấp cho thị trường con giống có tính trạng tăng trưởng nhanh, không mang mầm bệnh. Điều này giúp giải quyết hai hạn chế lớn nhất của chất lượng tôm sú giống hiện nay là nhiễm bệnh và tăng trưởng chậm đã làm ngành công nghiệp này chậm phát triển trong những năm gần đây.

Điểm mới của luận án:

Kết quả của luận án cung cấp thông tin về mức độ đa dạng di truyền của bốn dòng tôm sú vật liệu ban đầu, đồng thời xác định được các thông số di truyền liên quan đến tính trạng tăng trưởng và tỷ lệ sống của tôm, góp phần bổ sung vào hiểu biết về di truyền số lượng trong chọn giống thủy sản. Đây là kết quả mới góp phần định hướng cho những nghiên cứu tiếp theo và dài hơi hơn trên đối tượng này.

CHƯƠNG I: TỔNG QUAN

1.1. Thành tựu chương trình chọn giống các đối tượng thủy sản trong nước và trên thế giới

1.1.1. Các chương trình chọn giống trên đối tượng thủy sản

Nuôi trồng thủy sản là ngành có tốc độ phát triển nhanh, trong đó nghề nuôi tôm đạt tổng sản lượng đạt 4,86 triệu tấn, chiếm 6% tổng sản lượng nuôi trồng thủy sản trên toàn thế giới năm 2014 (FAO, 2016). Mặc dù vậy, các nghiên cứu chọn giống trong nuôi trồng thủy sản còn hạn chế so với ngành chăn nuôi và trồng trọt trong nông nghiệp do các khó khăn về mặt kỹ thuật trong việc khép kín vòng đời đối với các loài thủy sản nuôi phức tạp hơn so với các động vật trên cạn. Tuy nhiên, trong những năm gần đây, với sự tiến bộ của khoa học kỹ thuật và nhu cầu thực tiễn về số lượng và chất lượng con giống, số lượng các chương trình chọn giống và số lượng các loài thủy sản nuôi được chọn giống thành công đã tăng lên một cách đáng kể, đóng góp vai trò hết sức quan trọng và lớn lao trong sự phát triển của nghề nuôi.

Chương trình chọn giống đối tượng thủy sản đầu tiên trên thế giới được tiến hành trên cá hồi Đại Tây Dương (*Salmo salar*) bắt đầu từ năm 1971 ở Na Uy (Gjedrem và ctv., 1991; Gjedrem, 2005). Đây là chương trình chọn giống rất thành công và hiện nay vẫn đang tiếp tục được thực hiện. Sau 5 thế hệ chọn giống, tăng trưởng của cá hồi chọn giống đã tăng 113% so với cá hồi tự nhiên. Ngoài sinh trưởng, các tính trạng quan trọng khác như hiệu quả chuyển đổi thức ăn, tỷ lệ phi lê, khả năng kháng bệnh, thành thực muộn, màu sắc và chất lượng thịt cũng được đưa vào trong chương trình chọn giống cá hồi. Lý thuyết di truyền số lượng cũng như các mô hình toán, phần mềm chuyên dụng phục vụ chọn giống sau đó được áp dụng trong chọn giống không chỉ trên đối tượng cá Hồi Đại Tây Dương ở Na Uy mà còn trên nhiều đối tượng thủy sản khác với những kết quả đáng kể như: Cá hồi vân (*Oncorhynchus mykiss*) ở Na Uy, Phần Lan và Đan Mạch (Gjedrem, 2005); cá Tuyết (*Gadus macrocephalus*) ở Na Uy (Kolstad và ctv., 2006).

Các chương trình nghiên cứu chọn giống trên tôm cũng đã được tiến hành như chọn giống tôm he Nhật Bản (*Marsupenaeus japonicus*) với tốc độ sinh trưởng tăng khoảng 11% sau mỗi thế hệ (Hetzl và ctv., 2000), chọn giống tôm thẻ chân trắng

(*Litopenaeus vannamei*) tại Mỹ, Columbia và Venezuela (Argue và ctv., 2002; Donato và ctv., 2005; 2008) và tôm vỏ cứng (*Parapenaeopsis hardwickii*) ở Úc (Jerry và ctv., 2005). Kết quả ban đầu cho thấy hiệu quả chọn lọc tăng trưởng của các loài tôm cũng khá cao, tăng khoảng 4-15% sau mỗi thế hệ chọn lọc.

Ở Việt Nam, chương trình chọn giống thủy sản đầu tiên là nghiên cứu đánh giá hiệu quả lai ngược về tăng trưởng của 2 loài cá mè trắng Trung Quốc (*Hypophthalmichthys molitrix*) và cá mè trắng Việt Nam (*Hypophthalmichthys harmandi*) (Trần Mai Thiên và ctv., 1987).

Tác giả Trần Đình Trọng (1983) nghiên cứu về tính biến dị của 8 dòng cá chép (*Cyprinus carpio*) nuôi ở miền Bắc. Kết quả cho thấy dòng cá chép trắng là dòng cá phổ biến nhất ở miền Bắc và cũng là dòng cá có tính biến dị cao nhất. Trong các năm 1974 -1976, Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản I đã tiến hành nghiên cứu lai giữa các dòng cá chép với nhau để xác định ưu thế lai. Kết quả cho thấy thế hệ F_1 của phép lai cá chép trắng Việt Nam $\times$ cá chép Hungary cho đặc tính vượt trội so với bố mẹ như (i) tỷ lệ sống cao, (ii) tăng trưởng nhanh và (iii) ngoại hình đẹp. Chương trình chọn giống cá chép với tốc độ tăng trưởng, áp dụng kỹ thuật chọn lọc cá thể được thực hiện trên cá chép ở miền Bắc Việt Nam năm 1985 nhằm khắc phục tình trạng hiệu quả của ưu thế lai bị suy giảm. Kết quả đã xác định hệ số di truyền trên cá chép khá cao, đạt 0,2- 0,29. Sau 6 thế hệ chọn lọc, cá có tốc độ tăng trưởng tăng 33% so với quần đàn ban đầu (Trần Mai Thiên và ctv., 1998). Chương trình chọn giống cá mè vinh (*Barbonymus gonionotus*) được bắt đầu bằng việc đánh giá tăng trưởng của các dòng cá mè vinh có nguồn gốc khác nhau từ sông Cửu Long và sông Đồng Nai và hình thành quần thể ban đầu cho chọn giống (Nguyễn Văn Hảo và ctv., 2003).

Các loài có giá trị kinh tế lớn như cá tra (*Pangasianodon hypophthalmus*), tôm càng xanh (*Macrobrachium rosenbergii*) đã và đang được tiến hành chọn giống nhằm cải thiện chất lượng một số tính trạng có giá trị kinh tế. Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy Sản II đang tiến hành chương trình chọn giống cá tra từ năm 2001 bằng phương pháp chọn lọc cá thể và sau đó chuyển sang chọn lọc gia đình. Đề tài được tiến hành trong 5 năm (2001-2004) đã hình thành được 3 quần thể ban đầu cho chọn giống năm 2001, 2002 trên tính trạng tăng trưởng và năm 2003 trên tính trạng tỷ lệ phôi. Bắt

đầu từ năm 2006, tiến hành chọn giống cá tra nhằm nâng cao đồng thời 2 tính trạng (i) tăng trưởng và (ii) tỷ lệ philê. Kết quả sau 1 thế hệ cho hiệu quả chọn giống đối với tính trạng tăng trưởng là 13% và tính trạng tỷ lệ philê là 0,9% (Nguyễn Văn Sáng và ctv., 2009). Ngoài ra, Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy Sản II đã tiến hành chương trình chọn giống cá rô phi vằn dòng GIFT (*Oreochromis niloticus*), nguồn vật liệu ban đầu là 50 gia đình cá rô phi vằn dòng GIFT thuộc thế hệ chọn giống thứ 10 của Trung tâm nghề cá Thế giới (Worldfish Centre). Sau 2 thế hệ, chọn giống đã cho hiệu quả về tăng trưởng là 12% (Nguyễn Văn Hào và ctv., 2005).

Nghiên cứu chọn giống tôm càng xanh (*Macrobrachium rosenbergii*) bắt đầu thực hiện từ năm 2007 và đã hình thành được quần thể ban đầu cho chọn giống. Hệ số di truyền về tính trạng tăng trưởng bước đầu được tính toán là 0,18- 0,42 (Đinh Hùng và ctv., 2011).

Chọn giống cá rô phi nhằm nâng cao tốc độ tăng trưởng và khả năng chịu lạnh được thực hiện tại Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản I từ năm 1999. Sau 2 thế hệ chọn lọc đã nâng cao tốc độ tăng trưởng của cá rô phi vằn (dòng GIFT) đạt 16,6% (Nguyễn Công Dân và ctv., 2003). Chương trình chọn giống cá rô phi sau đó đã mở rộng thêm tính trạng khả năng chịu lạnh. Kết quả nghiên cứu cho thấy hiệu quả chọn lọc đối với tính trạng tăng trưởng đã tăng trên 10% sau mỗi thế hệ chọn lọc trong thực tế. Kết quả đánh giá hiệu quả chọn lọc thông qua hình thức lai giữa các thế hệ năm 2002, 2004 và 2006 cho hiệu quả chọn lọc đạt 10,5% sau mỗi thế hệ chọn giống (Luan, 2008). Chương trình đánh giá vật liệu và hình thành quần đàn ban đầu chọn giống cá rô phi trong môi trường lợ mặn được tiến hành dựa trên 3 dòng cá (NOVIT 4, GIFT gốc và dòng Đài Loan) với hình thức lai cặp ngược, xuôi (Dialles cross). Kết quả đã lựa chọn được 2 tổ hợp cho tốc độ tăng trưởng tốt nhất và có nhiều triển vọng cho kết quả cao trong chọn giống (Phạm Anh Tuấn và ctv., 2009). Chương trình nâng cao tốc độ tăng trưởng cá rô phi trong môi trường nước lợ, mặn đang được tiếp tục từ 2010 tại Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản I, sử dụng phương pháp chọn lọc gia đình và chọn lọc kết hợp. Qua kết quả nghiên cứu cho thấy, hệ số di truyền (h^2) của các tính trạng tăng trưởng, tỷ lệ sống và khả năng chịu lạnh, chịu mặn đều đạt ở mức cho phép dao động từ 0,27 – 0,53, sức sinh trưởng tăng thêm từ 11,2 đến 23% qua mỗi thế hệ (Nguyễn Hữu Ninh và ctv., 2013).

Ngoài ra, nhiều đề tài nghiên cứu di truyền và chọn giống thủy sản thuộc chương trình “Công nghệ sinh học Nông Nghiệp, Thủy Sản” đã và đang được thực hiện ở Việt Nam như: Đánh giá biến dị di truyền phục vụ chọn giống nâng cao tốc độ tăng trưởng cá vược (*Lates calcarifer*); Đánh giá biến dị di truyền phục vụ chọn giống nâng cao tốc độ tăng trưởng cá giò (*Rachycentron canadum*); Đánh giá các thông số di truyền và hình thành vật liệu ban đầu cho chọn giống cá rô phi đỏ (*Oreochromis spp*); Nghiên cứu nâng cao tăng trưởng và sinh sản cá rô phi vằn (*Oreochromis niloticus*) chọn giống trong môi trường nuôi lơ, mặn; Nghiên cứu phát triển và ứng dụng chỉ thị phân tử để chọn tạo tôm thẻ chân trắng bố mẹ tăng trưởng nhanh”.

Đối với tôm sú (*Penaeus monodon*), công trình nghiên cứu chọn giống đầu tiên được thực hiện từ năm 2012 với đề tài “Nghiên cứu ứng dụng di truyền số lượng và di truyền phân tử để tạo vật liệu ban đầu cho chọn giống tôm sú theo tính trạng tăng trưởng” (Nguyễn Văn Hảo, 2016). Từ giai đoạn 2016 -2019, đề tài “Nghiên cứu ứng dụng công nghệ sinh học trong chọn tạo tôm sú (*Penaeus monodon*) bố mẹ tăng trưởng nhanh được triển khai tại Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản II, kết quả tạo được 10.000 cặp tôm bố mẹ tăng trưởng nhanh, sạch bệnh. (Nguyễn Văn Sáng và ctv., 2019). Nguyễn Hữu Ninh và ctv (2018) khi nghiên cứu chọn giống theo tính trạng tăng trưởng trên tôm thẻ chân trắng từ thế hệ G_1 đến G_4 cho thấy, hệ số di truyền về tăng trưởng của dòng tôm nuôi trong ao ở mức trung bình từ $0,19 \pm 0,02$ đến $0,21 \pm 0,04$; trong khi hệ số di truyền của tôm nuôi trong bể ở mức cao hơn từ $0,22 \pm 0,03$ đến $0,25 \pm 0,03$.

Như vậy, có thể thấy các chương trình chọn giống trên đối tượng thủy sản đã và đang được thực hiện đem lại hiệu quả rõ rệt qua từng thế hệ chọn giống. Theo Gjedrem và ctv (2012), khoảng 8,2% sản lượng nuôi trồng thủy sản thế giới trong năm 2010 mang lại từ những cải thiện chất lượng di truyền. Kết quả trên cho thấy các chương trình chọn giống đã và đang đóng góp lớn vào việc nâng cao sản lượng nuôi trồng thủy sản trên toàn thế giới.

1.1.2. Tính đa dạng về mặt địa lý của thu thập vật liệu ban đầu để hình thành quần thể chọn giống

Trước khi bắt đầu một chương trình chọn giống cần phải có nguồn vật liệu

ban đầu có tính đa dạng di truyền cao thông qua thu thập từ nhiều vùng địa lý khác nhau và thông qua các phép lai. Các chương trình chọn giống thành công thường có quần thể ban đầu được thu thập từ nhiều nguồn khác nhau, do tính phong phú về đa dạng di truyền. Chương trình chọn giống cá hồi Đại Tây Dương (*S. salar*) thu thập các dòng cá hoang dã từ 40 con sông khác nhau của Na Uy (Gjedrem và ctv., 1991). Quần thể cá rô phi GIFT (Genetically Improved Farmed Tilapia) (*Oreochromis niloticus*) được tạo ra từ 8 dòng cá khác nhau, bao gồm 4 dòng có nguồn gốc Châu Phi và 4 dòng được nuôi tại Châu Á (Bentsen và ctv., 1998, Eknath và ctv., 2007). Quần thể cá rô phi đỏ tại ENACA, Ecuador, được thu thập từ 7 dòng cá rô phi nuôi trên khắp khu vực Châu Mỹ La Tinh. Quần thể cá rô phi đỏ của Trung tâm Cá Thế giới được thành lập từ 3 dòng cá rô phi đỏ nuôi xuất xứ từ Đài Loan, Malaysia và Thái Lan.

Quần thể ban đầu của chương trình chọn giống tôm sú của công ty Moana được hình thành từ các quần đàn tôm tự nhiên đánh bắt từ 7 vùng khác nhau ở khu vực châu Á. Từ cơ sở này, chương trình chọn giống tôm sú của Công ty Moana đã tạo nên ba dòng tôm sú với số lượng gia đình từ 75 đến 85 gia đình/dòng để tiến hành chương trình chọn giống (Brock, 2013). Số lượng dòng phong phú đảm bảo quần thể thu thập có mức độ đa dạng cao về mặt di truyền (biến dị di truyền cao trong quần thể). Quần thể ban đầu có tính đa dạng di truyền cao sẽ (i) cho hiệu quả chọn lọc tốt về lâu dài và (ii) tạo thuận lợi cho việc bổ sung các tính trạng mới vào chương trình chọn giống theo nhu cầu thực tiễn (Fjalestad, 2005).

Ở Việt Nam, nghiên cứu chọn giống tôm càng xanh (*Macrobrachium rosenbergii*) bắt đầu thực hiện năm 2007. Nguồn vật liệu được thu thập trong năm 2007 bao gồm nhóm tôm tự nhiên trong và ngoài nước. Nhóm tôm trong nước được thu thập từ hai hệ thống sông Đồng Nai và sông Mê Kông (sông Tiền, sông Hậu). Vật liệu được thu thập từ nhiều vị trí khác nhau (đầu nguồn, giữa nguồn), tại các vùng sinh thái khác nhau (nước ngọt, nước lợ, mặn) và tại các địa phương khác nhau (An Giang, Đồng Tháp, Sóc Trăng, Bến Tre, Tiền Giang). Nguồn tôm nước ngoài do Trung tâm Nghề cá thế giới cung cấp có nguồn gốc từ Malaysia. Đánh giá các dòng tôm bằng cách lai giữa 3 dòng tôm (dòng Mê Kông, Đồng Nai và Malaysia) khác nhau bằng phép lai hoàn toàn, gồm 9 tổ hợp lai (6 tổ hợp lai khác dòng, 3 tổ hợp lai

nội dòng) để hình thành quần thể ban đầu cho chọn giống. Hệ số di truyền bước đầu được tính toán là $0,18 \pm 0,03$ (Thanh và ctv., 2009).

Chương trình chọn giống cá chép được Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy Sản I thực hiện bằng phương pháp chọn lọc gia đình từ quần thể ban đầu được thành lập trên cơ sở 3 dòng cá chép chọn giống bằng phương pháp chọn lọc cá thể và 3 dòng cá chép thuần Việt Nam, Hungary và Indonesia (Nguyễn Hữu Ninh, 2010).

Chương trình chọn giống cá mè vinh (*Barbonymus gonionotus*) được bắt đầu bằng việc đánh giá tăng trưởng của các dòng cá mè vinh có nguồn gốc khác nhau từ sông Cửu Long và sông Đồng Nai và hình thành quần thể ban đầu cho chọn giống (Nguyễn Văn Hảo và ctv., 2003). Chương trình chọn giống tôm chân trắng theo tính trạng tăng trưởng thực hiện từ năm 2011 đến 2015 đã hình thành quần đàn vật liệu ban đầu từ 7 đàn tôm chân trắng nhập nội với tổng số 17 tổ hợp lai và 136 gia đình. Ước tính hệ số di truyền với tính trạng tăng trưởng từ 0,25 - 0,30, hiệu quả chọn lọc tăng 5 - 8% mỗi thế hệ (Trần Thế Muru, 2015).

Các kết quả nghiên cứu trên cho thấy, thu thập các quần đàn vật liệu ban đầu có tính đa dạng di truyền cao là điều kiện tiên quyết của một chương trình chọn giống. Hiệu quả của một chương trình chọn giống phụ thuộc rất lớn vào việc chọn lọc và hình thành vật liệu ban đầu.

1.1.3. Đánh giá vật liệu ban đầu cho chương trình chọn giống

Có hai phương pháp hình thành quần thể ban đầu cho chọn giống. Phương pháp thứ nhất là thu thập tôm từ nhiều dòng khác nhau, sau đó cho phối ngẫu nhiên, không giới hạn giữa các dòng, trong thế hệ đầu tiên. Đây là phương pháp được sử dụng để hình thành quần thể chọn giống cá hồi Đại Tây Dương tại Na Uy (Gjedrem và ctv., 1991). Phương pháp thứ hai là lai hỗn hợp giữa các dòng, sau đó chọn lọc với cường độ thấp trong thế hệ chọn giống đầu tiên. Phương pháp này được sử dụng để tạo quần thể cá rô phi vằn (*O. niloticus*) thuộc chương trình GIFT (Bentsen và ctv., 1998). Để đánh giá được chất lượng của quần thể ban đầu, Holtsmark và ctv (2008) đã nghiên cứu đánh giá ảnh hưởng của việc thiết kế quần thể ban đầu (ví dụ như số lượng dòng cá, số lượng cá thể cần thu thập của mỗi dòng, phương pháp lai tạo giữa các dòng khác nhau, cường độ chọn lọc trong những thế hệ đầu tiên, v.v...) đến hiệu

quả chọn lọc và tỉ lệ cận huyết trong quần thể về lâu dài. Nghiên cứu cho một số kết quả: (i) hình thành quần thể ban đầu cho chọn giống từ 4 nhóm ban đầu đảm bảo việc chọn lọc cho hiệu quả tốt; (ii) lai nội bộ nhóm và lai chéo giữa các nhóm cải thiện di truyền đáng kể so với lai ngẫu nhiên; (iii) tăng số lượng các nhóm trong việc thành lập quần thể ban đầu sẽ giảm sai số của chọn lọc (Holtmark và ctv., 2008). Sau khi đã có đầy đủ các dòng thì cần tiến hành ghép phối hỗn hợp giữa các dòng với nhau và ghép phối nội dòng. Nếu số lượng dòng là p thì sẽ có p^2 tổ hợp ghép phối khác nhau. Ghép phối hỗn hợp nhằm để đánh giá ưu thế lai của tính trạng cần quan tâm (thường là tính trạng tăng trưởng và tỉ lệ sống) của từng dòng và của con lai giữa các dòng. Ghép phối hỗn hợp được thực hiện ngay sau khi thu thập các dòng cá của quần thể ban đầu và trước khi tiến hành chọn giống (Gjerde, 2005).

Đối với các chương trình chọn giống trên cá nuôi, hiện chưa có nghiên cứu nào đánh giá ảnh hưởng của việc thiết kế quần thể ban đầu (ví dụ như số lượng dòng cá, số lượng cá thể cần thu thập của mỗi dòng, phương pháp lai tạo giữa các dòng khác nhau, cường độ chọn lọc trong những thế hệ đầu tiên, v.v...) đến hiệu quả chọn lọc và tỉ lệ cận huyết trong quần thể về lâu dài (Gjedre, 2005). Do đó mà việc đánh giá độ biến dị của tính trạng chọn lọc cần được tiến hành ở điều kiện thực tế.

1.1.4. Đảm bảo an toàn sinh học và sạch bệnh trong chọn giống tôm

Đảm bảo an toàn sinh học là điều kiện bắt buộc trong tất cả các chương trình chọn giống. Chương trình chọn giống của Viện Hải Dương Học Hawaii – Mỹ (OI) trên tôm thẻ chân trắng bắt đầu từ năm 1989, đến nay đã tạo ra được mười ba thế hệ tôm kháng với hội chứng Taura (TSV). Chương trình chọn giống của OI được đánh giá là tạo ra được những đàn tôm sạch tất cả các loại bệnh được liệt kê của Hiệp hội nuôi tôm biển của Mỹ cũng như của tổ chức Kiểm dịch động vật quốc tế (OIE). Chương trình chọn giống hoạt động tại một Trung tâm bố mẹ gốc (NBC) rộng 1400m², được thiết kế nuôi trong điều kiện an toàn sinh học nghiêm ngặt. Trung tâm có tất cả các trang thiết bị cần thiết phục vụ cho việc chọn giống bao gồm: hệ thống bể nuôi vỗ trong nhà, khu sinh sản, khu ương nuôi ấu trùng và nuôi thương phẩm. Hệ thống này có thể đáp ứng cho khoảng 200 gia đình tôm hàng năm. Nguồn nước cung cấp cho hệ thống trại đều được lọc, khử trùng và lượng

nước lấy vào cũng rất hạn chế do sử dụng hệ thống lọc nước tuần hoàn. Tôm nuôi trong Trung tâm đều có giấy chứng nhận sạch bệnh và định kỳ được kiểm tra mầm bệnh (Moss, 2011).

Chương trình nghiên cứu tôm sú bố mẹ sạch bệnh tại Malaysia thuộc Cục Thủy Sản Malaysia bắt đầu từ năm 2001 với tham vọng nhằm sản xuất 10 tỉ tôm giống sạch bệnh đáp ứng cho sản lượng nuôi 180.000 tấn tôm vào năm 2010. Quy trình gia hóa bắt đầu từ việc tuyển chọn tôm bố mẹ tự nhiên đưa về khu cách ly sơ cấp nhằm sàng lọc tuyển chọn tôm sạch các bệnh virus nguy hiểm như virus WSSV (đốm trắng), virus YHV (đầu vàng), virus MBV, virus HPV. Sau khi nuôi ở khu vực sàng lọc cách ly sơ cấp, tôm được sàng lọc lại các mầm bệnh virus này để đưa vào khu vực nuôi cách ly thứ cấp gồm các thiết bị nuôi thành thực, cho đẻ và ương nuôi ấu trùng nhằm sản xuất đàn tôm giống sạch bệnh thế hệ F1 dùng cho gia hóa khép kín vòng đời.

Kết quả nghiên cứu tại Tổ chức Nghiên cứu khoa học và công nghiệp Úc (CSIRO) từ những năm 1997 cho thấy quy trình gia hóa được thực hiện trong hệ thống tuần hoàn kín giá thể cát an toàn sinh học, sử dụng nguồn tôm sạch bệnh 1g để nuôi đến cỡ lớn hơn 100g cho cắt mắt sinh sản với thời gian gia hóa kéo dài khoảng 10 - 12 tháng nuôi. Bể nuôi tuần hoàn kín giá thể cát 10m², đường kính 3,6m, độ sâu nước 0,9m. Nước tuần hoàn bằng cơ chế đảo khí và nước chảy tràn 3 lít/phút (50%/ngày) hoặc bể nuôi tuần hoàn giá thể cát ít thay nước (5%/ngày) (Coman và ctv., 2005).

Chương trình gia hóa tạo tôm sú sạch bệnh và cải tiến di truyền của công ty Moana – Hawaii được thực hiện tại Trung tâm tôm bố mẹ gốc (NBC), tôm bố mẹ ngoài tự nhiên được thu thập từ các vùng biển trên thế giới từ năm 2000 - 2001 (1.484 con từ Đông châu Á đến châu Phi). Trong giai đoạn 2001-2004, tôm được cách ly và kiểm tra sạch bệnh hoàn toàn. Tôm được cho lai tạo, kiểm soát và cải tiến đặc tính di truyền theo từng gia đình, kết quả chọn được 143 gia đình để sản xuất thành đàn “hậu ấu trùng bố mẹ” (Parent Post Larvae - PPL). Các gia đình PPL được nuôi khép kín tại chỗ cho tới khi sinh sản để bổ sung tái tạo lại đàn tôm bố mẹ nguyên thủy. Các PPL thuộc các gia đình đã được thử nghiệm lựa chọn có các đặc điểm di truyền tốt nhất (như tăng trưởng nhanh nhất) sẽ được chuyển đến các Trung tâm nhân giống

tôm bố mẹ để nuôi vỗ thành tôm bố mẹ phục vụ sinh sản hậu ấu trùng (PL) cho các ao nuôi thương phẩm (Trần Đình Cẩm Lan, 2015).

Như vậy, có thể thấy rằng các chương trình gia hóa, chọn giống đều được thực hiện trong hệ thống nuôi đảm bảo an toàn sinh học, đảm bảo kiểm soát tốt sự lây lan dịch bệnh, tạo ra nguồn tôm bố mẹ, tôm giống sạch bệnh. Đây là điều kiện bắt buộc đối với tất cả các chương trình chọn giống.

1.1.5. Kỹ thuật đánh dấu trong chọn giống thủy sản

Các phương pháp đánh dấu khác nhau đã từng được nghiên cứu và ứng dụng trên các đối tượng thủy sản (cá, nhuyễn thể, giáp xác) được thống kê bởi Haastein và ctv (2001) bao gồm sử dụng dấu bên trong (internal tags), dấu bên ngoài (external tags), dùng hóa chất (nitơ lỏng, các hóa chất có màu), dùng các phương pháp vật lý (các loại dấu đeo) và gần nhất là ứng dụng sinh học phân tử với việc sử dụng các chỉ thị phân tử (molecular markers) để xác định phả hệ. Các phương pháp sử dụng dấu bên ngoài có ưu điểm chung là giá thành thấp, dễ áp dụng và không đòi hỏi các thiết bị phức tạp để nhận biết dấu. Tuy nhiên, nhược điểm chính của các phương pháp này là các dấu sử dụng thường có kích thước lớn và trong nhiều trường hợp gây ảnh hưởng tiêu cực đến tăng trưởng, sức khỏe, tỷ lệ sống của đối tượng được đánh dấu (Claverie và Smith., 2007; Navarro và ctv., 2006; Soula và ctv., 2007). Các phương pháp sử dụng dấu bên trong thì ngược lại thường sử dụng dấu có kích thước nhỏ hơn nên có thể áp dụng đối với các đối tượng có kích thước nhỏ hoặc ở giai đoạn sớm của quá trình phát triển (giai đoạn ấu trùng, giai đoạn con giống) mà không hoặc ít gây ra những ảnh hưởng tiêu cực về sinh học cho đối tượng, tuy nhiên việc đọc dấu có thể gặp nhiều khó khăn đối với một số đối tượng nhất định (Isely và Stockett, 2001).

Thực tế cho thấy, nhiều phương pháp đánh dấu sử dụng dấu bên ngoài áp dụng thành công trên các loài cá nhưng không phù hợp áp dụng cho tôm. Các phương pháp đánh dấu bên trong thì ngược lại có ưu điểm cơ bản là không làm ảnh hưởng đến quá trình lột xác của tôm, dấu cũng không bị mất đi cùng với vỏ tôm trong quá trình tôm lột xác. Chíp điện tử (PIT) và dấu số (VI-alpha) được thiết kế để đánh dấu riêng biệt cho từng cá thể và đã được áp dụng thành công trên một số loài thủy sản

gồm: tôm càng xanh (Brown và ctv., 2003; Pillai và ctv., 2009), trên tôm hùm đất (Isely và Eversole, 1998), tôm tít (de Graaf, 2007), tôm thẻ chân trắng (Kneib và Huggler, 2001), cua (Davis và ctv., 2004), cá hồng (Brennan và ctv., 2007) và tôm hùm (Linnane và Mercer, 1998). Cả hai loại dấu này đều ít hoặc không gây ra ảnh hưởng đến các hoạt động sinh học của đối tượng nuôi sau khi được đánh dấu (Arce và ctv., 2003). Tuy nhiên, mỗi loại dấu kể trên đều có những nhược điểm nhất định. Đối với dấu số (VI-alpha) đó là nhược điểm liên quan đến tỷ lệ tồn dấu cũng như tỷ lệ đọc dấu trong nhiều trường hợp là không cao (Arce và ctv., 2003; Pillai và ctv., 2009). Đối với dấu chip điện tử (PIT tags) nhược điểm lớn nhất của loại dấu này là giá thành cao (chip điện tử cũng như thiết bị đọc dấu đều đắt tiền) và cần phải giết sinh vật để thu hồi lại dấu.

Ngược lại, với dấu số và dấu chip điện tử thì dấu phẩm màu huỳnh quang (VIE) đã được ứng dụng đánh dấu thành công trên giun (Butt và ctv., 2009), lươn (Imbert và ctv., 2007), lưỡng cư (Heemeyer và ctv., 2007), giáp xác (Zeeh và Wood, 2009), cá (Astorga và ctv., 2005; Doupe và ctv., 2003; Jensen và ctv., 2008; Woods và Martin-Smith, 2004), trên một số loài tôm khác nhau (Coman và ctv., 2010; Fuller và ctv., 2009; Godin và ctv., 1996; Pillai và ctv., 2007), tôm hùm đất (*Procambarus clarkii*) (Mazlum, 2007), tôm hùm (Frisch và Hobbs, 2006; Uglem và ctv., 1996; Woods và James, 2003) và tôm càng xanh (Dinh Hung và ctv., 2012).

Dấu phẩm màu huỳnh quang cũng chứng tỏ có thể tồn lưu tốt trong các thí nghiệm dài ngày (Butt và Lowe., 2007; Godin và ctv., 1996) với ít hoặc không có ảnh hưởng tới các chức năng sinh học của sinh vật trong cả điều kiện thí nghiệm cũng như trong các nghiên cứu thực địa (Davis và ctv., 2004; Frisch và Hobbs, 2006). Dấu phẩm màu huỳnh quang cũng cho những kết quả tích cực khác như tỷ lệ tồn dấu cao (Pillai và ctv., 2007; Uglem và ctv., 1996); dễ áp dụng; chi phí rất thấp (Fuller và ctv., 2009) và có thể ứng dụng cho các sinh vật có kích thước nhỏ, thậm chí rất nhỏ (Jensen và ctv., 2008). Một ưu điểm khác của dấu phẩm màu huỳnh quang là dấu có thể được đọc bằng mắt thường (mặc dù trong một số trường hợp cần thiết có thể sử dụng đèn cực tím sẽ có kết quả tốt hơn) mà không cần phải giết sinh vật (Uglem và ctv., 1996).

1.1.6. Các đánh giá tương tác kiểu gen và môi trường

Đối với chương trình chọn giống cần phải tiến hành trong điều kiện sạch bệnh là tiên quyết. Tuy nhiên, điều kiện nuôi trong bể an toàn sinh học khác nhiều so với điều kiện nuôi trong ao. Vì vậy, khi tiến hành chọn giống trong một môi trường (bể nuôi tuần hoàn trong nhà) và sản phẩm nuôi ở một môi trường khác (ao đất) thì việc đánh giá tương tác biểu hiện kiểu hình giữa 2 môi trường đó là bắt buộc. Mặc dù, đã có những báo cáo cho rằng tương tác $G \times E$ trên tôm sú hầu như không đáng kể. Các nghiên cứu đánh giá tương tác $G \times E$ đã được công bố nhiều trên cá rô phi (Uraivan và ctv., 1995; Maluwa và ctv., 2006; Bentsen và ctv., 2012; Khaw và ctv., 2012; Trọng và ctv., 2013). Hầu hết các nghiên cứu trên cá rô phi đều cho mức độ tương tác $G \times E$ từ cao đến thấp, tương quan di truyền (r_g) từ 0,64 đến 0,89. Các loài cá hồi (cá hồi Đại Tây Dương, cá hồi vân, ..) cũng được nhiều tác giả tập trung nghiên cứu (Winkelman và Peterson, 1994; Fishback và ctv., 2002; Kause và ctv., 2003; Kolstad và ctv., 2006; Pierce và ctv., 2008) và hầu hết tương quan di truyền (r_g) > 0,72. Ngoài ra, những nghiên cứu trên cá chép (*Cyprinus carpio*) (Wang và ctv., 2007; Ponzoni và ctv., 2008b), cá vược (*Lates calcarifer*) (Saillant và ctv., 2006; Dupont-Nivet và ctv., 2008; Domingos và ctv., 2013), hào (*Crassostrea gigas*) (Kvingedal và ctv., 2007; Swan và ctv., 2007), tương tác $G \times E$ ở các đối tượng này cũng biến đổi từ 0,70 đến 0,97. Tóm lại, tương tác $G \times E$ đã được công bố trên hầu hết các loài cá là thấp, không đáng kể. Ngược lại, với những nghiên cứu khá phong phú đã được công bố trên các loài cá, các nghiên cứu trên giáp xác nói chung và trên tôm nói riêng còn rất hạn chế. Trong nghiên cứu trên tôm thẻ chân trắng trên tính trạng khối lượng thân khi thu hoạch trong hai mô hình nuôi là nuôi trong bể và nuôi ao, Gitterle và ctv (2005a) công bố tương quan kiểu gen là 0,79. Trong một nghiên cứu khác gần đây trên tôm sú tại Ấn Độ cũng với tính trạng khối lượng thân khi thu hoạch ở hai ao nuôi khác nhau tại hai địa điểm khác nhau, Krishna và ctv (2011) cũng công bố tương quan di truyền là 0,78. Những kết quả này cũng khá tương đồng với những kết quả đã công bố trên các loài cá nói chung. Mặc dù tương tác $G \times E$ không phổ biến nhưng không phải không có những trường hợp ngoại lệ ví dụ như trên cá rô phi.

Komen và Thorgaard (2007) khi khảo sát hai dòng cá rô phi khác nhau cho kết

qua tương quan di truyền khá cao (từ 0,39 đến 0,56). Trong một nghiên cứu khác cũng trên cá rô phi nuôi ở Việt Nam trong hai môi trường là nước ngọt và nước lợ, Luan và ctv (2008) cũng cho thấy tương quan kiểu gen chỉ ở mức 0,45. Theo Robertson (1959) thì tương tác kiểu gen–môi trường có ý nghĩa sinh học nếu tương quan di truyền (r_g) < 0,8 và ngược lại.

Nhận định này được chấp nhận rộng rãi trong chọn giống động vật (bao gồm cả chọn giống thủy sản) cho đến ngày nay (Bourdon, 1997; Gjerdrem và Baranski, 2010). Theo Mulder và Bijma (2005), nếu r_g của hai môi trường nằm ở mức 0,7 – 0,8 thì việc thiết lập 2 quần thể chọn giống riêng rẽ sẽ cho hiệu quả chọn lọc cao hơn so với khi chỉ có một quần thể chọn giống duy nhất. Vì vậy việc khảo sát tương tác $G \times E$ trước khi bắt đầu một chương trình chọn giống vẫn là đòi hỏi bắt buộc và cần thiết.

1.1.7. Hệ số di truyền và tương quan di truyền

Hệ số di truyền ước tính: sử dụng phân tích phương sai để tính toán phương sai thành phần theo con bố (σ_s^2) và được tính theo tỷ lệ giữa 04 lần phương sai theo bố và phương sai kiểu hình $4 * \sigma_s^2 / \sigma_p^2$.

Hệ số di truyền thực tế được tính theo hai cách:

1) Tỷ lệ giữa hiệu số hiệu quả chọn lọc (trung bình tính trạng) thế hệ đàn con sau khi trừ các ảnh hưởng cố định và đồng biến tương ứng của nhóm chọn lọc và nhóm đối chứng) và sự khác biệt chọn giống (được tính bằng hiệu số giữa trung bình tính trạng của nhóm chọn lọc và nhóm đối chứng ở thế hệ bố mẹ);

2) Tỷ lệ giữa hiệu số hiệu quả chọn lọc (trung bình EBV tính trạng thế hệ đàn con tương ứng của nhóm chọn lọc và nhóm đối chứng) và sự khác biệt chọn giống (được tính bằng hiệu số giữa EBV trung bình tính trạng của nhóm chọn lọc và nhóm đối chứng ở thế hệ bố mẹ). Đến nay thì Hệ số di truyền thực tế ít được công bố hơn hệ số ước tính (Nguyễn Văn Sáng, 2018).

Khi nghiên cứu chọn giống trên tôm sú, Benzie và ctv (1997) sử dụng các gia đình half-sib để tính toán ảnh hưởng của tôm mẹ ở tuần tuổi thứ 6 và thứ 10 cho thấy yếu tố tôm mẹ có ảnh hưởng trong giai đoạn sớm của quá trình tăng trưởng trên tôm sú (0,1 và 0,5). Hệ số di truyền tính trạng khối lượng đã được công bố thường cao

hơn như Kenway và ctv (2006) công bố hệ số di truyền tính trạng khối lượng ở tuần thứ 54 là 0,53. Cũng trong nghiên cứu này, hệ số di truyền tính trạng tỷ lệ sống theo gia đình được tính toán nằm trong khoảng từ 0,36 đến 0,71 và không có tương quan di truyền giữa 2 tính trạng này.

Hệ số di truyền một số tính trạng liên quan đến sinh sản cũng được nghiên cứu bởi Macbeth và ctv (2007), hệ số di truyền tính trạng ngày tuổi sinh sản, số lượng trứng, số lượng nauplius, tỷ lệ nở (quy đổi arcsin) lần lượt là $0,47 \pm 0,15$; $0,41 \pm 0,18$; $0,27 \pm 0,16$ và $0,18 \pm 0,16$. Hệ số di truyền đối với các tính trạng khác nhau như chiều dài, khả năng chống chịu nước ngọt, khối lượng thân, tỷ lệ sống, v.v.. trên một số loài tôm đã được nhiều tác giả công bố và được thống kê tại Bảng 1.1. Theo đó hệ số di truyền của các loài tôm chọn lọc theo khối lượng thân dao động từ 0,10 - 0,47. Hệ số di truyền chọn lọc theo chiều dài tổng dao động trong khoảng từ 0,08 - 0,84 có khả năng chịu ảnh hưởng của quá trình biến thái của tôm. Các hệ số di truyền chọn lọc của các tính trạng khác thường khá thấp như: chống chịu virus đốm trắng (0,03), chống chịu ammonia (0,11).

Bảng 1. 1. Hệ số di truyền một số tính trạng chọn giống trên tôm

Loài tôm	Tính trạng chọn lọc	Hệ số di truyền (h^2)	Tác giả
<i>P.stylirostris</i>	Chiều dài tổng PL1	$0,84 \pm 0,79$	Lester (1998)
<i>M.niponense</i>	Chống chịu nước ngọt	0,24	Wong và McAndrew (1990)
<i>P.monodon</i>	Chiều dài tổng 6 tuần tuổi	$0,08 \pm 0,01 - 0,59 \pm 0,3$	Benzie và ctv (1997)
<i>P.monodon</i>	Khối lượng thân 6 tuần tuổi	$0,12 \pm 0,02 - 0,56 \pm 0,03$	Benzie và ctv (1997)
<i>P.monodon</i>	Chiều dài tổng 10 tuần tuổi	$0,12 \pm 0,07 - 0,3 \pm 0,11$	Benzie và ctv (1997)
<i>P.monodon</i>	Khối lượng thân 10 tuần tuổi	$0,10 \pm 0,02 - 0,39 \pm 0,04$	Benzie và ctv (1997)
<i>L.vannamei</i>	Khối lượng thân	$0,42 \pm 0,15$	Carr và ctv (1997)
<i>P.vannamei</i>	Khối lượng thân thu hoạch	$0,45 \pm 0,01 - 0,5 \pm 0,13$	Fjalestad và ctv (1997)
<i>M.japonicus</i>	Khối lượng thân (185 ngày)	0,21 - 0,41	Hetezel và ctv (2000)
<i>M.japonicus</i>	Khối lượng thân	0,16 - 0,31	Hetezel và ctv (2000)
<i>L.vannamei</i>	Chống chịu ammonia	0,11 - 0,16	Argue và ctv (2002)
<i>L.vannamei</i>	Tỷ lệ sống	$0,10 \pm 0,07$	Argue và ctv (2002)
<i>P.stylirostris</i>	Khối lượng thân	0,47	Goyard và ctv (2002)
<i>L.vannamei</i>	Khối lượng thân	$0,17 \pm 0,06$	Perez-Rostro và Ibrara (2003a)
<i>L.vannamei</i>	Khối lượng thân	$0,34 \pm 0,18$	Perez-Rostro và Ibrara (2003b)
<i>L.vannamei</i>	Khối lượng thân	$0,24 \pm 0,05$	Gitterle và ctv (2005a)
<i>L.vannamei</i>	Tỷ lệ sống nuôi trong ao	$0,10 \pm 0,02$	Gitterle và ctv (2005a)
<i>L.vannamei</i>	Chống chịu virus đốm trắng	$0,03 \pm 0,01$	Gitterle và ctv (2005b)
<i>L.vannamei</i>	Khối lượng thân thu hoạch	$0,20 \pm 0,04$	Gitterle và ctv (2005a)

Nghiên cứu mới nhất trên tôm sú của Krishna và ctv (2011) tại Ấn Độ cho thấy hệ số di truyền tính trạng khối lượng và tỷ lệ sống lần lượt là 0,27 và 0,21 và tương quan di truyền giữa 2 tính trạng này rất thấp (0,05). Tương quan kiểu gen – môi trường khi nuôi trong 2 ao khác nhau được tìm thấy nhưng là tương quan yếu. Cho đến nay, phương pháp chọn giống phổ biến nhất đang được sử dụng trên thế giới là chọn lọc cá thể, chọn lọc gia đình và chọn lọc kết hợp giữa chọn lọc gia đình và cá thể. Các tính trạng số lượng trong chương trình chọn giống thường có mối tương quan di truyền với nhau. Theo Gjedrem (2000), tương quan di truyền giữa tính trạng sinh trưởng và hệ số chuyển đổi thức ăn có tương quan nghịch cao, sau 4 thế hệ chọn lọc nâng cao tốc độ sinh trưởng trên cá hồi Đại Tây Dương thì hệ số thức ăn giảm từ 1,08 xuống còn 0,86. Biến dị kiểu hình của tính trạng tỷ lệ phôi trên cá hồi vân thấp (2,8%) nhưng hệ số di truyền trên đối tượng này tương đối cao 0,33 và mối tương quan di truyền với tính trạng tăng trưởng ở mức trung bình 0,29 - 0,47. Do vậy, trong chương trình chọn giống nên kết hợp theo dõi nhiều tính trạng bên cạnh tính trạng ưu tiên theo mục tiêu chọn lọc.

1.1.8. Hiệu quả chọn lọc

Theo Gjedrem (2005), hiệu quả chọn lọc trên các đối tượng thủy sản là rất khả quan và cao hơn nhiều so với hiệu quả chọn lọc các đối tượng động vật trên cạn. Nguyên nhân có thể là do các đối tượng thủy sản có biến dị di truyền cao và sức sinh sản lớn nên cường độ chọn giống cao hơn.

Hiệu quả chọn lọc trên các đối tượng thủy sản lên đến 10 đến 20% mỗi thế hệ như trên cá hồi Đại Tây Dương (*Salmo salar*) (Gjedrem, 2000; Quinton và ctv., 2005), cá hồi coho (*Oncorhynchus kisutch*) (Hershberger và ctv., 1990; Neira và ctv., 2004), cá nheo Mỹ (*Ictalurus punctatus*) (Dunham, 2007), cá rô phi (*Oreochromis niloticus*) (Bentsen và ctv., 1998; Ponzoni và ctv., 2005; Eknath và ctv., 2007; Trọng và ctv., 2013), cá chép Ấn Độ (*Labeo rohita*) (Mahapatra và ctv., 2006) và cá tra (*Pangasianodon hypophthalmus*) (Sáng và ctv., 2012). Khác với các nghiên cứu trên cá, có rất ít chương trình chọn giống giáp xác và chủ yếu tập trung vào một số loài tôm biển (Hetzl và ctv., 2000; Argue và ctv., 2002; Goyard và ctv., 2002; Preston và ctv., 2004; Donato và ctv., 2005; Gitterle và ctv., 2005a; Gitterle và ctv., 2005b;

Gitterle và ctv., 2006), tôm càng nước ngọt (*Procambarus clarkii*) (Jones và Ruscoe, 2000; Jerry và ctv., 2005), tôm càng xanh (*Macrobrachium rosenbergii*) (Luan và ctv., 2012; Hung và ctv., 2013a; Hung và ctv., 2013b; Hung và Nguyen, 2014; Hung và ctv., 2014; Luan và ctv., 2014; Luan và ctv., 2015). Các chương trình chọn giống trên tôm mặc dù chưa nhiều tuy nhiên hiệu quả chọn lọc đạt được trên tính trạng tăng trưởng cũng khá cao, khoảng 10% mỗi thế hệ chọn giống. Theo Gjedrem (2005), có nhiều phương pháp để tính toán hiệu quả chọn lọc trong đó phải kể đến việc hình thành quần thể đối chứng. Đây là cách truyền thống và được sử dụng rộng rãi nhằm đo lường sự thay đổi (về mặt di truyền) của quần thể chọn lọc. Ý tưởng thiết lập quần thể đối chứng là mọi sự thay đổi của môi trường (những thay đổi không do di truyền) được kì vọng sẽ ảnh hưởng như nhau lên cả hai quần thể chọn lọc và đối chứng.

Phương pháp này có một số hạn chế như tính ổn định về di truyền của quần thể đối chứng vẫn là dấu hỏi. Thường thì kích thước quần thể hiệu quả (N_e) là khá nhỏ cho cả hai quần thể đối chứng và chọn lọc, do đó dễ bị ảnh hưởng bởi các biến đổi di truyền làm thay đổi tần số gen. Việc duy trì một quần thể đối chứng có ghép phối ngẫu nhiên và ổn định về mặt di truyền là phức tạp hơn so với động vật trên cạn.

Phương pháp thứ hai được áp dụng đối với động vật phòng thí nghiệm là phương pháp chọn lọc ngược, trong phương pháp này quần thể đối chứng được chọn lọc theo hướng hoàn toàn ngược lại với quần thể chọn lọc (Falconer và Mackay, 1996). Hiệu quả chọn lọc được ước tính từ phương pháp này sẽ bị sai lệch lớn nếu mức độ tương tác kiểu gen – môi trường là lớn.

Phương pháp thứ ba là ghép phối lặp lại, theo đó cá thể đực của thế hệ trước sẽ được cho ghép phối lại với cá thể cái của thế hệ sau, sự khác biệt của tính trạng quan tâm giữa hai thế hệ con là cơ sở để đánh giá hiệu quả chọn lọc.

Phương pháp thứ tư được sử dụng rất phổ biến có hiệu quả và tương đối ít tốn kém, là việc sử dụng các cá thể ở mức trung bình của quần thể chọn lọc, theo đó những cá thể có giá trị chọn giống ở mức trung bình của một quần thể sẽ được chọn ngay làm nhóm đối chứng. Dựa trên lý thuyết mô hình hỗn hợp của Henderson (1975) có thể áp dụng phương pháp phân tích xu hướng di truyền theo đó số liệu của hai

hoặc nhiều thế hệ liên kế sẽ được phân tích cùng lúc với thế hệ là ảnh hưởng cố định. Sự khác biệt trung bình giá trị chọn giống ước tính (EBV) giữa hai hoặc nhiều thế hệ chính là hiệu quả chọn lọc (Thodesen và ctv., 2012, 2013).

Ở Việt Nam, nghiên cứu chọn giống trên các đối tượng thủy sản đã được thực hiện nhiều trong những năm gần đây và chủ yếu tập trung vào các tính trạng tăng trưởng nhanh và tỷ lệ sống cao. Chọn giống cá chép sau 6 thế hệ chọn lọc, tốc độ tăng trưởng tăng 33%, hiệu quả chọn lọc ở mỗi thế hệ tăng 9 - 22% (Nguyễn Hữu Ninh, 2010). Thí nghiệm chọn giống trên 3 ngoại hình cá chép (màu vàng, màu trắng, màu hung) nuôi phổ biến ở đồng bằng sông Cửu Long cũng được thực hiện tại Đại học Cần Thơ. Qua 2 thế hệ chọn giống bằng phương pháp chọn lọc cá thể, hiệu quả chọn lọc cho tính trạng tăng trưởng tương ứng là 7,0 - 7,2%; 4,3 - 6,0% và 4,2 - 4,3% (Nguyễn Văn Kiểm, 2005).

Ngoài ra, các nghiên cứu tương tự cũng được thực hiện trên cá rô phi, cá tra, cá chẽm. Đối với tôm, nghiên cứu chọn giống chủ yếu thực hiện trên tôm càng xanh, tôm chân trắng và tôm sú. Nguyễn Hữu Ninh và ctv (2018) khi nghiên cứu chọn giống theo tính trạng tăng trưởng trên tôm chân trắng từ thế hệ G_1 đến G_4 cho thấy, hiệu quả chọn lọc đạt 4,9-6,6% đối với tính trạng khối lượng, hệ số di truyền về tăng trưởng của dòng tôm nuôi trong ao ở mức trung bình từ $0,19 \pm 0,02$ đến $0,21 \pm 0,04$; trong khi hệ số di truyền của tôm nuôi trong bể ở mức cao hơn từ $0,22 \pm 0,03$ đến $0,25 \pm 0,03$. Trên tôm càng xanh hệ số di truyền bước đầu được tính toán về tính trạng tăng trưởng ở mức trung bình (0,2 – 0,4). Hiệu quả chọn lọc tính trạng này cũng ở mức trung bình, khoảng 7% / thế hệ (Nguyễn Đình Hùng và ctv., 2011).

1.2. Gia hóa và khép kín vòng đời các đối tượng chọn giống trong điều kiện nhân tạo ở Việt Nam và trên thế giới

Trong nuôi trồng thủy sản, gia hóa được coi là sự thích nghi của sinh vật trong điều kiện nuôi nhốt với hai điểm chính là tăng trưởng nhanh và tăng khả năng sinh sản (Hassin và ctv., 1997).

Trên thế giới, gia hóa tôm bắt đầu được thực hiện từ rất sớm giữa thập niên 70. Những nghiên cứu này đã mang lại thành công trong việc khép kín vòng đời 2 loài tôm thẻ gồm tôm thẻ chân trắng (*Litopenaeus vannamei*) và tôm thẻ thân xanh

(*Liptopenaeus stylirostris*) (Cuzon và ctv., 2004). Đến nay, tôm bố mẹ và tôm giống nhân tạo dòng tôm thẻ chân trắng sạch bệnh và kháng bệnh đã được thương mại hóa rộng rãi và xóa bỏ hoàn toàn việc sử dụng tôm bố mẹ tự nhiên cho ngành công nghiệp sản xuất giống. Từ những năm 1970, một số chương trình gia hóa tôm sú đã được thực hiện để tạo nguồn tôm sú bố mẹ sạch bệnh. Một số Viện nghiên cứu và các công ty tư nhân đã tham gia vào chương trình gia hóa tôm sú như công ty Aquacop ở Tahiti (Polynesia thuộc Pháp), Trung tâm Phát triển Thủy sản Đông Nam Á (SEAFDEC) ở Philippines, Trung tâm Kỹ thuật di truyền và Công nghệ sinh học ở Thái Lan, Bộ Thủy sản Malaysia, chương trình nghiên cứu của Tổ chức Nghiên cứu Khoa học và Công nghiệp (CSIRO) ở Úc và công ty Moana Technologies Inc, Hawaii.

Năm 1975, Công ty Aquacop đã nghiên cứu gia hóa tôm sú cùng với một số đối tượng nuôi khác như tôm bạc (*Penaeus merguensis*) ở Tahiti, French Polynesia. Tôm được nuôi trong ao đất với mật độ chủ động giảm dần trong quá trình nuôi và được cắt mắt cho đẻ khi đạt độ tuổi 9-12 tháng. Tỷ lệ tôm lên trứng, đẻ trứng, tỷ lệ nở, tỷ lệ sống của ấu trùng đều rất thấp. Aquacop đã giữ được đến 8 thế hệ tôm sú trong điều kiện nhân tạo nhưng chương trình này bị thất bại do sức sống và khả năng sinh sản kém của tôm gia hóa. Theo nhận định chung, nguyên nhân thất bại có thể là do hậu quả của giao phối cận huyết (Aquacop, 1977, 1979).

Tại Philippine, chương trình gia hóa tôm sú được thực hiện trong ao đất. Tôm sú sau một năm tuổi đạt khối lượng từ 80 – 100g/con. Tôm được nuôi thành thực trong hệ thống bể nước chảy tuần hoàn, tuy nhiên tỷ lệ chết tương đối cao đến 5,6 %/tuần đối với tôm đực và 9,2%/tuần đối với tôm cái. Sức sinh sản đạt 100.000 đến 600.000 trứng/tôm mẹ, tỷ lệ nở đạt 30,5 % đến 37,5 % (Primavera và Gabasa, 1981; Primavera, 1983).

Năm 1990, một chương trình gia hóa, khép kín vòng đời tôm sú cũng được triển khai tại Thái Lan. Vật liệu nghiên cứu được chọn với tỷ lệ 1% những cá thể tốt nhất thu từ các trang trại nuôi thịt với khối lượng từ 50 -70 g/con. Tôm được kiểm tra các bệnh virus để đảm bảo nguồn tôm chọn sạch bệnh. Tôm được nuôi trong ao diện tích 1600 m², với mật độ 4 - 8 con/m². Thời gian nuôi 8 tháng tôm đạt kích cỡ 150 – 180 g/con đối với tôm cái và 80 – 100g/con đối với tôm đực, tỷ lệ sống đạt 30%. Sức

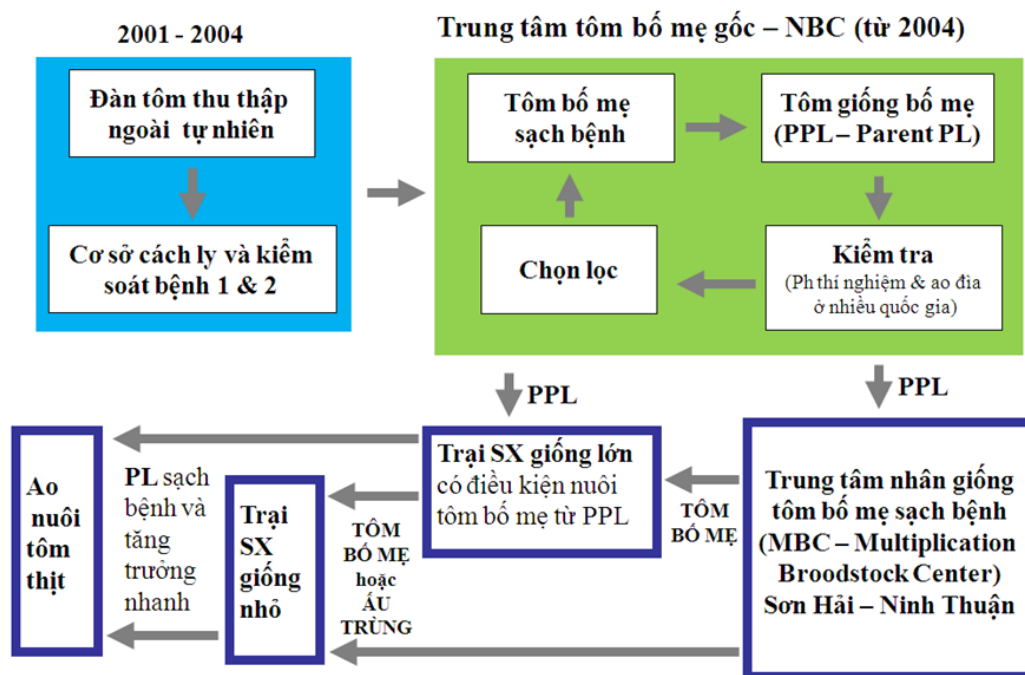
sinh sản đạt 300.000 trứng/tôm cái, tỷ lệ nở đạt 30% (Withyachumnarnkul và ctv., 1998). Tại Malaysia đã nuôi thành công 3 thế hệ tôm sú liên tiếp trong điều kiện nhân tạo nhưng tỷ lệ đẻ trứng của tôm cắt mắt chỉ là 26% và tỷ lệ nở là 7% (Subramaniam và ctv., 2006).

Kết quả nghiên cứu tại CSIRO từ những năm 1997 cho thấy quá trình gia hoá khép kín vòng đời tôm sú cũng bắt đầu bằng việc tuyển chọn tôm bố mẹ tự nhiên sạch một số bệnh virus nguy hiểm thường gặp (virus GAV - Gill Associated Virus là loài bản địa được xét nghiệm thay cho virus YHV) và cũng thông qua các quá trình nuôi sàng lọc sơ cấp và thứ cấp để sản xuất tôm 1g sạch bệnh. Quy trình gia hoá sau đó được thực hiện trong hệ thống tuần hoàn kín giá thể cát an toàn sinh học sử dụng nguồn tôm sạch bệnh 1g để nuôi đến cỡ lớn hơn 100g cho cắt mắt sinh sản với thời gian gia hoá kéo dài khoảng 10 - 12 tháng nuôi. Với hệ thống và kỹ thuật nuôi này hầu hết tôm thành thực sinh sản ở tháng tuổi 11 và cho sức sinh sản biến động từ 0 - 450.000 trứng, tỉ lệ đẻ đạt 77,1%, tỉ lệ nở của trứng đạt 31,6% (Coman và ctv., 2005).

Theo thông tin do công ty Moana cung cấp trong dự án “Khảo nghiệm chất lượng tôm sú (*Penaeus monodon*) bố mẹ và hậu ấu trùng (PL15) của công ty Moana” năm 2015, theo đó chương trình gia hóa tôm sú của Công ty Moana Hawaii – Mỹ đã chọn được 143 gia đình để sản xuất thành đàn “hậu ấu trùng bố mẹ” (Parent Post Larvae - PPL) trong trại khép kín gọi là “Trung tâm tôm bố mẹ gốc” (NBC) (2004-2005). Các gia đình PPL có thể được nuôi khép kín tại chỗ cho tới khi sinh sản để bổ sung tái tạo lại đàn tôm bố mẹ nguyên thủy.

Từ cuối năm 2005, đàn tôm bố mẹ này có đủ số lượng để không còn phụ thuộc vào tôm đánh bắt tự nhiên. Các PPL thuộc các gia đình đã được thử nghiệm lựa chọn có các đặc điểm di truyền tốt nhất (như tăng trưởng nhanh nhất) sẽ được chuyển đến các Trung tâm nhân giống tôm bố mẹ để nuôi vỗ thành tôm bố mẹ để sinh sản hậu ấu trùng (Post Larvae - PL) phục vụ nuôi thương phẩm.

Quy trình khép kín tổng quát tạo tôm sú bố mẹ gia hóa sạch bệnh và cải tiến di truyền tại Trung tâm tôm bố mẹ gốc ở Hawaii được tóm tắt ở Hình 1.1.



Hình 1. 1. Quy trình sản xuất tôm sú bố mẹ gia hóa và cải tiến di truyền tại công ty Moana - Hawaii

Ở Việt Nam, mặc dù nhiều chương trình nghiên cứu trong nước về tôm sú bố mẹ đã được công bố nhưng việc khép kín vòng đời tôm sú từ trứng đến tôm bố mẹ và tạo ra các thế hệ gia hóa ở điều kiện nuôi trong nhà lần đầu tiên đã thành công và bước đầu thương mại hóa quy mô nhỏ đó là chương trình “Gia hóa khép kín vòng đời và sản xuất tôm sú bố mẹ và tôm sú giống sạch bệnh” được triển khai tại Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy Sản II từ năm 2004 đến 2008. Chương trình thực hiện với sự hợp tác, tư vấn của CSIRO, Viện Hải Dương Hawaii (OI). Năm 2007 chương trình đã thành công trong việc khép kín vòng đời tôm sú bố mẹ trong bể nuôi tuần hoàn kín giá thể cát và sản xuất được sản lượng lớn tôm bố mẹ sạch bệnh và tôm sú giống gia hóa. Kết quả đã sản xuất hơn 300 cặp tôm bố mẹ sạch bệnh và 7 triệu tôm sú giống gia hóa (PL₁₅) được sản xuất trong năm 2008. Kết quả nuôi tăng trưởng, thành thực và sinh sản cho thấy pha nuôi tăng trưởng từ 1g đến 40g cho tỉ lệ sống khá cao, từ 81,56 - 84,33% với thời gian nuôi 4 tháng, pha nuôi tăng trưởng tôm từ 40g đến 80g đạt tỉ lệ sống 62,29 - 67,93% tương ứng thời gian nuôi 95 ngày. Nuôi thành thực tôm cái từ 80g đến trên 100g và tôm đực từ 60g đến trên 70g khoảng 2 - 3 tháng có thể tiến hành cắt mắt sinh sản. Kết quả cắt mắt sinh sản 45 tôm cái bước đầu cho thấy: tỉ lệ sống tôm mẹ sau cắt mắt đạt 95,55%, tỉ lệ tôm thành thực buồng trứng giai đoạn

IV đạt 97,67%, tỉ lệ tôm sinh sản đạt 88,09%, tỉ lệ đẻ bình quân/tôm mẹ đạt 3,56 lần, tỉ lệ nở của các lần đẻ đạt 95,54% (Hoa N.D và ctv., 2009).

Đây là những kết quả bước đầu đáng khích lệ. Tuy nhiên, với một chương trình chọn tạo giống phải sản xuất thành công một số lượng lớn gia đình (theo các yêu cầu về mặt phả hệ và giá trị chọn giống) trong một thời gian cho phép nhất định là một thách thức lớn cần được nghiên cứu cải thiện trong các nghiên cứu tiếp theo.

1.3. Ứng dụng chỉ thị microsatellite để đánh giá biến dị di truyền trong chọn giống các đối tượng trồng thủy sản

Sự thành công của chương trình chọn giống phụ thuộc rất nhiều vào biến dị di truyền của vật liệu ban đầu và hệ số di truyền của tính trạng được chọn lọc (Falconer và Mackay, 1996). Một số chương trình chọn giống trước đây không thành công có thể do mức độ biến dị thấp của vật liệu ban đầu (Teichert-Coddington và Smitherman, 1988; Huang và Liao, 1990). Mức độ biến dị của vật liệu ban đầu cho chọn giống có thể được nâng cao bằng cách thu thập các quần thể có nguồn gốc địa lý khác nhau để hình thành quần đàn ban đầu cho chọn lọc (Gjedrem và ctv., 1991). Nhiều loại chỉ thị phân tử đã được nghiên cứu và ứng dụng trong thực tiễn. ADN ty thể (mitochondrial ADN hoặc mt-ADN) là marker phân tử di truyền theo mẹ. Marker này có mức độ biến dị cao hơn marker trong nhân từ 5 - 10 lần nên rất hữu hiệu trong đánh giá sai khác di truyền giữa quần đàn phân bố gần nhau về địa lý hoặc những quần đàn mới phân hóa di truyền trong thời gian ngắn (Toro và ctv., 2009). AFLP là marker dễ sử dụng để phát hiện sự biến dị. Tuy nhiên, marker này không hữu hiệu trong đánh giá biến dị của các cá thể trong cùng quần đàn vì AFLP có kiểu di truyền tính trội, không thể phân biệt được giữa cá thể dị hợp tử và đồng hợp tử (Wuthisuthimethavee và ctv., 2003).

Microsatellite là marker phân tử được sử dụng nhiều nhất trong đánh giá đa dạng di truyền của các cá thể trong cùng quần đàn và giữa các quần đàn khác nhau (Liu và Cordes, 2004). Đa hình nucleotide đơn (SNP) là biến dị sai khác chỉ 1 nucleotide, do đó chỉ thị này có mức độ biến dị rất cao. Đặc biệt là người ta có thể phát hiện SNP ở các vùng gen mã hóa protein, biến dị ở các vùng này có thể ảnh hưởng đến các tính trạng quan tâm như tăng trưởng và kháng bệnh

(Wuthisuthimethavee và ctv., 2003). Các marker phân tử, chủ yếu là AFLP và microsatellite đã được sử dụng rộng rãi để đánh giá đa dạng di truyền giữa quần đàn tự nhiên và quần đàn gia hóa cho một số đối tượng thủy sản có giá trị kinh tế, bao gồm cá hồi (Skaala và ctv., 2004), cá chép (Kohlmann và ctv., 2005), rô phi (Romana-Eguia và ctv., 2004), và tôm biển (Moore và ctv., 1999; Xu và Thornalley, 2001; Cruz và ctv., 2004; Dixon và ctv., 2008). Người ta sử dụng những thông tin này để hình thành quần đàn gốc cho chương trình chọn giống hoặc kiểm soát các chương trình chọn giống giảm thiểu mức độ cận huyết (Cruz và ctv., 2004; Hayes và ctv., 2006).

Microsatellite có mức độ đa hình cao và kiểu di truyền đồng tính trội nên sử dụng rất hiệu quả trong đánh giá đa dạng di truyền của các cá thể trong cùng quần đàn và giữa các quần đàn khác nhau. Đa hình nucleotide đơn (SNP) là marker phân tử mới phát triển gần đây. Trong nuôi trồng thủy sản, microsatellite cho thấy là một chỉ thị với nhiều ứng dụng. Chìa khoá của chiến lược này là tránh mất đi sự đa dạng di truyền của quần đàn tự nhiên đồng thời không ngừng cải thiện giá trị di truyền của quần đàn gia hóa (Xu và ctv., 1999).

Chỉ thị microsatellite (microsatellite marker) hay chuỗi lặp lại đơn giản (SSRs) được phát hiện năm 1981, là chuỗi mã di truyền lặp lại rất đơn giản được phân bố ngẫu nhiên trong hầu hết hệ gen trên tất cả các nhiễm sắc thể, có kích thước từ 1- 6 cặp base (Liu và Cordes, 2004). Đặc biệt, các marker này xuất hiện trong vùng mã hóa và cả vùng không mã hóa của gen. Marker này rất phong phú trong tất cả các loài nghiên cứu từ trước cho đến nay, ở cá, microsatellite được ước đoán xuất hiện mỗi 10kb 1 lần. Vị trí của microsatellite trên nhiễm sắc thể có thể được xác định bằng PCR từ một lượng ADN rất nhỏ.

Những tính chất đặc biệt của microsatellite như đột biến điểm dẫn đến những giả thiết cho rằng microsatellite có thể là một nguồn chủ yếu tạo nên đa dạng về di truyền số lượng và quá trình tiến hóa thích nghi. Do vậy microsatellite là một nguồn rất quan trọng trong việc nghiên cứu đa dạng di truyền và làm cơ sở cho sự thay đổi của tiến hóa (Liu và ctv., 2004).

Với đặc tính đa hình cao và phân bố rộng rãi trong hệ gen, đồng thời di truyền theo định luật Mendel và đồng tính trội nên microsatellite hoàn toàn thích

hợp cho đánh giá đa dạng di truyền. Cụ thể, microsatellite giúp kiểm soát cấu trúc di truyền của đàn bố mẹ để có cái nhìn bao quát và đưa ra những chiến lược hiệu quả trong chương trình chọn giống. Chúng cho phép phân tích giá trị di truyền và cấu trúc phả hệ để thiết kế các phép lai theo hướng có lợi, chọn lựa những bố mẹ có tính trạng tốt, giảm thiểu sự cận huyết và tăng hiệu quả chọn giống. Việc phát triển các marker này cũng đã được quan tâm trong những năm gần đây và đã được công bố trên một số loài cá và một số loài động vật không xương sống như cá hồi Đại Tây Dương (*Salmo salar*), cá Tuyết (*Gadus morhua*), một số cá thuộc họ cá mú (*Serranidae*), loài hai mảnh vỏ và các loài giáp xác (Pongsomboon và ctv., 2000). Đối với một số loài tôm có giá trị kinh tế quan trọng như tôm thẻ chân trắng (*Litopenaeus vannamei*), tôm he Nhật Bản (*Penaeus japonicus*) và tôm sú (*Penaeus monodon*), microsatellite của chúng đã được nghiên cứu và phát triển (Pongsomboon và ctv., 2000). Xu và ctv (1999) đã phát triển thành công 10 microsatellite với kích thước allele khuếch đại nằm trong khoảng từ 139 đến 410bp. Tất cả những primer đa hình này có giá trị thông tin đa hình (PIC) nằm trong dãy từ 0,63 đến 0,96. Tác giả cũng kết luận rằng microsatellite trên tôm sú phong phú về số lượng và đa dạng về thông tin đồng thời có tiềm năng rất lớn để nghiên cứu về các dòng lai chéo, điều này rất hữu ích cho việc nghiên cứu di truyền quần thể (Xu và ctv., 1999).

Cũng với kết quả tương tự, Wuthisuthimethavee và ctv (2003) đã phát triển được 30 microsatellite và tiến hành sàng lọc trên phôi của tôm sú tự nhiên, giá trị PIC đạt trong khoảng từ 0,4275 đến 0,9264. Từ kết quả này, một lần nữa chúng minh microsatellite là công cụ hữu dụng trong các nghiên cứu thuộc chương trình di truyền chọn giống. Không dừng lại đó, Pan và ctv (2004) đã phát triển 23 marker microsatellite đa hình cho nghiên cứu về đa dạng di truyền và phân tích cấu trúc quần đàn tôm sú. Những microsatellite này hoàn toàn không trùng lặp với những marker được phát triển trước đó. Theo tác giả, những marker trong nghiên cứu này phục vụ cho các mục đích: (i) đánh giá sự đa dạng di truyền của quần thể tôm sú ở tự nhiên; (ii) xác định giá trị di truyền của quần đàn gia hóa; (iii) đánh dấu những cá thể tôm được bổ sung vào quần đàn gia hóa nhằm mục đích kiểm soát; (iv) tăng số lượng marker có giá trị cho mục đích lập bản đồ gen (Pan và ctv., 2004).

Tuy nhiên, những marker được phát triển ở trên chỉ cho mục đích giải thích cấu trúc di truyền quần thể trong cùng một quần đàn. Phần lớn chúng không được đánh giá về khả năng thích hợp cho việc đánh giá các quần đàn lai chéo. Do đó, Li và ctv (2007) đã phát triển một số microsatellite trên tôm sú cho mục đích: (i) đánh giá một cách hiệu quả giá trị di truyền của đàn bố mẹ được sử dụng như quần thể ban đầu của chương trình chọn giống; (ii) tìm dấu vết để truy xuất bố mẹ với kiểu hình mong muốn và phá hệ phục vụ cho chương trình chọn giống đồng thời kiểm soát sự cận huyết. Trong nghiên cứu này đã phát triển và sử dụng 19 microsatellite marker đa hình cao để đánh giá sự đa dạng di truyền giữa hai quần thể tôm sú (*Penaeus monodon*), một có nguồn gốc ở Bờ Đông Úc và một ở trong ao nuôi tôm Thái Lan. Kết quả cho thấy khác biệt có ý nghĩa về di truyền giữa hai quần thể tôm nghiên cứu (Li và ctv., 2007)

Ngoài ra, Nahavandi (2013) đã sử dụng 06 microsatellite để đánh giá đa dạng di truyền của tôm sú nuôi gia hóa và tôm sú tự nhiên (*Penaeus monodon*) ở Malaysia. Kết quả cho thấy, đàn bố mẹ gia hóa có giá trị biến dị di truyền thấp hơn đàn bố mẹ tự nhiên. Tuy nhiên, giá trị dị hợp tử quan sát thấp hơn giá trị mong đợi cho thấy rằng cần tiến hành lai chéo giữa hai quần đàn để giảm thiểu nguy cơ cận huyết có thể xuất hiện sau vài thế hệ chọn lọc.

Do đó, theo tác giả, microsatellite là công cụ hữu ích cho việc xác định chiến lược quản lý di truyền quần thể tôm sú tại Malaysia. Bên cạnh đó, microsatellite được phân lập từ tôm thẻ chân trắng (*Litopenaeus vannamei*) cũng đã được sử dụng thành công trong việc phân tích đa dạng di truyền của quần đàn tự nhiên và gia hóa (Xu và ctv., 1999).

1.4. Ứng dụng các phương pháp hiện đại (MAS – Marker Assisted Selection; GWS – Genome Wide Selection) trong chọn giống

Chọn giống dựa trên chỉ thị phân tử liên kết với tính trạng quan tâm gọi tắt là MAS (marker-assisted selection) là một quy trình sử dụng chỉ thị phân tử để chọn lọc gián tiếp của một hoặc nhiều yếu tố quyết định di truyền một tính trạng quan trọng, đây là phương pháp được thế giới ủng hộ mạnh mẽ bởi vì kỹ thuật này đã rút ngắn được thời gian lai tạo giống và có thể cho kết quả sau ba thế hệ chọn lọc. MAS cho phép lựa chọn kiểu gen không bị ảnh hưởng bởi các yếu tố môi trường. MAS cũng

làm tăng hiệu quả của các lựa chọn vì nó có thể được sử dụng trong giai đoạn cây giống, nó cũng phân biệt các đồng hợp tử với dị hợp tử, lựa chọn cho một số đặc tính cùng lúc (Tanksley và Nelson, 1996).

Chọn lọc dựa trên việc tầm soát toàn bộ bộ gen (GWS-Genomic Wide Selection) thực chất sự ảnh hưởng khác nhau của các kiểu gen (cùng một gen) lên tính trạng quan tâm. Phương pháp này cho phép xác định tất cả các SNP (Single Nucleotide Polymorphism) có liên quan đến tính trạng quan tâm, trên toàn bộ bộ gen. Tuy nhiên, phương pháp này đòi hỏi đầu tư cao và chưa được ứng dụng phổ biến. Theo Meuwissen và ctv., 2001, cách tiếp cận GWS, nếu một chỉ thị mất cân bằng liên kết với locus quy định tính trạng số lượng (QTL - quantitative trait locus), một số alen của chỉ thị tương quan với các tác động tích cực của QTL trong tất cả các gia đình và do đó có thể được sử dụng mà không cần sự cần thiết phải thiết lập giai đoạn liên kết trong mỗi gia đình. Ngoài ra, dữ liệu kết hợp kiểu gen và kiểu hình có thể được sử dụng để ước tính giá trị di truyền hoặc dự đoán các giá trị kiểu hình của đặc điểm quan tâm. Chọn lọc dựa trên việc tầm soát toàn bộ bộ gen đã được nghiên cứu rộng rãi và phát triển ứng dụng trong chăn nuôi (Solberg và ctv., 2008. Trong nuôi trồng thủy sản, một đánh giá gần đây về MAS trong các chương trình chọn giống cá, Sonesson (2003) cho rằng, MAS sẽ có giá trị đối với các tính trạng khó có thể ghi lại, quan sát như kháng bệnh, chất lượng phi lê, hiệu quả thức ăn và thành thực.

CHƯƠNG II: PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng, thời gian, địa điểm và phạm vi nghiên cứu

2.1.1. Đối tượng nghiên cứu

Đối tượng nghiên cứu là tôm sú (*Penaeus monodon* Fabricius, 1798).

2.1.2. Thời gian nghiên cứu

Thời gian thực hiện nghiên cứu từ năm 2013 đến 2018, trong đó thời gian thu mẫu phân tích số liệu được thực hiện từ năm 2012 đến 2015.

2.1.3. Địa điểm nghiên cứu

- Trung tâm Quốc gia giống Hải sản Nam Bộ - Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản II. Thực hiện các nội dung chủ yếu của luận án.

- Trung tâm Quốc gia giống Hải sản miền Trung – Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản III. Thực hiện nội dung đánh giá tương tác kiểu gen – môi trường.

- Trại Nghiên cứu Thực nghiệm Bạc Liêu – Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản II. Thực hiện nội dung đánh giá tương tác kiểu gen – môi trường (G x E).

- Doanh nghiệp tư nhân Đăng Lâm (Vũng Tàu). Thực hiện nội dung đánh giá tương tác kiểu gen – môi trường (G x E).

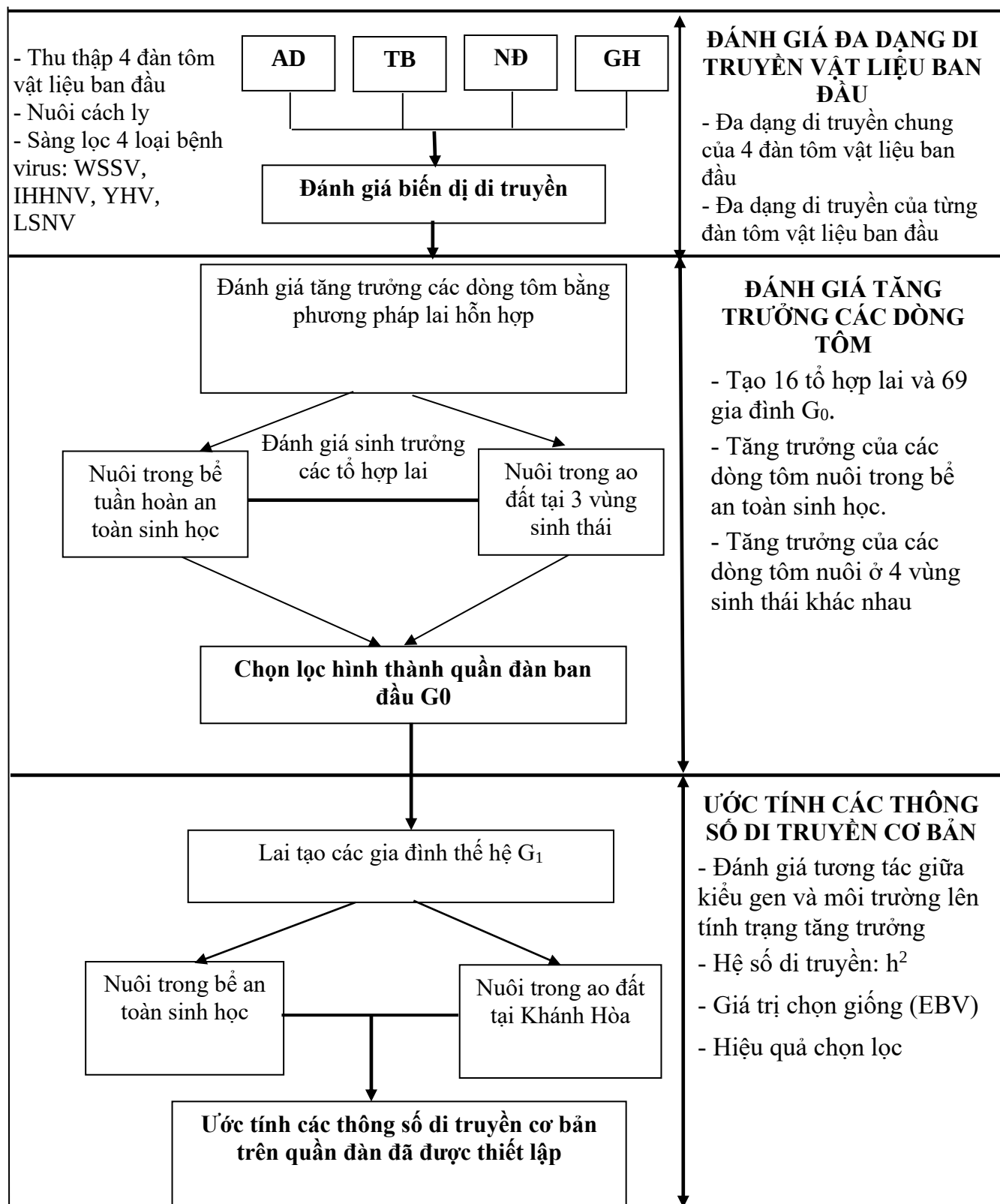
- Phòng Sinh học Thực nghiệm - Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản II. Thực hiện nội dung đánh giá biến dị di truyền bằng microsatellite.

- Trung tâm Quan trắc môi trường và dịch bệnh Thủy sản Nam Bộ - Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản II. Thực hiện nội dung xét nghiệm sàng lọc các tác nhân gây bệnh virus thường gặp.

2.1.4. Phạm vi nghiên cứu

Nghiên cứu được giới hạn trong nguồn vật liệu thu thập từ các vùng biển qua các nhà cung cấp. Các nghiên cứu được triển khai ở khu vực Nam Trung Bộ và Đồng bằng sông Cửu long. Việc nghiên cứu đa dạng di truyền giới hạn trong việc sử dụng công cụ microsatellite và các thông số di truyền được ước tính trong hai thế hệ G_0 và G_1 . Sơ đồ khối nội dung nghiên cứu được mô tả cụ thể như sau:

SƠ ĐỒ KHỞI NỘI DUNG NGHIÊN CỨU



2.2. Vật liệu nghiên cứu

Vật liệu nghiên cứu được chọn lựa dựa trên các tiêu chí cơ bản cho việc hình thành quần đàn ban đầu của một chương trình chọn giống là đa dạng về nguồn gốc địa lý. Do đó, tôm bố mẹ được thu thập từ nhiều nguồn khác nhau gồm: Tôm tự nhiên Thái Bình Dương được nhập từ Singapore trong hai năm 2013 và 2014 với số lượng tổng cộng là 144 con (86 tôm cái và 58 tôm đực). Tôm tự nhiên Ấn Độ Dương được nhập từ Thái Lan ở vùng biển Amanda (năm 2013) và từ Myanmar (năm 2014) với số lượng tổng cộng 147 con (76 con cái và 71 con đực), tôm tự nhiên từ vùng biển Rạch Gốc - Cà Mau (Việt Nam) được gọi là tôm Nội địa được thu thập trong các năm 2013 và 2014 với tổng số là 422 con (236 con cái, 186 con đực) và tôm Gia hóa với tổng số 123 con (62 cái và 61 đực), đây là dòng tôm đã qua chọn lọc được thương mại hóa dùng làm tôm bố mẹ sản xuất tôm giống phục vụ cho nuôi thương phẩm.

- Tổng số 69 gia đình tôm sú từ 16 tổ hợp lai và 76 gia đình thế hệ G_1 được phối ghép từ 69 gia đình G_0 .

Thông tin nguồn gốc bốn dòng tôm sú bố mẹ thu thập được trình bày trong Bảng 2.1

Bảng 2. 1 Số lượng, địa điểm thu thập bốn dòng tôm sú bố mẹ ban đầu

Dòng tôm	Địa điểm thu thập	Số tôm nhập về (con)		Thời gian thu thập
		Cái	Đực	
Ấn Độ Dương (A)	Vùng biển Amanda (Thái Lan) và Myanmar	76	71	2013/2014
Gia hóa (G)	Công ty Moana - Việt Nam	62	61	2013/2014
Nội địa (N)	Cà Mau - Việt Nam	236	186	2013/2014
Thái Bình Dương (T)	Vùng biển Singapore	86	58	2013/2014
Tổng		460	376	

Tôm cái có khối lượng trung bình 177 g/con và tôm đực có khối lượng trung bình 102 g/con.

Bốn dòng tôm thu thập trong tình trạng thành thực tốt được nuôi cách ly, sàng lọc bệnh và nuôi vỗ tích cực phục vụ việc cắt mắt và ghép cặp trong điều kiện an toàn sinh học tại Trung tâm Quốc gia giống Hải sản Nam Bộ - Vũng Tàu, phục vụ sản xuất các gia đình chọn giống thế hệ G_0 và G_1 .

2.2.1. Vật liệu nghiên cứu cho đánh giá biến dị di truyền bằng microsatellite

2.2.1.1. Vật liệu sinh học

Mẫu chân bơi được thu ngẫu nhiên từ bốn dòng tôm sú bố mẹ với tổng số mẫu phân tích là 137 mẫu (Bảng 2.2) được bảo quản trong cồn 70⁰.

Bảng 2. 2 Số lượng mẫu của bốn dòng tôm sú bố mẹ

Dòng tôm	Kí hiệu	Số lượng (mẫu)	Tôm đực (mẫu)	Tôm cái (mẫu)
Ấn Độ Dương	A	30	9	21
Thái Bình Dương	T	31	8	23
Gia hóa	G	36	17	19
Nội địa	N	40	16	24
Tổng cộng		137	50	87

2.2.1.2. Dụng cụ

Kéo, đèn cồn, panh, giấy thấm, pipettmen các loại có thể tích 0,5-1000 μ l, đầu tip các loại (10 μ l, 100 μ l, 1000 μ l), eppendorff (0,2 ml, 0,5 ml, 1,5 ml), QX 0,2ml 12-tube strip (80), QX 0,2ml 12-tube strip caps (80), QX color 0,2ml 12-tube strip (80), tủ cấy vô trùng (Laminar Box), tủ lạnh (Liebherr), máy ly tâm, máy đo OD, bồn ổn nhiệt, máy PCR, máy vortex, bồn điện di, gel Doc, máy điện di mao quản (QiAgen).

2.2.1.3. Hóa chất sử dụng

- *Môi sử dụng cho nghiên cứu*

Môi sử dụng cho nghiên cứu là của hãng Sigma, trình tự 29 cặp môi microsatellite được liệt kê trong Bảng 2.3.

Bảng 2. 3 Trình tự 29 cặp mỗi microsatellite sử dụng

STT	Mỗi	Kí hiệu	Trình tự mỗi 5' - 3'	Nhiệt độ bắt cặp Ta (°C)	Kích thước sản phẩm PCR (bp)	Nguồn tài liệu
1	DTLPM103 F DTLPM103 R	W1	TGTTCCCCTCACTGTGTCCTAC AGCGCCTGTAGAGTAGAG	53,8	400-500	Wuthi và ctv., 2003
2	DTLPM109 F DTLPM109 R	W2	TTTAAGGACTTTCGCAATGG CGCATTCCAAGTCTCATAG	53,8	249-427	Wuthi và ctv., 2003
3	DTLPM110 F DTLPM110 R	W3	AGTCACCAAGGAATCGGAGT TAAATCGTCGGCAAATGTCA	53,8	450-750	Wuthi và ctv., 2003
4	DTLPM136 F DTLPM136 R	W4	GACTAGCCTGGGCAATCCTG GGTCTTGGGTGAATCGAGA	54,9	450-550	Wuthi và ctv., 2003
5	DTLPM402 F DTLPM402 R	W5	CCACTCTAACTCCGCCAGTC TCCCTACCCCACTATCATCG	54,9	500-750	Wuthi và ctv., 2003
6	DTLPM313 F DTLPM313 R	W6	TGGGAAATTATGTAAGGGCTGT ATTCTCCACACGACTTACTGC	54,9	300-700	Wuthi và ctv., 2003
7	DTLPm101 F DTLPm101 R	W7	GGTCTTGCTTCCCTAACCTGTCC ATTCTCTTCATCTTTCCGAGTCTGC	54,9	500-600	Wuthi và ctv., 2003
8	DTLPm120 F DTLPm120 R	W8	TTATCCGTATAGCCGCGTTATC TTACAGGACCTGCATTTGTGTC	54,9	400-500	Wuthi và ctv., 2003
9	DTLPm217 F DTLPm217 R	W9	TCTATTGTCTGCCAGTTTGTCC TAGCACGGGATTTATGAAGTGA	56,4	200-300	Wuthi và ctv., 2003
10	DTLPm308 F DTLPm308 R	W10	ACTCGCGTTTACTTTCCTTCG CGAGAATCACGAAGAAGATGC	54,9	300-500	Wuthi và ctv., 2003
11	AY500855 F AY500855 R	P1	GTGTTATTTTCCACGGGTGC GCTGCAGGAAGTGTAGGGAG	57,4	250-350	Pan và ctv., 2004
12	AY500858 F AY500858 R	P2	GTTGCGACGGGTGATTC TTTATGGCTATGGCTGACAC	57,4	300-500	Pan và ctv., 2004
13	AY500860 F AY500860 R	P3	GATATTTCAAGGAATGCTCG TAATTCGTGCCTTACCTCAT	53,8	100-300	Pan và ctv., 2004
14	AY500862 F AY500862 R	P4	TAATGGGCGTAAGTCTTCGG TGAAAGGAGTCGGGATATGC	56,4	200-400	Pan và ctv., 2004
15	AY500866 F AY500866 R	P5	CTTTTGAATCGCCCTGTT CATTCATCCCGCTCTTCTGT	56,4	250-400	Pan và ctv., 2004
16	AY500869 F AY500869 R	P6	GCTTGCGTGTGTGCATACTT GTTCCCCTCGTGTTTACGAA	53,8	300-450	Pan và ctv., 2004
17	AY500875 F AY500875 R	P7	AAAAGCCAGAGGAAACGTG ACAGTGACGTACCCACAAA	49,5	150-250	Pan và ctv., 2004
18	AY500856 F AY500856 R	P8	AACTGCCTACAGTGTGTGCG GAATGGAGCCTGTTGGTTTG	“–”	KSP	Pan và ctv., 2004
19	PMMS2D2 F PMMS2D2 R	L1	TGCAGCTTCACACACCCATACACG TATGACAGGCAGTTGCGCCAGGTA	61,2	300-400	Li và ctv., 2007

20	PMMS4CA F PMMS4CA R	L2	CAGGTGTTGGGCTGTATGTG GTAGAGACAAGAAGTCGGGTAA TTTCACCAA	54,9	200-300	Li và ctv., 2007
21	PMMS7HG F PMMS7HG R	L3	GAAGGAGAAGGAGGAGGATTACA AGGA TCGGGCGGAGAATATGCAAATTAA A	61,2	300-400	Li và ctv., 2007
22	PMMS8A2 F PMMS8A2 R	L4	GTCTGTCCATCCTTCCGTCTGACC TGGGAGTAAACAAAGCGTTTGAG ATTG	61,2	300-400	Li và ctv., 2007
23	PMMS16 F PMMS16 R	L5	TGGGCAGCGTGTGTGTAT TGGGCAGCGTGTGTGTAT	56,4	600-700	Li và ctv., 2007
24	PMMS6 F PMMS6 R	L6	CTACTGCTGCTGCTACTGCTG CACTGCAAGATTAAGGTGAG AAA	56,4	200-300	Li và ctv., 2007
25	CSCUPmo3 F CSCUPmo3 R	N1	TGCGTGATTCCGTGCATG AGACCTCCGCATACATAC	57,4	180-300	Nahavandi và ctv., 2011
26	CSCUPmo6 F CSCUPmo6 R	N2	TAGTGTTACTCAGGTGCAGC GCGTGTATTTGTGATTTCAC	57,4	100-200	Nahavandi và ctv., 2011
27	TUZXpM2.41 F TUZXpM2.41 R	X1	AAGGCAGATTTTCTAGCC ATCAAGGGAGACATTCAG	“-”	KSP	Xu và ctv., 1999
28	TUZXpM4.82 F TUZXpM4.82 R	X2	ATTCATCAGCTAGCCTTG CGTTTACTGCATTCACTACC	“-”	KSP	Xu và ctv., 1999
29	TUZXpM4.45 F TUZXpM4.45 R	X3	ATCTCTACCAACCTGTCAGC TTAGTGAACCCCTTCGTG	“-”	KSP	Xu và ctv., 1999

Ghi chú: Ký hiệu các môi microsatellite được sử dụng chữ viết tắt tên tác giả bài báo tham khảo. KSP: Không sản phẩm.

- *Hóa chất tách chiết:* Dung dịch 1 (NaCl 0,4M; Tris HCl 10 mM (pH 8,0)). EDTA 2mM (pH 8,0); SDS 20%; Protein K 20mg/ml; NaCl 6M; Ethanol.

- *Hóa chất cho PCR:* Enzyme MyTaq™ DNA Polymerase, My Taq Reaction Buffer 5X (KCl, Tris-HCL), dNTPs, MgCl₂.

- *Hóa chất điện di trên gel Agarose:* Agarose M (Bio Basic, Canada), dung dịch Ethidium bromide (EtBr)10mg/ml, dung dịch nạp mẫu Bromophenol 6X, TBE 0,5X (Tris-Acid Boric-EDTA).

- *Hóa chất điện di mao quản (hãng Qiagen cung cấp):* QIAxcel Screening Kit (2400), QX DNA size marker 50-800bp v2.0, QX Alignment Marker 15 bp/1kb, QX DNA Dilution Buffer (15ml), QX Separation Buffer (40ml), QX Wash Buffer (40ml).

- *Thang ADN chuẩn* (100bp ADN ladder – Promega) được sử dụng để ước chừng

kích thước sản phẩm khuếch đại phục vụ cho việc xác định alen.

- *Thang QX ADN size marker 50-800bp*

Hệ thống điện di mao quản sử dụng gel cartridge QIAxcel ADN Screening Kit (2400) để phân tách nhanh acid nucleic dựa trên kích thước của chúng.

2.2.2. Vật liệu nghiên cứu cho đánh giá dòng bằng phép lai hỗn hợp và ước tính một số thông số di truyền cơ bản

Nguồn gốc tôm bố mẹ được trình bày ở Bảng 2.1. Tôm bố mẹ có kích cỡ khối lượng trên 100 g, khỏe mạnh, ngoại hình màu sắc sáng đẹp tự nhiên, phụ bộ đầy đủ, thân và mang sạch, thelycum không bị dị tật. Tôm bố mẹ được nuôi cách ly và sàng lọc sạch với các mầm bệnh virus nguy hiểm thường gặp (WSSV, IHHNV, YHV, LSNV). Ngoài những tiêu chuẩn chung trên, với tôm đực cần có túi tinh tốt và tôm cái có đường trứng sẵn. Những tôm bố mẹ có dấu hiệu bị nhiễm khuẩn, đỏ thân, phụ bộ bị ăn mòn, thelycum dị tật, bị đốm đen hay trắng, tôm yếu, v.v... đều bị loại bỏ.

- Tổng số 69 gia đình tôm từ 16 tổ hợp lai phục vụ cho việc hình thành thế hệ G_0 với số lượng 200 con/gia đình, kích cỡ trung bình 2g/con tạo ra từ bốn quần dòng tôm vật liệu ban đầu có nguồn gốc khác nhau được đánh dấu bằng phẩm màu phát xạ huỳnh quang và được thả nuôi tăng trưởng trong bể tuần hoàn kín an toàn sinh học và ao đất ở các vùng địa lý khác nhau phục vụ đánh giá tăng trưởng làm cơ sở hình thành vật liệu ban đầu cho chương trình chọn giống.

- Tổng số 76 gia đình tôm thế hệ thứ nhất (G_1) với 7.412 tôm kích cỡ từ 2 - 3g/con được đánh dấu thả nuôi tăng trưởng trong ao đất tại Khánh Hòa và bể an toàn sinh học tại Vũng Tàu phục vụ tính toán các thông số di truyền cơ bản.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Phương pháp đánh giá biến dị di truyền bằng microsatellite

2.3.1.1. Phương pháp tách chiết ADN tổng số

Tách chiết ADN từ chân bơi của 137 mẫu tôm sú thu ngẫu nhiên từ các dòng tôm bố mẹ thu thập từ các vùng địa lý khác nhau. Quy trình tách chiết ADN của chân bơi tôm sú như sau: Cắt một chân bơi tôm sú bỏ vào eppendorf 1,5ml, thêm 500µl solution 1, thêm 5 µl protein K (20mg/ml) lạnh sau đó lắc kỹ. Ủ ở

55⁰C trong 2 giờ hoặc ở 37⁰C qua đêm, giữ lạnh 10 phút. Thêm 250 µl solution 2 (NaCl bão hòa) lắc kỹ nhiều lần và giữ lạnh trong 5 phút. Ly tâm 8.000 vòng /15phút, sau đó cẩn thận hút 500µl dịch nổi vào eppendof 1,5ml mới. Thêm vào 1000µl ethanol 100% lạnh (gấp đôi thể tích dịch có trong eppendof), giữ lạnh ở -4⁰C trong 2 giờ hoặc qua đêm. Ly tâm 11.000 vòng/5phút, bỏ dịch nổi và thêm 500µl ethanol 70% lạnh sau đó tiến hành ly tâm 11.000 vòng/5 phút. Bỏ dịch nổi và làm khô ở 55⁰C hoặc để qua đêm ở nhiệt độ phòng. Thêm 50 µl -200 µl dung dịch H₂O vào eppendof để hòa tan kết tủa ADN, sau đó giữ trong điều kiện lạnh.

Kiểm tra ADN tổng số bằng điện di trên gel agarose 1% (1g agarose + 100ml dung dịch đệm SB 1X).

- Đo hàm lượng ADN

Dung dịch chứa ADN tổng số được đo quang phổ ở bước sóng 260 nm. Giá trị mật độ quang ở bước sóng 260 nm (OD_{260 nm} – Optical Density) của các mẫu ADN cho phép xác định nồng độ ADN trong dung dịch. Mỗi đơn vị OD ở bước sóng 260 nm kí hiệu là A_{260 nm}.

Khi đó, công thức chung tính nồng độ ADN tổng số:

$$C_{ADN} \text{ (ng/}\mu\text{l)} = A_{260 \text{ nm}} \times 50 \times \text{độ pha loãng}$$

Trong đó:

C_{ADN}: nồng độ ADN tổng số (ng/µl)

A_{260 nm}: mật độ quang ở bước sóng 260 nm

2.3.1.2. Khuếch đại microsatellite bằng PCR

Mười lăm chỉ thị microsatellite có đa hình cao đã được kiểm tra và lựa chọn sau khi đánh giá tổng số 29 chỉ thị microsatellite đã công bố cho tôm sú (*P. monodon*) (Li và ctv., 2007); P (Pan và ctv., 2004); W (Wuthi và ctv., 2003) và X (Xu và ctv., 1999). Mười lăm chỉ thị được lựa chọn có kết quả sản phẩm PCR ổn định, đa hình cao và ghi nhận được các allele rõ ràng: W2, W3, W4, W9, W10, P1, P2, P4, P5, P7, L1, L3, L4, N1, N2. Các vị trí microsatellite được khuếch đại bằng bộ KIT Qiagen Multiplex PCR Plus (Qiagen company, USA).

Thành phần cho một phản ứng PCR 20 µl gồm:

Thành phần	Thể tích sử dụng	Nồng độ đầu	Nồng độ cuối
Buffer 10X	2,5 µl	10X	1,25X
dNTP	1 µl	10mM	0,5mM
Mồi xuôi	1 µl	10mM	0,5mM
Mồi ngược	1 µl	10mM	0,5mM
Tag	0,25 µl	4u/ µl	1u
MgCl ₂ (µl)	1,5µl	25mM	1,875mM
DNA mẫu	1,5 µl	80 ng	
H ₂ O	11,25 µl		

Chu trình nhiệt cho phản ứng PCR: Biến tính ở 95⁰C trong 4 phút; 32 chu kỳ gồm biến tính trong 30 giây ở 95⁰C, gắn mồi (Bảng 2.4) trong 30 giây và kéo dài chuỗi ở 72⁰C trong 30 giây; hoàn thiện chuỗi ở 72⁰C trong 5 phút. Sản phẩm PCR được kiểm tra trên gel agarose 1%, điện di trong 90 phút, 120 V.

Bảng 2. 4 Nhiệt độ bắt cặp (Ta) thích hợp cho 15 cặp mồi microsatellite.

TT	Cặp mồi microsatellite	Nhiệt độ bắt cặp (°C)	TT	Cặp mồi microsatellite	Nhiệt độ bắt cặp (°C)
1	W2	53	9	P5	49,4
2	W3	53	10	P7	49,4
3	W4	53	11	L1	61,2
4	W9	53	12	L3	61,2
5	W10	53	13	L4	61,2
6	P1	57,4	14	N1	57,4
7	P2	57,4	15	N2	57,4
8	P4	55,8			

2.3.1.3. Phương pháp điện di kiểm tra sản phẩm PCR

Sản phẩm ADN tách chiết và khuếch đại sau khi PCR được điện di kiểm tra lần lượt trên gel agarose 1% và 2%. Trong bước điện di này, sử dụng dung dịch đệm SB (Sodium, Boric acid) và dung dịch Ethidium bromide được bổ sung trực tiếp vào gel agarose trước khi thực hiện đổ gel vào khuôn điện di. Sau đó, mẫu được nạp và điện di trong dung dịch SB 1X với hiệu điện thế 120V, 60mA. Sản phẩm ADN, PCR phân tách được soi, kiểm tra và chụp ảnh dưới ánh sáng UV.

2.3.1.4 Phân tích allele

Sau khi có sản phẩm PCR, các mẫu được chạy theo phần mềm phân tích đoạn trên máy GenomeLab GeXP. Sản phẩm PCR được pha loãng theo tỷ lệ 1µl sản phẩm PCR pha loãng với 3µl nước tinh khiết. Chuẩn bị dung dịch hỗn hợp bao gồm: 240µl SLS (Solution Loading Sample) và 2µl SS (Size Standard 600), trộn đều. Sau đó cho 29µl dung dịch hỗn hợp vào mỗi giếng trên đĩa mẫu. Thêm 1µl sản phẩm PCR đã được pha loãng vào mỗi giếng, trộn đều. Thêm 1 giọt dầu lên trên mỗi giếng chứa mẫu. Mẫu sau khi chuẩn bị xong được đưa vào máy GenomeLab GeXP chạy theo phần mềm GenomeLab System và Genemarker V.2.2.0.

2.3.2. Phương pháp đánh giá tăng trưởng các dòng tôm bằng phương pháp lai hỗn hợp

2.3.2.1. Phương pháp đảm bảo an toàn sinh học (Chi tiết tại phụ lục 7)

2.3.2.2. Phương pháp sàng lọc bệnh tôm bố mẹ đầu vào và các giai đoạn phát triển chính trong vòng đời tôm sú (Chi tiết tại phụ lục 8)

2.3.2.3. Phương pháp phân tích chất lượng nước

Môi trường nước nuôi giai đoạn thành thực, ương từ nauplius lên hậu ấu trùng 15, ương từ hậu ấu trùng 15 lên tôm kích cỡ đánh dấu và nuôi từ kích cỡ đánh dấu đến kích cỡ bố mẹ được theo dõi hàng ngày và định kỳ để kịp thời xử lý. Các chỉ tiêu theo dõi hàng ngày: nhiệt độ, pH, ôxy hoà tan, độ mặn. Số liệu được đo và ghi chép ngay tại các bể nuôi hàng ngày. Các chỉ tiêu theo dõi hàng tuần: độ kiềm, NH₃-N, NO₂⁻-N, NO₃⁻-N. Thu mẫu để phân tích bằng Bathometer, rồi chuyển về phòng phân tích mẫu môi trường của Trung tâm Quốc gia giống Hải sản nam Bộ. Phương pháp phân tích các chỉ tiêu môi trường nước được trình bày ở Bảng 2.5.

Bảng 2. 5 Phương pháp phân tích mẫu môi trường

TT	Chỉ tiêu	Phương pháp
1	Nhiệt độ (°C)	Đo tại chỗ bằng nhiệt kế thủy ngân
2	pH	Đo tại chỗ bằng pH kế
3	Oxy hoà tan (mg/L)	Đo tại chỗ bằng điện cực YSI
4	Độ mặn (‰)	Đo tại chỗ bằng khúc xạ kế
5	Độ kiềm (mg/L)	Phương pháp chuẩn đánh giá nước và nước thải-SMEWW 2320 – B
6	NH ₃ -N (mg/L)	SMEWW 4500 NH ₃ – F
7	NO ₂ ⁻ -N (mg/L)	SMEWW NO ₂ ⁻ -B
8	NO ₃ ⁻ -N (mg/L)	SMEWW NO ₃ ⁻ -E

2.3.2.4. Phương pháp nuôi thành thực, cho sinh sản tôm bố mẹ và ương nuôi ấu trùng

- *Địa điểm thực hiện:* Trung tâm Quốc gia giống Hải sản Nam Bộ - Thành phố Vũng Tàu.

- *Phương pháp nuôi vỗ thành thực*

Tôm bố mẹ được nuôi riêng theo các dòng, trong cùng một dòng tách nuôi riêng cá thể đực và cái trong từng bể an toàn sinh học khác nhau để có chế độ chăm sóc phù hợp. Tôm nuôi trong các bể tuần hoàn kín, giá thể cát với thể tích từ 60 - 70 m³ với số lượng 30 con/bể. Bể nuôi tôm bố mẹ được phủ kín bằng bạt màu tối. Nước biển được lọc qua cát mịn, khử trùng bằng chlorine 30 ppm sau đó được trung hòa bằng thiosulphat trước khi cấp cho các hệ thống nuôi. Ở khu cách ly thứ cấp tôm cái được đeo dấu mắt có mã số riêng cho từng cá thể và cột dây ở đuôi nhằm theo dõi sự lột xác để kịp thời cấy tinh cho tôm cái ngay sau khi mới lột. Tôm đực cũng được đeo dấu mắt có mã số riêng để phân biệt các dòng, cá thể. Thức ăn cho tôm bố mẹ bao gồm mực, hàu, trùn biển, gan bò với khẩu phần cho ăn từ 15 – 20% trọng lượng thân/ngày tuy nhiên tỷ lệ trùn biển nhiều hơn so với các loại thức ăn khác nhằm kích thích tuyến sinh dục của tôm mẹ phát triển. Đối với tôm đực thức ăn chủ yếu là mực và hàu nhằm kích thích sự lên tinh. Quá trình nuôi vỗ tôm

bố mẹ theo dõi chặt chẽ các khâu chăm sóc, sức khỏe, mức độ bắt mồi để điều chỉnh lượng, chủng loại thức ăn cho phù hợp, siphon thức ăn thừa và chất thải hàng ngày.

- Phương pháp cấy tinh

Tôm đực được chọn thu túi tinh phải khỏe mạnh, có ngoại hình đẹp, phụ bộ đầy đủ, hoạt động tốt. Đánh giá cảm quan về túi tinh của tôm đực bằng cách quan sát vùng gốc đôi chân bò thứ 5 thấy có màu trắng đục, không có dấu hiệu (vàng, vàng nâu, thâm đen) của melanine hóa, hai túi tinh có kích thước tương đối đều nhau. Nếu tinh có dấu hiệu melanine hóa cần phải nặn bỏ để tôm hình thành tinh mới. Túi tinh được thu bằng cách dùng đầu ngón tay cái và ngón trỏ ấn nhẹ ở phần bụng ở gốc chân bò thứ năm. Để tạo ra các gia đình cùng cha mẹ và cùng cha khác mẹ, tùy theo tình trạng chất lượng túi tinh của con đực áp dụng các biện pháp sau:

+ Đối với tôm đực có 2 túi tinh tốt: dùng 2 túi tinh cấy cho 2 tôm cái khác nhau (mỗi tôm cái 1 túi tinh).

+ Đối với tôm đực có 1 túi tinh tốt: Cấy túi tinh tốt cho 1 con cái, sau đó chờ 1 thời gian tôm đực lên tinh lại để cấy cho tôm cái khác hoặc dùng dao cắt túi tinh tốt ra làm 2 sau đó cấy cho 2 tôm cái khác nhau.

Theo dõi quá trình lột xác ở tôm cái, sau khi tôm cái lột xác 8-12 giờ thì được cấy tinh. Túi tinh của con đực được đưa nhẹ nhàng vào trong thelycum của tôm cái mới vừa lột xác còn chưa cứng vỏ hoàn toàn, bằng cách dùng một cây cấy tinh hình trụ, tròn, có đường kính 0,5-1 mm mở nhẹ phần rãnh của thelycum và đưa túi tinh vào trong thelycum của tôm cái. Các thao tác kỹ thuật nhẹ nhàng, nhanh và chính xác tránh làm tôm bị stress. Các cá thể mẹ, có đeo dấu mắt, sau khi cấy tinh được chuyển lại vào bể nuôi để theo dõi, sau 3-5 ngày thì cắt mắt cho đẻ.

- Phương pháp cắt mắt tôm mẹ

Dùng khăn sạch ẩm, quấn quanh thân tôm mẹ và dùng tay giữ tôm mẹ đầu hướng ra ngoài tránh cho tôm vùng vẫy. Kiểm tra hai mắt và tiến hành cắt 1 bên mắt bằng kẹp inox được nung đỏ trên ngọn đèn cồn, sau đó kẹp nhẹ vào cuống mắt cho đến khi đứt hẳn. Ưu điểm của phương pháp này là: thao tác nhanh, tôm không mất dịch hoặc mất máu nhiều, có tác dụng tức thời ngay sau khi cắt mắt, thể trạng tôm ổn

định sau khi cắt mắt, tôm ít bị sốc. Tôm mẹ được tắm bằng Iodine 10 ppm thời gian 15 phút sau khi cắt mắt.

- Phương pháp kiểm tra tôm thành thực

Sau khi cắt mắt 3 ngày, tôm hoạt động tốt, ăn khỏe bắt đầu kiểm tra sự phát triển của buồng trứng. Hàng ngày khoảng 3-5 giờ chiều, kiểm tra sự phát triển buồng trứng con cái bằng đèn soi trứng chống thấm nước theo cách rọi đèn ngược từ dưới bụng của tôm hướng ánh sáng đi lên, đặc biệt là khu vực ngay sau phần đầu ngực. Tôm sắp đẻ có trứng phát triển ở giai đoạn IV, kích thước buồng trứng đạt cực đại, căng tròn, màu xanh xám đậm, sắc nét, ở đốt bụng thứ nhất, buồng trứng phát triển lớn, chảy xệ ra 2 bên tạo thành cánh tam giác. Tôm được chọn, nhúng qua dung dịch Iodine 100 ppm trong 1 phút, súc khí mạnh. Rửa lại bằng nước biển sạch và cho vào bể sinh sản thể tích 1-2 m³, mỗi bể sinh sản chỉ chứa 1 tôm mẹ.

- Phương pháp cho sinh sản: Mỗi bể sinh sản chỉ cho 1 tôm mẹ, sử dụng các bể composite thể tích 1 - 2 m³ hình tròn, đáy hình chóp, cấp nước 2/3 bể sao cho đủ thể tích tôm bơi khi đẻ và tránh tôm nhảy ra ngoài. Bể sinh sản được súc khí liên tục, nhẹ và đều. Không súc quá mạnh, tránh hiện tượng trứng bị vỡ. Tôm mẹ sau khi sinh sản xong được vớt ra bằng vợt có mắt lưới thưa để trứng lọt qua. Sau khi tôm đẻ 6 giờ, trứng đã trương nước nổi lơ lửng trong bể, điều chỉnh súc khí hơi mạnh để trứng phân tán đều và vớt sang xô nước sạch bằng vợt thu trứng mắt lưới <100 µm.

- Phương pháp thu trứng, rửa trứng và ấp trứng

Trứng được thu bằng vợt có mắt lưới < 100 µm và được rửa sạch bằng nước biển đã xử lý, tiếp theo nhúng hoàn toàn trứng trong Iodine 50 - 100 ppm trong 30 - 60 giây, sau đó súc rửa lại bằng nước biển sạch 3 - 5 phút. Trứng được đưa vào xô nhựa 10 lít có súc khí nhẹ đảo đều trứng, thu mẫu để đếm số trứng và xác định tỷ lệ thụ tinh. Sau đó trứng được chuyển sang bể ấp có thể tích 0,5m³ - 1m³ hình tròn và đáy hình chóp, cấp nước 2/3 bể, súc khí nhẹ đều từ đáy lên giúp trứng được đảo đều tăng khả năng nở của trứng và được ghi rõ các thông tin về nguồn gốc của trứng như tôm bố mẹ, ngày đẻ, lần đẻ, để tránh nhầm lẫn. Mật độ ấp trứng: 2000 - 3000 trứng/lít. Ở nhiệt độ 28 - 30°C, nauplius (N) xuất hiện sau 12 - 15 giờ ấp.

- Phương pháp ương nuôi ấu trùng từ nauplius đến hậu ấu trùng 15

Ấu trùng của mỗi gia đình được ương nuôi riêng rẽ trong các bể composite đảm bảo an toàn sinh học. Hệ thống ương ấu trùng từ nauplius đến hậu ấu trùng 15 được bố trí trong 2 nhà ương độc lập. Mỗi nhà ương có 100 bể ương thể tích 0,5 m³/bể. Mỗi bể thả 50.000 nauplius của một gia đình. Tất cả các bể được che kín bề mặt bằng một tấm nilon, đảm bảo bọt nước từ bể này không lây sang bể khác. Các bể được sắp xếp theo từng cụm, mỗi cụm có 4 - 6 bể, các cụm được ngăn cách với nhau bằng tấm nilon che kín từ trần nhà xuống nền nhà, đảm bảo các cụm không ảnh hưởng lẫn nhau. Mỗi cụm bể thả ương ấu trùng của các gia đình sinh ra trong cùng ngày và tối đa là trong 3 ngày liên nhau. Thức ăn cho ấu trùng là artemia và thức ăn tổng hợp lansy và frippak. Chế độ cho ăn phụ thuộc vào từng giai đoạn phát triển của ấu trùng. Giai đoạn nauplius không cho tôm ăn; giai đoạn zoea cho ăn thức ăn tổng hợp và tảo khô, ngày cho ăn 6 - 8 lần, mỗi lần cách nhau từ 3 - 4 giờ. Giai đoạn mysis cho ăn xen kẽ thức ăn tổng hợp và artemia bung dù. Tôm được cho ăn 8 lần/ngày, khoảng cách giữa 2 lần cho ăn là 3 giờ. Thay nước 30 - 40% nước và bổ sung vi sinh 2 ppm cuối giai đoạn M₃ và có thể hạ độ mặn xuống 28 - 30⁰/₀₀ để kích thích ấu trùng chuyển giai đoạn nhanh và đồng loạt hơn. Giai đoạn hậu ấu trùng, cho ăn 8 lần/ngày, khoảng cách giữa 2 lần cho ăn là 3 giờ và xen kẽ 1 lần thức ăn tổng hợp với nauplius của artemia. Thay 50 - 70% nước ở giai đoạn Post 4 - 5 và Post 9 - 15. Trong quá trình ương, dựa vào màu nước trong bể, nhiệt độ, khả năng ăn và vận động của ấu trùng, mật độ ấu trùng trong bể và thời điểm chuyển giai đoạn của ấu trùng để điều chỉnh lượng thức ăn cho phù hợp. Hàng ngày bổ sung các chất sau vào thức ăn để tăng cường sức khỏe và sức đề kháng cho ấu trùng: Vitamin tổng hợp A, B, E, K, D₃ liều 0,5 gram/m³, men tiêu hóa 0,5 ppm.

- Phương pháp xác định tỷ lệ sống từ nauplius đến hậu ấu trùng 15 (PL15):

Tỷ lệ sống (%) = (tổng số hậu ấu trùng (PL15)/tổng số nauplius ban đầu) *100

- Phương pháp ương từ giai đoạn hậu ấu trùng 15 đến kích cỡ đánh dấu

Hệ thống nuôi từ giai đoạn hậu ấu trùng 15 đến cỡ đánh dấu (trung bình đạt 2 g/con) bao gồm hai nhà độc lập, bổ sung dự phòng để có số lượng gia đình thành công nhiều nhất. Mỗi nhà tiếp nhận cùng số gia đình tôm từ nhà ương ấu trùng để

nuôi tiếp lên đến cỡ đánh dấu. Trong mỗi nhà nuôi hậu ấu trùng có 100 bể composite tròn thể tích 1 m³. Mỗi bể chọn và thả nuôi 1500 hậu ấu trùng 15/một gia đình. Tất cả các bể đều được che kín bề mặt bằng một tấm nilon, đảm bảo bọt nước từ bể này không lây sang bể khác. Thời gian nuôi từ hậu ấu trùng 15 đến kích cỡ 2g/con kéo dài khoảng 2 tháng và được chia thành nhiều giai đoạn nhỏ để dễ điều chỉnh loại thức ăn, kích cỡ thức ăn, tỷ lệ cho ăn cho phù hợp. Phương pháp cho ăn theo Bảng 2.6.

Bảng 2. 6 Thức ăn và phương pháp cho ăn

Giai đoạn	Thức ăn	Thời gian cho ăn	Lượng cho ăn	Ghi chú
<i>Giai đoạn 1:</i> Từ hậu ấu trùng 15 - 15 ngày tuổi	Thức ăn tổng hợp dạng bột và ấu trùng Artemia	6h; 10h và 18h cho ăn thức ăn tổng hợp. 14h và 22h thức ăn Artemia	8 – 10 g/bể	Hàng ngày điều chỉnh lượng thức ăn theo thực tế tôm sử dụng
<i>Giai đoạn 2:</i> Từ 16 ngày đến 30 ngày	Thức ăn tổng hợp dạng mảnh kích cỡ 0,5 – 0,8 mm	6h; 10h; 14h; 18h và 22h	15 – 20% trọng lượng thân	
<i>Giai đoạn 3:</i> Từ 31 ngày đến 45 ngày	Thức ăn tổng hợp dạng viên kích cỡ 0,8 – 1,2 mm	6h; 10h; 14h; 18h và 22h	12 – 15% trọng lượng thân	
<i>Giai đoạn 4:</i> Từ 46 – 60 ngày	Thức ăn tổng hợp dạng viên kích cỡ 1,2 – 2,6 mm	6h; 10h; 14h; 18h và 22h	10 – 12% trọng lượng thân	

Tôm nuôi được cân khối lượng, đo chiều dài vào cuối giai đoạn. Trong quá trình nuôi, siphone thức ăn thừa, phân tôm được thực hiện 2 lần/ngày vào lúc 8h30 và 16h30. Thay nước từ 50% đến 100% tùy theo từng giai đoạn nuôi và chất lượng nước thực tế quan sát.

2.3.2.5. Phương pháp nuôi tăng trưởng các gia đình tôm thế hệ G_0 và G_1

* *Thế hệ G_0* : Thực hiện tại bốn địa điểm gồm Trung tâm Quốc gia giống Hải sản Nam Bộ (nuôi trong bể ATSH), Trung tâm Quốc gia giống Hải sản miền Trung – Khánh Hòa (nuôi ao đất), Trại Nghiên cứu Thực nghiệm Bạc Liêu (nuôi ao đất),

Doanh nghiệp tư nhân Đặng Lâm – Vũng Tàu (nuôi ao đất).

* *Thế hệ G₁*: Thực hiện tại hai địa điểm gồm nuôi trong bể ATSH tại Trung tâm Quốc gia giống Hải sản Nam Bộ và nuôi trong ao đất tại Trung tâm Quốc gia giống Hải sản miền Trung – Khánh Hòa.

- Phương pháp nuôi tăng trưởng trong bể an toàn sinh học (ATSH)

Đánh dấu 35 con/gia đình được nuôi chung trong hệ thống bể nước chảy tuần hoàn đảm bảo an toàn sinh học. Tổng số 4 bể tuần hoàn với diện tích 60 - 70 m²/bể, mật độ thả 8 con/m². Các bể đều có sự hiện diện của tất cả các gia đình nhằm đề phòng rủi ro do nhiễm bệnh hoặc tôm chết hết trong từng bể. Thời gian nuôi 80 ngày (tương ứng 4 tháng tuổi tính từ hậu ấu trùng 15 đến thời điểm thu hoạch, thời gian thu hoạch trong thực tiễn nuôi tôm) khi tôm đạt đến khối lượng trung bình khoảng 25g/con. Tôm được cho ăn thức ăn viên công nghiệp của hãng CP Việt Nam (hàm lượng protein > 45%), ngày cho ăn 4 lần, lượng cho ăn hàng ngày theo hướng dẫn của nhà sản xuất và khả năng sử dụng thức ăn cụ thể của tôm trong từng bể. Hàng ngày theo dõi hoạt động của tôm và thường xuyên kiểm tra chất lượng nước. Dựa vào giá trị chọn giống của các gia đình kết hợp với kết quả đánh giá sinh trưởng thu được từ thí nghiệm nuôi ở các vùng sinh thái khác nhau, tôm nuôi trong các bể an toàn sinh học được sử dụng để chọn lọc tôm bố mẹ tạo quần đàn tôm sú thế hệ G₀ sạch bệnh.

- Phương pháp nuôi tăng trưởng trong ao đất ở các vùng địa lý khác nhau

Ba vùng nuôi được lựa chọn đại diện cho 3 vùng sinh thái khác nhau gồm: Khánh Hòa, Bạc Liêu và Vũng Tàu. Quá trình nuôi thử nghiệm được tiến hành trong điều kiện sản xuất thực tế theo quy trình nuôi thương phẩm quy mô nông hộ. Ao nuôi có diện tích 1500 m² đối với ao nuôi tại Khánh Hòa và 2000 m²/ao đối với ao nuôi tại Bạc Liêu và Vũng Tàu. Mỗi ao được ngăn thành 3 ô bằng lưới cước, mắt lưới 5 ly được ngăn theo chiều dọc của ao có diện tích như nhau (do thời gian sinh sản và ương nuôi các tổ hợp lai khác nhau nên chia thành 3 đợt thả).

Số lượng tôm sau đánh dấu trung bình 120 cá thể/gia đình được lấy ngẫu nhiên thả nuôi trong các ao, mật độ thả 15 con/m², thả bổ sung tôm không đánh dấu cho đủ mật độ. Ao nuôi có bố trí dàn quạt khí, chế độ chăm sóc quản lý, cho ăn áp dụng quy trình nuôi thương phẩm tôm sú hiện đang được nông dân áp dụng tại các địa phương

đó. Thời gian nuôi 80 ngày khi tôm đạt đến khối lượng trung bình 25 g/con. Tôm được cho ăn thức ăn viên công nghiệp của hãng CP Việt Nam (hàm lượng protein > 45%), lượng cho ăn theo hướng dẫn của nhà sản xuất và khả năng sử dụng thức ăn cụ thể của tôm.

2.3.2.6. Phương pháp đánh dấu cá thể

- Chuẩn bị phẩm màu

Phẩm màu huỳnh quang (VIE) được chuẩn bị đúng theo hướng dẫn của nhà sản xuất (công ty Northwest Marine Technology). Pha dung dịch màu (VIE) với chất xúc tác (cures) theo tỷ lệ 10 : 1. Dung dịch sau khi trộn sẽ được chuyển vào các xi lanh 0,3 ml và gắn với dụng cụ đánh dấu cầm tay. Màu sau khi pha được bảo quản trong điều kiện lạnh như có thể để trong tủ lạnh ngăn 4⁰C hoặc đơn giản hơn là giữ trong hộp kín có nước đá nhưng tránh không để tiếp xúc trực tiếp với nước. Phẩm màu được bảo quản tốt có thể sử dụng trong vòng 12 giờ hoặc hơn nữa, tuy nhiên không nên sử dụng lại VIE bảo quản qua đêm.

- Phương pháp đánh dấu

Phẩm màu được tiêm vào lớp cơ ở mặt bụng của tôm giống, ngay dưới và song song với lớp vỏ kitin. Tiêm nhẹ nhàng tránh làm tổn thương lớp cơ thịt của tôm và kết thúc trước khi kim tiêm được rút ra khỏi cơ thể tôm. Trong quá trình đánh dấu không cần phải gây mê tôm. Các màu được sử dụng gồm màu xanh dương, xanh lá cây, đỏ, hồng và vàng.

Kết hợp các loại màu này và 4 vị trí tiêm (đốt bụng số 1 và số 6; bên trái, bên phải) với 2 dấu được đánh nhằm xác định tổ hợp dấu, nếu sử dụng 5 hoặc 6 màu có thể kết hợp tạo ra tương ứng 150 hoặc 216 tổ hợp khác nhau. Trên thực tế thì nhà sản xuất phẩm màu huỳnh quang - công ty Northwest Marine Technology cung cấp 10 màu khác nhau (5 màu phát xạ huỳnh quang, 5 màu không) vì vậy nếu đánh dấu ở 4 vị trí, sử dụng 2 dấu thì có thể tạo ra 600 tổ hợp dấu.

Các cá thể thuộc cùng một gia đình được đánh dấu cùng một tổ hợp màu. Tôm sau khi đánh dấu được lưu giữ trong bể composite, sau 3 ngày kiểm tra tỷ lệ sống, tỷ lệ tồn dấu trước khi thả nuôi đánh giá tăng trưởng trong các hệ thống nuôi khác nhau.

2.4. Bố trí thí nghiệm

2.4.1. Bố trí thí nghiệm chọn lọc cặp môi sử dụng để đánh giá biến dị di truyền bằng microsatellite

Sử dụng 29 cặp môi được tham khảo từ các bài báo công bố của các tác giả Li (Li và ctv, 2007); Pan (Pan và ctv, 2004); Wuthi (Wuthi và ctv, 2003); và Xu (Xu và ctv, 1999). Dựa trên các cặp môi có sản phẩm khuếch đại 19 cặp môi từ 29 cặp môi này để phân tích môi đa hình trên 28 mẫu DNA tôm ngẫu nhiên, từ đó đánh giá hiệu suất PCR và số allel của từng cặp môi để sàng lọc và chọn ra các cặp môi cho hiệu suất PCR cao nhất (15 cặp môi), đồng thời có số allel cao thể hiện tính đa hình để tiến hành chạy PCR đồng loạt để phân tích biến dị di truyền của các quần thể tôm. Phân tích đa dạng di truyền mẫu tôm sú bố mẹ ban đầu thuộc bốn quần thể mẫu khác nhau bằng 15 cặp môi sau chọn lọc từ 29 cặp môi khảo sát.

2.4.2. Bố trí các tổ hợp lai toàn phần của 4 dòng tôm sú

Các gia đình thế hệ G_0 được tạo ra từ 16 phép lai tổ hợp toàn phần của 4 dòng tôm ($4 \times 4 = 16$ tổ hợp lai) gồm 4 tổ hợp lai nội dòng (AxA, TxT, NxN và GxG) và 12 tổ hợp lai khác dòng gồm (AxT, AxN, AxG, TxA, TxN, TxG, NxA, NxT, NxG, GxA, GxT, GxN). Sơ đồ lai được trình bày ở Bảng 2.7.

Bảng 2. 7 Bảng bố trí các tổ hợp lai toàn phần của 4 dòng tôm

Tôm đực Tôm cái	Ấn Độ Dương (A)	Thái Bình Dương (T)	Nội địa (N)	Gia hóa (G)
Ấn Độ Dương (A)	A x A	A x T	A x N	A x G
Thái Bình Dương (T)	T x A	T x T	T x N	T x G
Nội địa (N)	N x A	N x T	N x N	N x G
Gia hóa (G)	G x A	G x T	G x N	G x G

2.4.3. Bố trí lai tạo các gia đình thế hệ G_0 tạo thế hệ G_1

2.4.3.1. Các tiêu chí chọn ghép cặp các gia đình thế hệ G_0 tạo G_1

Dựa vào chỉ số chọn lọc: chỉ số chọn lọc (selection Index) là phương pháp phối hợp giá trị kiểu hình của các tính trạng được xác định thành một điểm tổng hợp và căn cứ vào giá trị này để quyết định chọn hoặc không chọn các cá thể. Chỉ số chọn

lọc được H. Smith xây dựng từ năm 1936 và được ứng dụng vào chọn lọc cây trồng. Hazel là người đầu tiên ứng dụng chỉ số chọn lọc vào chọn giống động vật năm 1943.

Trong nghiên cứu này, chỉ số Index được xác định như sau:

- Từng gia đình được sắp xếp theo trung bình LSM khối lượng thu hoạch thứ tự từ cao xuống thấp.

- Từng gia đình được sắp xếp theo tỉ lệ sống theo thứ tự từ cao xuống thấp.

- Từng tính trạng (khối lượng và tỉ lệ sống) được cho một hệ số. Cho khối lượng là x_i , cho tỉ lệ sống là y_i .

- Như vậy index của gia đình i là $I_i = (x_i \times \text{LSM khối lượng gia đình } i) + (y_i \times \text{tỉ lệ sống gia đình } i)$ (Smith, 1936; Hazel, 1943).

- Các gia đình được sắp xếp theo giá trị Index, chia thành 3 nhóm theo các màu sắc khác nhau để thuận lợi cho việc thao tác ghép cặp đã được thiết kế sẵn theo sơ đồ lý thuyết. Cụ thể đỏ (kí hiệu Đ) cho nhóm tôm có giá trị Index cao (> 110), vàng (kí hiệu V) cho nhóm tôm có giá trị Index Trung bình ($110 - 90$) và xanh (kí hiệu X) cho nhóm tôm có giá trị Index thấp (< 90).

- Nhằm đảm bảo ưu thế của tính trạng tăng trưởng và đồng thời đảm bảo độ đa dạng di truyền của thế hệ G_0 , quần đàn G_0 được hình thành với sự hiện diện của cả 3 nhóm có các mức giá trị index với các tỷ lệ khác nhau.

2.4.3.2. Bố trí ghép cặp tôm bố mẹ G_0 tạo thế hệ G_1

Nguyên tắc của sơ đồ lai là đảm bảo: (i) tránh cận huyết và (ii) theo index (tỉ trọng của 3 nhóm có Index cao, trung bình và thấp).

(i) *Tránh cận huyết*: Để tránh cận huyết việc ghép tinh tôm bố mẹ G_0 tạo thế hệ G_1 được thực hiện theo sơ đồ lai lý thuyết đã được thiết kế sẵn bằng phần mềm Excel. Khi nhập thông tin của tôm cái và tôm đực vào, phần mềm được thiết kế sẽ cho kết quả về phả hệ (cụ thể đó là thế hệ ông và bà) là 0, 1, 2 hoặc 4. Tra cứu phả hệ để lựa chọn các gia đình ghép cặp, trường hợp kết quả bằng 0 có nghĩa là phả hệ không trùng nhau, việc ghép tinh giữa tôm đực và tôm cái đó đảm bảo được tránh cận huyết hoàn toàn. Trường hợp kết quả bằng 1 có nghĩa là trong 4 dòng thế hệ ông bà (bà ngoại, ông ngoại, bà nội, ông nội) có trùng 1 dòng (ví dụ tôm cái AN ghép với

tôm đực AG). Trường hợp này cũng chấp nhận ghép được. Với kết quả tra cứu phả hệ bằng 2, có nghĩa trùng 2 dòng thế hệ ông bà (ví dụ: cái AN ghép với đực AA; NN; AN; NA), trường hợp này không nên ghép khi kết quả tra cứu phả hệ bằng 2. Tuy nhiên, trong trường hợp sự phát triển túi tinh và buồng trứng không được như mong muốn thì có thể chấp nhận được kết quả bằng 2 nhưng chỉ với lai chéo trùng nội dòng (AN ghép với AA hay NN); còn với lai chéo trùng lai chéo thì tuyệt đối không thực hiện. Trường hợp cuối cùng, nếu kết quả tra cứu phả hệ bằng 4, đó là nội dòng trùng với nội dòng (chỉ có 4 khả năng xảy ra: AA x AA; GG x GG; NN x NN; TT x TT) thì tuyệt đối không được thực hiện ghép tinh giữa tôm cái và tôm đực đó.

(ii) Theo Index, việc ghép tôm đực và tôm cái G_0 với nhau cũng cần căn cứ vào giá trị Index của chúng. Nhằm đảm bảo tính đa dạng di truyền đồng thời tích lũy được giá trị chọn lọc thì trước hết tất cả các gia đình (G_0) nên được duy trì vật liệu di truyền trong thế hệ tiếp theo (G_1), tuy nhiên tỉ trọng đóng góp di truyền của chúng có khác nhau tùy thuộc vào giá trị Index của chúng. Cụ thể tôm có giá trị Index > 110 được đưa vào nhóm Cao; nhóm tôm Trung bình có Index nằm trong khoảng 110 – 90; nhóm Thấp có Index nhỏ hơn 90. Tỉ trọng của các nhóm được mong muốn giữ lại là: Cao 65 – 75%; Trung bình 20 – 30%; Thấp 5% trong tổng số các gia đình G_1 được tạo ra.

Bảng 2. 8 Sơ đồ ghép cặp 16 tổ hợp tôm thế hệ G_0 tạo thế hệ G_1

Nhóm tôm		Tôm cái															
		AA	AG	AN	AT	GA	GG	GN	GT	NA	NG	NN	NT	TA	TG	TN	TT
Tôm đực	AA	4	2	2	2	2	0	0	0	2	0	0	0	2	0	0	0
	AG	2	2	1	1	2	2	1	1	1	1	0	0	1	1	0	0
	AN	2	1	2	1	1	0	1	0	2	1	2	1	1	0	1	0
	AT	2	1	1	2	1	0	0	1	1	0	0	1	2	1	1	2
	GA	2	2	1	1	2	2	1	1	1	1	0	0	1	1	0	0
	GG	0	2	0	0	2	4	2	2	0	2	0	0	0	2	0	0
	GN	0	1	1	0	1	2	2	1	1	2	2	1	0	1	1	0
	GT	0	1	0	1	1	2	1	2	0	1	0	1	1	2	1	2
	NA	2	1	2	1	1	0	1	0	2	1	2	1	1	0	1	0
	NG	0	1	1	0	1	2	2	1	1	2	2	1	0	1	1	0
	NN	0	0	2	0	0	0	2	0	2	2	4	2	0	0	2	0
	NT	0	0	1	1	0	0	1	1	1	1	2	2	1	1	2	2
	TA	2	1	1	2	1	0	0	1	1	0	0	1	2	1	1	2
	TG	0	1	0	1	1	2	1	2	0	1	0	1	1	2	1	2
	TN	0	0	1	1	0	0	1	1	1	1	2	2	1	1	2	2
	TT	0	0	0	2	0	0	0	2	0	0	0	2	2	2	2	4

2.4.4. Nuôi tăng trưởng đánh giá tương tác kiểu gen và môi trường

- Nuôi trong bể an toàn sinh học: Tôm đánh dấu, trung bình 35 cá thể được lấy ngẫu nhiên từ mỗi gia đình được chia ra nuôi chung trong bốn bể an toàn sinh học bao gồm hai bể có diện tích 70 m² và hai bể có diện tích 60 m². Các bể đều có sự hiện diện của tất cả các gia đình nhằm đề phòng rủi ro do nhiễm bệnh hoặc tôm chết hết trong từng bể. Phương pháp nuôi được mô tả chi tiết tại mục 2.3.2.4.

- Nuôi trong ao đất: Sau khi đánh dấu, trung bình 120 cá thể/gia đình được lấy ngẫu nhiên để thả nuôi trong các ao nuôi tôm sú ở Nam Trung Bộ (Khánh Hòa), Tây Nam Bộ (Bạc Liêu) và Đông Nam Bộ (Vũng Tàu). Tôm thả nuôi ở mỗi vùng sinh thái bao gồm đầy đủ 69 gia đình thế hệ G₀. Quy trình nuôi thương phẩm trong ba ao nuôi thử nghiệm áp dụng quy trình có sẵn và đang sử dụng tại các địa phương đó.

Thời gian nuôi khoảng 80 ngày (tương ứng 4 tháng tuổi tính từ hậu ấu trùng 15 đến thời điểm thu hoạch, tuổi thu hoạch trong thực tiễn nuôi tôm) để tôm đạt đến khối lượng trung bình khoảng 25 g (được mô tả chi tiết trong mục 2.3.2.5).

2.5. Phương pháp phân tích và xử lý số liệu

2.5.1. Phương pháp phân tích và xử lý số liệu đánh giá đa dạng di truyền

Các số liệu sau khi được kiểm tra bằng phần mềm Micro- Checker Version 2.2.0 được mã hóa thành dữ liệu đầu vào cho phần mềm GenAlEx - Genetic Analysis in Excel (Peakall và Smouse, 2006) để tính toán tần số alen, mức dị hợp tử quan sát (H₀), mức dị hợp tử mong đợi (H_e), hệ số sai khác di truyền (F_{st}), hệ số cận huyết (F_{IS}). Kiểm định độ lệch so với cân bằng Hardy-Weinberg dựa trên thuật toán Markov chain (Guo và Thompson, 1992) sử dụng phần mềm Genepop 4.2.

Kiểu gen: Một đặc tính bề ngoài nếu được truyền từ thế hệ này sang thế hệ khác (phù hợp với sơ đồ Mendel) thì đặc tính này phụ thuộc vào hai nhân tố hoặc vào hai gen và chỉ một nhân tố được di truyền. Cả hai gen này tạo ra kiểu gen (genotype) của cá thể cho đặc tính này.

Công thức tính : nếu trong quần thể, số alen là n.

Số kiểu gen khả dĩ bằng $n(n+1)/2$

Sử dụng giá trị F_{st} để xác định sự sai khác di truyền giữa các quần thể. Hệ số

này có thể đánh giá mối liên hệ không ngẫu nhiên giữa các alen trong quần thể. F_{st} được tính theo công thức: $F_{st} = (H_o - H_e)/H_o$. Trong đó H_o là giá trị dị hợp tử quan sát, H_e là giá trị dị hợp tử mong đợi. F_{st} tương ứng với tần số alen khác nhau giữa các quần thể. Nếu $F_{st} < 0,05$ thì sai khác di truyền nhỏ. Nếu $0,05 < F_{st} < 0,15$ thì sai khác di truyền là trung bình. Nếu $F_{st} > 0,15$ thì sai khác di truyền lớn (Nei, 1974).

2.5.2. Phương pháp phân tích và xử lý số liệu phục vụ đánh giá tăng trưởng các dòng tôm khác nhau bằng phép lai hỗn hợp

Trước khi thả nuôi chung mỗi gia đình được cân khối lượng ngẫu nhiên 30 cá thể để ghi nhận khối lượng khi bắt đầu thả vào bể an toàn sinh học và ao. Sau thời gian nuôi khoảng 80 ngày tiến hành thu hoạch toàn bộ số tôm trong các bể và ao. Số liệu thu thập gồm khối lượng thân (g, sai số 0,1g), giới tính (đực/cái), bể nuôi và tổ hợp dấu (để truy xuất các gia đình).

- Ước tính trung bình bình phương tối thiểu (*Least square mean, LSM*)

Số liệu khối lượng thân của tất cả các gia đình/phép lai được kiểm tra, rà soát nhằm loại bỏ sai sót do lỗi ghi chép, nhập số liệu, những số liệu ngoại cỡ. Dãy số liệu này được khảo sát sự phân bố. Kết quả tính trạng khối lượng thân của tôm sú phân bố rất gần với phân bố chuẩn.

Các thống kê mô tả được thực hiện bởi phần mềm SAS phiên bản 9.3 (SAS Institute Inc., 2011). Mức độ ảnh hưởng (có hoặc không có ý nghĩa) của các ảnh hưởng cố định (fixed effect) trong mô hình toán được đánh giá dựa theo Type III sum of squares sử dụng hàm GLM (General Linear Model, mô hình tuyến tính tổng quát) trong SAS phiên bản 9.3 với độ tin cậy 95%. Các tương quan kép hai và ba chiều (two and three-way interactions) giữa các ảnh hưởng chính cũng được kiểm tra. Tương quan nào không có ý nghĩa thống kê ($P > 0,05$) được loại khỏi mô hình. Mô hình được chọn sau khi sàng lọc tất cả các ảnh hưởng cố định và hiệp biến là:

$$\begin{aligned} \text{Khối lượng}_{ijkl} = & \mu + \text{tổ hợp lai}_i + \text{giới tính}_j + \text{tuổi} + \text{khối lượng đánh dấu} \\ & + \text{bể nuôi}_k + (\text{tổ hợp lai} \times \text{bể nuôi})_l + \text{số dư}_{ijkl} \text{ (Mô hình 1)} \end{aligned}$$

Trong đó ‘ khối lượng_{ijkl} ’ là khối lượng cá thể tôm l khi thu hoạch, μ là trung

bình khối lượng của quần thể, ‘*tổ hợp lai_i*’ là ảnh hưởng cố định của 16 phép lai, ‘*giới tính_j*’ là ảnh hưởng cố định của hai giới tính (đực, cái), ‘*tuổi*’ là ảnh hưởng của hiệp biến số ngày nuôi (ngày) tính từ giai đoạn hậu ấu trùng 15 đến khi đạt kích cỡ thu hoạch, ‘*khối lượng đánh dấu*’ là ảnh hưởng của hiệp biến khối lượng (g) trung bình của các gia đình tại thời điểm đánh dấu với các cá thể trong cùng một gia đình được coi là có cùng một khối lượng khi đánh dấu, ‘*bể nuôi_k*’ là ảnh hưởng cố định của các bể nuôi khác nhau, ‘*(tổ hợp lai × bể nuôi)_l*’ là ảnh hưởng cố định của tương quan kép giữa 16 tổ hợp lai khác nhau được nuôi trong 4 bể nuôi khác nhau, và ‘*số dư_{ijkl}*’ là ảnh hưởng của phần dư. Trung bình bình phương tối thiểu (LSM) của khối lượng thân được ước tính cho từng tổ hợp lai, sử dụng trắc nghiệm Tukey ($\alpha = 0,05$). So sánh theo tôm bố hoặc tôm mẹ giữa các dòng trong đó ảnh hưởng ‘*tổ hợp lai*’ được thay thế lần lượt bằng ảnh hưởng ‘*tôm bố*’ và ‘*tôm mẹ*’.

2.5.3. Phương pháp thu thập, phân tích và xử lý số liệu phục vụ tính toán các thông số di truyền cơ bản

Khối lượng của tôm được cân đo khi thu hoạch. Các số liệu được quản lý và kiểm tra bằng phần mềm Microsoft Excel® 2010. Thống kê mô tả, ảnh hưởng của giới tính (tức là sự khác biệt về khối lượng của tôm cái và tôm đực) và ảnh hưởng của tôm bố (hoặc tôm mẹ) được phân tích sử dụng phần mềm R 3.2.1 (R Core Team, 2015). Các thành phần phương sai được ước tính bằng phần mềm ASReml 3.0 (Gilmour và ctv., 2009).

2.5.3.1. Phương pháp ước tính các thành phần phương sai phục vụ đánh giá tương tác kiểu gen - môi trường ($G \times E$)

Các thành phần phương sai của khối lượng thân trong từng môi trường i được ước tính bằng phần mềm ASReml phiên bản 3 (Gilmour và ctv., 2009) sử dụng mô hình tuyến tính cá thể hỗn hợp (mô hình 1, trong mục 2.5.2).

- *Tương tác kiểu gen – môi trường ($G \times E$) đối với hai môi trường nuôi*

Tương tác kiểu gen – môi trường ($G \times E$) được ước tính thông qua tương quan di truyền (r_g) của tính trạng khối lượng thu hoạch giữa bốn môi trường nuôi (Bạc Liêu, Vũng Tàu, Khánh Hòa và bể ATSH). Theo đó, tính trạng khối lượng thu hoạch trong

bốn môi trường nuôi khác nhau được xem là bốn tính trạng khác nhau. Nhằm tận dụng tối đa số liệu, tương quan kiểu gen được ước lượng đồng thời trong mô hình tuyến tính bốn biến. Do một cá thể tôm chỉ được nuôi trong một môi trường duy nhất, nên hiệp phương sai giữa các môi trường nuôi trong mô hình bốn biến được thiết lập bằng không (zero) (Bentsen và ctv., 2012).

Tương quan di truyền (r_g) của tính trạng khối lượng thu hoạch giữa hai môi trường nuôi được ước tính theo công thức $r_g = \frac{\sigma_{12}}{\sqrt{\sigma_1^2} \times \sqrt{\sigma_2^2}}$, trong đó σ_{12} là hiệp phương sai của ảnh hưởng di truyền cộng gộp của khối lượng thu hoạch giữa hai môi trường, σ_1^2 và σ_2^2 lần lượt là phương sai của ảnh hưởng di truyền cộng gộp của tính trạng khối lượng thu hoạch trong môi trường 1 và 2 (Falconer và Mackay, 1996).

Mức độ của tương tác kiểu gen – môi trường được đánh giá theo Robertson (1959) thì tương tác kiểu gen – môi trường có ý nghĩa sinh học nếu $r_g < 0,8$ và ngược lại. Nhận định này được chấp nhận rộng rãi trong chọn giống động vật (bao gồm cả thủy sản) cho đến ngày nay (Bourdon, 1999; Gjedrem, 2012). Quan điểm được chấp nhận rộng rãi là nếu $r_g > 0,8$ thì không có tương tác kiểu gen – môi trường, nếu $r_g < 0,8$ thì có tương tác, nếu $r_g < 0,65$ thì là tương tác cao. Nếu $r_g > 0,85$ thì là tương tác thấp. Tuy nhiên, về mặt toán học thì chỉ hoàn toàn không có tương tác khi $r_g = 1$, nếu $r_g < 1$ là luôn luôn có tương tác. Theo Mulder và Bijma (2005), nếu tương quan di truyền của hai môi trường nằm ở mức 0,7 – 0,8 thì việc thiết lập 2 quần thể chọn giống riêng rẽ sẽ cho hiệu quả chọn lọc cao hơn (so với khi chỉ có một quần thể chọn giống duy nhất).

2.5.3.2 Phương pháp tính các ảnh hưởng cố định và ước tính các thành phần phương sai phục vụ tính hệ số di truyền

- Phương pháp tính các ảnh hưởng cố định

Ảnh hưởng cố định được đưa vào mô hình toán là ‘giới tính’, vì có sự khác biệt về khối lượng giữa tôm đực và tôm cái. Tôm được nuôi ở hai môi trường là bể và ao, vì vậy có thêm ảnh hưởng cố định là ‘đợt thả nuôi’. Hiệp biến được chọn sử dụng trong mô hình là ‘tuổi thu hoạch’. Đối với khối lượng tôm khi thu hoạch, ảnh hưởng của đợt thả nuôi, giới tính, dòng tôm bố và tuổi tôm được đánh giá bằng

phương trình tuyến tính:

$$\text{Khối lượng}_{ijk} = \mu + \text{đợt thả nuôi}_i + \text{giới tính}_j + \text{tôm bố}_k + \beta_1 \times \text{tuổi thu hoạch} + \beta_2 \times (\text{tuổi thu hoạch})^2 + e_{ijk} \quad (\text{Mô hình 2})$$

Trong đó: Khối lượng_{ijk} là khối lượng của cá thể k tại thời điểm thu hoạch, μ là trung bình khối lượng của quần thể, β_1 là hệ số hồi quy của hiệp biến tuổi thu hoạch , β_2 là hệ số hồi quy bậc hai của hiệp biến $(\text{tuổi thu hoạch})^2$, đợt thả nuôi_i là ảnh hưởng cố định của 3 đợt thả nuôi (đợt 1, 2 và 3), giới tính_j là ảnh hưởng cố định của 2 giới tính (cái, đực), tôm bố_k là ảnh hưởng cố định của các dòng tôm bố và e_{ijk} là số dư. Mô hình toán đánh giá ảnh hưởng của các dòng tôm mẹ tương tự như mô hình 1, với ảnh hưởng dòng tôm bố_k được thay thế bằng dòng tôm mẹ_k (Mô hình 3).

$$\text{Khối lượng}_{ijk} = \mu + \text{đợt thả nuôi}_i + \text{giới tính}_j + \text{dòng tôm mẹ}_k + \beta_1 \times \text{tuổi thu hoạch} + \beta_2 \times (\text{tuổi thu hoạch})^2 + e_{ijk} \quad (\text{Mô hình 3})$$

Ảnh hưởng của đợt thả nuôi, giới tính, dòng tôm bố (hoặc dòng tôm mẹ) được đánh giá thông qua Type III Sum of Square. Nếu ảnh hưởng nào có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$) thì sự khác biệt giữa từng nhóm được thực hiện bằng cách so sánh cặp, sử dụng package ‘multcomp’ (Hothorn và ctv, 2008) với phương pháp hiệu chỉnh Tukey ở mức độ tin cậy 95%.

- Phương pháp ước tính các thành phần phương sai

Mô hình tuyến tính hỗn hợp cá thể được dùng để ước tính các thành phần phương sai (bao gồm σ_A^2 = phương sai di truyền cộng gộp, σ_C^2 là phương sai ảnh hưởng môi trường, σ_{TN}^2 là phương sai của ảnh hưởng ngẫu nhiên của 3 đợt thả nuôi, σ_E^2 là phương sai của số dư, và phương sai kiểu hình $\sigma_P^2 = \sigma_A^2 + \sigma_C^2 + \sigma_{TN}^2 + \sigma_E^2$):

$$\text{Khối lượng}_{ijkl} = \mu + \text{giới tính}_i + \beta_1 \times \text{tuổi thu hoạch} + \text{cá thể}_j + \text{tôm mẹ}_k + \text{đợt thả nuôi}_l + e_{ijkl} \quad (\text{Mô hình 4})$$

Trong đó: khối lượng_{ijkl} là khối lượng của cá thể j khi thu hoạch, μ là trung bình khối lượng thu hoạch của quần thể, β_1 là hệ số hồi quy của hiệp biến tuổi thu hoạch , cá thể_j là ảnh hưởng ngẫu nhiên của cá thể j , tôm mẹ_k là ảnh hưởng của môi trường, đợt thả nuôi_l là ảnh hưởng ngẫu nhiên của 3 đợt thả nuôi, và e_{ijkl} là ảnh hưởng của số dư. Các thành phần phương sai và tương quan di truyền của khối lượng thu

hoạch giữa 2 môi trường được ước tính bằng các mô hình 2 biến (bi-variate model) nhằm tận dụng tối đa số liệu với các biến như mô tả trong Mô hình 3. Vì mỗi cá thể tôm chỉ được nuôi trong một môi trường duy nhất nên hiệp phương sai của số dư giữa 2 môi trường được đặt là không (zero).

- Phương pháp ước tính hệ số di truyền

Hệ số di truyền (h^2) cho tính trạng khối lượng được ước tính là

$$h^2 = \frac{\sigma_A^2}{\sigma_A^2 + \sigma_C^2 + \sigma_{TN}^2 + \sigma_E^2} \text{ và ảnh hưởng của môi trường được ước tính là } c^2 = \frac{\sigma_C^2}{\sigma_A^2 + \sigma_C^2 + \sigma_{TN}^2 + \sigma_E^2}.$$

Hệ số di truyền cho tính trạng tỉ lệ sống cá thể (sống = 1, chết = 0), được ước tính là $h^2 = \frac{\sigma_A^2}{\sigma_A^2 + \sigma_E^2 \times \frac{\pi^2}{3}}$ (Gilmour và ctv, 2009), với σ_E^2 được cố định bằng 1 (Gilmour và ctv., 2009).

- Phương pháp ước tính hiệu quả chọn lọc

+ Phương pháp ước tính hiệu quả chọn lọc trong từng thế hệ riêng rẽ

Trong từng thế hệ G_0 hoặc G_1 , hiệu quả chọn lọc được ước tính theo công thức $R_1 = i \times h^2 \times \sigma_P$ với R_1 là hiệu quả chọn lọc khi chọn lọc ngắt đoạn (chọn những cá thể có khối lượng thu hoạch lớn nhất ở một tỉ lệ nhất định), i là cường độ chọn lọc được tra từ Phụ lục A, trang 379, (Falconer và ctv., 1996), h^2 là hệ số di truyền và σ_P là độ lệch chuẩn của tính trạng khối lượng thu hoạch.

Hiệu quả chọn lọc cũng được ước tính theo công thức tổng quát hơn khi áp dụng chọn lọc gia đình $R_2 = i \times r \times \sigma_P$. R_2 là hiệu quả chọn lọc khi áp dụng chọn lọc gia đình, r là độ chính xác của chọn lọc ($r = \sqrt{\frac{1}{2}h^2}$) (Gjedrem, 2005), i và σ_P tương tự như công thức tính R_1 .

+ Ước tính hiệu quả chọn lọc bằng phân tích xu hướng di truyền thông qua khác biệt giá trị chọn giống ước tính (EBV) giữa hai nhóm chọn lọc của G_0 và G_1

Mô hình tuyến tính hỗn hợp cá thể (Mô hình 5) dùng để ước tính các thành phần phương sai (bao gồm σ_A^2 = phương sai di truyền cộng gộp, σ_E^2 là phương sai của

số dư, và phương sai kiểu hình $\sigma_p^2 = \sigma_A^2 + \sigma_E^2$) và EBV là:

$$\text{khối lượng}_{ijkl} = \mu + \text{thế hệ}_i + \text{bể nuôi}_j + \text{giới tính}_k + \beta_1 \times \text{tuổi thu hoạch} + \text{cá thể}_l + e_{ijkl} \text{ (Mô hình 5)}$$

Trong đó khối lượng_{ijkl} là khối lượng của cá thể l khi thu hoạch, μ là trung bình khối lượng thu hoạch của quần thể, thế hệ_i là ảnh hưởng cố định của hai thế hệ tôm (G_0 và G_1), bể nuôi_j là ảnh hưởng cố định của các bể nuôi (4 bể ở thế hệ G_0 và 6 bể ở thế hệ G_1), giới tính_k là ảnh hưởng cố định của hai giới tính (cái, đực), β_1 là hệ số hồi quy của hiệp biến tuổi thu hoạch , cá thể_k là ảnh hưởng ngẫu nhiên của cá thể k và e_{ijk} là ảnh hưởng của số dư.

Hiệu quả chọn lọc được tính dựa trên khác biệt giữa EBV (ước tính từ Mô hình 5) của hai nhóm chọn lọc trong hai quần thể G_0 và G_1 . Ngoài ra, hiệu quả chọn lọc được ước tính dựa trên khác biệt giữa EBV chuẩn hóa của hai nhóm chọn lọc trong hai quần thể G_0 và G_1 nhằm mục đích loại trừ sự khác biệt về tỷ lệ giữa EBV của hai quần thể G_0 và G_1 thì EBV ước tính từ Mô hình 4 được chuẩn hóa về phân bố chuẩn với trung bình là 100 và độ lệch chuẩn là 10 theo công thức $EBV_{\text{chuẩn hóa}} = 100 + \frac{(EBV_i - \overline{EBV})}{\sigma_{EBV}} \times \sigma_{EBV \text{ chuẩn hóa}}$ với EBV_i là EBV của cá thể i , $\overline{EBV}$ là trung bình EBV của quần thể, σ_{EBV} là độ lệch chuẩn EBV của quần thể và $\sigma_{EBV \text{ chuẩn hóa}}$ là 10.

+ Ước tính hiệu quả chọn lọc thông qua khác biệt EBV của nhóm chọn lọc và trung bình của G_1

Hiệu quả chọn lọc được ước tính dựa trên sự sai khác giữa trung bình giá trị chọn giống (EBV) ước tính của thế hệ con của nhóm chọn lọc và nhóm đối chứng trong cùng một thế hệ (G_1).

Hiệu quả chọn lọc = $\overline{EBV}$ nhóm chọn lọc - $\overline{EBV}$ trung bình quần thể G_1

CHƯƠNG III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Đánh giá biến dị di truyền tôm sú bằng chỉ thị microsatellite

3.1.1. Kết quả chọn microsatellite đánh giá biến dị di truyền

Tiến hành khảo sát 29 cặp mồi microsatellite trên 28 mẫu ADN tách chiết ngẫu nhiên từ dòng tôm nghiên cứu. Đánh giá hiệu suất PCR và số alen của từng cặp mồi để sàng lọc, chọn ra các cặp mồi cho kết quả tốt nhất. Hiệu suất PCR và số alen của 29 microsatellite được trình bày ở Bảng 3.1.

Bảng 3. 1 Kết quả đánh giá 29 microsatellite (n= 28)

STT	Tên mồi	Tổng số mẫu có sản phẩm PCR	Hiệu suất PCR (%)	Số alen	STT	Tên mồi	Tổng số mẫu có sản phẩm PCR	Hiệu suất PCR (%)	Số alen
1	W1	23	82,1	3	17	P7	28	100	4
2	W2	24	85,7	5	18	P8	22	78,6	2
3	W3	22	78,6	5	19	L1	26	92,9	5
4	W4	25	89,3	4	20	L2	22	78,6	5
5	W5	24	85,7	2	21	L3	25	89,3	4
6	W6	26	92,9	3	22	L4	25	89,3	5
7	W7	24	85,7	3	23	L5	23	82,1	5
8	W8	22	78,6	4	24	L6	23	82,1	2
9	W9	25	89,3	5	25	N2	26	92,9	4
10	W10	28	100	4	26	N1	27	96,4	4
11	P1	27	96,4	5	27	X1	22	78,6	2
12	P2	28	100	5	28	X2	21	75,0	3
13	P3	22	78,6	5	29	X3	24	85,7	2
14	P4	25	89,3	5					
15	P5	25	89,3	5					
16	P6	23	82,1	5					

Hiệu suất PCR của 29 microsatellite tương đối đồng đều và ổn định, dao động trong khoảng 75 - 100%. Trong đó có 8 microsatellite, P1, P2, P7, L1, W6, W10, N1, N2 có hiệu suất PCR cao nhất, dao động từ 92,9 - 100%. Các cặp môi còn lại có hiệu suất PCR thấp hơn dao động từ 75 - 89,3%. Kết quả ban đầu cũng cho thấy số alen của mỗi microsatellite dao động không lớn, từ 2- 5 alen, trong đó có 20 microsatellite có từ 4 - 5 alen. Số alen cao thể hiện tính đa hình của microsatellite. Các microsatellite được chọn để đánh giá biến dị di truyền cần có tính đa hình cao. Do đó, kết hợp các microsatellite có hiệu suất PCR cao và đa hình cao được lựa chọn cho nghiên cứu đánh giá biến dị di truyền của bốn quần dòng tôm sú (Ấn Độ Dương, Thái Bình Dương, Gia Hóa và Nội Địa) gồm 15 microsatellite: W2, W3, W4, W9, W10, P1, P2, P4, P5, P7, L1, L3, L4, N1, N2.

3.1.2. Các thông số đa dạng di truyền dựa trên 15 microsatellite của bốn dòng tôm sú bố mẹ vật liệu ban đầu

Đa dạng di truyền của 4 dòng tôm sú vật liệu ban đầu được đánh giá bằng 15 chỉ thị microsatellite thông qua các chỉ số (Bảng 3.2) gồm: Số alen (A), số kiểu gen (G), kích thước alen (S), kiểu gen dị hợp tử mong đợi (H_e) và quan sát (H_o), xác xuất của độ lệch có ý nghĩa so với Hardy-Weinberg (HWE), đa hình (PIC), giá trị cận huyết trong cùng quần đàn (F_{IS}).

Bảng 3. 2 Đa dạng di truyền của 15 microsatellite trên 4 dòng tôm sú (n = 137)

STT	Microsatellite	A	S(bp)	Tần số alen	G	H_o	H_e	PIC	HWE	F_{IS}
1	W2	4	216 306 356 406	0,10 0,35 0,21 0,34	6	0,477	0,711	0,653	***	0,255
2	W3	2	502 606	0,60 0,40	3	0,176	0,490	0,369	***	0,628
3	W4	4	441 477 503 533	0,27 0,10 0,38 0,25	4	0,210	0,715	0,659	***	0,707
4	W9	2	227 275	0,50 0,50	3	0,203	0,502	0,375	***	0,601

5	W10	4	316 342 466 492	0,34 0,25 0,25 0,16	8	0,523	0,738	0,686	***	0,217
6	P1	4	264 278 302 382	0,20 0,20 0,40 0,20	8	0,300	0,715	0,664	***	0,557
7	P2	3	285 324 393	0,40 0,40 0,20	6	0,557	0,639	0,559	NS	0,124
8	P4	3	222 268 364	0,41 0,42 0,17	6	0,556	0,629	0,548	NS	0,120
9	P5	3	282 304 382	0,42 0,44 0,14	5	0,446	0,612	0,527	NS	0,256
10	P7	4	178 216 246 286	0,48 0,13 0,23 0,16	7	0,512	0,677	0,625	***	0,237
11	L1	3	270 293 328	0,30 0,40 0,30	6	0,465	0,663	0,586	***	0,277
12	L3	3	275 295 330	0,33 0,43 0,24	3	0,496	0,650	0,573	***	0,222
13	L4	4	251 272 296 331	0,19 0,37 0,37 0,07	7	0,412	0,687	0,624	***	0,393
14	N1	3	185 207 235	0,20 0,40 0,40	3	0,405	0,644	0,564	***	0,380
15	N2	3	185 207 235	0,20 0,40 0,40	3	0,395	0,641	0,562	***	0,392
16	Trung bình					0,408 ± 0,128	0,647 ± 0,071	0,571 ± 0,094		0,358 ± 0,19

Ghi chú: Số alen (A), Số kiểu gen (G), kích thước alen (S), dị hợp lý thuyết (H_e) và quan sát (H_o), đa hình (PIC), giá trị cận huyết (F_{IS}), Sai khác so với cân bằng Hardy – Weinberg (HWE) (sau hiệu chỉnh Bonferroni ***: $P < 0,00001$; NS: not significance, không ý nghĩa).

Các microsatellite trên các dòng tôm nghiên cứu có số lượng alen (A) tương đối thấp so với các công bố từ 2 - 4 alen, kích thước của alen (S) tập trung chủ yếu ở kích thước từ 200 - 400 bp, chỉ có hai microsatellite có kích thước alen lớn từ 400 - 600 bp là W3 và W4. Số lượng kiểu gen (G) trong khoảng trung bình là 6 kiểu gen, cao nhất là 8 kiểu gen ở hai microsatellite P1 và W10. Để giải thích lý do số lượng alen thấp hay các chỉ số đa dạng không cao thì cần phân tích lượng mẫu lớn hơn và khảo sát thêm công cụ phân tách các sản phẩm DNA đa hình với độ phân giải cao hơn (< 15bp).

Cân bằng Hardy-Weinberg: Quần thể có kích thước mẫu lớn được gọi là trong phân phối cân bằng Hardy-Weinberg (HWE) khi tần số alen và tần số kiểu gen luôn không đổi từ thế hệ này sang thế hệ khác. Kết quả nghiên cứu cho thấy chỉ có ba microsatellite P2, P4 và P5 là phân phối tuân theo cân bằng HWE, các microsatellite còn lại đều sai khác so với cân bằng HWE. Độ lệch so với cân bằng HWE có thể có nhiều nguyên nhân, trong nghiên cứu này có thể do số lượng alen thu được trong từng locus tương đối thấp (2-3 alen), chỉ số kiểu gen dị hợp tử quan sát thấp hơn chỉ số kiểu gen dị hợp tử mong đợi.

Hệ số dị hợp tử là một thước đo biến dị di truyền trong một quần thể. Trong nghiên cứu này, dị hợp tử quan sát được xác định từ 0,176 đến 0,557 (trung bình 0,407), thấp hơn dị hợp tử mong đợi (0,490 – 0,738, trung bình 0,633). Giá trị hệ số dị hợp tử thấp có thể là do quần thể bị cô lập dẫn tới xu hướng giao phối nội bộ gây nên sự mất mát các kiểu gen.

Bảng 3.2, cho thấy chỉ số cận huyết (F_{IS}) tương đối cao, trung bình là $0,358 \pm 0,19$. Giá trị F_{IS} khi vượt quá 0,125 là có thể biểu hiện trạng thái suy thoái di truyền do cận huyết trong quần thể (Tave, 1999). Chỉ có hai cặp microsatellite P2 và W10 có chỉ số $F_{IS} \sim 0,12$, hai cặp microsatellite này có thể sử dụng cho nghiên cứu sâu hơn. Điều này không loại trừ khả năng các cặp microsatellite khảo sát không đủ mạnh để phát hiện ra kiểu gen dị hợp tử trong nhóm mẫu, hoặc lỗi phân tích sàng lọc gen hay do nhóm mẫu chưa đủ đại diện kiểu gen của quần thể lớn dẫn đến kết quả quan sát bị lệch khỏi cân bằng HWE. Như vậy, trong bốn dòng tôm bố mẹ cần tiến hành phối ghép theo phả hệ để giảm thiểu nguy cơ thoái

hóa do giao phối cận huyết.

3.1.3. Đa dạng di truyền của từng dòng tôm sú vật liệu ban đầu

Đa dạng di truyền của bốn dòng tôm sú vật liệu ban đầu gồm tôm có xuất xứ từ Ấn Độ Dương (A), Gia hóa (G), Nội địa (N) và Thái Bình Dương (T) được trình bày trong Bảng 3.3.

Bảng 3. 3 Đa dạng di truyền của bốn dòng tôm sú

TT	Microsatellite	Chỉ số di truyền	Dòng tôm			
			A (n=30)	G(n=36)	N(n=40)	T(n=31)
1	W2	G	5*	5*	6*	6
		H ₀	0,5	0,52	0,606	0,19
		H _e	0,618	0,493	0,744	0,682
		PIC	0,557	0,434	0,681	0,59
		HWE	NS	ND	ND	ND
		F _{IS}	0,191	0,185	-0,054	0,721
2	W3	G	3	3	3	3
		H ₀	0,161	0,176	0,243	0,087
		H _e	0,512	0,398	0,509	0,472
		PIC	0,374	0,314	0,374	0,351
		HWE	**	ND	*	ND
		F _{IS}	0,685	0,522	0,557	0,816
3	W4	G	4	4	4	4
		H ₀	0,133	0,206	0,171	0,36
		H _e	0,676	0,708	0,732	0,748
		PIC	0,591	0,635	0,658	0,677
		HWE	**	*	ND	ND
		F _{IS}	0,803	0,766	0,709	0,519
4	W9	G	3	3	3	3
		H ₀	0,103	0,281	0,257	0,136
		H _e	0,514	0,511	0,504	0,511
		PIC	0,374	0,375	0,372	0,37
		HWE	***	NS	NS	ND
		F _{IS}	0,799	0,49	0,45	0,733
5	W10	G	8*	6	8*	7
		H ₀	0,625	0,514	0,59	0,609
		H _e	0,670	0,649	0,720	0,613

		PIC	0,594	0,566	0,654	0,569
		HWE	NS	*	NS	ND
		F _{IS}	0,067	0,181	0,208	0,074
6	P1	G	7	6	6	8
		H ₀	0,226	0,324	0,263	0,417
		H _e	0,759	0,636	0,615	0,737
		PIC	0,689	0,578	0,526	0,663
		HWE	ND	NS	NS	ND
		F _{IS}	0,703	0,572	0,49	0,435
7	P2	G	6	6*	6*	6
		H ₀	0,485	0,457	0,763	0,48
		H _e	0,627	0,615	0,654	0,651
		PIC	0,539	0,519	0,571	0,563
		HWE	NS	NS	NS	NS
		F _{IS}	0,227	-0,168	0,256	0,262
8	P4	G	6*	4*	6*	6*
		H ₀	0,6	0,588	0,462	0,609
		H _e	0,631	0,596	0,647	0,657
		PIC	0,542	0,498	0,559	0,569
		HWE	NS	NS	NS	ND
		F _{IS}	0,049	0,286	0,013	0,074
9	P5	G	5	5	5	5
		H ₀	0,452	0,457	0,359	0,56
		H _e	0,625	0,610	0,570	0,598
		PIC	0,531	0,531	0,48	0,495
		HWE	NS	NS	NS	NS
		F _{IS}	0,278	0,37	0,251	0,063
10	P7	G	7	5*	6	6*
		H ₀	0,452	0,618	0,459	0,52
		H _e	0,749	0,567	0,676	0,707
		PIC	0,684	0,501	0,613	0,64
		HWE	ND	NS	NS	NS
		F _{IS}	0,397	0,321	-0,09	0,264
11	L1	G	6*	6*	6	6*
		H ₀	0,5	0,486	0,395	0,5
		H _e	0,650	0,623	0,650	0,651
		PIC	0,565	0,53	0,565	0,563
		HWE	NS	NS	NS	NS

		F _{IS}	0,23	0,393	0,22	0,232
12	L3	G	6	6	6*	6*
		H ₀	0,367	0,472	0,553	0,6
		H _e	0,662	0,593	0,644	0,665
		PIC	0,573	0,518	0,561	0,576
		HWE	NS	NS	NS	ND
		F _{IS}	0,446	0,141	0,203	0,098
13	L4	G	6*	6	6	7
		H ₀	0,5	0,371	0,447	0,308
		H _e	0,655	0,710	0,638	0,729
		PIC	0,573	0,634	0,557	0,65
		HWE	NS	ND	NS	ND
		F _{IS}	0,236	0,299	0,477	0,578
14	N1	G	3	3	3	3
		H ₀	0,467	0,333	0,4	0,429
		H _e	0,661	0,640	0,651	0,667
		PIC	0,572	0,545	0,562	0,569
		HWE	***	***	NS	ND
		F _{IS}	0,294	0,386	0,479	0,357
15	N2	G	3	3	3	3
		H ₀	0,484	0,343	0,389	0,364
		H _e	0,665	0,640	0,647	0,649
		PIC	0,577	0,548	0,558	0,551
		HWE	***	***	NS	ND
		F _{IS}	0,272	0,399	0,465	0,44
16	Trung Bình	G	4,7	4,5	4,5	5
		H ₀	0,403	0,409	0,424	0,391
		H _e	0,645	0,599	0,640	0,649
		PIC	0,556	0,515	0,553	0,558
		F _{IS}	0,374	0,338	0,316	0,398

Ghi chú: Số kiểu gen (G), trong đó * là kiểu gen có số lượng cá thể mang gen dị hợp tử >50%; dị hợp lý thuyết (H_e) và quan sát (H₀); đa hình (PIC); giá trị cận huyết (F_{IS}). Sai khác so với cân bằng Hardy – Weinberg (HWE) (sau hiệu chỉnh Bonferroni ***: P<0,00001; **: P<0,0001, *: P<0,001); NS: không ý nghĩa; ND: không có số liệu.

Kết quả phân tích ANOVA và Post Hoc test cho thấy các thông số đa dạng di truyền gồm: số kiểu gen (G), kiểu gen dị hợp tử mong đợi (H_e), dị hợp tử quan sát (H₀), đa hình (PIC) và giá trị cận huyết (F_{IS}) giữa 04 dòng tôm không có sự sai khác có ý nghĩa (P > 0,05).

Kết quả điện di mao quản sản phẩm PCR được trình bày tại phụ lục 5.

3.1.3.1. Đa dạng kiểu gen (G)

Số kiểu gen chung trong mỗi dòng tôm nằm trong khoảng trung bình là 6 kiểu gen, thấp nhất là 3 kiểu gen, cao nhất là 8 kiểu gen được tìm thấy ở hai microsatellite P1 và W10. Số kiểu gen trung bình của cả bốn dòng tôm tương đối đồng đều từ 4,5 – 5 kiểu gen so với kiểu gen mong đợi là 7,2. Ba trong số bốn dòng tôm số lượng cá thể mang gen dị hợp tử > 50% ở 4 - 5 microsatellite: Tôm sú Ấn Độ Dương (W2, W10, P4, L1, L4), tôm sú Gia hóa (P4, P7, W2, W10) và tôm sú Nội địa (W2, W10, P2, L3). Mặc dù tôm sú Thái Bình Dương có số lượng cá thể mang gen dị hợp tử > 50% ở 6 microsatellite (P4, P5, P7, W10, L1, L3,) nhưng giá trị trung bình đa dạng kiểu gen của dòng tôm này là thấp nhất.

3.1.3.2. Dị hợp tử quan sát (H_0)

Dị hợp tử quan sát (H_0) trong nghiên cứu này có giá trị trung bình trên tất cả các cặp microsatellite đối với bốn dòng tôm Ấn Độ Dương, Gia Hóa, Nội Địa, và Thái Bình Dương lần lượt là 0,403; 0,409; 0,424 và 0,391 (Bảng 3.3) thấp hơn so với dị hợp tử mong đợi (H_e) tương ứng là 0,645; 0,599; 0,640 và 0,649. Ba dòng tôm Ấn Độ Dương, Thái Bình Dương và Nội địa có H_e tương đối đều nhau và ở mức cao (0,640 - 0,649). Chỉ có tôm Gia hóa có H_e thấp nhất là 0,599.

Khi nghiên cứu đa dạng di truyền trên bốn dòng tôm sú ở các vùng địa lý khác nhau tại Thái Lan, Sirawut Klinbunga và cộng sự (2005) công bố kết quả đa dạng di truyền tương đối cao được quan sát trên tất cả các vị trí microsatellite. Giá trị H_0 trung bình của tôm từ các vùng địa lý là 0,5694 (ở Satun), 0,4348 (ở Trang), 0,5062 (ở Phangnga), 0,472 (ở Chumphon) và 0,4500 (ở Trat). Trong khi đó, dị hợp tử mong đợi (H_e) tương ứng ở 4 vùng là 0,3926; 0,3903; 0,3235; 0,4675; 0,4084. Kết quả này cho thấy dị hợp tử quan sát cao hơn dị hợp tử mong đợi.

Như vậy, trong nghiên cứu này sự thiếu hụt dị hợp tử quan sát có thể là do sự xuất hiện của null alen hoặc kỹ thuật điện di sử dụng trong nghiên cứu không có khả năng phát hiện những alen có kích thước gần nhau (khác biệt < 10bp) của các microsatellite loci sử dụng hoặc do mức độ cận huyết của một số dòng tôm. Kết quả này cũng tương tự các nghiên cứu gần đây, cho thấy hiện trạng chung về biến dị di

truyền của tôm sú đang có xu thế suy giảm (Nahavandi và ctv., 2013) và rất cần thiết việc thành lập một quần thể bố mẹ ban đầu đa dạng vật liệu di truyền được quản lý theo phả hệ để giảm thiểu hiện tượng phối ghép các cá thể có chung huyết thống.

3.1.3.3. Thông tin đa hình (PIC)

Chỉ số PIC (*Polymorphic Information Content*) được xem là thước đo đa hình của các allele trên mỗi locus SSR (Smith và ctv., 1997). Giá trị PIC càng lớn tức là mức độ đa hình của locus do mỗi khuếch đại càng lớn (nhiều alen được sinh ra).

Trong nghiên cứu này, giá trị PIC ở bốn dòng tôm sú Ấn Độ Dương (A), Gia hóa (G), Nội địa (N) và Thái Bình Dương (T) lần lượt là 0,556; 0,515; 0,553; 0,558, trong đó giá trị PIC trung bình của dòng tôm có nguồn gốc Gia hóa là thấp nhất, tuy nhiên không có sự sai khác có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$) giữa bốn dòng tôm. Kết quả này tương tự nghiên cứu của Reza và cộng sự (2011) khi đánh giá đa dạng di truyền tôm sú nuôi và tôm sú tự nhiên tại Malaysia cho thấy giá trị PIC đối với tôm tự nhiên và tôm nuôi tương ứng là $0,6359 \pm 0,1059$; $0,4607 \pm 0,1486$.

3.1.3.4. Sai khác so với cân bằng Hardy-Weinberg (HWE)

Kết quả nghiên cứu cho thấy phần lớn các microsatellite phân tích trên dòng tôm Nội địa có phân phối tuân theo cân bằng Hardy-Weinberg. Dòng tôm Ấn Độ Dương có 5 vị trí microsatellite W3, W4, W9, N1 và N2 khác biệt ý nghĩa so với cân bằng Hardy-Weinberg. Dòng tôm Gia hóa có 4 vị trí microsatellite W4, W10, N1 và N2 khác biệt ý nghĩa với cân bằng Hardy-Weinberg. Các microsatellite trong phân tích này cho kết quả sai khác so với cân bằng Hardy-Weinberg do chỉ số kiểu gen dị hợp tử quan sát thấp hơn chỉ số kiểu gen dị hợp tử mong đợi. Quần thể có dấu hiệu cận huyết khi tăng chỉ số kiểu gen đồng hợp tử, ở một số loài tôm, điều này dẫn tới khả năng suy giảm sức tăng trưởng, tỷ lệ sống và sức sinh sản (Goyard và ctv., 2002).

3.1.3.5. Giá trị cận huyết (F_{IS})

Giá trị F_{IS} trung bình của bốn dòng tôm có xuất xứ Ấn Độ Dương, Thái Bình Dương, Nội địa và Gia hóa lần lượt là 0,374; 0,398; 0,316 và 0,338. Nhìn chung, giá trị F_{IS} ở mức trung bình đến cao, ngoại trừ ở 3 vị trí microsatellite P2, P4, W10 có giá

trị F_{IS} thấp. Kết quả nghiên cứu cho thấy dòng tôm Nội địa là tương đối tốt, có thể do mẫu thu được từ nhiều vùng và nhiều thời điểm khác nhau.

Việc cảnh báo về mức độ cận huyết là cần thiết cho chương trình chọn giống bởi vì nếu quần thể có mức độ cận huyết cao sẽ dẫn đến tình trạng thiếu hụt dị hợp tử, không đảm bảo tiêu chuẩn chọn làm con giống cho một số tính trạng đang và sẽ tiến hành chọn lọc. Ở một số nghiên cứu biến dị di truyền, hiện tượng suy giảm đa dạng di truyền hay dư thừa kiểu gen đồng hợp tử cũng có thể là kết quả của quần thể bố mẹ tham gia sinh sản ban đầu quá nhỏ (Dunham và ctv., 2007). Như vậy, trong bốn dòng tôm bố mẹ khảo sát cần phải tiến hành chọn lọc phối ghép theo phả hệ để giảm thiểu nguy cơ thoái hóa do giao phối cận huyết.

3.1.3.6. Sai khác di truyền giữa các dòng tôm (F_{ST})

Sai khác di truyền giữa 4 dòng tôm sú được trình bày ở Bảng 3.4.

Bảng 3. 4 Sai khác di truyền giữa các dòng tôm

Dòng tôm	A	G	T	N
A	0	0,0555/0,00833*	0,0048/0,3833 ^{NS}	0,0172/0,1916 ^{NS}
G	0,0555	0	0,0494/0,00833*	0,0488/0,00833*
T	0,0048	0,0494	0	0,0164/0,1333 ^{NS}
N	0,0172	0,0488	0,0164	0

*Ghi chú: * mức ý nghĩa sau khi hiệu chỉnh Bonferroni $P \leq 0,00833$, NS (no significant): không khác biệt có ý nghĩa. Số liệu phía trên của đường chéo trong bảng là sai khác di truyền. Số liệu phía dưới của đường chéo trong bảng là khoảng cách di truyền.*

Qua phân tích kết quả của nghiên cứu trong Bảng 3.4 cho thấy, sự khác biệt giữa các dòng tôm (Ấn Độ Dương, Thái Bình Dương), (Ấn Độ Dương, Nội địa) và (Thái Bình Dương, Nội địa) là không có ý nghĩa. Tuy nhiên, dòng tôm Gia hóa có khác biệt ý nghĩa so với cả ba dòng tôm Ấn Độ Dương, Thái Bình Dương, Nội địa; cụ thể $F_{st} = 0,0555$ ($P = 0,00833$) so với tôm Ấn Độ Dương; $F_{st} = 0,0494$ ($P = 0,00833$) so với tôm Thái Bình Dương và $F_{st} = 0,0488$ ($P = 0,00833$) so với tôm Nội địa. Kết quả cho thấy, sai khác di truyền giữa các dòng tôm có nguồn gốc tự nhiên là

thấp. Trong khi đó sai khác di truyền giữa dòng tôm gia hóa (G) và các dòng tôm tự nhiên ở mức trung bình (Nei, 1974). Kết quả này tương tự kết quả nghiên cứu của Sirawut và cộng sự (2005) khi nghiên cứu đa dạng di truyền các dòng tôm sú trên Vịnh Thái Lan.

Tóm tắt các kết quả nghiên cứu đạt được:

1. Dựa vào kết quả khảo sát, chọn ra được 29 microsatellite có sản phẩm khuếch đại tốt. Sử dụng 29 cặp mồi này để phân tích mồi đa hình trên 28 mẫu ADN tôm ngẫu nhiên, từ đó đánh giá hiệu suất PCR và số allel của từng cặp mồi để sàng lọc và chọn ra các microsatellite cho hiệu suất tốt nhất. Kết quả xác định được tổng số 15 microsatellite được sử dụng để phân tích, đánh giá biến dị di truyền của bốn dòng tôm sú Ấn Độ Dương, Thái Bình Dương, Gia hóa và Nội địa nhằm cung cấp cơ sở khoa học cho chương trình chọn giống tôm sú quốc gia.

2. Kết quả khảo sát đa dạng di truyền của 15 microsatellite trên bốn dòng tôm sú vật liệu ban đầu cho thấy: Chỉ có ba microsatellite (P2, P4 và P5) là phân phối tuân theo cân bằng HWE, các microsatellite còn lại lệch khỏi cân bằng HWE. Điều này tương thích với kết quả dị hợp tử quan sát (H_0) được xác định trong nghiên cứu từ 0,176 đến 0,557, trung bình 0,407 thấp hơn dị hợp tử mong đợi (0,490 – 0,738), trung bình 0,633. Giá trị cận huyết (F_{IS}) tương đối cao, trung bình là $0,357 \pm 0,19$. Giá trị F_{IS} khi vượt quá 0,125 là có thể biểu hiện trạng thái suy thoái di truyền do cận huyết trong quần thể hoặc có thể do ảnh hưởng của quần thể nhỏ. Các thông số vừa nêu cho thấy một số hạn chế về tính đa dạng di truyền chung của 4 dòng tôm sú bố mẹ được sử dụng làm vật liệu ban đầu.

3. Kết quả khảo sát đa dạng di truyền bên trong từng dòng tôm cho thấy chỉ số kiểu gen dị hợp tử quan sát (H_0) trong nghiên cứu này có giá trị trung bình trên tất cả các microsatellite là 0,41 thấp hơn so với hệ số dị hợp tử mong đợi (H_e) là 0,63. Trong bốn nhóm mẫu phân tích, chỉ số PIC (thông tin đa hình) trung bình của dòng Gia hóa là thấp nhất 0,515; ba dòng tôm còn lại tương đương 0,554. Các microsatellite phân tích trên dòng tôm Nội địa có phân phối tuân theo cân bằng Hardy-Weinberg. Giá trị cận huyết F_{IS} của dòng tôm Nội địa là thấp nhất (0,316) so với ba dòng tôm có xuất xứ Ấn Độ Dương, Thái Bình Dương và Gia hóa (lần lượt là 0,374; 0,398;

0,338). Giá trị đa dạng gen của ba dòng tôm Ấn Độ Dương, Thái Bình Dương và Nội địa tương đối đều nhau và ở mức cao, tương đương 0,645. Dòng tôm Gia hóa có chỉ số đa dạng gen thấp nhất là 0,599 và có sự biến động lớn trong quần thể (0,398 – 0,710). Dòng tôm Gia hóa có sự sai khác di truyền có ý nghĩa ($P < 0,05$) so với các dòng tôm còn lại.

3.2. Đánh giá tăng trưởng các dòng tôm sú

3.2.1. Sàng lọc bệnh trên các dòng tôm bố mẹ vật liệu ban đầu

Kết quả sàng lọc bằng các kỹ thuật PCR khác nhau đối với 4 loại virus nguy hiểm thường gặp bao gồm bệnh đốm trắng (WSSV), bệnh hoại tử cơ quan tạo máu (IHHNV), bệnh đầu vàng (YHV/GAV) và bệnh còi (LSNV) cho thấy tỷ lệ tôm sạch bệnh là 48,0% đối với tôm cái và 54,5% đối với tôm đực (Bảng 3.5).

Bảng 3. 5 Kết quả sàng lọc bệnh trên các dòng tôm làm vật liệu ban đầu

Dòng tôm	Số tôm nhập về (con)		Số tôm sạch bệnh (con)		% tôm sạch bệnh	
	Cái	Đực	Cái	Đực	Cái	Đực
Ấn Độ Dương (A)	76	71	39	34	51,3	47,9
Gia hóa (G)	62	61	62	61	100	100
Nội địa (N)	236	186	51	74	21,6	39,8
Thái Bình Dương (T)	86	58	69	36	80,2	62,1
Tổng	460	376	221	205	48,0	54,5

Kết quả phân tích cho thấy, dòng tôm gia hóa có tỷ lệ sạch bệnh cao nhất (100%) do được sản xuất và nuôi dưỡng trong điều kiện an toàn sinh học cao. Khi quan tâm đến các dòng tôm có nguồn gốc tự nhiên, kết quả sàng lọc bệnh cho thấy tỷ lệ sạch bệnh đạt thấp nhất ở dòng nội địa với tỷ lệ là 21,6% trên tôm cái và 39,7% trên tôm đực. Các dòng tôm tự nhiên nhập nội có tỷ lệ sạch bệnh tương đối cao hơn (do đã phải thông qua bước kiểm dịch, tuy nhiên không thể sạch bệnh 100% như kỳ vọng) và đạt cao nhất là 80,2% trên tôm cái nhập từ Singapore (nguồn gốc Thái Bình Dương). Đối với tôm đực của hai dòng Thái Bình Dương và Ấn Độ Dương tỷ lệ sạch bệnh thấp hơn tôm cái. FAO (2003) đã đưa ra khuyến cáo “con đường đơn giản nhất để giải quyết vấn đề chất lượng con giống là chuyển đổi từ việc sử dụng con giống

sinh ra từ tôm bố mẹ đánh bắt tự nhiên sang con giống được sản xuất từ các quần đàn gia hóa”. Thông qua kết quả sàng lọc, số lượng tôm bố mẹ sạch bệnh đủ điều kiện để đưa vào nuôi vỗ thành thực và ghép cặp cho sinh sản.

Các giải pháp tối ưu cho an toàn sinh học được trình bày chi tiết ở phần phương pháp nghiên cứu và được triển khai nghiêm túc và chặt chẽ ở tất cả các công đoạn trong toàn bộ vòng đời của đối tượng nghiên cứu.

3.2.2. Tạo các gia đình và tổ hợp lai

Vật liệu ban đầu cho chọn giống tạo ra được 69 gia đình full-sibs từ 16 tổ hợp lai để hình thành thế hệ G_0 . Tuy nhiên, trong triển khai nghiên cứu cho thấy việc ghép cặp và cho sinh sản các cặp phối ghép tôm sú có nguồn gốc khác nhau bằng cấy tinh nhân tạo là một thách thức về kỹ thuật. Do đó khi phân tích trong 69 gia đình full-sibs cho thấy trong nhóm 12 gia đình full-sibs có 6 cặp gia đình half-sibs đôi ($6 \times 2 = 12$ gia đình full-sibs), trong nhóm 15 gia đình full-sibs kế tiếp có 5 cặp gia đình half-sibs ba ($5 \times 3 = 15$ gia đình full-sibs) và 42 gia đình full-sibs mà không có half-sibs tương ứng. Số lượng 69 gia đình là con số chấp nhận được đảm bảo tốt cho phân tích và xử lý số liệu. Số lượng này cao hơn các nghiên cứu chọn giống trên tôm sú (Benzie và ctv., 1997; Kenway và ctv., 2006; Macbeth và ctv., 2007; Coman và ctv., 2010; Krishna và ctv., 2011) và tương đương với nghiên cứu chọn giống tôm thẻ (Argue và ctv., 2002; Gitterle và ctv., 2005a,b; Gitterle và ctv., 2006) trên thế giới.

Số lượng các gia đình được ương nuôi thành công đến kích cỡ đánh dấu, thả nuôi chung được thể hiện ở Bảng 3.6.

Bảng 3. 6 Số lượng gia đình ương nuôi thành công từ 16 tổ hợp lai

Giới tính	Đực					
Cái	Dòng tôm	A	G	N	T	Tổng cộng
	A	7	5	5	5	22
	G	2	1	2	3	8
	N	4	6	6	5	21
	T	4	4	4	6	18
	Tổng cộng	16	17	17	19	69

Khi phân tích số liệu ở Bảng 3.6 cho thấy có sự cân bằng tương đối của các dòng về tỷ lệ tôm bố mẹ tham gia tạo vật liệu cho thế hệ G_0 . Đối với dòng gia hóa (G), tôm đực thành thực tốt nên tỷ lệ phối ghép với các nhóm còn lại (A,T,N) đạt kết quả tốt, riêng tôm cái do thành thực sinh dục không tốt nên việc tham gia vào các phép lai còn hạn chế. Trong Bảng 3.7, tỷ lệ đóng góp di truyền của dòng Nội địa (N) là cao nhất và thấp nhất là dòng Gia hóa (lần lượt là 28,7% và 20,4%).

Bảng 3. 7 Tỷ lệ tham gia của các dòng tôm vật liệu ban đầu vào 16 phép lai để tạo thế hệ G_0

Dòng tôm	Ấn Độ Dương (A)		Gia hóa (G)		Nội địa (N)		Thái Bình Dương (T)	
Giới tính	Cái	Đực	Cái	Đực	Cái	Đực	Cái	Đực
Số lượng	19	10	6	16	17	14	13	13
Tỷ lệ tham gia vào các tổ hợp lai (%)	34,5	18,9	10,9	30,2	30,9	26,4	23,6	24,5
Tổng số (đực + cái)	29 (chiếm 26,9 %)		22 (chiếm 20,4 %)		31 (chiếm 28,7 %)		26 (chiếm 24,1%)	

Về lý thuyết, tỷ lệ đóng góp vật liệu di truyền của từng dòng tôm cân bằng, tương ứng 25% là tốt nhất. Tuy nhiên, dựa vào tình trạng thành thực và khả năng tham gia sinh sản thành công của dòng tôm hiện có, tỷ lệ tôm cái dòng A và N đóng góp vào các tổ hợp lai chiếm tỷ lệ lớn nhất tương ứng 34,5% và 30,9%. Có sự chênh lệch lớn về tỷ lệ góp vật liệu di truyền giữa tôm cái (tôm mẹ) và tôm đực (tôm bố) trong cùng một dòng tôm (tôm Ấn Độ Dương, tôm Gia hóa). Sự chênh lệch cũng thể hiện rõ ở tỷ lệ đóng góp tôm mẹ ở dòng tôm Ấn Độ Dương 34,5% so với tôm mẹ Gia hóa 10,9% và tôm bố Ấn Độ Dương 18,9% so với tôm bố Gia hóa 30,2%. Điều này cho thấy có sự khác biệt khá lớn về khả năng tham gia sinh sản của tôm đực và cái của hai dòng tôm Gia hóa và Ấn Độ Dương.

3.2.3. Ương nuôi các gia đình tôm từ 16 phép lai (thế hệ G_0)

3.2.3.1. Ương nuôi từ nauplius đến hậu ấu trùng 15

Biến động các yếu tố môi trường trong bể ương nuôi ấu trùng nằm trong khoảng dao động phù hợp với ương nuôi ấu trùng tôm sú: Độ mặn nước trong bể ương tương ứng với nguồn nước biển cấp vào, biến động không lớn trong suốt quá

trình ương, luôn ở mức 32 – 33‰, nhiệt độ 27,0 – 30,5 °C, pH từ 7,6 – 8,4 và có xu hướng giảm theo thời gian ương nuôi, NH₃ từ 0,00 đến 0,09 (mg/l) và có xu hướng tăng dần theo thời gian ương nuôi; độ kiềm tương đương với nguồn nước biển cấp vào, dao động từ 120 – 140 mg CaCO₃/lít.

Ngoài yếu tố tình trạng thành thực và khả năng tham gia sinh sản của từng dòng tôm sau khi sàng lọc bệnh, các yếu tố khác như: cơ sở hạ tầng, quản lý, chăm sóc, kỹ thuật nuôi thành thực, sinh sản, ghép cặp và ương nuôi riêng biệt một số lượng lớn các gia đình trong một giới hạn thời gian nhất định trong điều kiện an toàn sinh học cao nhất có thể thực hiện được đã có ảnh hưởng rất lớn đến số lượng thành công của các tổ hợp lai được ương nuôi đến giai đoạn thu hoạch và xử lý số liệu.

Tổng số 69 gia đình được sản xuất từ 16 tổ hợp lai được ương nuôi thành công lên tôm hậu ấu trùng 15. Số lượng các gia đình của từng tổ hợp lai cũng rất khác nhau, trong đó tổ hợp lai cùng dòng tôm Ấn Độ Dương đạt cao nhất (7 gia đình) và tổ hợp lai cùng dòng tôm Gia hóa đạt thấp nhất (1 gia đình), kết quả trình bày ở Bảng 3.8.

Bảng 3. 8 Kết quả ương nuôi 69 gia đình thế hệ G₀ từ nauplius đến hậu ấu trùng 15

STT	Tổ hợp lai	Số lượng gia đình	Tỷ lệ sống (%)
1	T × T	6	63,3 ± 6,3 ^a
2	T × N	4	57 ± 10,9 ^a
3	T × G	4	59 ± 6,6 ^a
4	T × A	4	60,5 ± 13,9 ^a
5	N × N	6	51 ± 4,3 ^a
6	N × G	6	49 ± 13,3 ^a
7	N × T	5	55,6 ± 8,3 ^a
8	N × A	4	52,5 ± 10,3 ^a
9	G × G	1	50 ^a
10	G × N	2	60 ± 8,49 ^a
11	G × T	2	49 ± 1,41 ^a
12	G × A	2	44 ± 2,83 ^b
13	A × A	7	49,1 ± 23,8 ^a
14	A × T	6	46,7 ± 22,97 ^a
15	A × N	5	60 ± 3,16 ^a
16	A × G	5	54,4 ± 5,6 ^a

Ghi chú: Giá trị trong cùng một cột có ký hiệu chữ cái khác nhau là sai khác có ý nghĩa ($P < 0,05$). A: Ấn Độ Dương; T: Thái Bình Dương; G: Gia hóa; N: Nội địa.

Kết quả ương nuôi 69 gia đình từ nauplius đến hậu ấu trùng 15 đạt tỷ lệ sống từ 44 – 63,3%, không có sai khác ý nghĩa về tỷ lệ sống của tôm giữa các tổ hợp lai, ngoại trừ tỷ lệ sống của tôm ở tổ hợp lai $G \times A$. Với tỷ lệ sống của tôm đạt được ở các tổ hợp lai, số lượng hậu ấu trùng của từng gia đình đáp ứng yêu cầu bố trí thí nghiệm nuôi đánh giá tăng trưởng và nuôi trong hệ thống bể an toàn sinh học.

3.2.3.2. Nuôi từ hậu ấu trùng 15 đến kích cỡ đánh dấu

Tôm hậu ấu trùng giai đoạn hậu ấu trùng 15 sạch bệnh được chọn với số lượng 1500 con/gia đình chuyển sang hệ thống nuôi đến kích cỡ đánh dấu. Các thông số môi trường nuôi biến động theo thời gian nuôi và mức độ thay nước, cụ thể hàm lượng NH_3 biến động trong khoảng 0,029 mg/l đến 0,072 mg/l), Nitrite NO_2^- từ 0,031 mg/l đến 0,131 mg/l, độ kiềm từ 120 – 123 mg CaCO_3 /l, pH từ 7,5 - 8,5.

Nhìn chung, các thông số môi trường đều nằm trong khoảng cho phép đối với sự phát triển của tôm. Tôm sau 30 ngày nuôi từ hậu ấu trùng 15, trung bình các gia đình tôm đạt khối lượng và chiều dài tương ứng 0,4 g và 2,8 cm. Tôm 60 ngày tuổi, trung bình khối lượng đạt $2,0 \pm 0,5$ g và chiều dài $4,5 \pm 0,4$ cm (Bảng 3.9)

Bảng 3. 9 Khối lượng và chiều dài tôm nuôi từ hậu ấu trùng 15 đến cỡ đánh dấu

Ngày nuôi	30 ngày	45 ngày	60 ngày
Khối lượng (g)	$0,4 \pm 0,1$	$1,0 \pm 0,3$	$2,0 \pm 0,5$
Chiều dài (cm)	$2,8 \pm 0,2$	$3,5 \pm 0,3$	$4,5 \pm 0,4$

Ghi chú: Giá trị trong bảng là: trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn

Tỷ lệ sống trung bình của 69 gia đình giai đoạn từ 1- 30 ngày đạt $88,1 \pm 6,5$ % và giai đoạn từ 31 đến 60 ngày đạt $93,1 \pm 5,9$ % (Bảng 3.10).

Bảng 3. 10 Tỷ lệ sống (%) từ hậu ấu trùng 15 đến cỡ đánh dấu

Ngày nuôi	Số gia đình	từ 1 – 30 ngày	từ 31 – 60 ngày
Trung bình $\pm$ SD	69	$88,1 \pm 6,5$	$93,1 \pm 5,9$
Thấp nhất	69	65,7	66,7
Cao nhất	69	95,1	98,7

Ghi chú: Giá trị trong bảng là: trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn

Sau 60 ngày nuôi từ giai đoạn 15, tổng số 69 gia đình tôm sú thể hệ G_0 trước khi đánh dấu nuôi trong hệ thống an toàn sinh học và nuôi đánh giá ngoài thực địa được lấy mẫu phân tích 4 loại virus gây bệnh thường gặp trên tôm sú (WSSV, IHHNV, YHV, LSNV), kết quả đều âm tính với các mầm bệnh virus.

Dựa vào kết quả sàng lọc bệnh các gia đình tôm sú thể hệ G_0 được đánh dấu nuôi trong hệ thống an toàn sinh học và nuôi đánh giá tăng trưởng trong ao đất ở bốn vùng địa lý khác nhau. Kết quả xây dựng các tổ hợp màu và mã hóa các tổ hợp màu dùng đánh dấu cho tôm của 69 gia đình được trình bày tại phụ lục 4.

3.2.4. Tăng trưởng của tôm nuôi trong bể an toàn sinh học

3.2.4.1. Thống kê mô tả và các yếu tố ảnh hưởng đến tăng trưởng của tôm thể hệ G_0

Sau khi được đánh dấu và thả nuôi chung 80 ngày trong bể an toàn sinh học, tiến hành thu hoạch và thu thập số liệu khối lượng thân của 1.803 cá thể có nguồn gốc từ đầy đủ 69 gia đình với khối lượng trung bình đạt 26,1g. Tỷ lệ tôm cái (52,6%) cao hơn so với tôm đực (47,4%). Tôm cái có khối lượng khi thu hoạch cao hơn ($P < 0,05$) so với tôm đực. Tổng số 69 gia đình tôm kiểm tra đều âm tính với 4 loại bệnh virus (WSSV, IHHNV, YHV, LSNV).

Bảng 3. 11 Thống kê mô tả tính trạng khối lượng của tôm thể hệ G_0

Nhóm tôm	Số cá thể (con)	Khối lượng trung bình (gram)	Hệ số biến thiên (CV - %)
Cả quần đàn	1.816	$26,1 \pm 0,14$	22,2
Tôm cái	962	$27,8 \pm 0,19^a$	21,4
Tôm đực	854	$24,2 \pm 0,17^b$	20,5

Ghi chú: số liệu khối lượng là giá trị trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn ($TB \pm SD$)

Hệ số biến thiên khối lượng của cả đàn tôm, của tôm đực, tôm cái gần như tương đương nhau, dao động trong khoảng 20,5 - 22,2%, trung bình 21,3 %. Mức độ biến dị khá cao về kiểu hình tính trạng khối lượng ở cả tôm đực và tôm cái (20,5-21,4%) cho phép dự đoán quần đàn tôm sú trong nghiên cứu này có tiềm năng để cải thiện chất lượng di truyền trong các thế hệ chọn giống tiếp theo. Biến dị kiểu hình

của đàn tôm sú G_0 trong nghiên cứu này (22,2%) thấp hơn so với một số kết quả đã được công bố trên tôm càng xanh (*Macrobrachium rosenbergii*) và tôm nước ngọt của Úc (*C. destructor*) (khoảng 42%) (Jerry và ctv., 2002; Hung và ctv., 2013a); tương đương với ước tính trên tôm thẻ chân trắng (*L. vannamei*) (15 - 29%) (Gitterle và ctv., 2005a) hoặc tôm thẻ thân xanh (*P. stylirostris*) (19%) (Lester, 1983). Để tăng cường hơn nữa mức độ biến dị của vật liệu hiện có, có thể bổ sung (tích hợp thêm) bằng các nguồn tôm bố mẹ khác hoặc tích hợp thêm tôm cái có nguồn gốc nhóm Gia hóa vì vật liệu cho chọn giống ban đầu có tỷ lệ góp vật liệu di truyền còn hạn chế của nhóm này. Kết quả rà soát các yếu tố cố định và hiệp biến trong mô hình tuyến tính được trình bày trong Bảng 3.12. Có 5 yếu tố đơn và một tương quan hai chiều có ảnh hưởng ý nghĩa.

Bảng 3. 12 Các yếu tố ảnh hưởng cố định trong mô hình tuyến tính

Quần đàn	Các yếu tố ảnh hưởng	DF	F value	Pr > F
Tổng hợp	Tổ hợp lai (cross)	15	23,52	<,0001
	Giới tính (sex)	1	204,25	<,0001
	Tuổi	1	107,63	<,0001
	Khối lượng đánh dấu (bwtag)	1	124,23	<,0001
	Bể nuôi (raceway)	3	20,15	<,0001
	Tổ hợp lai * Bể nuôi (cross*raceway)	45	1,44	0,0314
	Tổ hợp lai (damcross)	3	24,07	<,0001
Theo dòng tôm mẹ	Giới tính (sex)	1	191,18	<,0001
	Tuổi	1	144,33	<,0001
	Khối lượng đánh dấu (bwtag)	1	117,79	<,0001
	Bể nuôi (raceway)	3	20,00	<,0001
	Tổ hợp lai * Bể nuôi (damcross*raceway)	9	0,93	0,4964
	Tổ hợp lai (sirecross)	3	63,16	<,0001
Theo dòng tôm bố	Giới tính (sex)	1	208,42	<,0001
	Tuổi	1	168,35	<,0001
	Khối lượng đánh dấu (bwtag)	1	157,34	<,0001
	Bể nuôi (raceway)	3	21,84	<,0001
	Tổ hợp lai * Bể nuôi (sirecross*raceway)	9	1,71	0,0815
	Tổ hợp lai (sirecross)	3	63,16	<,0001

Khảo sát mô hình tuyến tính đối với tôm bố (yếu tố cross được thay bằng

sirecross) và tôm mẹ (yếu tố cross được thay bằng damcross) cũng cho kết quả tương tự như với các yếu tố đưa vào mô hình toán với số liệu tổng thể bao gồm ảnh hưởng tổng hợp, đồng thời của cả tôm mẹ và tôm bố.

3.2.4.2. Tăng trưởng của tôm giữa các tổ hợp lai

Tôm sau khi đánh dấu theo gia đình được nuôi chung trong 4 bể nước chảy tuần hoàn đáy cát, mật độ thả 8 con/m², kích cỡ đánh dấu trung bình $2,01 \pm 0,5$ g/con, các yếu tố môi trường nằm trong khoảng thích hợp cụ thể pH: $8,1 \pm 0,1$; Độ mặn (‰): $32,0 \pm 1,1$; độ kiềm: $130,0 \pm 13,4$; Nhiệt độ (°C): $30,0 \pm 0,8$.

Bảng 3. 13 Kết quả phân tích số liệu tăng trưởng (khối lượng thân tính theo LSM) của tôm thế hệ G₀ ở các tổ hợp lai

TT	Tổ hợp lai	SL. gia đình	Số cá thể (n)	Khối lượng thân (g) $\pm$ SD	Tỷ lệ sống (%)
1	T $\times$ G	4	123	$31,6^e \pm 0,43$	$87,85^c \pm 1,42$
2	G $\times$ G	1	54	$30,1^{de} \pm 0,77$	$77,14^{bc} \pm 8,08$
3	G $\times$ N	2	103	$28,4^{cde} \pm 0,46$	$85,71^{bc} \pm 24,74$
4	N $\times$ G	6	157	$27,5^{bcd} \pm 0,41$	$74,76^{bc} \pm 14,27$
5	G $\times$ A	2	55	$27,1^{abcd} \pm 0,66$	$78,57^{bc} \pm 22,22$
6	A $\times$ G	5	139	$26,9^{abcd} \pm 0,40$	$78,28^{bc} \pm 20,36$
7	G $\times$ T	2	46	$26,7^{abcd} \pm 0,77$	$43,80^a \pm 8,08$
8	N $\times$ N	6	147	$25,4^{abc} \pm 0,41$	$70,00^{abc} \pm 16,92$
9	T $\times$ N	4	88	$25,2^{abc} \pm 0,54$	$62,85^{abc} \pm 14,19$
10	A $\times$ T	6	155	$25,0^{abc} \pm 0,40$	$88,57^c \pm 5,34$
11	A $\times$ A	7	172	$24,9^{abc} \pm 0,37$	$81,90^{bc} \pm 24,08$
12	T $\times$ A	4	110	$24,8^{abc} \pm 0,45$	$78,57^{bc} \pm 9,75$
13	N $\times$ T	5	117	$24,8^{abc} \pm 0,43$	$66,85^{abc} \pm 9,16$
14	T $\times$ T	6	122	$24,6^{abc} \pm 0,50$	$58,09^{ab} \pm 18,57$
15	A $\times$ N	5	139	$23,9^{ab} \pm 0,42$	$75,42^{bc} \pm 24,71$
16	N $\times$ A	4	89	$23,3^a \pm 0,51$	$63,57^{abc} \pm 14,63$

Ghi chú: A: Ấn Độ Dương, T: Thái Bình Dương, N: Nội địa, G: Gia Hóa. Số liệu được trình bày theo dạng trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn. Các số có ký tự khác nhau thì sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$)

Các phép lai được sắp xếp thứ tự theo trung bình khối lượng thân khi thu hoạch và sự sai khác về tăng trưởng giữa các phép lai đã được so sánh và trình bày trong Bảng 3.13.

Kết quả so sánh tăng trưởng giữa các tổ hợp lai cùng dòng và các tổ hợp lai khác dòng cho thấy có sự khác nhau khá rõ rệt. Trong các phép lai cùng dòng thì tổ hợp lai của dòng tôm Gia hóa (GxG) cho kết quả tăng trưởng tốt nhất sau đó lần lượt là các tổ hợp lai Nội địa (NxN) và hai dòng tôm nhập nội (AxA và TxT). Sự sai khác về tăng trưởng này có thể được giải thích một phần là do ảnh hưởng của quá trình gia hóa tôm bố mẹ tạo ra. Dòng tôm Nội địa được đánh bắt ở những vùng biển của Việt Nam, nơi có những điều kiện chung về sinh thái gần gũi với điều kiện nuôi tăng trưởng nên tốc độ tăng trưởng tốt hơn so với hai nhóm Thái Bình Dương và Ấn Độ Dương.

Kết quả của nghiên cứu này hoàn toàn trùng khớp với những kết quả đã được công bố trước đây trên tôm càng xanh (Thanh và ctv., 2009). Tác giả cũng công bố tôm càng xanh đã được gia hóa (dòng Hawaii) hơn 15 thế hệ cho tốc độ tăng trưởng tốt hơn so với hai dòng tôm có nguồn gốc hoang dã, mặc dù xuất xứ từ Việt Nam (dòng Mekong và dòng Đồng Nai). Qua đó, có thể thấy những dòng tôm gia hóa thường cho kết quả tăng trưởng tốt hơn theo thời gian do chúng thích ứng ngày càng tốt với điều kiện nuôi nhốt nhân tạo. Những phát hiện tương tự cũng được tìm thấy trên một số đối tượng nuôi thủy sản khác như trên cá nheo Mỹ (Burnside và ctv., 1975) và cá nheo châu Phi (*Heterobranchus longifilis*) trừ khi những dòng gia hóa này đã bị cận huyết nghiêm trọng.

Kết quả so sánh tăng trưởng giữa các tổ hợp lai giữa các dòng tôm cho thấy có sự hiện diện ưu thế lai trong một số tổ hợp lai nhất định. Ưu thế lai thể hiện rõ nhất khi lai giữa những dòng cách xa nhau về nguồn gốc địa lý hoặc về mặt di truyền. Trong nghiên cứu này, ưu thế lai thể hiện rõ khi lai giữa dòng tôm Gia hóa (G) với các dòng tôm tự nhiên (N, A, T) (chiếm 6/7 phép lai cho kết quả tốt nhất). Trong số 6 phép lai cho kết quả tốt nhất tương ứng từ $26,7 \pm 0,77g$ đến $31,6 \pm 0,43g$, (trừ tổ hợp lai cùng dòng G x G) thì đều là phép lai của dòng tôm gia hóa (G) với ba dòng tôm còn lại. Trong các tổ hợp lai này, tôm gia hóa có thể là tôm mẹ hoặc tôm

bố. Mặc dù tổ hợp lai giữa dòng tôm mẹ Thái Bình Dương với tôm bố gia hóa cho kết quả tốt nhất nhưng không ổn định vì ở phép lai ngược lại chỉ cho kết quả đứng hàng thứ 7. Tổ hợp lai giữa dòng tôm gia hóa với tôm Nội địa ($G \times N$ và $N \times G$) cho kết quả tăng trưởng tốt, ổn định cả tổ hợp lai “xuôi” và lai “ngược”.

Điều này càng củng cố thêm nhận định sự góp “vật liệu di truyền” của dòng gia hóa (G) và dòng tôm tự nhiên nhưng sinh sống trong điều kiện sinh thái gần giống với môi trường phát triển của sinh vật (N) sẽ cho kết quả tăng trưởng tốt nhất. Kết quả này cho thấy tầm quan trọng của quá trình gia hóa tôm bố mẹ cũng như hiệu quả của phương pháp lai. Thanh và ctv (2009) cho rằng có thể có sự ảnh hưởng của “hướng lai” (hướng lai là cách tiếp cận khai thác ưu thế lai của một bên có nguồn gốc gia hóa và một bên khác có nguồn gốc hoang dã) đến hiệu quả của phương pháp lai xa. Cụ thể tác giả thấy hướng lai giữa tôm đực của dòng gia hóa (Hawaii) với tôm cái tự nhiên (Mekong và Đồng Nai) cho kết quả tăng trưởng ở thế hệ con là tốt nhất nhưng hướng lai ngược lại giữa tôm cái của dòng gia hóa (Hawaii) với tôm đực tự nhiên đều cho kết quả không tốt.

Tác giả cũng đề cập đến khả năng có thể có sự ảnh hưởng của yếu tố tôm mẹ (maternal effect) hoặc yếu tố tôm bố (paternal effect) trong các tổ hợp lai xa. Ở chiều ngược lại, những tổ hợp lai giữa những dòng tôm tự nhiên (ví dụ: NA, NT, TA,...) thường cho kết quả tăng trưởng kém hơn. Trong số 5 tổ hợp lai cho kết quả tăng trưởng kém nhất thì có đến 4 tổ hợp lai giữa các dòng tôm tự nhiên, trong đó có 3 phép lai có sự tham gia của dòng Nội địa hoặc dòng Ấn Độ Dương. Tỷ lệ sống của tôm ở các tổ hợp lai dao động tương đối lớn, thấp nhất $43,80 \pm 8,08 \%$ và cao nhất $88,57 \pm 5,34 \%$. Tăng trưởng hàng ngày đạt trung bình $0,29\text{g/con/ngày}$, đặc biệt có gia đình đạt $0,42\text{g/con/ngày}$.

Tuy nhiên, tăng trưởng của tôm ở các tổ hợp lai ảnh hưởng tổng hợp (50 : 50) của mẹ và bố. Ảnh hưởng của từng yếu tố: tôm mẹ, tôm bố được thể hiện qua kết quả so sánh tăng trưởng của thế hệ con với nguồn gốc tôm mẹ và tôm bố khác nhau được trình bày trong Bảng 3.14 và Bảng 3.15.

Bảng 3. 14 Khối lượng thân (tính theo LSM) của tôm ở các tổ hợp lai theo tôm mẹ

Tổ hợp lai theo tôm mẹ	Số cá thể (con)	Khối lượng thân (g)
A	605	25,1 ± 0,22 ^a
G	258	28,0 ± 0,34 ^b
N	510	25,5 ± 0,24 ^a
T	443	26,8 ± 0,26 ^b

Ghi chú: A: Ấn Độ Dương; T: Thái Bình Dương; N: Nội địa; G: Gia hóa. Số liệu được trình bày theo dạng trung bình ± độ lệch chuẩn. Giá trị trong cùng một cột có chữ cái khác nhau là sai khác có ý nghĩa ($P < 0,05$).

Bảng 3.14 cho thấy các dòng tôm mẹ khác nhau cho kết quả tăng trưởng khác nhau ở thế hệ con trong đó dòng tôm mẹ Gia hóa (G) và dòng tôm mẹ Thái Bình Dương (T) cho kết quả tăng trưởng tốt hơn so với hai dòng tôm còn lại ($P < 0,05$). Tương tự, các dòng tôm bố khác nhau cũng ảnh hưởng đến tăng trưởng của thế hệ con, trong đó dòng tôm bố Gia hóa cho kết quả tăng trưởng tốt hơn so với ba dòng tôm còn lại. Khác với tôm mẹ, do tỷ lệ tham gia vào thế hệ G_0 xét về tôm bố giữa các dòng là tương đối đồng đều, vì vậy số lượng cá thể từ các tôm bố khác nhau cũng có sự đồng đều hơn so với tôm mẹ.

Bảng 3. 15 Khối lượng thân (tính theo LSM) của tôm ở các tổ hợp lai theo tôm bố

Phép lai theo tôm bố	Số cá thể (con)	Khối lượng thân (g)
A	426	24,7 ± 0,24 ^a
G	473	28,7 ± 0,23 ^b
N	477	25,6 ± 0,2 ^a
T	440	25,0 ± 0,23 ^a

Ghi chú: A: Ấn Độ Dương; T: Thái Bình Dương; N: Nội địa; G: Gia hóa. Số liệu được trình bày theo dạng trung bình ± độ lệch chuẩn. Giá trị trong cùng một cột có chữ cái khác nhau là sai khác có ý nghĩa ($P < 0,05$).

Hiện tượng tăng trưởng theo giới tính được biết đến rộng rãi trong đa số

các loài tôm trong đó có tôm thẻ chân trắng (*P. vannamei*) (Argue và ctv., 2002; Pérez-Rostro và Ibarra, 2003a) và tôm càng xanh (*M. rosenbergii*) (Malecha, 1884; Kitcharoen và ctv., 2011; Hung và ctv., 2013a; Hung và ctv., 2013b). Trên tôm càng xanh thì tôm cái lớn chậm hơn và đạt khối lượng nhỏ hơn so với tôm đực (Hung và ctv., 2013a). Ngược lại tăng trưởng theo giới tính trên tôm chân trắng (*L. vannamei*) ở khối lượng từ 10 đến 17g, tôm cái lớn hơn so với tôm đực với khối lượng thân (4,8%) và chiều dài tổng (1,2%) (Pérez-Rostro và Ibarra, 2003a). Trong nghiên cứu này chúng tôi nhận thấy ảnh hưởng của yếu tố tôm mẹ và/hoặc tôm bố là không rõ ràng. Khi xét đến sự ảnh hưởng của nguồn gốc tôm mẹ thì tôm Gia hóa (G) và Thái Bình Dương (T) cho kết quả tăng trưởng ở thế hệ con là tốt hơn ($P < 0,05$) so với tôm Nội địa và Ấn Độ Dương nhưng khi xét đến ảnh hưởng của nguồn gốc tôm bố thì chỉ có tôm Gia hóa (G) cho kết quả tăng trưởng khác biệt so với ba dòng tôm còn lại.

Như vậy, bước đầu có thể thấy ảnh hưởng của yếu tố tôm mẹ hoặc yếu tố tôm bố nếu có cũng không rõ ràng mà phần lớn ảnh hưởng tác động đến tăng trưởng của thế hệ con là do nguồn gốc tôm bố mẹ. Với tôm bố mẹ có nguồn gốc là tôm gia hóa thì dù tổ hợp lai là “thuận” hay “nghịch” thì kết quả cũng đều tốt gần tương đương nhau. Kết quả của nghiên cứu này cũng gợi ý một hướng ứng dụng có thể áp dụng ngay trong sản xuất. Trong thực tế sản xuất thì tôm bố mẹ gia hóa (đã qua chọn lọc) hiện chưa đáp ứng được nhiều về số lượng, giá bán cao, tỷ lệ thành thực và tỷ lệ sinh sản cũng thấp hơn nhiều so với tôm có nguồn gốc tự nhiên. Tôm cái Gia hóa giá bán rất cao nhưng thành thực không tốt trong khi tôm đực Gia hóa dễ thành thực hơn, giá bán thấp hơn nhiều lần so với tôm cái. Ở chiều ngược lại, tôm cái tự nhiên có các chỉ tiêu sinh sản rất tốt, tỷ lệ thành công trong quá trình sản xuất giống từ những tôm mẹ này rất cao nên được các trại sản xuất giống ưa chuộng và ưu tiên sử dụng.

Qua nghiên cứu này có thể thấy khả năng tăng trưởng của thế hệ con của tôm bố mẹ tự nhiên kém hơn so với tôm giống có bố mẹ đã được gia hóa, chọn tạo. Vì vậy, có thể kết hợp giữa sự ưu việt về tăng trưởng được tích lũy trong tôm đực gia hóa với ưu việt về các chỉ tiêu sinh sản của tôm cái tự nhiên thì có thể giúp cho cả người sản xuất giống cũng như người nuôi tôm thương phẩm đều có lợi.

Tóm tắt kết quả nghiên cứu:

1. Quy trình an toàn sinh học được áp dụng xuyên suốt toàn bộ quá trình sản xuất các giai đoạn khác nhau của vòng đời tôm sú (giai đoạn ấu trùng, hậu ấu trùng, tăng trưởng, thành thực và sinh sản) trong điều kiện nhân tạo là có hiệu quả thể hiện qua kết quả sàng lọc bệnh ở tất cả các giai đoạn phát triển đều sạch bệnh với các mầm bệnh virus nguy hiểm thường gặp.

2. Vật liệu ban đầu cho chọn giống được tạo ra từ 69 gia đình full-sibs trong tất cả 16 phép lai. Phân tích trong 69 gia đình full-sibs G_0 cho thấy trong nhóm 12 gia đình full-sibs có 6 cặp gia đình half-sibs đôi, trong nhóm 15 gia đình full-sibs kế tiếp có 5 cặp gia đình half-sibs ba và 42 gia đình full-sibs mà không có half-sibs tương ứng. Điều này cho thấy việc ghép cặp và cho sinh sản các cặp phối ghép tôm sú có nguồn gốc khác nhau bằng cấy tinh nhân tạo là một thách thức lớn về mặt kỹ thuật. Số lượng 69 gia đình full-sibs tạo được thành công đảm bảo tốt cho phân tích và xử lý số liệu.

3. Sau 80 ngày nuôi trong các bể an toàn sinh học tiến hành thu hoạch và thu thập số liệu khối lượng thân của 1.816 cá thể có nguồn gốc từ đầy đủ 69 gia đình với khối lượng thân trung bình đạt 26,1g. Mức độ biến dị khá cao về kiểu hình tính trạng khối lượng thân ở cả tôm đực và tôm cái (khoảng 21,3%) cho phép dự đoán quần đàn tôm sú trong nghiên cứu này có tiềm năng để cải thiện chất lượng di truyền trong các thế hệ chọn giống tiếp theo.

4. Kết quả so sánh tăng trưởng giữa các phép lai nội dòng và các phép lai khác dòng cho thấy có sự khác nhau khá rõ rệt.

5. Trong các tổ hợp lai nội dòng thì phép lai của dòng tôm Gia hóa ($G \times G$) cho kết quả tăng trưởng tốt nhất. Dòng tôm Gia hóa (G) khi xét về kiểu gen cho thấy nhiều hạn chế về các chỉ số đa dạng di truyền đối với 3 dòng tôm còn lại. Điều này càng làm rõ bản chất thương mại của dòng gia hóa (G). Trong các dòng tôm có nguồn gốc thu thập từ tự nhiên thì dòng nội địa (N) thể hiện sự trội hơn về tính trạng tăng trưởng của so với 2 dòng tôm còn lại (A và T). Điều này có thể giải thích bằng các chỉ tiêu đa dạng di truyền khá tốt của quần thể này, đồng thời do là tôm tự nhiên cung

cấp chủ động trong nước nên có nhiều cơ hội cho việc tuyển chọn bằng ngoại hình so với hai dòng tôm tự nhiên nhập nội là Thái Bình Dương và Ấn Độ Dương (T, A).

6. Hầu hết những tổ hợp lai cho kết quả tăng trưởng tốt nhất về kiểu hình là các tổ hợp lai khác dòng. Trong số sáu tổ hợp lai cho kết quả tốt nhất (trừ tổ hợp lai nội dòng GxG) thì đều là tổ hợp lai của dòng tôm Gia hóa (G) với ba dòng tôm còn lại. Trong các tổ hợp lai này, tôm Gia hóa có thể là tôm mẹ hoặc tôm bố. Ở chiều ngược lại, những tổ hợp lai khác dòng giữa những dòng tôm thu thập từ tự nhiên (như Nx A, Nx T, Tx A,...) cho kết quả tăng trưởng kém. Trong số 5 tổ hợp lai cho kết quả tăng trưởng kém nhất thì có đến 4 tổ hợp là tổ hợp lai khác dòng giữa các dòng tôm tự nhiên, trong đó có 3 tổ hợp lai có sự tham gia của dòng Nội địa hoặc dòng Ấn Độ Dương.

7. Trong nghiên cứu này tác động đến tăng trưởng của thế hệ con lai là do nguồn gốc tôm bố mẹ. Ảnh hưởng của yếu tố tôm mẹ và/hoặc tôm bố không rõ ràng.

3.3. Ước tính một số thông số di truyền cơ bản trên quần đàn được thiết lập

3.3.1. Đánh giá tương tác kiểm gen và môi trường ($G \times E$)

3.3.1.1. Các yếu tố môi trường nuôi chính

Biến động các yếu tố môi trường ở các điểm nuôi đánh giá (Bể ATSH, Khánh Hòa, Bạc Liêu và Vũng Tàu) được trình bày trong Bảng 3.16.

Bảng 3. 16 Biến động các yếu tố môi trường tại bốn điểm nuôi

Địa điểm nuôi	BỂ ATSH	Khánh Hòa	Bạc Liêu	Vũng Tàu
pH	8,1 ± 0,1	7,7 ± 0,2	8,5 ± 0,1	8,4 ± 0,2
Độ mặn (‰)	32,0 ± 1,1	38,6 ± 2,2	23,1 ± 2,7	32,1 ± 1,8
Độ kiềm (mg/l)	130,0 ± 13,4	100,7 ± 14,3	137,9 ± 12,5	139,1 ± 9,1
Nhiệt độ (°C)	30,0 ± 0,8	28,6 ± 1,0	28,7 ± 1,2	33,8 ± 2,2

Ghi chú: Số liệu trong bảng là giá trị trung bình ± SD (Độ lệch chuẩn)

Tất cả các yếu tố môi trường chính như pH, độ mặn, độ kiềm, nhiệt độ tại bốn điểm nuôi đánh giá đều nằm trong giới hạn cho sự phát triển của tôm sú. Độ mặn tại Bạc Liêu thấp nhất và độ mặn cao nhất được ghi nhận tại Khánh Hòa.

3.3.1.2. Thống kê mô tả và các yếu tố ảnh hưởng

Đối với thể hệ G_0 , số liệu thu hoạch tôm nuôi tại bốn địa điểm nuôi khác nhau được thể hiện trong Bảng 3.17. Tỷ lệ sống trung bình tại cả bốn điểm nuôi đánh giá đạt 51,4%. Tôm nuôi trong bể ATSH, Miền Trung (Khánh Hòa), Miền Tây Nam Bộ (Bạc Liêu) và Miền Đông Nam Bộ (Vũng Tàu) có khối lượng trung bình và tỷ lệ sống khi thu hoạch lần lượt là: $26,1 \pm 0,14\text{g}$, 73,1%; $29,3 \pm 0,08\text{g}$, 55,2%; $25,0 \pm 0,08\text{g}$, 55,3%; $26,1 \pm 0,13\text{g}$, 38,2%. Tỷ lệ tôm cái : đực gần như tương đương tỷ lệ 1 : 1 trừ điểm nuôi trong bể ATSH có tỷ lệ tôm cái (52,6%) so với tôm đực (47,4%). Tỷ lệ sống của tôm ở Vũng tàu đạt 38,2% thấp nhất so với các điểm nuôi khác, nguyên nhân có thể lý giải do điều kiện ao nuôi (chất đất) và môi trường nuôi (như nhiệt độ, độ mặn cao, biến động lớn trong quá trình nuôi) dẫn đến tỷ lệ sống thấp, kích cỡ tôm không đều. Điều này đã làm hệ số biến thiên khối lượng thân có giá trị cao nhất.

Kết quả nuôi tăng trưởng tôm thể hệ G_0 được trình bày ở Bảng 3.17

Bảng 3. 17 Kết quả tăng trưởng của tôm thể hệ G_0 ở các môi trường nuôi khác nhau

Địa điểm nuôi	Chỉ tiêu đánh giá	Số cá thể (con)	Khối lượng TB $\pm$ SD	Hệ số biến thiên (CV-%)
Bể ATSH	Số ngày nuôi (80 ngày)			
	KL. cả quần đàn (g)	1.816	$26,1 \pm 0,14^{(b)}$	22,1
	KL. tôm cái (g)	957	$27,8 \pm 0,19^{(a)}$	21,4
	KL. tôm đực (g)	859	$24,2 \pm 0,17^{(b)}$	20,5
Khánh Hòa	Số ngày nuôi (94 ngày)			
	KL. cả quần đàn (g)	4.316	$29,3 \pm 0,08^{(c)}$	17,4
	KL. tôm cái (g)	2.229	$30,8 \pm 0,11^{(a)}$	17,0
	KL. tôm đực (g)	2.087	$27,8 \pm 0,10^{(b)}$	16,0
Bạc Liêu	Số ngày nuôi (95 ngày)			
	KL. cả quần đàn (g)	4.979	$25,0 \pm 0,08^{(a)}$	23,2
	KL. tôm cái (g)	2.531	$26,2 \pm 0,12^{(a)}$	23,2
	KL. tôm đực (g)	2.448	$23,8 \pm 0,10^{(b)}$	21,9
Vũng Tàu	Số ngày nuôi (100 ngày)			
	KL. cả quần đàn (g)	3.458	$26,1 \pm 0,13^{(b)}$	28,7
	KL. tôm cái (g)	1.697	$27,4 \pm 0,20^{(a)}$	29,5
	KL. tôm đực (g)	1.761	$24,8 \pm 0,16^{(b)}$	26,7

Ghi chú: Bể ATSH: Bể an toàn sinh học; KL: Khối lượng. Số liệu được trình bày theo dạng trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn. Các số có ký tự khác nhau thì sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$)

Ở cả bốn điểm nuôi, tôm cái luôn có khối lượng thân khi thu hoạch cao hơn ($P < 0,05$) so với tôm đực. Hệ số biến thiên khối lượng thân của cả quần đàn cũng như của tôm đực, tôm cái gần như tương đương nhau. Hệ số biến thiên khối lượng thân lớn nhất tại điểm nuôi Vũng Tàu và thấp nhất ở điểm nuôi Khánh Hòa.

Đối với thể hệ G_1 nuôi trong ao tại Khánh Hòa và nuôi trong bể ATSH, kết quả khối lượng trung bình của tôm nuôi ở ao dao động từ $19,51 \pm 5,13$ g/con đến $29,81 \pm 7,66$ g/con, tôm nuôi ở bể có khối lượng từ $20,53 \pm 6,24$ g/con đến $24,26 \pm 8,24$ g/con. Hệ số biến thiên khối lượng tôm nuôi cao, từ 25,70 - 33,97% đối với tôm nuôi ở ao và 30,06 - 33,96 g/con đối với tôm nuôi ở bể.

Kết quả rà soát các yếu tố cố định và hiệp biến trong mô hình tuyến tính được thể hiện trong Bảng 3.18. Có 5 yếu tố đơn và một tương quan hai chiều có ảnh hưởng ý nghĩa và được đưa vào mô hình toán.

Bảng 3. 18 Các yếu tố ảnh hưởng cố định trong mô hình tuyến tính

Các yếu tố ảnh hưởng	DF	Giá trị F	Pr > F
Tổ hợp lai	15	23,52	<,0001
Giới tính	1	204,25	<,0001
Tuổi	1	107,63	<,0001
Khối lượng đánh dấu	1	124,23	<,0001
Môi trường nuôi	3	20,15	<,0001
Tổ hợp lai * ao nuôi	45	1,44	0,0314

3.3.1.3. Tương quan giữa kiểu gen và môi trường ($G \times E$)

Tương quan kiểu gen (rg) tính trạng khối lượng giữa các điểm nuôi thử nghiệm khác nhau được trình bày ở Bảng 3.19. Kết quả phân tích cho thấy tương quan $G \times E$ đều là tương quan thuận (> 0) và nằm ở mức từ thấp đến cao từ 0,29 đến 0,85. Có tương quan di truyền ở mức khá giữa nuôi trong bể an toàn sinh học và địa điểm nuôi Khánh Hòa (0,70), Khánh Hòa và Bạc Liêu (0,74); tương quan với hai điểm nuôi Bạc

Liêu và Vũng Tàu ở mức thấp lần lượt là 0,42 và 0,29. Tương quan kiểu gen cao nhất là tương quan giữa môi trường nuôi tại Bạc Liêu và Vũng Tàu (0,85).

Bảng 3. 19 Tương quan kiểu gen (r_g) của tính trạng khối lượng thân ở các môi trường nuôi khác nhau thế hệ G_0 và G_1

Địa điểm nuôi	Thế hệ G_0				Thế hệ G_1
	Bể ATSH	Khánh Hòa	Bạc Liêu	Vũng Tàu	Khánh Hòa
Bể ATSH		$0,70 \pm 0,09$	$0,42 \pm 0,13$	$0,29 \pm 0,15$	$0,75 \pm 0,09$
Khánh Hòa			$0,74 \pm 0,08$	$0,51 \pm 0,12$	
Bạc Liêu				$0,85 \pm 0,05$	

Tương quan di truyền giữa môi trường nuôi tại Bạc Liêu và Vũng Tàu ở mức cao được lý giải có thể do ảnh hưởng của mùa vụ nuôi và điều kiện sinh thái, kỹ thuật nuôi giữa 2 vùng có sự tương đồng. Các mối tương quan kiểu gen thuận, không chặt chẽ của tính trạng khối lượng thân tôm khi thu hoạch ở những môi trường nuôi khác nhau cho phép dự đoán có tương tác $G \times E$ ở mức độ nhẹ. Tương quan ở mức trung bình - thấp ($r_g = 0,42$) giữa nuôi trong bể với môi trường nuôi ao ở Bạc Liêu là nơi đại diện cho vùng nuôi chính của cả nước đặt ra một yêu cầu cần phải duy trì và tăng cường hơn nữa tính đa dạng về kiểu gen của nguồn vật liệu này nhằm có thể thích ứng tốt hơn với nhiều loại môi trường, mô hình nuôi khác nhau. Tương quan di truyền (r_g) của khối lượng tôm khi thu hoạch giữa 2 môi trường nuôi ở Khánh Hòa và bể ATSH (cho thế hệ G_1) được ước tính là $0,75 \pm 0,09$ cho thấy nguồn vật liệu này có thể phát huy hiệu quả trong môi trường nuôi tại đây.

Tương tác $G \times E$ ở mức độ thấp, ngoài yếu tố di truyền còn có thể là do thông tin phả hệ mới chỉ có một thế hệ và có sự sai khác lớn giữa các môi trường nuôi. Kết quả của nghiên cứu này khác với kết quả đã được công bố bởi Krishna và cộng sự (2011) khi nghiên cứu trên tôm sú. Tác giả công bố tương quan giữa thứ tự giá trị chọn giống trung bình theo gia đình giữa các gia đình nuôi ở hai ao khác nhau là 0,78 cho tính trạng khối lượng thân và 0,60 cho tính trạng tỷ lệ sống. Tuy nhiên, hai ao nuôi trong thí nghiệm của Krishna và cộng sự (2011) ở cùng một địa điểm với những điều kiện chăm sóc, môi trường nuôi giống nhau nên tương quan kiểu gen ở mức khá.

3.3.2. Hệ số di truyền

3.3.2.1. Thống kê mô tả về tăng trưởng của tôm sú thế hệ G_1

Các cá thể chọn lọc hình thành quần đàn G_0 làm bố mẹ để sản xuất thế hệ G_1 là những cá thể có EBV cao nhất được lựa chọn từ những gia đình có trung bình EBV cao nhất, có nghĩa là chọn lọc theo phương pháp kết hợp. Số lượng các gia đình cùng cha khác mẹ (half-sib) và các gia đình cùng cha mẹ (full-sibs) và số lượng cá thể bố mẹ G_0 tương ứng để sản xuất các gia đình G_1 được trình bày trong Bảng 3.20. Trong tổng số 76 gia đình của thế hệ G_1 (thu hoạch được 77 gia đình, tuy nhiên 1 gia đình chỉ còn 2 cá thể nên loại ra khỏi số liệu tính toán), có 15 nhóm gia đình cùng cha khác mẹ (gồm 50 gia đình, chiếm 65,8%) và 26 gia đình cùng cha mẹ (không có nhóm cùng cha khác mẹ tương ứng, chiếm 34,2%). Tổng số cá thể thu hoạch là 7.412, trong đó 5.155 cá thể (69,5%) thuộc nhóm gia đình cùng cha khác mẹ và 2.257 cá thể (30,5%) thuộc nhóm gia đình cùng cha mẹ. Số lượng này cao hơn các nghiên cứu chọn giống trên tôm sú (Benzie và ctv., 1997; Kenway và ctv., 2006; Macbeth và ctv., 2007; Coman và ctv., 2010; Krishna và ctv., 2011) và tương đương với nghiên cứu chọn giống tôm thẻ (Argue và ctv., 2002; Gitterle và ctv., 2005a; Gitterle và ctv., 2005b; Gitterle và ctv., 2006) trên thế giới. Như vậy, số lượng cá thể và gia đình trong nghiên cứu này là đảm bảo đủ lớn cho chọn giống tôm sú dài hạn.

Bảng 3. 20 Số lượng các gia đình cùng cha khác mẹ và các gia đình cùng cha cùng mẹ tôm sú chọn giống G_1

Kiểu gia đình	SL.Gia đình	Số lượng tôm (con)	Tôm bố × tôm mẹ	Số lượng nhóm gia đình cùng cha khác mẹ	Số lượng gia đình cùng cha mẹ	Tổng
Cùng cha khác mẹ	50	5.155	1×2	6	12	50
			1×3	3	9	
			1×4	3	12	
			1×5	2	10	
			1×7	1	7	
Cùng cha mẹ	26	2.257	1×1			26
Tổng		7.412				76

Thời gian sinh sản, đánh dấu của các gia đình và kết quả về tỷ lệ sống của tôm thu hoạch ở các đợt thả nuôi tại hai địa điểm Khánh Hòa và bể ATSH được trình bày trong Bảng 3.21.

Bảng 3. 21 Thời điểm sinh sản, đánh dấu, thả nuôi, thu hoạch và tỉ lệ sống của 3 đợt tôm nuôi trong ao tại Khánh Hòa và trong bể ATSH thế hệ G₁

Môi trường	Đợt	Số lượng gia đình	Thời điểm				TLS (%)
			Sinh sản	Đánh dấu	Thả nuôi	Thu hoạch	
Khánh Hòa	1	24	12 - 30/11/2014	02 - 04/02/2015	16/04/2015	25/5/2015	46,6
	2	35	28/11/2014 - 03/01/2015	02 - 04/02/2015	16/04/2015	22 - 26/06/2015	62,0
	3	18	26/12/2014 - 02/02/2015	08 - 14/04/2015	16/04/2015	23 - 24/07/2015	45,0
BỂ ATSH	1	24	12 - 30/11/2014	02 - 04/02/2015	12/02/2015	25/05/2015	36,6
	2	35	28/11/2014 - 03/01/2015	04/02/2015 - 12/03/2015	14/03/2015	22 - 23/06/2015	51,4
	3	18	26/12/2014 - 02/02/2015	08 - 14/04/2015	16/04/2015	23/07/2015	53,7

Kết quả nuôi tăng trưởng và thu hoạch tôm thế hệ G₁ nuôi trong ao tại Khánh Hòa và nuôi trong bể ATSH được trình bày trong Bảng 3.22. Tổng số tôm thu hoạch 7.412 con, trong đó có 3.301 con từ nuôi ao và 4.111 con từ nuôi bể.

Khối lượng trung bình của tôm nuôi ở ao dao động từ $19,51 \pm 5,13$ g/con đến $29,81 \pm 7,66$ g/con, tôm nuôi ở bể có khối lượng từ $20,53 \pm 6,24$ g/con đến $24,26 \pm 8,24$ g/con. Tôm cái lớn hơn tôm đực. Hệ số biến thiên khối lượng tôm nuôi cao, từ 25,70 - 33,97% đối với tôm nuôi ở ao và 30,06 - 33,96 g/con đối với tôm nuôi ở bể.

Bảng 3. 22 Số lượng và khối lượng tôm thẻ hệ G₁ thu hoạch ở hai môi trường nuôi trong ao tại Khánh Hòa và trong bể ATSH

Môi trường nuôi	Đợt	Giới tính	Số lượng	Khối lượng thu hoạch (g)				
				Trung bình (g/con)	Độ lệch chuẩn	Hệ số biến thiên (%)	Nhỏ nhất (g/con)	Lớn nhất (g/con)
Khánh Hòa (nuôi ao)	1	Cái	303	23,26	7,90	33,97	5,77	53,59
		Đực	256	20,94	7,10	33,93	7,52	50,34
	2	Cái	938	20,99	6,24	29,72	5,72	42,65
		Đực	794	19,51	5,13	26,28	5,88	37,33
	3	Cái	559	29,81	7,66	25,70	9,03	58,71
		Đực	451	26,53	7,18	27,08	8,04	54,41
Tổng số tôm thu hoạch nuôi trong ao tại Khánh Hòa: 3.301 con								
BỂ ATSH	1	Cái	672	22,70	7,17	31,82	6,25	49,60
		Đực	646	20,53	6,24	30,41	6,55	42,55
	2	Cái	1009	24,26	8,24	33,96	7,06	56,40
		Đực	914	21,64	6,50	30,06	7,16	42,83
	3	Cái	461	24,13	7,29	30,20	7,20	46,60
		Đực	409	21,95	6,78	30,88	5,90	42,60
Tổng số tôm thu hoạch nuôi trong bể ATSH: 4.111 con								

Số liệu về khối lượng tôm thu hoạch theo từng môi trường, theo môi trường và giới tính và theo 3 đợt thả nuôi đều theo phân bố chuẩn. Biểu đồ khối lượng của tôm thu hoạch ở hai môi trường theo giới tính và theo 3 đợt thả nuôi cho thấy tôm cái lớn hơn tôm đực, số ít cá thể có khối lượng lớn hơn 40g/con.

3.3.2.2. Ước tính hệ số di truyền

Như đã trình bày trong phần xử lý số liệu phân đánh giá dòng tôm bằng tổ hợp lai, đã tiến hành kiểm tra mức độ ảnh hưởng của các yếu tố cố định (fixed effect) trong phần mềm thống kê SAS, sau đó chỉ dùng những yếu tố có ảnh hưởng ý nghĩa trong mô hình ước tính các thành phần phương sai (là cơ sở ước tính các thông số di truyền) trong phần mềm chuyên dụng ASReml. Trong nội dung này, phần xử lý số liệu đã kiểm tra mức độ ảnh hưởng của các yếu tố cố định (fixed effect) ngay trong ASReml. Tóm tắt các yếu tố cố định và ngẫu nhiên cho thế hệ G₀ và kết hợp hai thế

hệ $G_0 - G_1$ được trình bày ở Bảng 3.23.

Bảng 3. 23 Ảnh hưởng cố định và ngẫu nhiên thể hệ G_1 và dữ liệu kết hợp $G_0 - G_1$ cho ước tính các thành phần phương sai

Ảnh hưởng	Thể hệ	
	G_1	$G_0 - G_1$
Cố định (fixed effect và covariate)		
Thể hệ		×
Bể nuôi		×
Giới tính	×	×
Tuổi thu hoạch = tuổi tổng	×	×
Ngẫu nhiên		
Cá thể	×	×
Tôm mẹ	×	
Đợt thả nuôi	×	

Đối với tính trạng khối lượng tôm thể hệ G_1 khi thu hoạch, ước tính của các thành phần phương sai (σ_A^2 , σ_C^2 và σ_P^2), hệ số di truyền (h^2) và ảnh hưởng của môi trường (c^2) cho hai môi trường nuôi tại Khánh Hòa và bể ATSH được trình bày trong Bảng 3.24.

Bảng 3. 24 Các thành phần phương sai (σ_A^2 , σ_C^2 , σ_{TN}^2 , σ_E^2 , và σ_P^2), hệ số di truyền (h^2) và ảnh hưởng của môi trường (c^2) đến khối lượng tôm thể hệ G_1

Môi trường nuôi	σ_A^2	σ_C^2	σ_{TN}^2	σ_E^2	σ_P^2	$h^2 \pm SE$	$c^2 \pm SE$
Khánh Hòa	37,47	12,11	4,68	8,47	62,73	$0,60 \pm 0,17$	$0,19 \pm 0,09$
Bể ATSH	35,54	10,64	2,76	14,53	63,47	$0,56 \pm 0,15$	$0,17 \pm 0,09$

Ghi chú: σ_A^2 là phương sai di truyền cộng gộp; σ_C^2 là phương sai của môi trường; σ_{TN}^2 là phương sai của 3 đợt thả nuôi; σ_E^2 là phương sai của số dư; σ_P^2 là phương sai kiểu hình.

Hệ số di truyền đối với tính trạng khối lượng được ước tính ở mức cao, tôm nuôi trong ao là $0,60 \pm 0,17$ và trong bể là $0,56 \pm 0,15$. Ảnh hưởng của môi trường cũng ở mức lớn, tôm nuôi ao tại Khánh Hòa là $0,19 \pm 0,09$ và nuôi trong bể ATSH là $0,17 \pm 0,09$. Tương quan di truyền của khối lượng tôm khi thu hoạch giữa hai môi trường nuôi ao và bể được ước tính $0,70 \pm 0,09$, cho thấy có tương tác kiểu gen – môi trường ở mức nhẹ.

Đối với tính trạng tỉ lệ sống, ước tính của hệ số di truyền cho hai môi trường nuôi tại Khánh Hòa và bể ATSH được trình bày trong Bảng 3.25. Hệ số di truyền được ước tính ở mức khá và tương đương giữa hai môi trường, cho tôm nuôi tại Khánh Hòa là $0,18 \pm 0,02$ và trong bể ATSH là $0,19 \pm 0,02$. Cho cả hai môi trường, tương quan di truyền giữa tỉ lệ sống và khối lượng thu hoạch là dương và ở mức khá thấp, ở Khánh Hòa là $0,40 \pm 0,08$ và ở bể ATSH là $0,29 \pm 0,08$.

Bảng 3. 25 Hệ số di truyền (h^2) của tỉ lệ sống và tương quan di truyền (r_g) giữa tỉ lệ sống cá thể và khối lượng tôm thu hoạch nuôi tại Khánh Hòa và bể ATSH

Tính trạng	h^2	r_g	
		Khối lượng Khánh Hòa	Khối lượng bể ATSH
TL. sống Khánh Hòa (%)	$0,18 \pm 0,02$	$0,40 \pm 0,08$	
TL. sống bể ATSH (%)	$0,19 \pm 0,02$		$0,29 \pm 0,08$

Tương quan giữa tỉ lệ sống và giá trị giống ước tính (EBV) của tỉ lệ sống trong từng môi trường và giữa hai môi trường Khánh Hòa và bể ATSH được trình bày trong Bảng 3.26. Tương quan giữa tỉ lệ sống và EBV của tỉ lệ sống là cao, cho Khánh Hòa là 0,80 và cho bể ATSH là 0,89.

Giữa hai môi trường, tương quan giữa tỉ lệ sống và EBV tỉ lệ sống là tương quan dương, dao động từ 0,37 đến 0,55.

Bảng 3. 26 Tương quan giữa tỉ lệ sống và giá trị giống ước tính (EBV) của tỉ lệ sống tại hai môi trường nuôi Khánh Hòa và bể ATSH

Tính trạng	Tỷ lệ sống bể ATSH	EBV tỷ lệ sống Khánh Hòa	EBV tỷ lệ sống bể ATSH
TL. sống Khánh Hòa (%)	0,46	0,80	0,37
TL. sống bể ATSH (%)		0,43	0,89
EBV tỷ lệ sống Khánh Hòa			0,55

- Hệ số di truyền (h^2)

Hệ số di truyền (h^2) của tính trạng khối lượng thu hoạch trong nghiên cứu này ($0,60 \pm 0,17$ tại Khánh Hòa và $0,56 \pm 0,15$ cho bể ATSH) là khá cao và đều khác biệt có ý nghĩa so với không (zero) ($P < 0,01$). Các ước tính này tương đương với hệ số di truyền trên 3 thế hệ tôm sú chọn giống tại Úc ở thời điểm 30 tuần tuổi $0,55 \pm 0,07$ (Macbeth và ctv., 2007), tức là gần tương đương với tuổi tôm G_1 từ 170 – 209 ngày. Ước tính trong nghiên cứu này thấp hơn báo cáo của Argue và cộng sự (2002) công bố hệ số di truyền 0,78 cho tôm 22 g/con và 0,83 cho tôm 24 g/con, nhưng nhìn chung là cao hơn so với các công bố khác trên tôm biển. Hệ số di truyền được báo cáo trên tôm sú tại Ấn Độ là $0,27 \pm 0,07$ (Krishna và ctv., 2011). Nhìn chung, với hệ số di truyền và hệ số biến thiên của tính trạng khối lượng thu hoạch khá cao, việc chọn lọc dự kiến sẽ mang lại hiệu quả. Hệ số di truyền của tính trạng tỉ lệ sống cá thể ở mức trung bình khá ($0,18 \pm 0,02$ tại Khánh Hòa và $0,19 \pm 0,02$ tại bể ATSH) và khác biệt có ý nghĩa so với không (zero). Với hệ số di truyền như vậy thì việc chọn lọc nhằm cải thiện tỉ lệ sống là có tính khả thi.

- Ảnh hưởng của môi trường (c^2)

Hệ số di truyền trong nghiên cứu này nằm ở mức cao có lẽ là do ảnh hưởng của môi trường (tức là, c^2) chưa được tách ra hoàn toàn khỏi ảnh hưởng di truyền cộng gộp (σ_A^2). Thứ nhất, ảnh hưởng c^2 trong nghiên cứu này bao gồm ảnh hưởng của bể ương gia đình riêng rẽ, các ảnh hưởng không di truyền và ảnh hưởng của tôm mẹ, cả ba đều không thể tách ra được với cấu trúc số liệu hiện hữu. Thứ hai, cấu trúc ghép phối không hoàn toàn là ghép phối thứ bậc, với số nhóm gia đình cùng cha khác

mẹ là 15 (tương ứng với 50 gia đình cùng cha mẹ) và số gia đình cùng cha khác mẹ không có nhóm half-sibs tương ứng là 26. Thứ ba, thời gian nuôi tăng trưởng khá ngắn nên ảnh hưởng nổi dài của thời gian ương nuôi riêng rẽ có thể còn khá đáng kể. Thông thường, ảnh hưởng của c^2 là lớn trong giai đoạn ương và giảm dần trong giai đoạn nuôi sau đó (từ giống đến cỡ thương phẩm). Do đó, người ta thường dùng hệ số di truyền của tính trạng khối lượng tại thời điểm thu hoạch (khi tôm đạt kích cỡ thương phẩm) để sử dụng cho chọn giống và ước tính giá trị chọn giống. Vào thời điểm thu hoạch, ảnh hưởng di truyền cộng gộp đã có đủ thời gian thể hiện, sau một thời gian nuôi tăng trưởng chung khi mà đại diện của tất cả các gia đình được thả chung trong một môi trường nuôi và được nhận cùng chế độ nuôi dưỡng, chăm sóc như nhau. Ảnh hưởng c^2 được ước tính ở mức tương đối ($0,19 \pm 0,09$ và $0,17 \pm 0,09$), phần nào phản ánh được ảnh hưởng của tôm mẹ và thời gian ương nuôi gia đình riêng rẽ. Trong những thế hệ chọn giống kế tiếp, ảnh hưởng của c^2 cần được giảm thiểu đến mức tối thiểu bằng cách giảm thời gian sản xuất các gia đình và giảm kích cỡ đánh dấu tôm (tức là giảm thời gian ương nuôi gia đình riêng rẽ). Nếu không, ảnh hưởng của c^2 sẽ gây thiên lệch (biased) ước tính hệ số di truyền trong thiết kế thứ bậc (Berg và Henryon, 1998), không tách được ảnh hưởng di truyền ra khỏi các ảnh hưởng không di truyền và cuối cùng là giảm độ chính xác của chọn lọc. Dĩ nhiên, trong chương trình chọn giống gia đình luôn có thể ước tính c^2 bằng cách thêm yếu tố ‘tôm mẹ’ vào mô hình như một biến ngẫu nhiên để ước tính σ_c^2 . Tuy nhiên, hiệu quả của mô hình trong việc ước tính σ_c^2 hiện vẫn chưa rõ ràng và cần được nghiên cứu thêm.

- Tương quan di truyền

Tương quan di truyền giữa tính trạng tỉ lệ sống và khối lượng thu hoạch dao động từ $0,29 \pm 0,08$ (bể ATSH) đến $0,40 \pm 0,08$ (Khánh Hòa), cho thấy việc chọn lọc cải thiện tăng trưởng sẽ không ảnh hưởng tiêu cực đến tỉ lệ sống của tôm nuôi. Tương quan di truyền giữa EBV tỉ lệ sống và tỉ lệ sống trong từng môi trường là cao ($0,80$ cho Khánh Hòa và $0,89$ cho bể ATSH), nhưng thấp giữa hai môi trường với nhau, điều này có thể do bản chất của hai môi trường nuôi và chế độ chăm sóc khác nhau. Tương quan di truyền của tính trạng khối lượng thu hoạch giữa hai môi trường nuôi ở mức $0,75 \pm 0,09$. Như vậy, có tương tác kiểu gen – môi trường và ở mức thấp giữa

hai môi trường nuôi (ao và bể trong nhà) đối với tính trạng khối lượng thu hoạch trên tôm sú.

3.3.3. Hiệu quả chọn lọc sau một thế hệ của tính trạng tăng trưởng

3.3.3.1. Hiệu quả chọn lọc

Tỉ lệ chọn lọc, cường độ chọn lọc, hệ số di truyền, độ chính xác chọn lọc, độ lệch chuẩn của tính trạng khối lượng thu hoạch, hiệu quả chọn lọc của hai quần thể tôm sú G_0 và G_1 được trình bày trong Bảng 3.27. Cho cả hai quần thể tôm sú, hệ số di truyền được ước tính ở mức cao, cho G_0 là $0,43 \pm 0,08$ và cho G_1 là $0,56 \pm 0,15$. Đối với quần thể G_0 , hiệu quả chọn lọc trong trường hợp chọn lọc ngắt đoạn (R_1) là 0,9 g, tương ứng với 3,3%. Đối với quần thể G_1 , hiệu quả chọn lọc R_1 là cao hơn, đạt 4,3 g (19,2%). Khi chọn lọc gia đình thì hiệu quả chọn lọc R_2 cũng tương tự như R_1 , cho G_0 là 0,9 g (3,3%) và cho G_1 là 4,1 g (18,1%).

Bảng 3. 27 Tỉ lệ chọn lọc, cường độ chọn lọc, hệ số di truyền, độ lệch chuẩn của tính trạng khối lượng và hiệu quả chọn lọc của hai quần thể tôm sú G_0 và G_1

Thế hệ	R	p (%)	i	h^2	σ_P	R (g)	Khối lượng (g)	% tăng
G_0	R_1	80,4	0,35	0,43	5,7	0,9	26,1	3,3
	R_2	80,4	0,35	0,43	5,7	0,9	26,1	3,3
G_1	R_1	34,1	1,06	0,56	7,3	4,3	22,6	19,2
	R_2	34,1	1,06	0,53	7,3	4,1	22,6	18,1

Ghi chú: p = tỉ lệ chọn lọc, i = cường độ chọn lọc (Falconer và Mackay, 1996), h^2 = hệ số di truyền, r = độ chính xác chọn lọc = $\sqrt{\frac{1}{2}h^2}$, σ_P = độ lệch chuẩn của khối lượng tôm khi thu hoạch, R_1 = hiệu quả chọn lọc ngắt đoạn và R_2 = hiệu quả chọn lọc gia đình.

3.3.3.2. Ước tính hiệu quả chọn lọc bằng phân tích xu hướng di truyền thông qua khác biệt EBV giữa hai nhóm chọn lọc của G_0 và G_1

Hiệu quả chọn lọc dựa trên khác biệt trung bình EBV (chưa chuẩn hóa) giữa hai nhóm chọn lọc của hai quần thể G_0 và G_1 là 4,83 g tương ứng 10,6%. Khi dựa trên khác biệt trung bình EBV (đã chuẩn hóa) của nhóm chọn lọc giữa hai quần thể thế hệ G_0 và G_1 thì hiệu quả chọn lọc là 4,87 g, tương ứng 7,2%.

3.3.3.3. Ước tính hiệu quả chọn lọc thông qua khác biệt EBV của nhóm chọn lọc và trung bình của thế hệ G_1

Khi so sánh khác biệt EBV (chưa chuẩn hóa) của nhóm chọn lọc G_1 và trung bình quần thể G_1 thì hiệu quả chọn lọc là 10 g tương ứng 10,5%. Như vậy, kết quả ước tính hiệu quả chọn lọc trên cho thấy, quần thể G_1 hiệu quả chọn lọc tương ứng là 19,2% (chọn lọc ngắn đoạn) và 18,1% (chọn lọc gia đình). Khi so sánh giữa nhóm chọn lọc của hai quần thể G_0 và G_1 thì con số này thấp hơn (7,2%). Khi so sánh giữa nhóm chọn lọc G_1 và trung bình quần thể thì hiệu quả là 10,5%. Như vậy, chọn lọc sẽ gia tăng đáng kể tăng trưởng. Kết quả này phù hợp với lý thuyết chọn giống (Falconer và Mackay, 1996) và trên các loài thủy sản khác (Gjedrem và ctv., 2012). Kết quả nghiên cứu trên tôm thẻ chân trắng, sau một thế hệ chọn lọc thì tăng trưởng cải thiện 4% (Fjalestad và ctv., 1997), 21% (Argue và ctv., 2002), sau 11 thế hệ chọn lọc hàng loạt là 14,5% (De Donato và ctv., 2005). Trên tôm he nhật bản (*P. japonicus*), hiệu quả chọn lọc đạt 8,3% sau 1 thế hệ, và 9,3 – 14,0% khi so sánh với tôm tự nhiên (Hetzl và ctv., 2000). Trên tôm càng Úc (*Cherax destructor*), hiệu quả chọn lọc là 15%/thế hệ sau 3 thế hệ chọn giống theo gia đình (Jerry và ctv., 2005). Trên tôm thẻ xanh (*P. stylirostris*), hiệu quả chọn lọc đạt trung bình 4%/thế hệ (Goyard và ctv., 2009). Trên tôm càng xanh (*Macrobrachium rosenbergii*), hiệu quả chọn lọc là 6,2 – 26,2% sau 5 thế hệ (Luan và ctv., 2012) hoặc 13 - 20% sau 3 thế hệ (Hùng và ctv., 2013b). Trên tôm trắng Trung Quốc (*Fenneropenaeus chinensis*), trung bình hiệu quả chọn lọc thực tế là 3,7%/thế hệ (Sui và ctv., 2015).

Tóm tắt kết quả nghiên cứu:

1. Tỷ lệ sống trung bình tại cả bốn điểm nuôi thử nghiệm đạt 51,4%. Hệ số biến thiên khối lượng thân của cả quần đàn cũng như của tôm đực, tôm cái gần như tương đương nhau. Hệ số biến thiên khối lượng thân lớn nhất tại điểm nuôi Vũng Tàu và thấp nhất ở điểm nuôi Khánh Hòa.

2. Tương quan di truyền của tính trạng khối lượng thân thu hoạch ở các môi trường nuôi khác nhau đều là tương quan thuận, không chặt chẽ và nằm ở mức từ thấp đến cao (r_g từ 0,29 đến 0,85) (> 0), cho phép dự đoán có tương tác G x E ở mức độ nhẹ.

3. Tương quan di truyền (r_g) của khối lượng tôm khi thu hoạch giữa 2 môi trường nuôi Khánh Hòa và bể ATSH cho thế hệ G_0 được ước tính là $0,70 \pm 0,09$. Khánh Hòa là điểm nuôi tôm có tốc độ tăng trưởng tốt nhất trong các điểm nuôi ao, khối lượng tôm khi thu hoạch cũng đồng đều nhất cho thấy nguồn vật liệu này có thể phát huy hiệu quả trong môi trường nuôi tại đây. Bên cạnh đó tương tác $G \times E$ (cho thế hệ G_0) ở mức trung bình thấp ($rg = 0,42$) của tính trạng khối lượng giữa nuôi trong bể an toàn sinh học với môi trường nuôi ao ở Bạc Liêu là nơi đại diện cho vùng nuôi chính của cả nước đặt ra yêu cầu cần duy trì và tăng cường hơn nữa tính đa dạng về kiểu gen của nguồn vật liệu này nhằm có thể thích ứng tốt hơn với nhiều loại môi trường, mô hình nuôi khác nhau.

4. Số lượng gia đình tôm thế hệ G_1 là 76 cao hơn so với các nghiên cứu chọn giống tôm sú trên thế giới. Trong đó, số lượng các gia đình cùng cha khác mẹ là 50 trên tổng số 76 gia đình, tương ứng 65,8%, số lượng gia đình cùng cha mẹ là 26 gia đình (không có nhóm cùng cha khác mẹ tương ứng), chiếm 34,2%. Tổng số cá thể là 7.412, trong đó 5.155 cá thể (69,5%) thuộc nhóm gia đình cùng cha khác mẹ và 2.257 cá thể (30,5%) thuộc nhóm gia đình cùng cha mẹ. Cấu trúc ghép phối không đầy đủ (unbalanced) như vậy chỉ cho phép tách ảnh hưởng của môi trường (c^2) một cách tương đối khi dùng mô hình có ảnh hưởng của c^2 .

5. Hệ số di truyền về tính trạng khối lượng tôm được ước tính ở mức cao, cho tôm nuôi tại Khánh Hòa là $0,60 \pm 0,17$ và cho tôm nuôi trong bể ATSH là $0,56 \pm 0,15$. Ảnh hưởng của môi trường cũng ở mức khá, cho Khánh Hòa là $0,19 \pm 0,09$ và cho bể ATSH là $0,17 \pm 0,09$. Đối với tính trạng tỉ lệ sống, ước tính của hệ số di truyền cho tôm nuôi tại Khánh Hòa là $0,18 \pm 0,02$ và cho bể ATSH là $0,19 \pm 0,02$. Với hệ số di truyền như vậy ngụ ý việc chọn lọc nhằm cải thiện tỉ lệ sống cá thể là khả thi.

6. Tương quan di truyền giữa tính trạng tỉ lệ sống và khối lượng thu hoạch dao động từ $0,29 \pm 0,08$ (Bể ATSH) đến $0,40 \pm 0,08$ (Khánh Hòa) cho thấy việc chọn lọc cải thiện tăng trưởng sẽ không ảnh hưởng tiêu cực đến tỉ lệ sống của tôm nuôi. Tương quan di truyền giữa EBV tỉ lệ sống và tỉ lệ sống trong từng môi trường là cao (0,80 cho Khánh Hòa và 0,89 cho Bể ATSH). Giữa hai môi trường, tương quan giữa tỉ lệ sống và EBV tỉ lệ sống là tương quan dương và tương đối thấp dao động từ 0,37

đến 0,55 do bản chất của hai môi trường nuôi và chế độ chăm sóc là rất khác nhau.

7.1. Hệ số di truyền được ước tính ở mức cao, cho G_0 là 0,43 và cho G_1 là 0,56. Hiệu quả chọn lọc cho quần thể G_0 , trong trường hợp chọn lọc ngắt đoạn (R_1) là 0,9 g, tương ứng với 3,3%. Cho quần thể G_1 , hiệu quả chọn lọc R_1 là 4,3 g (19,2%). Khi chọn lọc gia đình thì hiệu quả chọn lọc R_2 cũng tương tự như R_1 , cho G_0 là 0,9 g (3,3%) và cho G_1 là 4,1 g (18,1%)

7.2. Hiệu quả chọn lọc dựa trên khác biệt trung bình EBV (“thô”, chưa chuẩn hóa) giữa hai nhóm chọn lọc của hai quần thể G_0 và G_1 là 4,83 g (10,6%). Khi dựa trên khác biệt trung bình EBV (đã chuẩn hóa về phân bố với trung bình của nhóm chọn lọc) giữa hai quần thể hệ G_0 và G_1 thì hiệu quả chọn lọc là 4,87 g (7,2%).

7.3. Khi so sánh khác biệt EBV (chưa chuẩn hóa) của nhóm chọn lọc G_1 và trung bình quần thể G_1 thì hiệu quả chọn lọc là 10 g (10,5%).

CHƯƠNG IV: KẾT LUẬN VÀ ĐỀ XUẤT Ý KIẾN

4.1. Kết luận

1. Có một số hạn chế về tính đa dạng di truyền chung của 4 dòng tôm sú bố mẹ được sử dụng làm vật liệu ban đầu thông qua kết quả phân tích dị hợp tử quan sát (0,407) thấp hơn dị hợp tử mong đợi (0,633) và chỉ số cận huyết (F_{IS}) tương đối cao, trung bình là $0,357 \pm 0,19$.

2. Nhóm mẫu của dòng tôm Nội địa có phân phối tuân theo cân bằng HWE so với các nhóm mẫu còn lại. Giá trị cận huyết F_{IS} của dòng Nội địa là thấp nhất (0,316) so với ba dòng tôm có xuất xứ Ấn Độ Dương, Thái Bình Dương và Gia hóa (lần lượt là 0,374; 0,398; 0,338). Giá trị đa dạng gen của ba dòng tôm Ấn Độ Dương, Thái Bình Dương và Nội địa tương đối đều nhau và ở mức cao $\sim 0,645$.

3. Chỉ số PIC (thông tin đa hình) của dòng tôm Gia hóa là thấp nhất (0,515) so với ba dòng tôm còn lại (0,554). Dòng Gia hóa có chỉ số đa dạng gen thấp nhất (0,599) và có sự biến động lớn trong mẫu phân tích (0,398 – 0,710). Sự khác biệt giữa các cặp (Ấn Độ Dương, Thái Bình Dương), (Ấn Độ Dương, Nội địa) và (Thái Bình Dương, Nội địa) là không có ý nghĩa.

4. Mức độ biến dị khá cao về kiểu hình tính trạng khối lượng thân ở cả tôm đực và tôm cái (khoảng 21%) cho phép dự đoán quần đàn tôm sú trong nghiên cứu này có tiềm năng để cải thiện chất lượng di truyền trong các thế hệ chọn giống tiếp theo.

5. Trong tất cả các phép lai tác động đến tăng trưởng của thế hệ con là do nguồn gốc tôm bố mẹ, ảnh hưởng của yếu tố tôm mẹ và/hoặc tôm bố là không rõ ràng. Đối với các phép lai nội dòng thì phép lai của dòng tôm Gia hóa (GG) cho kết quả tăng trưởng tốt nhất. Trong các dòng tôm có nguồn gốc thu thập từ tự nhiên thì dòng nội địa (NN) thể hiện sự trội hơn về kiểu hình của tính trạng tăng trưởng của so với 2 dòng tôm còn lại (AA và TT).

6. Hầu hết những phép lai cho kết quả tăng trưởng tốt nhất về kiểu hình là các phép lai khác dòng. Trong số sáu phép lai cho kết quả tốt nhất (trừ phép lai nội dòng GG) thì đều là phép lai của dòng tôm Gia hóa (G) với ba dòng tôm còn lại. Những

phép lai khác dòng giữa những dòng tôm thu thập từ tự nhiên (như NA, NT, TA,...) cho kết quả tăng trưởng thấp hơn.

7. Tương quan di truyền của tính trạng khối lượng thân thu hoạch ở những môi trường nuôi khác nhau đều là tương quan thuận, không chặt chẽ và nằm ở mức từ thấp đến cao (r_g từ 0,29 đến 0,85) (> 0), cho phép dự đoán có tương tác GxE ở mức độ nhẹ.

8. Tương quan di truyền (r_g) của khối lượng tôm khi thu hoạch giữa 2 môi trường nuôi ở Khánh Hòa và bể ATSH (cho thế hệ G1) được ước tính là $0,75 \pm 0,09$, cho thấy nguồn vật liệu này có thể phát huy hiệu quả trong môi trường nuôi tại đây. Tương tác G x E (cho thế hệ G0) ở mức trung bình thấp ($rg = 0,42$) của tính trạng khối lượng giữa nuôi trong bể ATSH với ao nuôi tại Bạc Liêu (vùng nuôi chính của cả nước) đặt ra yêu cầu cần tăng cường hơn tính đa dạng về kiểu gen của nguồn vật liệu này.

9. Tương quan di truyền giữa tính trạng tỉ lệ sống và khối lượng thu hoạch dao động từ $0,29 \pm 0,08$ (bể ATSH) đến $0,40 \pm 0,08$ (Khánh Hòa) cho thấy việc chọn lọc cải thiện tăng trưởng sẽ không ảnh hưởng tiêu cực đến tỉ lệ sống của tôm nuôi. Tương quan di truyền giữa EBV tỉ lệ sống và tỉ lệ sống trong từng môi trường là cao (0,80 cho Khánh Hòa và 0,89 cho bể ATSH). Giữa hai môi trường, tương quan giữa tỉ lệ sống và EBV tỉ lệ sống là tương quan dương và tương đối thấp dao động từ 0,37 đến 0,55 do bản chất của hai môi trường nuôi và chế độ chăm sóc là rất khác nhau.

10. Hệ số di truyền về tính trạng khối lượng tôm được ước tính ở mức cao, cho tôm nuôi tại Khánh Hòa là $0,60 \pm 0,17$ và cho tôm nuôi trong bể ATSH là $0,56 \pm 0,15$. Ảnh hưởng của môi trường cũng ở mức khá, cho Khánh Hòa là $0,19 \pm 0,09$ và cho bể ATSH là $0,17 \pm 0,09$. Đối với tính trạng tỉ lệ sống cá thể, ước tính của hệ số di truyền cho tôm nuôi tại Khánh Hòa là $0,18 \pm 0,02$ và bể ATSH là $0,19 \pm 0,02$.

11. Hiệu quả chọn lọc đối với quần thể G0 trong trường hợp chọn lọc ngắt đoạn (R_1) là 0,9 g, tương ứng với 3,3%. Đối với quần thể G1, hiệu quả chọn lọc R_1 là 4,3 g (19,2%). Khi chọn lọc gia đình thì hiệu quả chọn lọc R_2 cũng tương tự như R_1 , cho G0 là 0,9 g (3,3%) và cho G1 là 4,1 g (18,1%).

4.2. Đề xuất ý kiến

1. Kết quả đánh giá đa dạng di truyền trên toàn bộ và từng dòng tôm sú bố mẹ làm vật liệu ban đầu cho quá trình chọn giống cho thấy cần thiết phải thu thập, bổ sung các dòng tôm vật liệu có tính đa dạng di truyền cao, trong đó chú ý đến các dòng tôm có nguồn gốc tự nhiên.

2. Cần tiếp tục nghiên cứu làm giảm ảnh hưởng của yếu tố môi trường (c^2) như thực hiện tốt cấu trúc ghép phối hoàn toàn là ghép phối thứ bậc, giảm thời gian sản xuất các gia đình, giảm kích cỡ đánh dấu tôm (tức là giảm thời gian ương gia đình riêng rẽ). Hoàn thiện kỹ thuật về chăm sóc, dinh dưỡng giai đoạn tiền và thành thực, cải tiến hệ thống nuôi, nuôi đánh giá ở các môi trường nuôi khác nhau nhằm góp phần làm tăng độ chính xác của việc ước tính hệ số di truyền và giá trị chọn giống.

3. Tiếp tục sử dụng di truyền phân tử hỗ trợ di truyền số lượng trong chọn giống nhằm đẩy nhanh hiệu quả chọn lọc.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Tài liệu tham khảo tiếng Việt

1. Nguyễn Công Dân, Trần Đình Luân, Phan Minh Quý và Nguyễn Thị Hoa (2003), “Chọn giống cá rô phi dòng GIFT nhằm nâng cao sức tăng trưởng và khả năng chịu mặn”, Tuyển tập Báo cáo khoa học và nuôi trồng thủy sản, Hội thảo khoa học toàn quốc lần thứ hai tại Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản I: 133-139.
2. Nguyễn Đình Hùng, Nguyễn Thanh Vũ, Nguyễn Văn Hảo và Phạm Đình Khôi (2011), “Thông số di truyền các tính trạng tăng trưởng trên tôm càng xanh chọn giống qua hai thế hệ”.
3. Nguyễn Hữu Ninh (2010), “Nghiên cứu chỉ thị về tinh (microsatellite) để chọn giống cá chép (*Cyprinus carpio*)”, Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn số 4: 81-87.
4. Nguyễn Hữu Ninh (2018), “Nghiên cứu phát triển và ứng dụng chỉ thị phân tử để chọn tạo tôm thẻ chân trắng bố mẹ tăng trưởng nhanh”, Báo cáo tổng kết đề tài cấp nhà nước.
5. Nguyễn Văn Hảo, Nguyễn Văn Sáng, Phạm Đình Khôi và Đình Hùng (2003), “Nâng cao chất lượng di truyền cá mè vinh ở miền Nam Việt Nam bằng phương pháp chọn lọc cá thể thông qua tốc độ tăng trưởng”, Tuyển tập báo cáo khoa học về nuôi trồng thủy sản, Hội thảo khoa học toàn quốc lần thứ hai tổ chức tại Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản I: 140-148.
6. Nguyễn Văn Hảo, Nguyễn Văn Sáng, Phạm Đình Khôi, Đình Hùng và Vũ Hải Định (2005), “Chọn giống cá tra nhằm nâng cao tỷ lệ phôi: các thông số di truyền”, Tuyển tập báo cáo hội thảo toàn quốc về nghiên cứu ứng dụng khoa học công nghệ vào nuôi trồng thủy sản, Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản II: 359-368.
7. Nguyễn Văn Hảo (2016), “Ứng dụng di truyền số lượng và di truyền phân tử để tạo vật liệu ban đầu cho chọn giống tôm sú theo tính trạng tăng trưởng”, Báo

cáo tổng kết đề tài cấp nhà nước 289 trang.

8. Nguyễn Văn Kiểm (2005), “Nghiên cứu một số chỉ tiêu trên 3 dòng cá chép nuôi tại đồng bằng Sông Cửu Long”, Luận án tiến sỹ chuyên ngành nông nghiệp và thủy sản.
9. Nguyễn Văn Sáng, 2009, “Chọn giống cá tra (*Pangasianodon hypophthalmus*) nhằm tăng tỷ lệ phi lê bằng chọn lọc gia đình”, Báo cáo tổng hợp đề tài khoa học công nghệ cấp Bộ.
10. Nguyễn Văn Sáng, 2019, “Nghiên cứu ứng dụng công nghệ sinh học trong chọn tạo tôm sú (*Penaeus monodon*) bố mẹ tăng trưởng nhanh”, Báo cáo tổng hợp đề tài khoa học công nghệ cấp Bộ.
11. Trần Mai Thiên, Phạm Mạnh Tường, Nguyễn Quốc Ân, Phạm Báu (1987), “Nghiên cứu nâng cao chất lượng giống một số loài cá nuôi nước ngọt ở Việt Nam”.
12. Trần Mai Thiên, 1998, “Nghiên Cứu nâng cao chất lượng di truyền cá nuôi ở Miền Bắc, Việt Nam”, Báo cáo tóm tắt hội thảo khoa học toàn quốc về Nuôi trồng Thủy Sản, Bộ Thủy Sản, 98 trang.
13. Trần Đình Cẩm Lan, 2015, “Thuyết minh khảo nghiệm chất lượng giống tôm sú do Moana sản xuất”.
14. Phạm Anh Tuấn, Nguyễn Văn Toán, Lê Quang Hưng, Nguyễn Hữu Ninh., (2009), “ Nghiên cứu chọn giống nâng cao tốc độ tăng trưởng cá rô phi nuôi trong vùng nước lợ mặn”, Báo cáo tổng kết đề tài Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn.
15. Tổng cục thủy sản (2017), “Báo cáo đề án xây dựng sản phẩm quốc gia tôm nước lợ”.
16. Trần Đình Trọng (1983), “Góp phần nghiên cứu biến dị hình thái cá chép (*Cyprinus carpio*) ở Việt Nam”, Tóm tắt luận án tiến sỹ sinh học.
17. Trần Thế Mưu, Lê Văn Nhân, Nguyễn Phương Toàn, Trần Thúy Hà, Nguyễn Văn Lâm, Nguyễn Văn Trung (2015), “Ứng dụng di truyền số lượng và di truyền

phân tử để tạo vật liệu ban đầu cho chọn giống tôm chân trắng theo tính trạng tăng trưởng”, Báo cáo tổng kết đề tài, 97 trang.

Tài liệu tham khảo tiếng Anh

18. Aquacop (1977), “Reproduction in captivity and growth of *Penaeus monodon* Fabricius in Polynesia”, Proc. J. World Maricul. Soc. 8, 927-945.
19. Aquacop (1979), “Penaeid reared broodstock: closing the cycle of *Penaeus monodon*, *P. stylirostris* and *P. vannamei*”, Proc. J. World Maricul. Soc. 10, 445-452.
20. Arce, S. M., Argue, B. J., Thompson, D. A. and Moss, S. M., (2003), “Evaluation of a fluorescent, alphanumeric tagging system for penaeid shrimp and its application in selective breeding programs”, Aquaculture, 228(1-4), 267-278.
21. Argue, B.J., Arce, S.M., Lotz, J.M., Moss, S.M., (2002), “Selective breeding of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) for growth and resistance to Taura Syndrome Virus”, Aquaculture. 204, 447- 460.
22. Astorga, N., Afonso, J. M., Zamorano, M. J., Montero, D., Oliva, V., Fernández, H. and Izquierdo, M. S., (2005), “Evaluation of visible implant elastomer tags for tagging juvenile gilthead seabream (*Sparus auratus* L.); effects on growth, mortality, handling time and tag loss”, Aquaculture Research, 36(8), 733-738
23. Bentsen, H.B., Eknath, A.E., Palada-de Vera, M.S., Danting, J.C., Bolivar, H.L., Reyes, R.A., Dionisio, E.E., Longalong, F.M., Circa, A.V., Tayamen, M.M., (1998), “Genetic improvement of farmed tilapias: growth performance in a complete diallel cross experiment with eight strains of *Oreochromis niloticus*”, Aquaculture. 160, 145-173.
24. Bentsen, H.B., Gjerde, B., Nguyen, N.H., Rye, M., Ponzoni, R.W., de Vera, M.S.P., Bolivar, H.L., Velasco, R.R., Danting, J.C., Dionisio, E.E., (2012), “Genetic improvement of farmed tilapias: Genetic parameters for body weight at harvest in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) during five generations of testing in multiple environments”, Aquaculture. 338, 56-65.

25. Benzie, J., Kenway, M., Trott, L., (1997), "Estimates for the heritability of size in juvenile *Penaeus monodon* prawns from half-sib matings", *Aquaculture*. 152, 49-53.
26. Bourdon, R.M., (1997), "Understanding animal breeding", Prentice Hall Englewood Cliffs, NJ.
27. Brennan, N. P., Leber, K. M. and Blackburn, B. R., (2007), "Use of coded-wire and visible implant elastomer tags for marine stock enhancement with juvenile red snapper (*Lutjanus campechanus*)", *Fisheries Research*, 83(1), 90-97.
28. Brock, J.A., (2013), "Hawaiian company breeds SPF black tiger shrimp for improved growth", *Global aquaculture advocate*, March/April 2013, 78-79.
29. Brown, J. H., McCauley, S., Ross, B., Taylor, A. and Huntingford, F., (2003), "A test of two methods for marking larvae and postlarvae of the giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*", *Aquaculture Research*, 34(1), 49-54.
30. Butt, K. R., Briones, M. J. I. and Lowe, C. N., (2009), "Is tagging with visual implant elastomer a reliable technique for marking earthworms", *Pesq. agropec. bras.*, Brasilia, 44(8), 969-974.
31. Carr W.H., Fjalestad K.T., Godin D., Swingle J., Sweeney J.N., & Gjedrem T., (1997), "Genetic variation in weight and survival in a population of specific pathogen-free shrimp, *Penaeus vannamei*", *Diseases in Asian aquaculture*, III: 265-271.
32. Butt, R. K. and Lowe, N. C., (2007), "A viable technique for tagging earthworms using visible implant elastomer", *Applied Soil Ecology*, 35(2), 454-457.
33. Claverie, T. and Smith, I. P., (2007), "A comparison of the effect of three common tagging methods on the survival of the galatheid *Munida rugosa* (Fabricius, 1775)", *Fisheries Research*, 86(2-3), 285-288.
34. Coman, G. J., Arnold, S. J., Wood, A. T. and Kube, P. D., (2010), "Age: Age genetic correlations for weight of *Penaeus monodon* reared in broodstock

tank systems”, Aquaculture, In Press, Corrected Proof.

35. Coman, G.I., Crocos, P.I., Arnold, S.J., Keys, S.I., Preston, N.P., Murphy, B., (2005), “Growth, survival and reproductive performance of domesticated Australian stocks of the giant tiger prawn, *Penaeus monodon*, reared in tanks and raceways”, Journal of the World Aquaculture Society. 36, 464-479.
36. Coman, G.J., Arnold, S.J., Wood, A.T., Kube, P.D., (2010), “Age genetic correlations for weight of *Penaeus monodon* reared in broodstock tank systems”, Aquaculture. 307, 1-5.
37. Cruz, P., Ibarra, A.M., Mejia-Ruiz, H., Gaffney, P.M., Pérez-Enríquez, R., (2004), “Genetic variability assessed by microsatellites in a breeding program of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*)”, Marine Biotechnology. 6, 157-164.
38. Cuzon, G., Lawrence, A., Gaxiola, G., Rosas, C., Guillaume, J., (2004), “Nutrition of *Litopenaeus vannamei* reared in tanks or in ponds”, Aquaculture. 235, 513-551.
39. Davis, J. L. D., Young-Williams, A. C., Hines, A. H. and Zmora, O., (2004), “Comparing two types of internal tags in juvenile blue crabs”, Fisheries Research, 67(3), 265-274.
40. De Graaf, M., (2007), “Tag retention, survival and growth of marron *Cherax tenuimanus* (Crustacea : Decapoda) marked with coded micro wire tags”, Marine and Freshwater Research, 58, 1044–1047.
41. Dinh Hung, Coman, G., Hurwood, D.A., Mather, P.B., (2012), “Experimental assessment of the utility of visible implant elastomer tags in a stock improvement programme for giant freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) in Vietnam”, Aquaculture Research. 43, 1471-1479.
42. Dixon, T.J., Coman, G.J., Arnold, S.J., Sellars, M.J., Lyons, R.E., Dierens, L., Preston, N.P., Li, Y., (2008), “Shifts in genetic diversity during domestication of Black Tiger shrimp, *Penaeus monodon*, monitored using two multiplexed microsatellite systems”, Aquaculture. 283, 1-6.

43. Domingos, F.F., Thomé, R.G., Ribeiro, R.I., Souza, H.A., Santos, H.B., (2013), “Assessment of fish assemblage in an urban system, Itapeceirica River, upper São Francisco River basin, Divinópolis, Minas Gerais, Brazil”, *Check List*. 9, 482-486.
44. Donato, M., Manrique, R., Ramirez, R., Mayer, L. and Howell, C., (2005), “Mass selection and inbreeding effects on a cultivated strain of *Penaeus* (*Litopenaeus vannamei*) in Venezuela”, *Aquaculture* 247: 159-167.
45. Donato, M., Ramirez, R., Howell, C., Verginelli, R., Orta, T., Cabrera, S., Mata, E. and Manrique, R., (2008), “Artificial family selection based on growth rate in cultivated lines of *Litopenaeus vannamei* (Decapoda, Penaeidae) from Venezuela”, *Genetics and Molecular Biology* 31.
46. Doupé, R. G., Partridge, G. J. and Lymbery, A. J., (2003), “Visible implant fluorescent elastomer tags as pedigree markers for applied aquaculture: an evaluation using black bream *Acanthopagrus butcheri*”, *Aquaculture Research*, 34(8), 681-683.
47. Dunham, R., (2007), “Comparison of six generations of selection, interspecific hybridization, intraspecific crossbreeding and gene transfer for growth improvement in ictalurid catfish”, *Aquaculture*. 272, S252-S253.
48. Dupont-Nivet, M., Vandeputte, M., Vergnet, A., Merdy, O., Haffray, P., Chavanne, H., Chatain, B., (2008), “Heritabilities and GxE interactions for growth in the European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) using a marker-based pedigree”, *Aquaculture*. 275, 81-87.
49. Eknath, A.E., Bentsen, H.B., Ponzoni, R.W., Rye, M., Nguyen, N.H., Thodesen, J., Gjerde, B., (2007), “Genetic improvement of farmed tilapias: composition and genetic parameters of a synthetic base population of *Oreochromis niloticus* for selective breeding”, *Aquaculture*. 273, 1-14.
50. Eknath, A.E., Tayamen, M.M., Palada de Vera, M.S., Danting, J.C., Reyes, R.A., Dionisio, E.E., Gjerdem, J.B. and Pullin, R.S.V., (1993), “Genetic improvement of farmed tilapias: the growth performance of eight strains of *Oreochromis*

- niloticus* tested in eleven different environments”, *Aquaculture* 111: 171- 188.
51. Ellegren (2004), “Microsatellites: simple sequences with complex evolution”, *Nature Review Genetics* 5, 435-445.
 52. Falconer, D.S., Mackay, T.F.C., (1996), “Introduction to quantitative genetics”
 53. Fishback, A.G., Danzmann, R.G., Ferguson, M.M., Gibson, J.P., (2002), “Estimates of genetic parameters and genotype by environment interactions for growth traits of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) as inferred using molecular pedigrees”, *Aquaculture*. 206, 137-150.
 54. Fjalestad, K., Gjedrem, T., Carr, W., Sweeney, J., (1997), “Final report: the shrimp breeding program. Selective breeding of *Penaeus vannamei*”, *AKVAFORSK Rep*, 85.
 55. Fjalestad, K.T., (2005), “Selection methods, Selection and Breeding Programs in *Aquaculture*”, Springer, pp. 159-171.
 56. Frisch, A. J. and Hobbs, J. A., (2006), “Long-term retention of internal elastomer tags in a wild population of painted crayfish (*Panulirus versicolor* [Latreille]) on the Great Barrier Reef”, *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 339(1), 104-110.
 57. Fuller, S. A., McEntire, M. and Ludwig, G. M., (2009), “Development and testing of a pedigree-marking system using visible implant elastomer tags for selective improvement in *Morone* breeding programmes”, *Aquaculture Research*, 9999 (9999).
 58. Gitterle, T., Ødegård, J., Gjerde, B., Rye, M., Salte, R., (2006), “Genetic parameters and accuracy of selection for resistance to White Spot Syndrome Virus (WSSV) in *Penaeus* (*Litopenaeus vannamei*) using different statistical models”, *Aquaculture*. 251, 210-218.
 59. Gitterle, T., Rye, M., Salte, R., Cock, J., Johansen, H., Lozano, C., Suárez, J.A., Gjerde, B., (2005a), “Genetic (co) variation in harvest body weight and survival in *Penaeus* (*Litopenaeus vannamei*) under standard commercial

- conditions”, Aquaculture. 243, 83-92.
60. Gitterle, T., Salte, R., Gjerde, B., Cock, J., Johansen, H., Salazar, M., Lozano, C., Rye, M., (2005b), “Genetic (co) variation in resistance to White Spot Syndrome Virus (WSSV) and harvest weight in *Penaeus* (*Litopenaeus vannamei*)”, Aquaculture. 246, 139-149.
 - Gjedrem, T., 2000. Genetic improvement of cold-water fish species. Aquaculture research. 31, 25-33.
 61. Gjedrem, T., (2005), “Selection and breeding programs in aquaculture”. AKVAFORSK, Ås. Springer.
 62. Gjedrem, T., Baranski, M., (2010), “Selective breeding in aquaculture”, An introduction. Springer Science & Business Media.
 63. Gjedrem, T., Gjoen, H.M. and Gjerde, B., (1991), “Genetic origin of Norwegian farmed Atlantic salmon”, Aquaculture 98: 41-50.
 64. Gjedrem, T., Robinson, N., Rye, M., (2012), “The importance of selective breeding in aquaculture to meet future demands for animal protein”, Aquaculture. 350, 117-129.
 65. Gjerde, B., (2005), “Design of Breeding program. In: Gjedrem, T.(ed). Selection and breeding programs in Aquaculture”, “Springer, Berlin, Heidelberg, 364pp.
 66. Godin, D. M., Carr, W. H., Hagino, G., Segura, F., Sweeney, J. N. and Blankenship, L., (1996), “Evaluation of a fluorescent elastomer internal tag in juvenile and adult shrimp *Penaeus vannamei*”, Aquaculture, 139(3-4), 243-248.
 67. Goyard, E., Penet, L., Chim, L., Cuzon, G., Bureau, D., Bedier, E., (2002), “Selective breeding of the Tahitian domesticated population of Pacific blue shrimp (*Litopenaeus stylirostris*)”, Perspectives for the New Caledonian shrimp industry. WORLD AQUACULTURE-BATON ROUGE-. 33, 28-33.
 68. Haastein, T., Hill, B. J., Berthe, F. and Lightner, O., (2001), “Traceability of aquatic animals”, Rev. sci. tech. Off int. Epiz., 20(2), 564-583.

69. Hassin, S., De Monbrison, D., Hanin, Y., Elizur, A., Zohar, Y., Poper, D.M., (1997), "Domestication of the white grouper, growth and reproduction", *Aquaculture* 156, 305-316.
70. Hayes, B., Chamberlain, A., Goddard, M., (2006), "Use of markers in linkage disequilibrium with QTL in breeding programs", *Proceedings of the 8th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production*, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil, 13-18 August, 2006. Instituto Prociência, pp. 30-06.
71. Heemeyer, J. L., Momyack, J. A. and Haas, C. A., (2007), "Retention and readability of visible implant elastomer marks in Eastern Red-Backed Salamanders (*Plethodon cinereus*)", *Herpetological Review*, 38(4), 425–428.
72. Henderson, C.R., (1975), "Best linear unbiased estimation and prediction under a selection model", *Biometrics*, 423-447.
73. Hershberger, W., Myers, J., Iwamoto, R., McAuley, W., Saxton, A., (1990), "Genetic changes in the growth of coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) in marine net-pens, produced by ten years of selection", *Aquaculture*. 85, 187-197.
74. Hetzel, D.J., Crocos, P.J., Davis, G.P., Moore, S.S., Preston, N.C., (2000), "Response to selection and heritability for growth in the Kuruma prawn, *Penaeus japonicus*", *Aquaculture*. 181, 215-223.
75. Holtsmark, M., Klemetsdal, G., Sonesson, A.K., Woolliams, J.A., (2008), "Establishing a base population for a breeding program in aquaculture, from multiple subpopulations, differentiated by genetic drift: I. Effects of the number of subpopulations, heritability and mating strategies using optimum contribution selection", *Aquaculture*. 274, 232-240.
76. Hoa, N.D., (2009), "Domestication of black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) in recirculation systems in Vietnam", 186 pages.
77. Hazel, L. N, 1943, "The genetic basis for constructing selection indexes", *Genetics*, 28: 476-490.

78. Huang, C.-M., Liao, I.-C., (1990), "Response to mass selection for growth rate in *Oreochromis niloticus*", *Aquaculture*. 85, 199-205.
79. Hung, D., Nguyen, N.H., (2014), "Modeling meat yield based on measurements of body traits in genetically improved giant freshwater prawn (GFP) *Macrobrachium rosenbergii*", *Aquaculture international*. 22, 619-631.
80. Hung, D., Nguyen, N.H., Hurwood, D.A., Mather, P.B., (2014), "Quantitative genetic parameters for body traits at different ages in a cultured stock of giant freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) selected for fast growth", *Marine and Freshwater Research*. 65, 198-205.
81. Hung, D., Nguyen, N.H., Ponzoni, R.W., Hurwood, D.A., Mather, P.B., (2013a), "Quantitative genetic parameter estimates for body and carcass traits in a cultured stock of giant freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) selected for harvest weight in Vietnam", *Aquaculture*. 404, 122-129.
82. Hung, D., Vu, N.T., Nguyen, N.H., Ponzoni, R.W., Hurwood, D.A., Mather, P.B., (2013b), "Genetic response to combined family selection for improved mean harvest weight in giant freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) in Vietnam", *Aquaculture*. 412, 70-73.
83. Imbert, H., Beaulaton, L., Rigaud, C. and Elie, P., (2007), "Evaluation of visible implant elastomer as a method for tagging small European eels", *Journal of Fish Biology*, 71(5), 1546-1554.
84. Isely, J. J. and Eversole, A. G., (1998), "Tag retention, growth, and survival of Red Swamp Crayfish *Procambarus clarkii* marked with coded wire tags", *Transactions of the American Fisheries Society*, 127(4), 658-660.
85. Isely, J. J. and Stockett, P. E., (2001), "Tag retention, growth and survival of Red Swamp Crayfish marked with a visible implant tag", *North American Journal of Fisheries Management*, 21, 422-424.
86. Jensen, L. F., Hansen, M. M. and Thomassen, S. T., (2008), "Visible implant elastomer (VIE) marking of brown trout, *Salmo trutta*", *Fisheries Management and Ecology*, 15(1), 81-83.

87. Jerry, D.R., Purvis, I.W., Piper, L.R., Dennis, C.A., (2005), "Selection for faster growth in the freshwater crayfish *Cherax destructor*", *Aquaculture*. 247, 169-176.
88. Jones, C.M., Ruscoe, I.M., (2000), "Assessment of stocking size and density in the production of redclaw crayfish, *Cherax quadricarinatus* (von Martens)(Decapoda: Parastacidae), cultured under earthen pond conditions", *Aquaculture*. 189, 63-71.
89. Kause, A., Ritola, O., Paananen, T., Eskelinen, U., Mäntysaari, E., (2003), "Big and beautiful? Quantitative genetic parameters for appearance of large rainbow trout", *Journal of Fish Biology*. 62, 610-622.
90. Kenway, M., Macbeth, M., Salmon, M., McPhee, C., Benzie, J., Wilson, K., Knibb, W., (2006), "Heritability and genetic correlations of growth and survival in black tiger prawn *Penaeus monodon* reared in tanks", *Aquaculture*. 259, 138-145.
91. Khaw, H.L., Ponzoni, R.W., Hamzah, A., Abu-Bakar, K.R., Bijma, P., (2012), "Genotype by production environment interaction in the GIFT strain of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)", *Aquaculture*. 326, 53-60.
92. Kiatpathomchai, W.B, Tassanakajon, V., Wongteerasupaya, C. and Jitrapakdee, S., (2001), "A non-stop single-tube semi-nested PCR technique for grading the severity of white spot syndrome virus infections in *Penaeus monodon*", *Disease of Aquatic Organisms* 47(3): 235- 244.
93. Kneib, R. T. and Huggler, M. C. (2001), "Tag placement, mark retention, survival and growth of juvenile white shrimp (*Litopenaeus setiferus* Pérez Farfante, 1969) injected with coded wire tags", *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 266(1),109-120.
94. Kohlmann, K., Kersten, P., Flajšhans, M., (2005), "Microsatellite-based genetic variability and differentiation of domesticated, wild and feral common carp (*Cyprinus carpio* L.) populations", *Aquaculture*. 247, 253-266.
95. Kolstad, K., Thorland, I., Refstie, T., Gjerde, B., (2006), "Genetic variation and

genotype by location interaction in body weight, spinal deformity and sexual maturity in Atlantic cod (*Gadus morhua*) reared at different locations of Norway”, *Aquaculture*. 259, 66-73.

96. Komen, H., Thorgaard, G.H., (2007), “Androgenesis, gynogenesis and the production of clones in fishes”, A review, *Aquaculture*. 269, 150-173.
97. Krishna, G., Gopikrishna, G., Gopal, C., Jahageerdar, S., Ravichandran, P., Kannappan, S., Pillai, S.M., Paulpandi, S., Kiran, R.P., Saraswati, R., (2011), “Genetic parameters for growth and survival in *Penaeus monodon* cultured in India”, *Aquaculture*. 318, 74-78.
98. Kvingedal, R., Jerry, D., Evans, B., Taylor, J., Knauer, J., (2007), “Genotype by environment ($G \times E$) interactions in silver pearl oysters (*Pinctada maxima*) and their effects on spat survival and growth”, *Aquaculture*. 272, S280-S281.
99. Lester, L.J., (1983), “Developing a selective breeding program for penaeid shrimp mariculture”, *Aquaculture*. 33, 41-50.
100. Li, Y., Wongprasert, K., Shekhar, M., Ryan, J., Dierens, L., Meadows, J., Preston, N., Coman, G., and Lyons, R. E. (2007), “Development of two microsatellite multiplex systems for black tiger shrimp *Penaeus monodon* and its application in genetic diversity study for two populations”, *Aquaculture* 266, 279-288.
101. Linnane, A. and Mercer, J. P. (1998), “A comparison of methods for tagging juvenile lobsters (*Homarus gammarus* L.) reared for stock enhancement”, *Aquaculture*, 163(3-4), 195-202.
102. Liu, Z., Cordes, J., (2004), “DNA marker technologies and their applications in aquaculture genetics”, *Aquaculture*. 238, 1-37.
103. Luan, S., Wang, J., Yang, G., Luo, K., Chen, X., Gao, Q., Hu, H., Kong, J., (2015), “Genetic parameters of survival for six generations in the giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*”, *Aquaculture Research*. 46, 1345-1355.
104. Luan, S., Yang, G., Wang, J., Luo, K., Chen, X., Gao, Q., Hu, H., Kong, J.,

- (2014), “Selection responses in survival of *Macrobrachium rosenbergii* after performing five generations of multi-trait selection for growth and survival”, *Aquaculture international*. 22, 993-1007.
105. Luan, S., Yang, G., Wang, J., Luo, K., Zhang, Y., Gao, Q., Hu, H., Kong, J., (2012), “Genetic parameters and response to selection for harvest body weight of the giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*”, *Aquaculture*. 362, 88-96.
106. Luan, T.D., Olesen, I., Ødegård, J., Kolstad, K., Dan, N.C., (2008), “Genotype by environment interaction for harvest body weight and survival of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) in brackish and fresh water ponds”, *Proceedings from the Eighth International Symposium on Tilapia Aquaculture*, pp. p231-240.
107. Macbeth, M., Kenway, M., Salmon, M., Benzie, J., Knibb, W., Wilson, K., (2007), “Heritability of reproductive traits and genetic correlations with growth in the black tiger prawn *Penaeus monodon* reared in tanks”, *Aquaculture*. 270, 51-56.
108. Mahapatra, K.D., Jana, R., Saha, J., Gjerde, B., Sarangi, N., (2006), “Lessons from the breeding program of rohu, Development of aquatic animal genetic improvement and dissemination programs: current status and action plans”, *WorldFish Center conferences proceedings*, pp. 34-40.
109. Maluwa, A.O., Gjerde, B., Ponzoni, R.W., (2006), “Genetic parameters and genotype by environment interaction for body weight of *Oreochromis shiranus*”, *Aquaculture*. 259, 47-55.
110. Mazlum, Y. (2007), “Influence of visible implant fluorescent elastomer (VIE) tagging on growth, molting and survival of the eastern white river crayfish, *Procambarus acutus acutus* (Girard, 1852)”, *Turkish Journal of Zoology* 31(3), 209-212.
111. Moore, S.S., Whan, V., Davis, G.P., Byrne, K., Hetzel, D.J., Preston, N., (1999), “The development and application of genetic markers for the Kuruma prawn

Penaeus japonicus”, Aquaculture. 173, 19-32.

112. Mulder, H., Bijma, P., (2005), “Effects of genotype $\times$ environment interaction on genetic gain in breeding programs”, Journal of animal science. 83, 49-61.
113. Nahavandi, R., Hafezamini, P., Shamsudin, M.N., (2013), “Genetic diversity of intensive cultured and wild tiger shrimp *Penaeus monodon* (Fabricius) in Malaysia using microsatellite markers”, African Journal of Biotechnology. 10, 15501-15508.
114. Navarro, A., Oliva, V., Zamorano, M. J., Ginés, R., Izquierdo, M. S., Astorga, N. and Afonso, J. M. (2006), “Evaluation of PIT system as a method to tag fingerlings of gilthead seabream (*Sparus auratus* L.): Effects on growth, mortality and tag loss”, Aquaculture, 257(1-4), 309-315.
115. Nei, M., Roychoudhury, A.K., (1974), “Genetic variation within and between the three major races of man, Caucasoids, Negroids, and Mongoloids”, American journal of human genetics. 26, 421.
116. Neira, R., Lhorente, J.P., Araneda, C., Díaz, N., Bustos, E., Alert, A., (2004), “Studies on carcass quality traits in two populations of Coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*): phenotypic and genetic parameters”, Aquaculture. 241, 117-131.
117. OIE., (2009), “Diagnostic Manual for Aquatic Animal Diseases 6th Edition”, Office International des Epizooties (OIE), Paris. Chapter 2.2.2. Infectious Hypodermal and Hematopoietic Necrosis. pp. 78-95.
118. Pan, Y.W., Chou, H.H., You, E.M., Yu, H.T., (2004), “Isolation and characterization of 23 polymorphic microsatellite markers for diversity and stock analysis in tiger shrimp (*Penaeus monodon*)”, Molecular Ecology Notes. 4, 345-347.
119. Pérez-Rostro, C.I., Ibarra, A.M., (2003a), “Quantitative genetic parameter estimates for size and growth rate traits in Pacific white shrimp, *Penaeus vannamei* (Boone 1931) when reared indoors”, Aquaculture Research. 34, 543-553.

120. Pérez-Rostro, C.I., Ibarra, A.M., (2003b), “Heritabilities and genetic correlations of size traits at harvest size in sexually dimorphic Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) grown in two environments”, *Aquaculture Research*. 34, 1079-1085.
121. Pierce, L.R., Palti, Y., Silverstein, J.T., Barrows, F.T., Hallerman, E.M., Parsons, J.E., (2008), “Family growth response to fishmeal and plant-based diets shows genotype× diet interaction in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)”, *Aquaculture*. 278, 37-42.
122. Pillai, B. R., Sahoo, L., Mahapatra, K. D., Ponzoni, R., Sahu, S., Mohanty, S., Vijaykumar and Sahu, S. (2009), “Evaluation of the new fluorescent internal tag (Soft Visible Implant Alphanumeric Tag) in the Freshwater Prawn, *Macrobrachium rosenbergii*”, *The Israeli Journal of Aquaculture – Bamidgeh*, 61(4), 345-350.
123. Pillai, B. R., Rath, S. C. and Sahu, S. (2007), “Evaluation of a visible implant fluorescent elastomer internal tag in juvenile freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*”, *Indian Journal of Animal Sciences*, 77(10), 1054-1056.
124. Pongsomboon, S., Whan, V., Moore, S., Tassanakajon, A., Kitiyanant, Y., Saikhun, J., Siriaronrat, B., Pavasuthipaisit, K., Yingyongnarongkul, B.-e., Suksamrarn, A., (2000), “Characterization of tri-and tetranucleotide microsatellites in the black tiger prawn, *Penaeus monodon*”, *Population studies*. 9, 10.
125. Ponzoni, R.W., Hamzah, A., Tan, S., Kamaruzzaman, N., (2005), “Genetic parameters and response to selection for live weight in the GIFT strain of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)”, *Aquaculture*. 247, 203-210.
126. Ponzoni, R.W., Nguyen, N.H., Khaw, H.L., Ninh, N.H., (2008b), “Accounting for genotype by environment interaction in economic appraisal of genetic improvement programs in common carp *Cyprinus carpio*”, *Aquaculture*. 285, 47-55.

127. Preston, N.P., Crocos, P.J., Keys, S.J., Coman, G.J., Koenig, R., (2004), "Comparative growth of selected and non-selected Kuruma shrimp *Penaeus (Marsupenaeus) japonicus* in commercial farm ponds; implications for broodstock production", *Aquaculture*. 231, 73-82.
128. Primavera, J.H., (1983), "Broodstock of Sugpo, *Penaeus monodon* Fabricius", Extension Manual No.7, Third Edition, Aquaculture Department, Southeast Asian Fisheries Development Center, Tigbauan, Iloilo, Philippines, 26 pages.
129. Primavera, J.H., Gabasa, Jr.P., (1981), "A comparison of two prawn (*Penaeus monodon*) brood stock systems", *Land-based tanks and marine pens*. J.World Maricul. Soc.
130. Quinton, C.D., McMillan, I., Glebe, B.D., (2005), "Development of an Atlantic salmon (*Salmo salar*) genetic improvement program: genetic parameters of harvest body weight and carcass quality traits estimated with animal models", *Aquaculture*. 247, 211-217.
131. Reza, N., Parivash, H and Mariana, N. S., (2011), "Genetic diversity of intensive cultured and wild tiger shrimp *Penaeus monodon* (Fabricius) in Malaysia using microsatellite markers", *African Journal of Biotechnology* Vol. 10(69), pp. 15501-15508.
132. Robertson, A., (1959), "The sampling variance of the genetic correlation coefficient", *Biometrics*. 15, 469-485.
133. Romana-Eguia, M.R.R., Ikeda, M., Basiao, Z.U., Taniguchi, N., (2004), "Genetic diversity in farmed Asian Nile and red hybrid tilapia stocks evaluated from microsatellite and mitochondrial DNA analysis", *Aquaculture*. 236, 131-150.
134. Saillant, E., Dupont-Nivet, M., Haffray, P., Chatain, B., (2006), "Estimates of heritability and genotype – environment interactions for body weight in sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) raised under communal rearing conditions", *Aquaculture*. 254, 139-147.
135. Sang, N.V., Klemetsdal, G., Odegard, J., Gjoen, H.M., (2012), "Genetic

parameters of economically important traits recorded at a given age in striped catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*)”, *Aquaculture*. 344 - 349, 82-89.

136. Skaala, Ø., Høyheim, B., Glover, K., Dahle, G., (2004), “Microsatellite analysis in domesticated and wild Atlantic salmon (*Salmo salar* L.): allelic diversity and identification of individuals”, *Aquaculture*. 240, 131-143.
137. Shaun Moss (2011), *Shrimp breeding and Training proposal*, 25.
138. Soula, M. M., Navarro, A., Zamorano, M. J., Roo, J., Real, F., Ginés, R. and Afonso, J.M. (2007), “Evaluation of visible implant elastomer (VIE) and passive integrated transponder (PIT) systems to tag fingerling of red porgy (*Pagrus pagrus*): Effects on growth, mortality and tag loss”, *Aquaculture*, 272(Supplement 1), S311-S312.
139. Sonesson, A.K, 2003, Possibilities for marker-assisted selection in fish breeding schemes. In *Proc. Int. Workshop on Marker-Assisted Selection: A Fast Track to Increase Genetic Gain in Plant and Animal Breeding?* (available at www.fao.org/biotech/docs/Sonesson.pdf).
140. Solberg TR, Sonesson AK, Woolliams JA, Meuwissen THE., (2008), Genomic selection using different marker types and densities. *J Anim Sci* 86:2447–2454.
141. Smith, H. F., (1936), “A discriminant function for plant selection”, *Ann. Eug.* 7: 240-250.
142. Sirawut Klinbunga, Rachanimuk Preechaphol, Supaporn Thumrunthanakit, Rungnapa Leelatanawit, Takashi Aoki, Padermsak Jarayabhand and Piamsak Menasveta., (2005), “Genetic Diversity of the Giant Tiger Shrimp (*Penaeus monodon*) in Thailand”.
143. Sritunyalucksana Kallaya, Jiraporn Srisala, Kenneth McColl, Linda Nielsen and Timothy W. Flegel., (2006), “Comparison of PCR testing methods for white spot syndrome virus (WSSV) infections in penaeid shrimp”, *Aquaculture*, 255, 95–104.
144. Subramaniam, K., Aungst, R.L., Tan-Wong, N.E.S., (2006), “Pioneering a

commercial production of SPF black tiger shrimp, *Aquaculture Asia Pacific* magazine 2(6), 28-30.

145. Swan, A.A., Thompson, P.A., Ward, R.D., (2007), “Genotype $\times$ environment interactions for weight in Pacific oysters (*Crassostrea gigas*) on five Australian farms”, *Aquaculture*. 265, 91-101.
146. Teichert-Coddington, D.R., Smitherman, R.O., (1988), “Lack of response by *Tilapia nilotica* to mass selection for rapid early growth”, *Transactions of the American Fisheries Society*. 117, 297-300.
147. Thanh, N. M., Ponzoni, R. W., Nguyen, N. H., Vu, N. T., Barnes, A. and Mather, P. B. (2009), “Evaluation of growth performance in a diallel cross of three strains of giant freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) in Vietnam”, *Aquaculture*, 287(1-2), 75- 83.
148. Tanksley, S.D., and J.C. Nelson., (1996), “Advanced backcross QTL analysis: A method for simultaneous discovery and transfer of valuable QTLs from unadapted germplasm into elite breeding lines”. *Theor. Appl. Genet.* 92:191–203.
149. Thodesen, J., Rye, M., Wang, Y.-X., Bentsen, H.B., Gjedrem, T., (2012), “Genetic improvement of tilapias in China: Genetic parameters and selection responses in fillet traits of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) after six generations of multi-trait selection for growth and fillet yield”, *Aquaculture*. 366, 67-75.
150. Thodesen, J., Rye, M., Wang, Y.-X., Li, S.-J., Bentsen, H.B., Gjedrem, T., (2013), “Genetic improvement of tilapias in China: Genetic parameters and selection responses in growth, pond survival and cold-water tolerance of blue tilapia (*Oreochromis aureus*) after four generations of multi-trait selection”, *Aquaculture*. 396, 32-42.
151. Toro, M.A., Fernández, J., Caballero, A., (2009), “Molecular characterization of breeds and its use in conservation”, *Livestock Science*. 120, 174-195.
152. Trọng, T.Q., Mulder, H.A., van Arendonk, J.A., Komen, H., (2013),

- “Heritability and genotype by environment interaction estimates for harvest weight, growth rate, and shape of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) grown in river cage and VAC in Vietnam”, *Aquaculture*, 119-384.
153. Uglem, I., Noess, H., Farestveit, E. and Jørstad, K. E. (1996), “Tagging of juvenile lobsters (*Homarus gammarus* (L.) with visible implant fluorescent elastomer tags”, *Aquacultural Engineering*, 15(6), 499-501.
 154. Uraivan, S., Doyle, R.W., Jala, R., (1995), “Evidence of genotype environment interaction observed in selected strains of tilapia (*Oreochromis niloticus*) during on farm growth comparison”, *Aquaculture*. 1, 330.
 155. Wang, Y., Han, J., Li, W., Xu, Z., (2007), “Effect of different selenium source on growth performances, glutathione peroxidase activities, muscle composition and selenium concentration of allogynogenetic crucian carp (*Carassius auratus*)”, *Animal Feed Science and Technology*. 134, 243-251.
 156. Winkelman, A., Peterson, R., (1994), “Genetic parameters (heritabilities, dominance ratios and genetic correlations) for body weight and length of chinook salmon after 9 and 22 months of saltwater rearing”, *Aquaculture*. 125, 31-36.
 157. Withyachumnarnkul, B., Boonsaeng, V., Flegel, T.W., Panyim, S., Wongteerasupaya, C., (1998), “Domestication and selective breeding of *Penaeus monodon* in Thailand”, *In: Flegel TW (Ed.) Advances in shrimp biotechnology, The Proceedings to The Special Session on Shrimp Biotechnology 5th Asian Fisheries Forum Chiangmai, Thailand. pp. 73-77.*
 158. Woods, C. M. C. and James, P. J. (2003), “Evaluation of visible implant fluorescent elastomer (VIE) as a tagging technique for spiny lobsters (*Jasus edwardsii*)”, *Marine and Freshwater Research*, 54(7), 853-858.
 159. Woods, C. M. C. and Martin-Smith, K. M. (2004), “Visible implant fluorescent elastomer tagging of the big-bellied seahorse, *Hippocampus abdominalis*”, *Fisheries Research*, 66(2-3), 363-371.
 160. Wuthisuthimethavee, S., Lumubol, P., Vanavichit, A., Tragoonrung, S., (2003),

“Development of microsatellite markers in black tiger shrimp (*Penaeus monodon* Fabricius)”, *Aquaculture*. 224, 39-50.

161. Xu, Z., Dhar, A., Wyrzykowski, J., Alcivar-Warren, A., (1999), “Identification of abundant and informative microsatellites from shrimp (*Penaeus monodon*) genome”, *Animal genetics*. 30, 150-156.
162. Xu, Z., Primavera, J.H., de la Pena, L.D., Pettit, P., Belak, J., Alcivar-Warren, A., (2001), “Genetic diversity of wild and cultured black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) in the Philippines using microsatellites”, *Aquaculture* 199,13– 40.
163. Xu, Z., Dhar, A., Wyrzykowski, J., Alcivar-Warren, A., (1999), “Identification of abundant and informative microsatellites from shrimp (*Penaeus monodon*) genome”. *Animal genetics*. 30, 150-156.
164. Zeeth, K. M. and Wood, J. B. (2009), “Impact of visible implant elastomer tags on the growth rate of captive Caribbean reef squid *Sepioteuthis sepioidea*”, *Fisheries Research*, 95(2-3), 362-364.