Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ
Số chuyên đề: SDMD 2022
website: ctujsvn.ctu.edu.vn

DOI:10.22144/ctu.jvn.2022.194

PHÁT TRIỂN DÒNG CÁ TRA (*Pangasianodon hypophthalmus*) CHỊU MẶN THÍCH ỨNG VỚI BIẾN ĐỔI KHÍ HẬU

Dương Thúy Yên[1], Đào Minh Hải[1], Đặng Quang Hiếu[2], Bùi Minh Tâm[1], Phạm Thanh Liêm[1], Bùi Thị Bích Hằng[1], Đỗ Thị Thanh Hương[1], Patrick Kestemont[3], Frédéric Farnir[4] và Nguyễn Thanh Phương[1*]

[1]*Khoa Thủy sản, Trường Đại học Cần Thơ*

[2]*Sở Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn tỉnh Đồng Tháp*

[3]*Research Unit in Environmental and Evolutionary Biology, Institute of Life, Earth & Environment, University of Namur, Belgium*

[4]*Department of Animal Production, Faculty of Veterinary Medicine, University of Liege, Belgium*

**Người chịu trách nhiệm về bài viết: Nguyễn Thanh Phương (email: ntphuong@ctu.edu.vn)*

Thông tin chung:
Ngày nhận bài: 06/09/2022
Ngày nhận bài sửa: 20/09/2022
Ngày duyệt đăng: 17/10/2022

Title:
Development of saline-tolerant striped catfish (Pangasianodon hypophthalmus) adapting to climate change

Từ khóa:
Biểu hiện gen, chịu mặn, chọn lọc hàng loạt, miễn dịch, tăng trưởng cá

Keywords:
Fish growth, gene expression, immunology, mass selection, saline tolerance

ABSTRACT

The development of saline-tolerant striped catfish adapting to climate change is of great importance for fish farming in the Mekong Delta. Over the last 5 years, we have succeeded in selecting a striped catfish strain with better tolerance to salinity (up to 10‰). Striped catfish can mature well in 5‰ with reproductive parameters similar to those cultured in freshwater conditions. In the following generation, survival rates of the selected and random groups were similar at salinities from 0‰ to 15‰ and insignificantly higher than the freshwater group (p>0.05). After one generation of selection under saline water conditions, realized heritability for body weight was moderate (0.29) and the average direct responses to selection for growth and survival were 18.0% and 11.4%, respectively. Physiological studies indicated that striped catfish can develop at 15‰ and that the salinity of 20‰ was considered the saline water tolerant limit of striped catfish. The gut of striped catfish was most responsive to changes in the osmotic pressure of water environment compared with other organs. 'Hormesis' method showed that exposure to the saline condition of 5‰ in the larval stage had the potential to alter gene expression related to osmotic regulation, immunity, and stress,... leading to higher survival and growth. The above results are of practical significance, contributing to the sustainable development of striped catfish farming in the Mekong Delta, especially in areas affected by the saline intrusion.

TÓM TẮT

Phát triển dòng cá tra chịu mặn để thích ứng với biến đổi khí hậu có ý nghĩa quan trọng đối với nghề nuôi cá tra ở Đồng bằng sông Cửu Long. Trong 5 năm qua, chúng tôi đã thành công trong chọn lọc được dòng cá tra chịu mặn đến 10‰. Cá thành thục tốt ở 5‰ với các chỉ tiêu sinh sản tương tương với cá nuôi trong nước ngọt. Tỷ lệ sống của nhóm cá chọn lọc và không chọn lọc tương đồng nhau ở độ mặn từ 0‰ tới 15‰ và cao hơn nhóm cá nước ngọt mặc dù khác biệt không có ý nghĩa (p>0,05). Sau một thế hệ chọn lọc trong nước lợ, hệ số di truyền về khối lượng là 0,29, tăng trưởng khối lượng tăng 18,0% và tỷ lệ sống tăng 11,4%. Nghiên cứu về sinh lý học cho thấy cá tra có khả năng sinh trưởng ở 15‰ và độ mặn 20‰ được xem là giới hạn chịu đựng của cá tra. Đường ruột của cá phản ứng mạnh nhất với sự thay đổi áp suất thẩm thấu của môi trường so với các cơ quan khác. Phương pháp "hormesis" cho thấy khi cá tiếp xúc với 5‰ ở giai đoạn cá bột làm thay đổi biểu hiện gen về áp suất thẩm thấu, miễn dịch, stress,... dẫn đến tăng tỷ lệ sống và tăng trưởng. Kết quả trên có ý nghĩa quan trọng cho sự phát triển bền vững của cá tra trong vùng, đặc biệt là khu vực bị ảnh hưởng của xâm nhập mặn.

1. GIỚI THIỆU

Cá tra được xếp thứ 8 về sản lượng các loài cá nước ngọt nuôi trên thế giới, trong đó, Việt Nam là nước sản xuất cá tra lớn nhất, đóng góp khoảng 65% sản lượng (FAO, 2022). Cá tra được nuôi chủ yếu ở Đồng bằng sông Cửu Long (ĐBSCL) và là đối tượng xuất khẩu quan trọng, chiếm gần 25% kim ngạch xuất khẩu của ngành thủy sản. Vùng nuôi cá tra tập trung ở nước ngọt thuộc các tỉnh/thành phố như An Giang, Đồng Tháp, Cần Thơ, Vĩnh Long,…và đang mở rộng nuôi ở các tỉnh bị nhiễm mặn trong mùa khô như tỉnh Bến Tre, Hậu Giang, Sóc Trăng, Trà Vinh và Kiên Giang. Tuy nhiên, nuôi cá tra nói riêng và nuôi trồng thủy sản nước ngọt nói chung ở ĐBSCL đang và sẽ chịu nhiều tác động của biến đổi khí hậu, trong đó có sự xâm nhập mặn do nước biển dâng. Mực nước biển dâng ở ĐBSCL được dự báo sẽ tăng lên 75 cm vào cuối thế kỷ 21 (Bộ Tài nguyên và Môi trường, 2016). Nước biển dâng kéo theo đó là sự xâm nhập mặn vào sâu khu vực nội đồng và sự xâm nhập mặn càng trở nên nghiêm trọng hơn khi lượng nước ngọt sông Mekong đổ về ĐBSCL giảm nhiều do việc xây dựng các đập thủy điện ở thượng nguồn. Sự xâm nhập mặn có ảnh hưởng đến nghề nuôi trồng thủy sản nước ngọt, trong đó có cá tra. Tuy vậy, sự xâm nhập mặn cũng mở ra thêm diện tích nước nhiễm mặn có thể khai thác để phát triển nuôi cá loài thủy sản có thể chịu mặn. Một trong những giải pháp để thích ứng với sự xâm nhập mặn của ngành nuôi trồng thủy sản là phải chọn lựa và phát triển các loài có khả năng chịu mặn, đặc biệt là phát triển dòng cá tra có khả năng chịu mặn vừa hạn chế tác động đến nghề nuôi, đáp ứng sự phát triển bền vững cũng như mục tiêu đạt sản lượng 2.000.000 tấn (chiếm 41,7% tổng sản lượng nuôi trồng thủy sản ĐBSCL) vào năm 2030 theo Quyết định 3550/QĐ-BNN-TCTS phê duyệt Đề án phát triển nuôi trồng thủy sản bền vững vùng ĐBSCL đến năm 2030 (Bộ Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn, 2021).

Nhìn từ bối cảnh trên, dự án "*Hướng đến sự bền vững trong sản xuất giống cá tra: tiếp cận theo phương pháp chọn lọc*" (gọi tắt là dự án PANGAGEN) đã được hình thành và đây là dự án hợp tác giữa Trường Đại học Cần Thơ với Trường Đại học Liège và Trường Đại học Namur (Bỉ) do ARES-CCD (Viện Hàn lâm về Nghiên cứu và Giáo dục sau đại học và Ủy ban hợp tác phát triển) của Vương quốc Bỉ tài trợ. Hai trong năm mục tiêu của dự án là (i) chọn lọc cá tra thích nghi tốt với môi trường nước lợ mặn và (ii) tìm hiểu những thay đổi về chỉ tiêu sinh lý, miễn dịch dưới ảnh hưởng của độ mặn của cá tra.

Chọn lọc là một trong các phương pháp hiệu quả để nâng cao tăng trưởng của các loài thủy sản với khả năng tăng từ 8-12% trên mỗi thế hệ chọn lọc (Nguyen, 2016). Ở cá hồi Đại Tây Dương, tăng trưởng gia tăng 17,8% mỗi thế hệ chọn lọc; cá nheo Mỹ là 14,5%, và các loài tôm là 8,7% khi chọn lọc về chỉ tiêu tăng trưởng (Gjedrem & Rye, 2016). Ngoài ra, chọn lọc cũng thể hiện sự hiệu quả đối với sự tăng khả năng kháng bệnh của các loài thủy sản (Suebsong et al., 2019) từ đó nâng cao tỷ lệ sống. Ví dụ, tỷ lệ sống của tôm chân trắng tăng lên đến 18,4% thông qua chọn lọc kháng bệnh Taura (Argue et al., 2002), tỷ lệ sống tăng 18,7% đối với bệnh hoại tử gan ở cá hồi Đại Tây Dương (Storset et al., 2007) hay tỷ lệ sống tăng 9% đối với bệnh nhiễm khuẩn (*Streptococcosis*) trên cá điêu hồng (Sukhavachana et al., 2019). Phương pháp chọn lọc cũng được sử dụng để tăng khả năng chịu mặn cho cá rô phi (Cnaani & Hulata, 2011; Jaspe & Caipang, 2011; Tayamen et al., 2004). Một số nghiên cứu cho rằng sự hiện diện của các yếu tố di truyền liên quan đến sức tăng trưởng và tỷ lệ sống trong môi trường nước mặn có thể được khai thác trong quá trình chọn lọc (Tayamen et al., 2004; Tran et al., 2008). Cnaani and Hulata (2011) nhận định rằng khả năng chịu mặn của cá là tổng hợp của các tính trạng số lượng bao gồm các quá trình chuyển hóa, sinh trưởng, điều hòa áp suất thẩm thấu và khả năng sinh sản, trong đó từng yếu tố này bị ảnh hưởng bởi nhiều gen. Trên cá tra, đến thời điểm hiện tại chỉ có một chương trình chọn giống được thực hiện với mục đích cải thiện khả năng sinh trưởng trong môi trường nước ngọt (Sang et al., 2012; Vu et al., 2019) nhưng chưa có chương trình chọn lọc nào nhằm tăng cường khả năng chịu mặn của cá tra.

Độ mặn là một trong những yếu tố quan trọng quyết định đến môi trường sống ở động vật thủy sản. Các loài cá thường duy trì nồng độ thẩm thấu trong máu từ 280-360 $mOsm.kg^{-1}$ tương đương với môi trường độ mặn từ 10-12‰ thông qua việc điều chỉnh áp suất thẩm thấu ở một vài cơ quan như mang, da, hệ tiêu hóa và tiết niệu (Evans et al., 2005). Tuy nhiên, áp suất thẩm thấu sẽ thay đổi nhiều hơn ở giai đoạn phôi, dao động từ 240-540 $mOsm.kg^{-1}$ và khả năng điều hòa áp suất thẩm thấu chủ yếu ở trên da. Chức năng này sẽ được chuyển dần sang hệ tiêu hóa, tiết niệu và mang ở các giai đoạn phát triển tiếp theo (Fridman, 2020). Nhiều nghiên cứu cho thấy độ mặn có ảnh hưởng quan trọng đến động vật thủy sản như sinh lý, miễn dịch, tiêu hóa, hệ vi khuẩn đường ruột (Martin et al. 2016; Dehler et al. 2017). Ở cá tra, một vài nghiên cứu trước đây chủ yếu tập trung vào sinh trưởng và phát triển dưới các điều kiện độ mặn khác

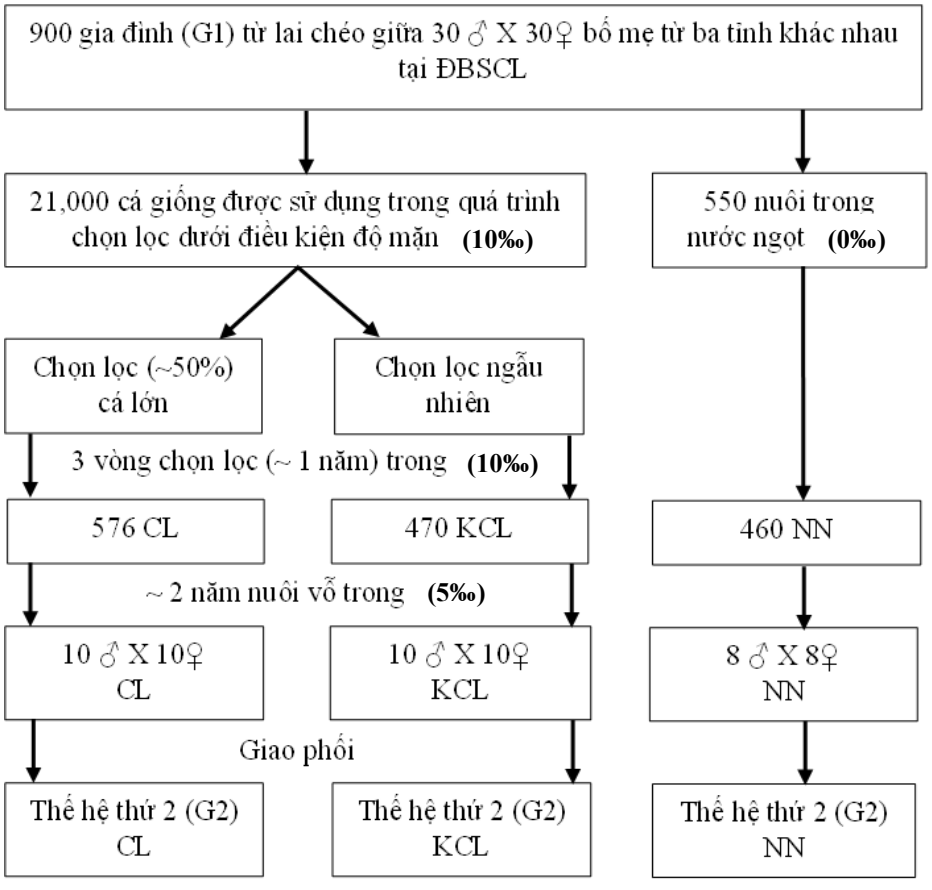
nhau. Kết quả cho thấy cá tra phát triển ở độ mặn từ 5 đến 10‰ (Nguyen et al., 2014; Schmitz et al., 2016). Trên cá hồi, độ mặn làm thay đổi thành phần hệ vi khuẩn trên da và đường ruột (Dehler et al., 2017; Lokesh et al., 2019; Lokesh & Kiron, 2016). Trong phạm vi nghiên cứu của dự án PANGAGEN, nhóm tác giả tập trung vào cơ chế điều hòa áp suất thẩm thấu ở các cơ quan quan trọng như mang, ruột và thận ở cá tra. Đồng thời, nghiên cứu cũng làm rõ các ảnh hưởng của độ mặn lên hệ vi sinh vật đường ruột của cá.

Bài viết này trình bày phương pháp, kết quả chọn lọc cá tra trong điều kiện nước lợ và một số nghiên cứu về sinh lý, miễn dịch liên quan đến khả năng chịu mặn của cá tra.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Phương pháp tạo đàn cá bố mẹ chịu mặn

Cá bố mẹ ban đầu (thế hệ G_0) được chọn từ ba trại giống ở tỉnh An Giang, Vĩnh Long và thành phố Cần Thơ, mỗi trại chọn 10 cá đực và 10 cá cái thành thục tốt, có khối lượng từ 5 – 7 kg. Mẫu vi đuôi (khoảng 1 cm^2) của mỗi con được thu và giữ trong ethanol 95% để phân tích di truyền sau này. Cá bố mẹ được cho sinh sản chéo, tạo ra 900 gia đình; trứng và tinh của mỗi con được chia 30 phần, trứng của mỗi con cái (khoảng 3.000 trứng/phần) được thụ tinh với 30 con đực và tinh của mỗi con đực được thụ tinh với trứng của 30 con cái. Trứng sau khi thụ tinh được ấp riêng theo gia đình (trong khay nhựa có nước chảy tràn). Cá nở sau 24 giờ thụ tinh. Cá bột được gộp chung và thả vào hai ao ương nước ngọt (diện tích 1.500 m^2/ao, độ sâu mực nước 1,5 m), tại Trung Tâm giống và Kỹ thuật thủy sản CASEAMEX. Sau 47 ngày nuôi (ngày tuổi), cá được thu và chuyển vào nuôi trong hệ thống tuần hoàn tại Khoa Thủy sản, Trường Đại học Cần Thơ. Tổng số 21.000 cá được thả vào bể nuôi thể tích nuôi 400 m^3 (tổng thể tích của hệ thống tuần hoàn 700 m^3), được thuần dưỡng với độ mặn tăng dần 1‰/ngày trong 10 ngày và nuôi ở độ mặn 10‰ trong một năm. Đồng thời, 550 con cũng được nuôi trong bể nước ngọt, tuần hoàn 50 m^3.



Hình 1. Quy trình lai tạo và chọn lọc dòng cá tra chịu mặn

Cá nuôi trong nước lợ trải qua ba lần chọn lọc (sử dụng phương pháp chọn lọc hàng loạt) ở ba giai đoạn: 148, 237 và 340 ngày tuổi sau khi nở. Tại thời điểm chọn lọc, cá được chia làm hai nhóm gồm không chọn lọc (KCL) và chọn lọc (CL). Cá CL là những cá thể có khối lượng từ trung bình (dựa vào cân 50-70 mẫu) trở lên. Chúng được giữ trong giai riêng đặt trong cùng hệ thống tuần hoàn. Ở lần chọn lọc thứ 3 (340 ngày), cá được cân từng cá thể, đánh dấu bằng thẻ PIT (Passive Integrated Transponders) và lấy mẫu vi đuôi để phân tích di truyền. Sau đó, cả hai nhóm cá (550 cá thể/nhóm) được thả trực tiếp trong cùng bể và nuôi ở độ mặn 5‰ trong hai năm, thành cá bố mẹ G_1. Quá trình lai tạo, chọn lọc cá G_1 và nguồn cá G_1 sinh sản tạo G_2 trong các thí nghiệm đánh giá tăng trưởng của cá chọn lọc được tóm tắt ở Hình 1.

2.2. Phân tích phả hệ và đánh giá một số chỉ tiêu sinh sản của cá tra thế hệ G_1 nuôi trong nước lợ

Mẫu cá thế hệ G_0 (n=60) và G_1 (500 con CL và 500 con KCL nuôi trong nước lợ) được giải trình tự low sequencing depth (SD). Từ kết quả, nhóm nghiên cứu phát triển phương pháp phân tích phả hệ (đặt tên là "Shallowed") để xác định bố, mẹ của mỗi cá thể G_1. Cá G_1 được chọn cho sinh sản tạo thế hệ G_2 sao cho không có mối quan hệ họ hàng. Ba nhóm cá bố mẹ G_1 cho sinh sản gồm cá CL và KCL nuôi trong nước lợ và nhóm cá nước ngọt (NN) (Hình 1). Cá tra được kích thích sinh sản bằng cách sử dụng hormone HCG (Human Chorionic Gonadotrophin) với liều lượng tổng là 5.500 UI/kg cho cá cái với (4 liều tiêm) và 1.000 UI/kg cho cá đực (1 liều tiêm cùng với thời điểm tiêm liều quyết định ở cá cái). Quá trình thụ tinh khô được áp dụng (Bui et al., 2010).

2.3. Đánh giá khả năng chịu mặn ở cá thế hệ G_2

Ba nghiệm thức cá tra thế hệ G_2 (Hình 1) được so sánh tăng trưởng và tỷ lệ sống ở giai đoạn cá bột lên cá hương, cá hương lên cá giống và đến giai đoạn cá thương phẩm. Ở giai đoạn cá bột, cá được ương ở 5 mức độ mặn 0, 5, 10, 15 và 20‰ trong hệ thống bể 50-L (mật độ 10 con/L) trong 21 ngày. Thức ăn sử dụng gồm luân trùng, ấu trùng *Artermia* và *Moina* (trứng nước), cho ăn thỏa mãn nhu cầu của cá. Thí nghiệm ương cá hương ở 5 độ mặn giống như trên được thực hiện trong hệ thống bể lọc tuần hoàn với 4 lần lặp lại trong 70 ngày.

Ở giai đoạn nuôi thịt, ba nhóm cá giống được đánh dấu (bằng cách tiêm màu phản quang vào hai bên nắp mang và cuống đuôi) và nuôi chung trong 4 bể 10 m^3 (4 lần lặp lại) ở độ mặn 10‰. Mỗi bể bố trí 150 cá từ mỗi nhóm (450 con/bể), có khối lượng từ 18-20 g. Sau 1 ngày cá đã ổn định thì nâng độ mặn 1‰/ngày. Cá chết trong quá trình nâng độ mặn được thay cá thể mới. Mỗi tháng thu mẫu tăng trưởng bằng cách cân ngẫu nhiên 30 cá thể/nhóm. Thời gian thí nghiệm là 8 tháng.

2.4. Ước tính hệ số di truyền thực tế về tăng trưởng

Hệ số di truyền về tăng trưởng (dựa trên khối lượng lúc 1 năm tuổi) trong môi trường độ mặn được ước tính như sau:

$$h^2 = R/S$$

Trong đó S là sự khác biệt chọn lọc, là giá trị khác biệt giữa trung bình khối lượng nhóm CL và KCL ở thế hệ G1. R là giá trị phản ứng chọn lọc, được ước lượng dựa trên sự chênh lệch về khối lượng của nhóm CL (Ws) và KCL (Wr) ở thế hệ G2 tại thời điểm thu hoạch.

$$R = Ws - Wr$$

Mức độ cải thiện di truyền được tính $R\% = 100 \times [(Ws - Wr)/Wr]$.

Cách tính tương tự được áp dụng cho tỷ lệ sống của cá kết thúc giai đoạn nuôi 1 năm.

2.5. Đánh giá hiệu quả chọn lọc giống cá tra chịu mặn sử dụng phương pháp biểu hiện gen

Thí nghiệm được thực hiện trên phôi và cá bột của 3 nhóm cá CL, KCL và NN thế hệ G_2 (Hình 1). Sau khi thụ tinh, phôi được ấp trong nước ngọt và 2,5‰ đến khi nở. Cá bột, sau đó được ương trong độ mặn tương ứng đến 6 ngày tuổi với mật độ 5 con/L và cho ăn hoàn toàn bằng luân trùng và *Moina*. Tuy nhiên, cá bột nhóm NN ương ở độ mặn 2,5‰ chết 100% ở ngày thứ 6, vì vậy chỉ thu mẫu được 5 nghiệm thức (3 nhóm CL, KCL và NN ở 0‰ và nhóm CL và KCL ở 2,5‰). Mẫu cá bột được phân tích các chỉ tiêu biểu hiện gen liên quan đến sự methyl hoá (methylation), áp suất thẩm thấu và tăng trưởng bằng phương pháp qPCR.

2.6. Ảnh hưởng của độ mặn lên tăng trưởng, sinh lý, miễn dịch và hệ vi khuẩn ở cá tra

Cá tra bột 10 ngày tuổi có nguồn gốc từ trại giống nước ngọt (công ty Việt Úc, An Giang) được cho tiếp xúc với các độ mặn khác nhau gồm 0, 5, 10, 15 và 20‰ trong 10 ngày với mật độ 1 con/L. Mỗi nghiệm thức được lặp lại 3 lần. Cá được cho ăn hoàn toàn bằng *Moina* trong suốt thời gian thí nghiệm.

Sau 10 ngày nuôi, cá được tiếp xúc với 39^0C để đánh giá ảnh hưởng của độ mặn lên khả năng chịu đựng nhiệt độ của cá. Các chỉ tiêu tăng trưởng, tỷ lệ sống, sinh lý miễn dịch được phân tích.

Một thí nghiệm tương tự được thực hiện ở giai đoạn giống (20-30 g), cá được tiếp xúc với 5 mức độ mặn từ 0 đến 20‰ trong 20 ngày, sau đó được nuôi thêm 14 ngày trong điều kiện độ mặn tương ứng. Cá được bố trí với mật độ 40 con/bể (500-L) trong các hệ thống tuần hoàn và được lặp lại 4 lần. Thu mẫu được thực hiện ở ngày 20 và ngày 34 khi kết thúc thí nghiệm. Bên cạnh các chỉ tiêu tăng trưởng, các cơ quan mang, ruột và thận cũng được thu mẫu để phân tích biểu hiện gen bằng phương pháp qPCR, đồng thời, hệ vi khuẩn đường ruột cũng được phân tích bằng phương pháp giải trình tự đoạn gen 16s RNA.

2.7. Ảnh hưởng của việc tiếp xúc độ mặn ở giai đoạn sớm (cá bột) đến khả năng chịu đựng độ mặn ở giai đoạn sau (cá giống)

Cá bột 1 ngày tuổi có nguồn gốc từ trại giống nước ngọt (công ty Việt Úc) được tiếp xúc với độ mặn 5‰ trong 5 ngày, sau đó được nuôi trở lại môi trường nước ngọt đến giai đoạn giống (sau 105 ngày). Tiếp theo, cá được tiếp xúc trở lại với các độ độ mặn gồm 0, 10 và 20‰ trong 10 ngày và được nuôi tiếp trong 30 ngày ở độ mặn tương ứng để đánh giá khả năng chịu đựng với độ mặn. Mật độ cá và hệ thống thí nghiệm tương tự như mục 2.6. Mỗi nghiệm thức được lặp lại 3 lần. Các chỉ tiêu tăng trưởng, mẫu mang được thu vào ngày 10 và ngày 40 để phân tích biểu hiện gen bằng phương pháp qPCR.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Tăng trưởng của cá chọn lọc G_1 qua 3 lần chọn lọc

Sau 3 lần chọn lọc trong một năm, khối lượng trung bình của nhóm cá CL (1.380±175 g) gần gấp đôi so với nhóm cá KCL (793±230 g) (Bảng 1).

Bảng 1. Khối lượng (g) cá tra G_1 qua ba lần chọn lọc trong điều kiện 10‰

Lần chọn lọc (ngày tuổi)	Chọn lọc (CL)	Không chọn lọc (KCL)
Lần 1 (148 ngày)	157±36,8	115±39,4
Lần 2 (237 ngày)	373±84,0	188±89,5
Lần 3 (340 ngày)	1.380±175	793±230

3.2. So sánh một số chỉ tiêu sinh sản của cá tra G_1 nuôi trong nước lợ và nước ngọt

Khối lượng cá cái tham gia sinh sản của nhóm CL lớn hơn hai nhóm KCL và NN ($p<0,05$) (Bảng 2). Sức sinh sản, đường kính trứng, thể tích noãn hoàng và chiều dài cá bột của nhóm CL cao hơn nhưng khác biệt không có ý nghĩa so với hai nhóm cá còn lại ($p>0,05$). Tại thời điểm thí nghiệm (tháng 5/2019) đang là mùa sinh sản của cá tra, tỷ lệ thành thục của cá bố mẹ ở ba nhóm đạt trên 90%. Kết quả này cho thấy cá tra có khả năng thành thục và sinh sản tốt trong điều kiện nước lợ 5‰, các chỉ tiêu sinh sản tương đương với cá tra nuôi trong nước ngọt ở nghiên cứu này cũng như trong các báo cáo trước đây của Bui et al. (2010) và Nguyen et al. (2013).

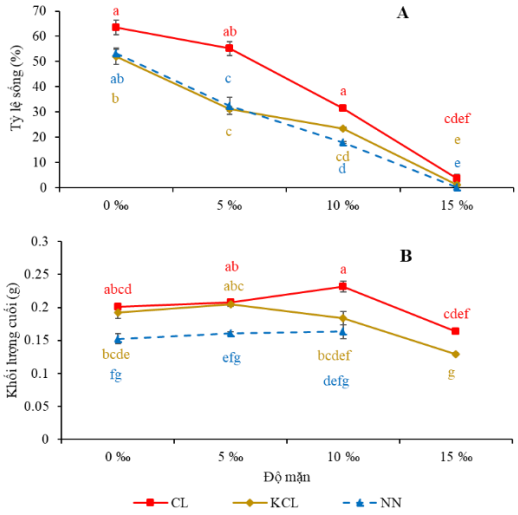
Bảng 2. Các chỉ tiêu sinh sản của ba nhóm cá tra thế hệ G_1

Đặc điểm	Nước ngọt (NN)	Chọn lọc (CL)	Không chọn lọc (KCL)
Khối lượng cá cái (kg)	4,04±0,42^a	5,27±0,88^b	4,51±0,57^{ab}
Sức sinh sản (trứng/kg cá cái)	161.051±65.359^a	178.039±35.053^a	175.556±40.716^a
Đường kính trứng (mm)	1,016±0,025^a	1,042±0,02^a	1,052±0,03^a
Thể tích noãn hoàng (mm^3)	0,440±0,051^a	0,47±0,04^a	0,48±0,05^a
Chiều dài cá bột (mm)	3,21±0,04^a	3,21 ±0,07^a	3,36±0,11^a

Số liệu trình bày (trung bình±độ lệch chuẩn) trong cùng một hàng có các ký tự (a,b) khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p<0,05$)

3.3. Tăng trưởng và tỷ lệ sống của đàn cá G_2

Nhằm đánh giá khả năng chịu mặn của cá tra cũng như là hiệu quả chọn lọc, cá tra thế hệ G_2 từ ba nhóm cá được nuôi trong nhiều điều kiện độ mặn khác nhau với nhiều giai đoạn phát triển. Kết quả cho thấy trong giai đoạn từ cá bột lên cá hương tỷ lệ sống và khối lượng cá có xu hướng giảm khi độ mặn tăng (Hình 2). Độ mặn và nhóm cá ảnh hưởng có ý nghĩa thống kê ($p<0,05$) lên tỷ lệ sống và khối lượng cá, nhưng không có sự tương tác với nhau. Cả ba nhóm cá đều không thể sống sót ở độ mặn 20‰. Ở độ mặn 15‰, chỉ có cá nhóm CL và KCL còn sống. Mặc dù tỷ lệ sống ở nhóm CL cao hơn có cùng xu hướng, nhưng sự khác biệt giữa các nhóm cá không có ý nghĩa thống kê ở 0‰ và chỉ khác có ý nghĩa ở 5‰ và 10‰. Tương tự, khối lượng của nhóm CL có xu hướng cao hơn so với nhóm KCL và NN, khác biệt này có ý nghĩa ($p<0,05$) từ độ mặn 10‰ trở lên.

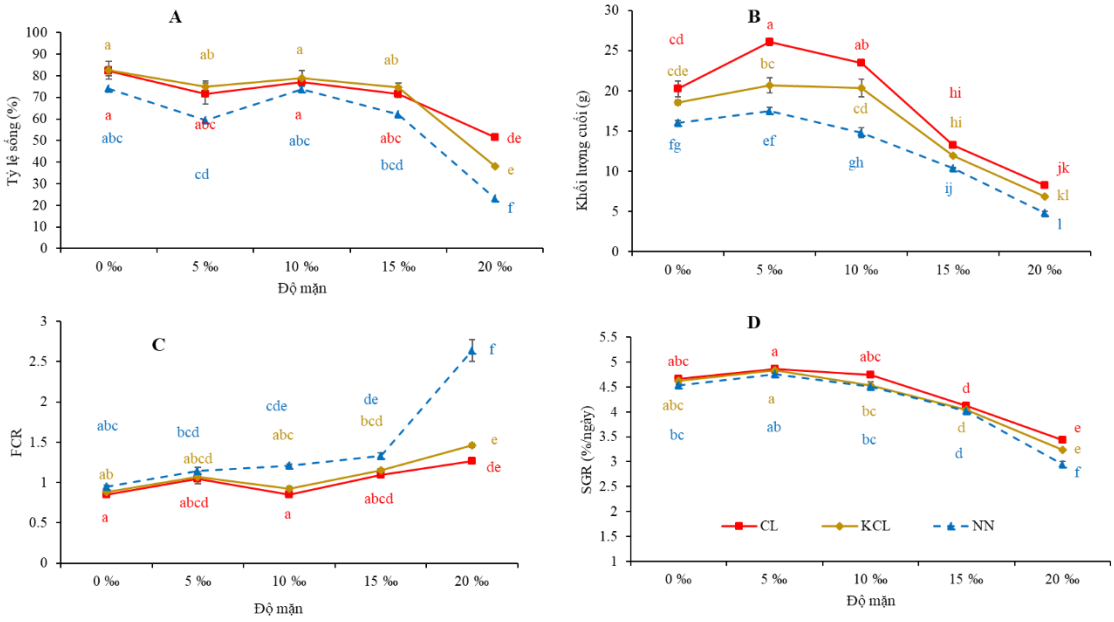


Hình 2. Tỷ lệ sống (A) và khối lượng cá cuối thí nghiệm (B) của ba nhóm cá sau 21 ngày ương ở độ mặn khác nhau

Ghi chú CL: cá chọn lọc, KCL: cá không chọn lọc, NN: cá nuôi nước ngọt. Các ký tự (chữ cái) khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa, p<0,05)

Trong giai đoạn từ cá hương lên cá giống, ở tất cả các độ mặn, các nhóm cá CL có xu hướng lớn nhanh hơn, tiếp theo là nhóm cá KCL và nhóm cá NN (Hình 3). Tốc độ tăng trưởng tương đối (Specific growth rate - SGR) của cá cao nhất ở 5‰ và khác biệt không có ý nghĩa so với cá ở 0‰ và 10‰. Về hiệu quả tiêu thụ thức ăn, giá trị FCR của nhóm cá NN cao hơn nhóm cá KCL và CL và sự khác biệt có xu hướng tăng khi độ mặn tăng. Tỷ lệ sống của nhóm cá CL và KCL tương đồng nhau ở các độ mặn từ 0‰ tới 15‰ nhưng nhóm cá NN có tỷ lệ sống thấp nhất mặc dù khác biệt không có ý nghĩa thống kê. Ở độ mặn 20‰, tỷ lệ sống giảm nhiều ở cả ba nhóm cá, nhưng giảm nhiều nhất là nhóm cá NN.

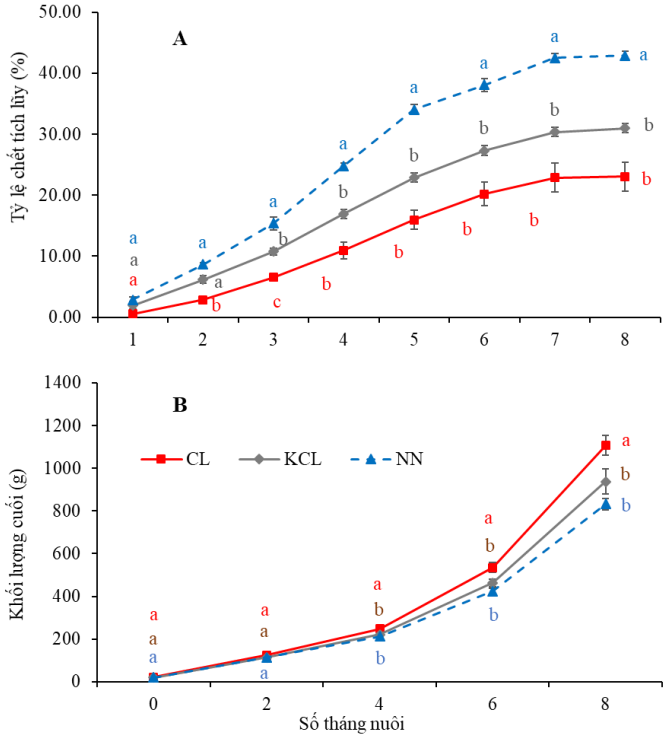
Trong giai đoạn nuôi thịt (thời gian 8 tháng), khả năng chịu mặn của nhóm cá CL tốt hơn hẳn so với nhóm cá KCL và NN, thể hiện qua sự khác biệt có ý nghĩa thống kê của ba nhóm cá ở khối lượng thu hoạch (Hình 4A) và tỷ lệ chết tích lũy (Hình 4B). Đặc biệt, tỷ lệ chết tích lũy thường cao hơn ở nhóm NN và sự khác biệt nầy bắt đầu có ý nghĩa thống kê từ tháng thứ hai đến kết thúc thí nghiệm (p<0,05). Mặc dù tỷ lệ chết tích lũy giữa nhóm CL và KCL khác biệt không có ý nghĩa thống kê (p>0,05%), nhưng tỷ lệ chết của nhóm KCL luôn cao hơn so với nhóm CL trong quá trình thí nghiệm.



Hình 3. Tỷ lệ sống và tăng trưởng của ba nhóm cá ở độ mặn khác nhau

(A) tỷ lệ sống; (B) khối lượng cuối; (C) FCR - hệ số tiêu thụ thức ăn; và (D) SGR - tốc độ tăng trưởng tương đối. Ghi chú CL: cá chọn lọc, KCL: cá không chọn lọc, NN: cá nuôi nước ngọt. Các ký tự khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa, p<0,05

Kết quả của các thí nghiệm cho thấy độ mặn có ảnh hưởng lên tỷ lệ sống và tăng trưởng của cá tra ở từng giai đoạn phát triển. Kết quả này cũng được ghi nhận trên nhiều nghiên cứu trước (Borode et al., 2002; Huong and Quyen, 2012; Hossanin et al., 2021). Bên cạnh, các kết quả cũng cho thấy sự ảnh hưởng của chọn lọc lên khả năng chịu mặn của cá tra. Nhìn chung, thế hệ con của nhóm cá CL có xu hướng chịu mặn tốt hơn so với thế hệ con của nhóm cá KCL. Quan trọng hơn, cá con của nguồn bố mẹ nuôi trong nước mặn có khả năng chịu mặn tốt hơn so với nhóm cá có bố mẹ sống trong nước ngọt. Sự khác biệt này có thể được giải thích như là kết quả của quá trình chọn lọc. Quá trình chọn lọc ở thế hệ trước có thể làm tăng tần số của alleles quy định tính trạng chịu mặn trên cá tra. Sự di truyền của các biến đổi này tới thế hệ tiếp theo là nguyên nhân chính dẫn tới sự tăng khả năng chịu mặn của nhóm cá chọn lọc so với các nhóm khác. Kết quả này ngụ ý rằng việc chọn lọc trong điều kiện độ mặn như trong nghiên cứu này là bước đầu tiên hướng tới của việc đáp ứng di truyền của cá tra với môi trường mới (Donelson et al., 2019).



Hình 4. Tỷ lệ chết tích lũy (A) và khối lượng cá cuối thí nhiệm (B) của ba nhóm nuôi trong cùng điều kiện độ mặn 10‰

Các ký tự khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa, p<0,05

3.4. Hệ số di truyền và phản ứng chọn lọc

Sau một thế hệ chọn lọc trong điều kiện nước mặn, hệ số di truyền về khối lượng cá tra được ước lượng là 0,29. Hơn thế nữa, quá trình chọn lọc cũng dẫn đến tăng khối lượng (18,0%) và tỷ lệ sống (11,4%) của cá (Bảng 3).

Qua một thế hệ chọn lọc trong môi trường mặn, tăng trưởng và tỷ lệ sống của cá tra được cải thiện. Khối lượng cá tra tăng 18%, cao hơn kết quả của nghiên cứu trước đó cũng trên cá tra, nhưng nuôi trong môi trường nước ngọt với chỉ 9% (Vu et al., 2019). Mức độ cải thiện về tỷ lệ sống (11,4%) trong nghiên cứu này cũng cao hơn so với cá tra nuôi trong nước ngọt, chỉ 7,4%. (Vu et al., 2019). Tỷ lệ sống và tăng trưởng tốt hơn trong môi trường nước mặn có ý nghĩa rất quan trọng, chứng tỏ dòng cá chịu mặn được tạo ra từ trong nghiên cứu này có tiềm năng lớn để nuôi ở những vùng thường bị xâm ngập mặn ở ĐBSCL như các tỉnh Bến Tre, Sóc Trăng, Trà Vinh và Tiền Giang (Nguyen et al., 2016). Mặc dù việc sử dụng dòng cá chọn lọc được tạo ra trong chương trình này cho các vùng nước ngọt không phải là mục tiêu chính, nhưng dòng cá chọn lọc này

cũng thể hiện khả năng vượt trội trong môi trường nước ngọt. Theo đó, tốc độ tăng trưởng của nhóm CL giai đoạn giống trong điều kiện độ mặn thấp (5‰) và trong nước ngọt (0‰) cao hơn so với các nhóm còn lại. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu trước đó của Falconer (1990) khi cho rằng chọn lọc cá thể với điều kiện bất lợi sẽ tạo ra những cá thể có thể chống chịu tốt với nhiều điều kiện môi trường khác nhau. Ngược lại, khi chọn lọc được tiến hành dựa trên điều kiện môi trường thuận lợi, cá thể được tạo ra sẽ không thích ứng tốt trong môi trường bất lợi. Ở cá rô phi, khi chọn lọc trong điều kiện nước mặn qua năm thế hệ có thể tạo ra dòng cá phát triển tốt trong cả môi trường nước mặn và ngọt (Thoa et al., 2016).

Bảng 3. Hệ số di truyền và phản ứng của chọn lọc với khối lượng cá tra sau một thế hệ chọn lọc ở độ mặn 10‰

Các chỉ số	Thế hệ G1		Thế hệ G2		
	Chọn lọc (CL)	Không chọn lọc (KCL)	Chọn lọc (CL)	Không chọn lọc (KCL)	Nước ngọt (NN)
BW (g)	1.380±175^{a}	793±230^{b}	1.106±226^{c}	935±257^{d}	827±211^{e}
SR (%)	-	-	76,9±4,80^{a}	69,0±1,50^{a}	57,1±1,90^{b}
S về BW (g)	587	-	-	-	-
R về BW (g, %)	-	-	171 (18,0)	-	-
R về SR (%)	-	-	7,90 (11,4)		-
h^2 (BW)	0,29				-

Các ký tự khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p<0,05$). BW=khối lượng cá, SR=tỷ lệ sống, S=khác biệt chọn lọc, R=phản ứng chọn lọc, h^2=hệ số di truyền.

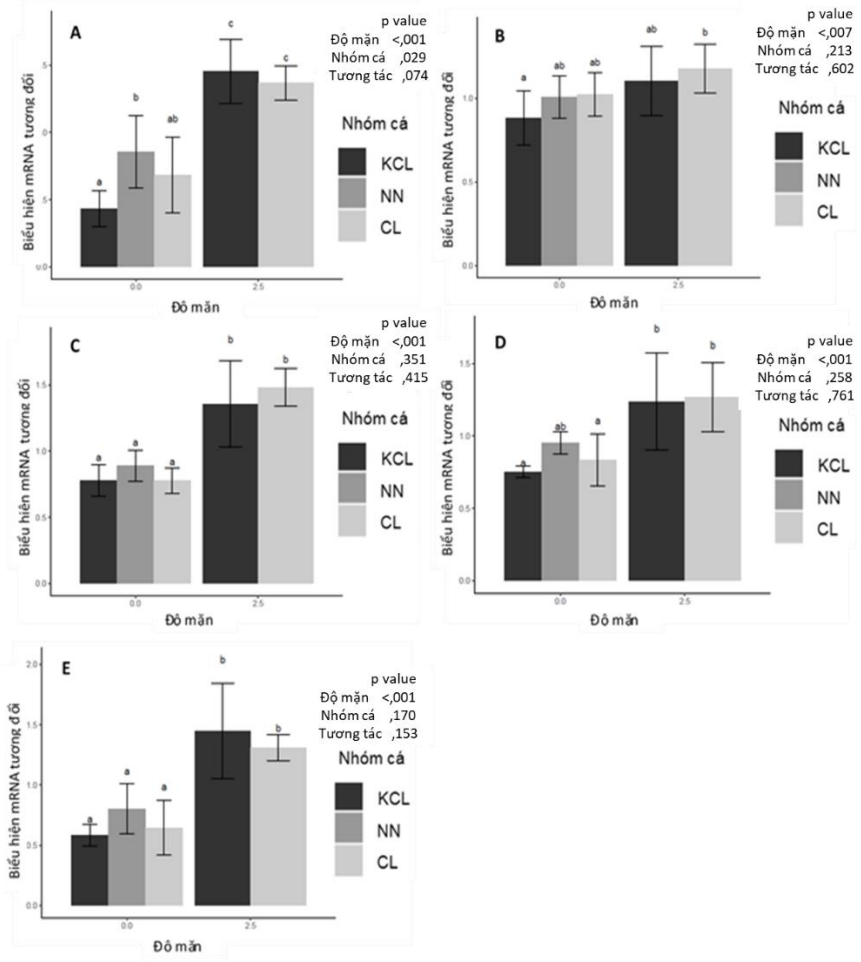
Hệ số di truyền thực tế cho tính trạng khối lượng của cá tra trong điều kiện độ mặn ở nghiên cứu này gần tương đương với những nghiên cứu trước đây trên cá tra được chọn lọc trong môi trường nước ngọt từ 0,21 tới 0,34 (Sang et al., 2012; Vu et al., 2019). Trong chương trình chọn lọc trên cá nheo nuôi trong ao, hệ số di truyền sau ba thế hệ chọn lọc là 0,17 cho dòng cá Kansas và 0,19 cho dòng cá Marion (Rezk et al., 2013). Hệ số di truyền khá cao đạt được trong nghiên cứu này chứng tỏ rằng quần thể này sẽ có khả năng phản ứng tốt đối với các thế hệ chọn lọc tiếp theo trong tương lai trong điều kiện độ mặn.

3.5. Ảnh hưởng của chọn lọc giống ở mức độ phân tử

Ở cá 6 ngày tuổi (G_2), cá bột của nhóm NN ương ở độ mặn 2,5‰ có tỷ lệ chết 100% trong khi cá CL và KCL còn sống, chứng tỏ chọn lọc thế hệ G_1 ở độ mặn làm tăng khả năng chịu mặn ở thế hệ con G_2. Ngoài ra, các phân tích phân tử cũng chứng minh quá trình chọn lọc và độ mặn làm thay đổi biểu hiện của một số gen liên quan đến methylation (Hình 5), điều hòa áp suất thẩm thấu, tăng trưởng và stress ở thế hệ tiếp theo. Methylation là một quá trình quan trọng, chịu trách nhiệm chính cho điều hòa biểu hiện gen ở sinh vật. Những thay đổi ở mức độ phân tử này có thể là một trong những nguyên nhân làm tăng khả năng thích nghi và sinh trưởng của cá chọn lọc độ mặn so với cá được nuôi trong nước ngọt.

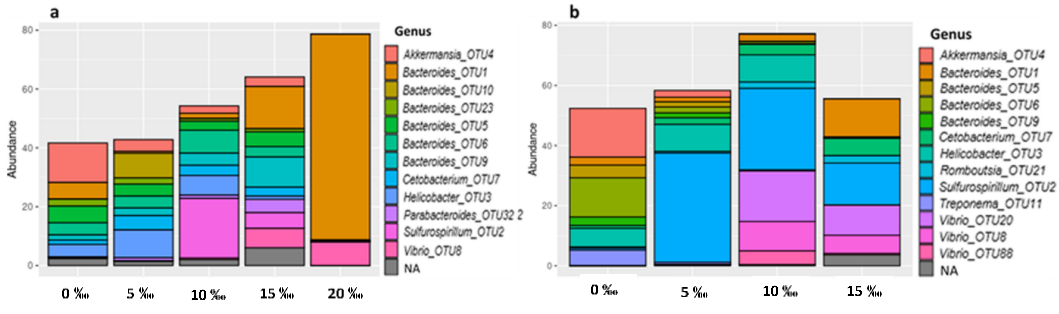
3.6. Ảnh hưởng của độ mặn lên các chỉ tiêu sinh lý, miễn dịch và hệ vi khuẩn đường ruột ở cá tra

Kết quả cho thấy cả cá giống (20-30 g) và cá bột (10 ngày tuổi) có thể sinh trưởng và phát triển ở độ mặn 15‰ trong thời gian thí nghiệm (10 ngày đối với cá bột và 34 ngày đối với cá giống) và 20‰ được xem như là giới hạn chịu đựng của cá tra do làm giảm đáng kể tỷ lệ sống và tăng trưởng. Các phân tích ở mức độ phân tử cho thấy đường ruột của cá phản ứng mạnh nhất với sự thay đổi áp suất thẩm thấu của môi trường so với các cơ quan khác, thông qua việc điều tiết các gen liên quan đến quá trình trao đổi ion và nước (Hieu et al., 2022). Đặc biệt, hệ vi khuẩn đường ruột bị ảnh hưởng đáng kể do sự gia tăng hấp thu nước thông qua đường tiêu hóa của cá trong môi trường độ mặn cao. Cụ thể, độ mặn cao từ 5‰ trở lên làm gia tăng mật độ của vi khuẩn *Sulfurospirillum* ở đường ruột của cá, đây là một vi khuẩn sống dạng tự do trong môi trường nước (Hình 6) (Hieu et al., 2022). Ngoài ra, trong môi trường 10 và 15‰, đường ruột cá có sự hiện diện với mật độ cao của *Vibrio,* giống vi khuẩn thường xuất hiện ở các loài cá nước lợ, mặn (Hieu et al., 2022). Những kết quả này cho thấy trong điều kiện độ mặn cao, cá phải tăng hấp thu nước từ môi trường bên ngoài để bù vào lượng nước đã mất do quá trình thẩm thấu, do đó làm tăng khả năng xâm nhập của vi khuẩn bên ngoài vào đường ruột của cá. Vì vậy, môi trường nuôi có nhiều vi khuẩn gây bệnh hoặc vi khuẩn cơ hội sẽ làm gia tăng khả năng gây bệnh cho cá.



Hình 5. Biểu hiện mRNA tương đối của các gen liên quan đến quá trình methylation dưới tác động của độ mặn và nhóm cá

(A) dnmt1, (B) dnmt 3aa, (C) dnmt3ab, (D) dnmt3ab3, và (E) dnmt3ba4. Giá trị thể hiện là trung bình ± độ lệch chuẩn. Các giá trị có chữ cái đi kèm khác nhau chỉ sự khác biệt có ý nghĩa thông kê (Tukey test, p<0,05).

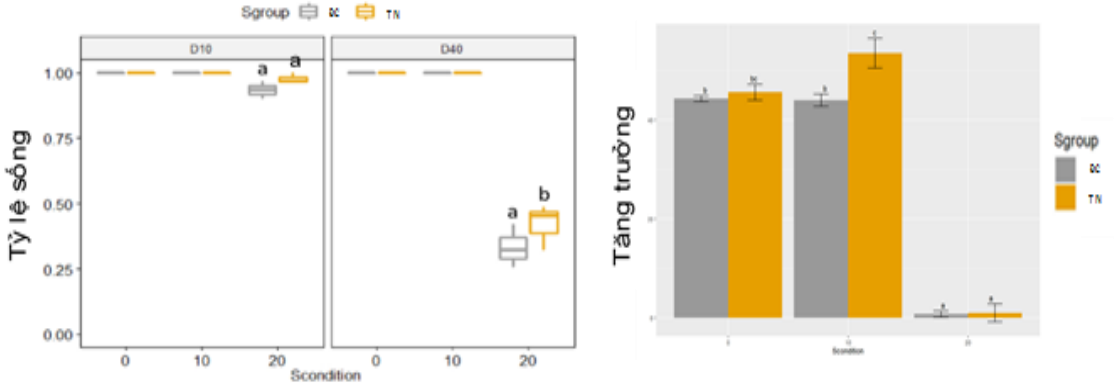


Hình 6. Tỷ lệ thành phần của hệ vi khuẩn đường ruột cá tra dưới ảnh hưởng của độ mặn

3.7. Ảnh hưởng của việc tiếp xúc độ mặn ở giai đoạn sớm: phương pháp hormesis

Bên cạnh chọn lọc giống, dự án cũng thử nghiệm nâng cao khả năng thích nghi độ mặn cho cá tra bằng phương pháp "hormesis". Hormesis được định nghĩa là phương pháp cho sinh vật tiếp xúc với một yếu tố stress ở mức độ thấp để kích hoạt hoặc điều tiết các cơ chế phân tử và tế bào, qua đó nâng cao

khả năng thích nghi của sinh vật với các yếu tố bất lợi của môi trường (Calabrese et al., 2007). Ở nghiên cứu này, cá bột 1 ngày tuổi được tiếp xúc với độ mặn 5‰ trong 5 ngày (nhóm cá thí nghiệm), sau đó nuôi trở lại trong môi trường nước ngọt đến khi đạt kích cỡ cá giống. Kết quả cho thấy việc tiếp xúc với 5‰ ở giai đoạn cá bột có khả năng thay đổi mức độ biểu hiện gen liên quan đến điều hòa áp suất thẩm thấu, miễn dịch, stress,…dẫn đến tỷ lệ sống và tăng trưởng cao hơn nhóm cá tiếp xúc với độ mặn ở giai đoạn giống (nhóm đối chứng) (Hình 7). Những kết quả này cho thấy phương pháp "hormesis" có hiệu quả trong việc nâng cao sự thích nghi của cá tra với độ mặn của môi trường.



Hình 7. Tỷ lệ sống và tăng trưởng của nhóm cá đối chứng (ĐC) và nhóm cá thí nghiệm

Giá trị thể hiện là trung bình ± độ lệch chuẩn. Các chữ cái khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (p<0,05)

4. KẾT LUẬN

Chọn lọc cá tra trong điều kiện nước lợ cải thiện tăng trưởng 18,0% và tỷ lệ sống 11,4% sau một thế hệ. Hệ số di truyền về khối lượng ở mức cao (0,29). Quá trình chọn lọc đã nâng cao khả năng chịu mặn của cá tra ở thế hệ tiếp theo thông qua các thay đổi ở mức độ phân tử, đặc biệt là quá trình methylation. Cá tra có khả năng thích nghi với độ mặn 15‰, nhưng hệ vi khuẩn đường ruột thay đổi. Sự tăng khả năng chịu mặn của dòng cá tra được phát triển từ nghiên cứu này có ý nghĩa rất quan trọng cho sự phát triển bền vững của cá tra tại ĐBSCL, đặc biệt cho những khu vực bị ảnh hưởng của xâm nhập mặn.

Kết quả cũng cho thấy cần có những nghiên cứu tiếp theo để gia tăng khả năng thích nghi độ mặn của cá tra thông qua việc quản lý môi trường ao nuôi cũng như cải thiện hệ vi sinh đường ruột. Chọn lọc giống theo phương pháp "hormesis" cho thấy nhiều tiềm năng cho sự thích nghi của cá tra với sự xâm nhập mặn nhưng cần nhiều nghiên cứu hơn để làm rõ cơ chế và tối ưu hiệu quả.

LỜI CẢM TẠ

Các tác giả chân thành cảm ơn Tổ chức ARES-CCD (ARES-CCD, Académie de Recherche et d'Enseignement Supérieur - Commission de la Coopération au Développement - Viện Hàn lâm về Nghiên cứu và Giáo dục sau đại học và Uỷ ban Hợp tác Phát triển của Vương Quốc Bỉ tài trợ cho nghiên cứu này (DRP/TPS 2017).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

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. https://doi.org/10.1016/S0044-8486(01)00830-4

Bộ Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn. (2021). *Quyết định số 3550/QĐ-BNN-TCTS phê duyệt Đề án phát triển nuôi trồng thủy sản bền vững vùng đồng bằng sông Cửu Long đến năm 2030.*

Bộ Tài nguyên và Môi trường (2016). *Kịch bản biến đổi khí hậu và nước biển dâng cho Việt Nam.* Nhà xuất bản Tài nguyên Môi trường và Bản đồ Việt Nam.

Borode, A.O., Balogun, A.M., Omoyeni, B.A. (2002). Effect of salinity on embryonic development, hatchability, and growth of African catfish, *Clarias gariepinus*, eggs and larvae. *Journal of Applied Aquaculture, 12*, 89–93. https://doi.org/10.1300/J028v12n04_08

Bui, T.M., Phan, L.T., Ingram, B. A., Nguyen, T.T.T., Gooley, G.J., Nguyen, H. V., Nguyen, P.T., De Silva, S.S. (2010). Seed production practices of striped catfish, *Pangasianodon hypophthalmus* in the Mekong Delta region,

Vietnam. *Aquaculture, 306*, 92–100. https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.-2010.06.016

Calabrese, E. J., Bachmann, K. A., Bailer, A. J., Bolger, P. M., Borak, J., Cai, L., Cedergreen, N., Cherian, M. G., Chiueh, C. C., & Clarkson, T. W. (2007). Biological stress response terminology: integrating the concepts of adaptive response and preconditioning stress within a hormetic dose–response framework. *Toxicology and Applied Pharmacology*, *222*, 122–128. https://doi.org/10.1016/j.taap.2007.02.015

Cnaani, A., Hulata, G. (2011). Improving salinity tolerance in tilapias: Past experience and future prospects. *Israel Journal of Aquaculture, Bamidgeh, 63*(1). https://doi.org/10.46989/001c.20590

Dehler, C. E., Secombes, C. J., & Martin, S. A. M. (2017). Seawater transfer alters the intestinal microbiota profiles of Atlantic salmon *(Salmo salar* L.*). Scientific Reports, 7, 13877. https://doi.org/10.1038/s41598-017-13249-8.*

Donelson, J.M., Sunday, J.M., Figueira, W.F., Gaitán-Espitia, J.D., Hobday, A.J., Johnson, C.R., Leis, J.M., Ling, S.D., Marshall, D., Pandolfi, J.M., Pecl, G., Rodgers, G.G., Booth, D.J., Munday, P.L., (2019). Understanding interactions between plasticity, adaptation, and range shifts in response to marine environmental change. *Philosophical Transactions of The Royal Society B, 374*, 20180186. https://doi.org/10.1098/rstb.2018.0186

Evans, D. H., Piermarini, P. M., & Choe, K.P. (2005). The multifunctional fish gill: dominant site of gas exchange, osmoregulation, acid-base regulation, and excretion of nitrogenous waste. *Physiological Reviews*, *85*, 97–177. https://doi.org/10.1152/physrev.00050.2003

Falconer, D.S. (1990). Selection in different environments: Effects on environmental sensitivity (reaction norm) and on mean performance. *Genetics Research*, *56*, 57–70. https://doi.org/10.1017/S0016672300028883

FAO (2022). *The State of World Fisheries and Aquaculture (SOFIA) (2022).*

Fridman, S. (2020). Ontogeny of the osmoregulatory capacity of teleosts and the role of ionocytes. *Frontiers in Marine Science*, *7*, 709. https://doi.org/10.3389/fmars.2020.00709

Gjedrem, T., & Rye, M. (2016). Selection response in fish and shellfish: A review. *Reviews in Aquaculture*, *10*, 168–179. https://doi.org/10.1111/raq.12154

Hieu, D. Q., Hang, B. T. B., Huong, D. T. T., Kertaoui, N. El, Farnir, F., Phuong, N. T., & Kestemont, P. (2021). Salinity affects growth performance, physiology, immune responses and temperature resistance in striped catfish (*Pangasianodon hypophthalmus)* during its early life stages. *Fish Physiology and Biochemistry, 47*, 1995–2013. https://doi.org/10.1007/s10695-021-01021-9

Hieu, D. Q., Hang, B. T. B., Lokesh, J., Garigliany, M. M., Huong, D. T. T., Yen, D. T., Liem, P. T., Tam, B. M., Hai, D. M., Son, V. N., Phuong, N. T., Farnir, F., & Kestemont, P. (2022). Salinity significantly affects intestinal microbiota and gene expression in striped catfish juveniles. *Applied Microbiology and Biotechnology*, *106*, 3245–3264. https://doi.org/10.1007/s00253-022-11895-1.

Hossain, F., Islam, S. M. M., Ashaf-Ud-Doulah, M., Ali, M. S., Islam, M. S., Brown, C., & Shahjahan, M. (2021). Influences of salinity on embryonic and larval development of striped catfish, *Pangasianodon hypophthalmus*. *Frontiers in Marine Science, 8*, 1–10. https://doi.org/10.3389/fmars.2021.781951.

Huong, D. T. T., & Quyen, N. T. (2012). Effect of salinity on embryo development and osmoregulation of striped catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*) larvae and fingerlings. *Can Tho University Journal of Science, 21b*, 29–37.

Jaspe, C.J., Caipang, C.M.A. (2011). Increasing salinity tolerance in tilapias: Selective breeding using locally available strains. *AACL Bioflux, 4*, 437–441.

Lokesh, J., & Kiron, V. (2016). Transition from freshwater to seawater reshapes the skin-associated microbiota of Atlantic salmon. *Scientific Report*, *6*, 19707. https://doi.org/10.1038/srep19707

Lokesh, J., Kiron, V., Sipkema, D., Fernandes, J. M. O., & Moum, T. (2019). Succession of embryonic and the intestinal bacterial communities of Atlantic salmon (*Salmo salar*) reveals stage-specific microbial signatures. *Microbiologyopen*, *8*, e00672. https://doi.org/10.1002/mbo3.672

Martin, S.A.M., Dehler, C.E., & Król, E. (2016). Transcriptomic responses in the fish intestine. *Developmental & Comparative Immunology, 64*, 103–117. https://doi.org/10.1016/j.dci.2016.03.014

Nguyen, P. T. H., Do, H. T. T., Mather, P. B., & Hurwood, D. A. (2014). Experimental assessment of the effects of sublethal salinities on growth performance and stress in cultured tra catfish *(Pangasianodon hypophthalmus). Fish Physiology and Biochemistry*, *40*, 1839–1848. https://doi.org/10.1007/s10695-014-9972-1

Nguyen, L. A., Verreth, J. A. J., Leemans, R., Bosma, R., & De Silva, S. (2016). A decision

tree analysis to support potential climate change adaptations of striped catfish (*Pangasianodon hypophthalmus* Sauvage) farming in the Mekong Delta, Vietnam. *Tropicultura, 34*, Special issue, 105–115.

Nguyen, N. H. (2016). Genetic improvement for important farmed aquaculture species with a reference to carp, tilapia, and prawns in Asia: Achievements, lessons, and challenges. *Fish and Fisheries*, *17*, 483–506. https://doi.org/10.1111/faf.12122.

Nguyen, P. T., Bui, T. M., Nguyen, T. A., & De Silva, S. (2013). Developments in hatchery technology for striped catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*). In: *Advances in Aquaculture Hatchery Technology*. Woodhead Publ. Ltd. 498–518. https://doi.org/10.1533/9780857097460.3.498.

Nguyen, P.T.H., Do, H.T.T., Mather, P.B., Hurwood, D.A. (2014). Experimental assessment of the effects of sublethal salinities on growth performance and stress in cultured Tra catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*). *Fish Physiology and Biochemistry*, *40*, 1839–1848. https://doi.org/10.1007/s10695-014-9972-1.

Rezk, M. A., Smitherman, R. O., Williams, J. C., Nichols, A., Kucuktas, H., & Dunham, R. A. (2003). Response to three generations of selection for increased body weight in channel catfish, *Ictalurus punctatus*, grown in earthen ponds. *Aquaculture*, *228*, 69–79. https://doi.org/10.1016/S0044-8486(03)00216-3

Sang, N. V., Klemetsdal, G., Ødegård, J. & Gjøen, H. M. (2012). Genetic parameters of economically important traits recorded at a given age in striped catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*). *Aquaculture*, *344–349*, 82–89. https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2012.03.013

Schmitz, M., Douxfils, J., Mandiki, S. N. M., Morana, C., Baekelandt, S., & Kestemont, P. (2016). Chronic hyperosmotic stress interferes with immune homeostasis in striped catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*, S.) and leads to excessive inflammatory response during bacterial infection. *Fish and Shellfish Immunology, 55*, 550–558. https://doi.org/10.1016/j.fsi.2016.06.031.

Storset, A., Strand, C., Wetten, M., Kjøglum, S., Ramstad, A. (2007). Response to selection for resistance against infectious pancreatic necrosis in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Aquaculture*, *272*, 62–68. https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2007.08.011

Sukhavachana, S., Poompuang, S., Onming, S., & Luengnaruemitchai, A. (2019). Heritability estimates and selection response for resistance to *Streptococcus agalactiae* in red tilapia *Oreochromis spp*. *Aquaculture*, *502*, 384–390. https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.12.075

Suebsong, W., Poompuang, S., Srisapoome, P., Koonawootrittriron, S., Luengnaruemitchai. A., Johansen, H., & Rye, M. (2019). Selection response for *Streptococcus agalactiae* resistance in Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. *Journal of Fish Diseases* , *42*(11), 1553-1562. https://doi.org/10.1111/jfd.13074.

Tayamen, M. M., Abella, T. A., Reyes, R. A., Danting, M. J. C., Mendoza, A. M., Marquez, E. B., Salguet, A. C., Apaga, M. M., & González, R. C. (2004). Development of tilapia for saline waters in the Philippines. In Bolivar, R. B., Mair, G.C., & Fitzsimmons K. (Eds.), *Proceeding of the 6th International symposium tilapia aquaculture in Manila, Philippines on September 12-16, 2004 – 2, Volume SET*., ICLARM, Manila, Philippines (pp. 463-478).

Thoa, N. P., Ninh, N. H., Knibb, W., & Nguyen, N. H. (2016). Does selection in a challenging environment produce Nile tilapia genotypes that can thrive in a range of production systems? *Scientific Report*, *6*, 1–11. https://doi.org/10.1038/srep21486

Tran, D. L., Olesen, I., Ødegård, J., Kolstad, K., & Nguyen, C. D. (2008). Genotype by environment interaction for harvest body weight and survival of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) in brackish and freshwater ponds. *The Proceedings of 8th International Symposium on Tilapia in Aquaculture (Egypt)* (pp. 231–239).

Vu, N. T., Sang, N. V, Phuc, T. H., Vuong, N. T., & Nguyen, N. H. (2019). Genetic evaluation of a 15-year selection program for high growth in striped catfish *Pangasianodon hypophthalmus*. *Aquaculture*, *509*, 221–226. https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.05.034.