

## NGHIÊN CỨU ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC BUỒNG TRỨNG CÁ BÈ ĐUNG (*Gnathanodon speciosus*)

### STUDY ON OVARIAN BIOLOGY OF THE GOLDEN TREVALLY (*Gnathanodon speciosus*)

Phạm Quốc Hùng<sup>1</sup>, Hứa Thị Ngọc Dung<sup>1</sup>  
Nguyễn Thị Toàn Thư<sup>2</sup>,

<sup>1</sup>Trường Đại học Nha Trang,

<sup>2</sup>Chi cục Thủy sản Khánh Hòa

Tác giả liên hệ: Phạm Quốc Hùng (Email: hungpq@ntu.edu.vn)

Ngày nhận bài: 19/10/2020; Ngày phản biện thông qua: 09/11/2020; Ngày duyệt đăng: 24/12/2020

#### TÓM TẮT

Nghiên cứu đặc điểm buồng trứng cá bè đung bao gồm các giai đoạn phát triển, hệ số thành thực, sức sinh sản, đặc điểm tổ chức buồng trứng và thành phần sinh hóa của buồng trứng. Đàn cá thí nghiệm có khối lượng và chiều dài lần lượt là  $800 \pm 200$  g và  $40 \pm 5$  cm, được nuôi trong lồng trên biển và cho ăn hàng ngày bằng cá tươi với khẩu phần 3-5% khối lượng thân. Cá cái được bắt ngẫu nhiên hàng tháng để thu buồng trứng. Kết quả nghiên cứu cho thấy hệ số thành thực trung bình của cá cái tăng từ tháng 6 và đạt giá trị cao nhất vào tháng 9 ( $3,05\% \pm 0,6\%$ ). Đây là loài cá đẻ nhiều lần trong năm. Cá cái thành thực quanh năm nhưng đạt tỷ lệ cao từ tháng 3 đến tháng 9. Trong buồng trứng thành thực có nhiều noãn bào ở các giai đoạn phát triển khác nhau. Thành phần sinh hóa của buồng trứng thay đổi theo giai đoạn phát triển. Hàm lượng protein và lipid ở giai đoạn thành thực cao hơn so với giai đoạn chưa thành thực. Sức sinh sản tuyệt đối trung bình đạt  $121.174 \pm 66.842$  trứng/cá cái. Sức sinh sản tương đối trung bình đạt  $107.607 \pm 49.916$  trứng/kg cá cái.

**Từ khóa:** buồng trứng, cá bè đung, *Gnathanodon speciosus*, thành phần sinh hóa, hệ số thành thực

#### ABSTRACT

The present study was focused on ovarian biology of the golden trevally. The female broodstock with body weight and total length were  $800 \pm 200$  g and  $40 \pm 5$  cm, respectively. Fish were kept in seacage and daily fed with trashfish at 3-5% body weight. Ovaries were monthly collected for biological parameters. The results indicated that the GSI increased from June to September. Maturation of female fish increased from May to September. Female golden trevally are multiple spawners. There were different stages of germcell development in the ovary at the same time. The biochemical composition changed based on the stages of ovarian maturation. Protein and lipid contents in mature ovary were found higher than that in immature ovary. Absolute fecundity was  $121,174 \pm 66.842$  eggs/female, while relative fecundity was  $107,607 \pm 49.916$  eggs/kg female.

**Keywords:** Ovary, golden trevally, *Gnathanodon speciosus*, GSI, biochemical composition

#### I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Nghiên cứu sự phát triển của buồng trứng ở cá, đặc biệt là đặc điểm các giai đoạn phát triển noãn bào, hệ số thành thực giúp xây dựng chế độ dinh dưỡng thích hợp trong quá trình nuôi vỗ. Nắm được quy luật phát triển của buồng trứng và những thay đổi về tổ chức học trong chu kỳ sinh sản là một trong những thông tin rất cần thiết cho biết hoặc có thể dự báo trạng

thái thành thực của cá cái, cũng như phục vụ cho công tác quản lý đàn cá bố mẹ [3; 5]. Cá bè đung, *Gnathanodon speciosus*, (tên địa phương còn gọi là cá khế vằn, bè vàng, bè nghệ) là loài cá biển có giá trị kinh tế, sinh trưởng nhanh, dễ nuôi vì có tính ăn tạp [8; 12; 13]. Cá bè đung có thể nuôi được ở các thủy vực nước mặn, lợ [12; 13]. Hiện nay loài cá này đã được nhân giống thành công và được nuôi thương phẩm ở

một số địa phương ven biển [8; 12]. Điều này đã tạo tiền đề cho việc mở rộng quy mô và đa dạng hóa đối tượng nuôi biển, thúc đẩy phát triển kinh tế biển.

Trên thế giới cá bè đưng đã được nghiên cứu, nhưng chưa nhiều, chủ yếu tập trung vào sản xuất giống và ương ấu trùng, đặc điểm dinh dưỡng, đặc điểm sinh thái [12; 13]. Tuy nhiên các nghiên cứu về đặc điểm sinh học buồng trứng chưa được thực hiện đầy đủ. Trong nghiên cứu này, chúng tôi tập trung vào việc xác định đặc điểm phát triển buồng trứng trong chu kỳ sinh sản, đặc điểm hình thái, tiêu bản tổ chức học các giai đoạn phát triển noãn bào, hệ số thành thực và thành phần sinh hóa của buồng trứng. Kết quả nghiên cứu cung cấp thông tin hữu ích về đặc điểm sinh học sinh sản, đóng góp cho việc nghiên cứu hoàn thiện quy trình sản xuất giống cá bè đưng, mở ra nhiều tiềm

năng và cơ hội phát triển nghề nuôi cá biển, góp phần phát triển ngành nuôi trồng thủy sản.

## II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 1. Đàn cá thí nghiệm

Đàn cá bố mẹ được nuôi trong lồng trên biển tại Đảo Trí Nguyên, Phường Vĩnh Nguyên, Nha Trang, Khánh Hòa (12°4'23.01"N, 109°2'51.97"E). Mật độ nuôi bình quân 3 kg/m<sup>3</sup> với tỷ lệ đực cái 1:1; Nhiệt độ nước: 28-32°C; độ mặn: 29-34 ‰; pH: 7,8 - 8,6 và oxy hòa tan: 4,5-6,5 mg/l. Cá bố mẹ được cho ăn cá tươi hàng ngày với khẩu phần bằng 3 - 5% khối lượng thân. Cá cái có khối lượng trung bình 800±200 g, chiều dài trung bình từ 40±5 cm được bắt ngẫu nhiên để thu mẫu buồng trứng và đo kích thước. Thời gian thu mẫu từ tháng 3/2018 đến tháng 4/2019.



**Hình 1. Đàn cá bè đưng được nuôi trong lồng lưới trên đảo Trí Nguyên, TP. Nha Trang, tỉnh Khánh Hòa (12°4'23.01"N, 109°2'51.97"E)**



## 2. Phương pháp làm tiêu bản tổ chức buồng trứng

Mẫu buồng trứng được đưa ra khỏi dung dịch cố định, rửa và rút nước bằng cách ngâm trong cồn tuyệt đối khoảng 4-8 giờ, tiếp theo, ngâm trong methyl salicylate 12-24 giờ. Sau cùng, mẫu được thấm trong parafin nóng chảy ở 65°C trong thời gian ít nhất 6 giờ. Sử dụng máy đổ parafin đã nóng chảy vào khuôn đã chứa mẫu, để trên dàn lạnh khoảng 30 phút cho mẫu parafin đông cứng lại. Dùng dao gọt khối parafin chứa mẫu thành hình thang hoặc hình chữ nhật để dễ cắt lát. Gắn khối parafin lên đế gỗ và dán nhãn. Gắn đế gỗ có mẫu vào máy microtom, cắt lát có độ dày 5-7 micron. Đưa lát cắt vào nước ấm (40-45°C) khoảng 1-2 phút để lát cắt giãn ra. Dùng lam sạch lấy lát cắt ra khỏi nước và sấy trên máy sấy ở nhiệt độ 45-60°C trong 1-4 giờ.

Sau khi được sấy khô, tiếp theo, mẫu được khử parafin bằng cách ngâm trong dung dịch

xilen và làm trương nước bằng cách nhúng trong dung dịch ethanol ở các nồng độ khác nhau khoảng 2-3 phút. Cuối cùng mẫu được nhuộm trong dung dịch Hematoxylin-Mayer (4-6 phút) và Eosin (2 phút) để khô và đặt lamên bằng keo dán. Ghi nhãn lên lamên là khâu cuối cùng của quy trình.

## 3. Xác định GSI và các giai đoạn phát triển buồng trứng

Tiêu bản tổ chức học buồng trứng được đọc trên kính hiển vi Zeiss Axioskop 2-Plus light (Zeiss Inc., Vienna, Austria) và chụp ảnh bằng máy Nikon Camera Head DS-5M và Nikon Camera Control Unit DS-L1. Bậc thang phân biệt các giai đoạn phát triển buồng trứng trong nghiên cứu này dựa theo tiêu chuẩn của Nikolski (1963); Sakun (1954) và Sakun & Butskaya (1968) [7; 9; 10]. Hệ số thành thực (Gonado Somatic Index - GSI) là tỷ lệ phần trăm giữa khối lượng tuyến sinh dục và khối lượng toàn bộ cơ thể.



Hình 2. Đo chiều dài cá bè đưng bố mẹ

## 4. Thành phần sinh hóa buồng trứng

Thành phần sinh hóa buồng trứng (các chỉ tiêu ẩm, tro, protein và lipid) ở các giai đoạn phát triển khác nhau được phân tích tại phòng thí nghiệm Trường Đại học Nha Trang.

- *Xác định hàm lượng ẩm và tro:* Theo phương pháp sấy khô ở 105°C (độ ẩm) và nung ở 550°C (tro) đến khối lượng không đổi.

- *Xác định hàm lượng protein bằng phương pháp Dumas* (TCVN 11604: 2016). Phương

pháp đốt cháy Dumas để xác định protein thô. Quy trình dùng một thiết bị lò điện đun nóng mẫu phân tích lên đến 600°C trong một lò phản ứng được bịt kín với sự hiện diện của oxy. Hàm lượng nitơ của khí đốt sau đó được đo bằng cách dùng máy dò dẫn nhiệt.

- *Xác định lipid bằng thiết bị chiết Soxhlet*: Dựa vào tính tan hoàn toàn của chất béo vào dung môi hữu cơ. Dùng dung môi hữu cơ trích ly chất béo có trong buồng trứng cá, sau đó làm bay hơi hết dung môi, cân chất béo còn lại, tính hàm lượng chất béo có trong buồng trứng cá.

**5. Phân tích thống kê**

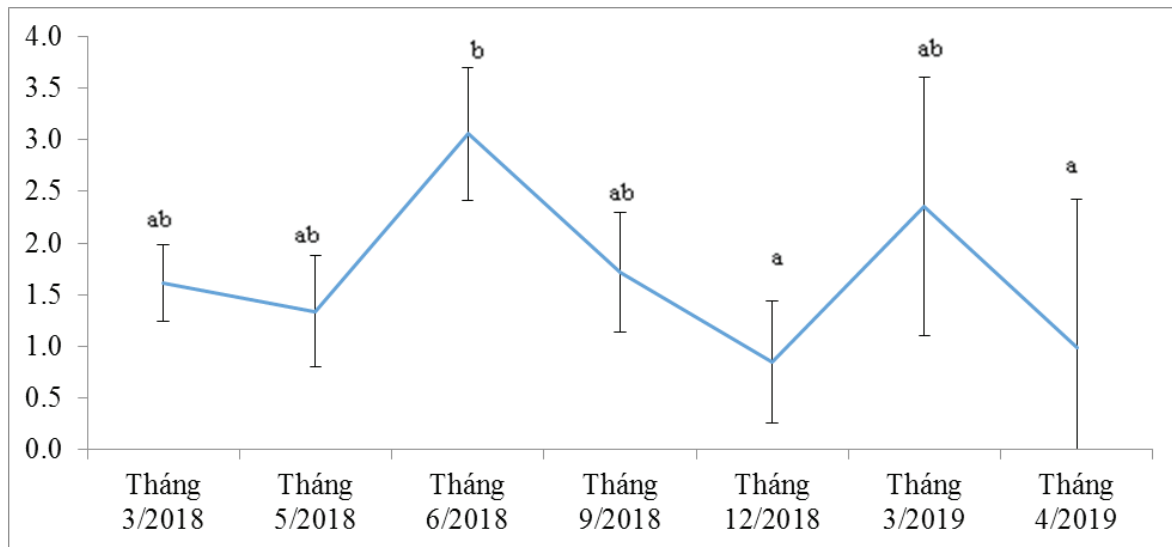
Số liệu được trình bày dưới dạng TB ± SD. Sự khác nhau về các đặc điểm sinh sản giữa các tháng hay các giai đoạn phát triển của buồng trứng được phân tích bằng phương pháp

phương sai một nhân tố (One-way ANOVA) với kiểm định Duncan's multiple range test trên phần mềm SPSS có ý nghĩa ở mức P < 0,05.

**III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN**

**1. Hệ số thành thực**

Hệ số thành thực là một chỉ số quan trọng, đánh giá mức độ chín muồi của tuyến sinh dục. Thông qua GSI, chúng ta có thể dự báo, theo dõi quá trình phát triển của các tế bào sinh dục [5; 14]. Tuy nhiên GSI đôi khi không phản ánh đầy đủ trạng thái thực của các sản phẩm sinh dục, đặc biệt đối với các loài cá đẻ nhiều lần trong năm [3; 5; 14]. Tuy vậy GSI là một phần bổ sung quan trọng cho sơ đồ chín muồi sinh dục ở cá và gợi ý cho công việc xây dựng chế độ nuôi vỗ hợp lý hơn, đặc biệt là chế độ dinh dưỡng cho đàn cá bố mẹ.



**Hình 3. Biến động GSI (%) qua các tháng thu mẫu**

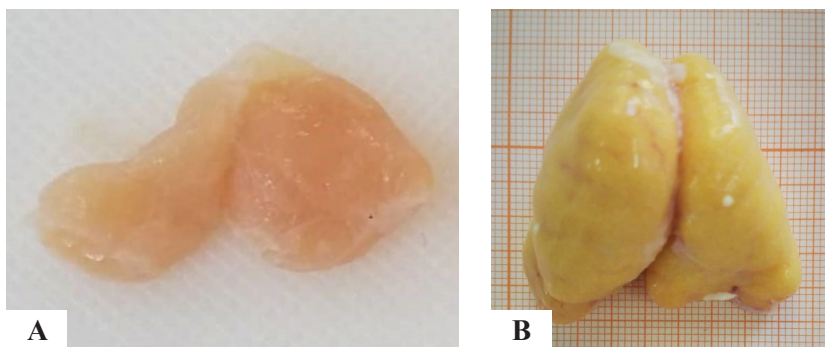
Kết quả nghiên cứu GSI được thể hiện qua Hình 3. Chỉ số GSI đạt cực đại vào tháng 6 (3,05 ± 0,64 %), sau đó giảm dần ở các tháng tiếp theo và thấp nhất vào tháng 12 (0,85 ± 0,59 %). Sau đó, GSI bắt đầu tăng trở lại theo chu kỳ. Nhìn chung GSI thay đổi theo mùa và dao động trong phạm vi từ 0,85 đến 3,05%. Độ lệch chuẩn của GSI ở các tháng thu mẫu khá lớn, cho thấy ở mỗi cá thể khác nhau, cùng một giai đoạn phát triển noãn bào, nhưng GSI có thể không bằng nhau. Trong quá trình thu mẫu ở các tháng đều bắt gặp các cá thể cái đã

thành thực (buồng trứng ở giai đoạn IV). Từ số liệu về GSI và quan sát thực địa, chúng ta có thể nhận định rằng cá bè đưng là loài sinh sản quanh năm, nhưng mùa vụ sinh sản chính là từ tháng 3 đến tháng 9.

**2. Đặc điểm sinh học buồng trứng**

**Các giai đoạn phát triển**

Buồng trứng cá bè đưng có hình khối (Hình 4). Trong buồng trứng hiện diện các noãn bào ở các giai đoạn phát triển khác nhau. Điều này chứng tỏ đây là loài cá đẻ nhiều lần trong năm.



**Hình 4: Buồng trứng cá bè đưng ở các giai đoạn phát triển khác nhau**

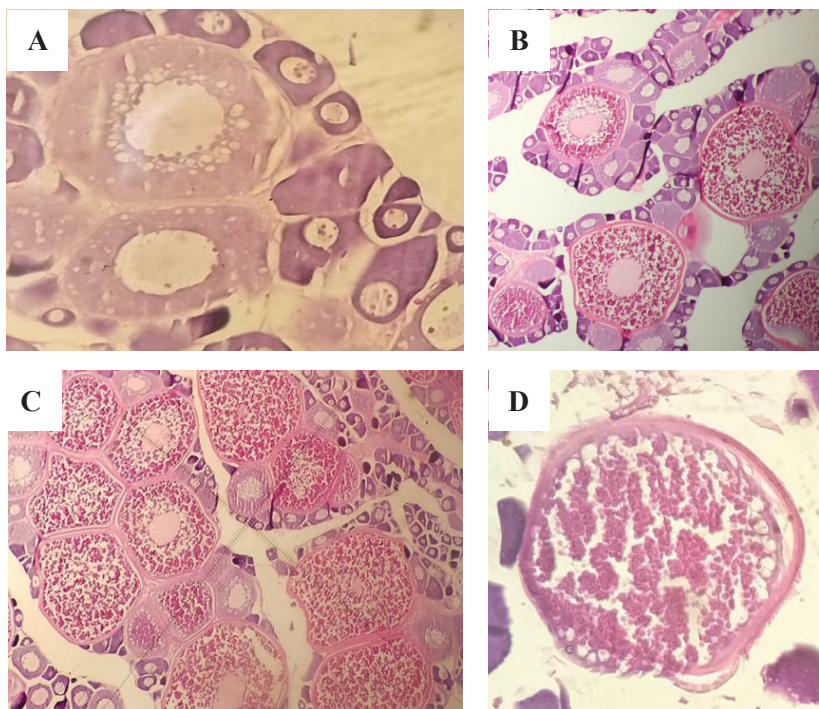
*A: Giai đoạn II- III (chưa thành thực); B: Giai đoạn IV-V (thành thực)*

Trong nghiên cứu này, đàn cá cái thu được có buồng trứng ở giai đoạn II, III, IV và V. Buồng trứng ở giai đoạn I và VI không bắt gặp trong quá trình thu mẫu. Trên thực tế, ở giai đoạn I, nhìn bên ngoài, buồng trứng là những dải mỏng, chính vì thế rất khó phân biệt đực cái. Giai đoạn VI là giai đoạn sau khi cá đẻ, ngay sau đó buồng trứng trở về giai đoạn II, III hoặc IV tùy theo loài hoặc tùy vào mùa vụ sinh sản.

*Giai đoạn II:* Buồng trứng có kích thước nhỏ, có màu hồng nhạt, là màu của các mạch

máu chạy dọc và có những tia nhỏ chạy về các lườn bên. Trong buồng trứng hiện diện đa số các noãn bào đang ở thời kỳ sinh trưởng chất và biến đổi nhân (Hình 5A).

*Giai đoạn III:* Buồng trứng tăng lên về mặt thể tích, hai phần buồng trứng đã tách ra. Buồng trứng có màu vàng nhạt, sần chắc và đàn hồi. Trong buồng trứng tồn tại các noãn bào đang thời kỳ tích lũy noãn hoàng và các noãn bào đang ở giai đoạn sinh trưởng chất (Hình 5B). Đây là giai đoạn kéo dài nhất trong chu kỳ phát triển của buồng trứng.



**Hình 5: Tổ chức buồng trứng cá bè đưng ở các giai đoạn phát triển khác nhau trong chu kỳ sinh sản.**

**A-giai đoạn II; B-giai đoạn III; C-giai đoạn IV; D-giai đoạn V**



**Giai đoạn IV:** Kích thước buồng trứng đạt tối đa, màu vàng tươi. Đặc trưng ở giai đoạn này là sự thành thực hoàn toàn của trứng được xác định bởi sự lệch tâm của nhân. Trong buồng trứng tồn tại nhiều noãn bào ở các thời kỳ phát triển khác nhau (Hình 5C).

**Giai đoạn V:** Buồng trứng đang ở thời kỳ sinh sản. Các noãn bào đã rụng và rơi vào xoang buồng trứng. Dùng tay vuốt nhẹ trứng có thể chảy ra ngoài với các tế bào trứng rời rạc. Màng nhân đã tan biến (Hình 5D).

Kết quả trên cho thấy quá trình phát triển, thành thực, chín muồi và phóng thích tế bào sinh dục trong chu kỳ sinh sản của cá bè đưng khá tương đồng với các loài cá biển nhiệt đới nói chung như cá chêm mõm nhọn, cá đĩa, cá bóng [3; 6; 14]. Đặc điểm hình thái của các

giai đoạn phát triển noãn bào kết hợp với đặc điểm tổ chức học ở từng giai đoạn phát triển của noãn bào là căn cứ đánh giá mức độ thành thực ở cá cái.

**Sức sinh sản và kích thước noãn bào**

Kết quả nghiên cứu cho thấy sức sinh sản tuyệt đối của cá bè đưng dao động từ 49.189 đến 181.280 trứng, trung bình đạt 121.174 ± 66.842 trứng/cá cái tùy vào kích thước cá cái. Sức sinh sản tương đối trung bình đạt 107.607 ± 49.916 trứng/kg cá cái. Kích thước noãn bào ở giai đoạn sinh trưởng chắt và biến đổi nhân dao động từ 51,6 đến 70,5 μm. Sang giai đoạn tích lũy noãn hoàng, noãn bào có kích thước tăng lên đáng kể và dao động từ 157,5 đến 320 μm. Ở giai đoạn chín và rụng trứng, noãn bào có kích thước trung bình 328,5 ± 25,6 μm.

**Bảng 1: Kích thước noãn bào ở các pha phát triển khác nhau**

Các phase phát triển noãn bào	Đường kính (μm)
Pha 1, 2 (Pha nhân, tiền ngoại vi nhân)	51,6 ± 7,1
Pha 3 (Pha ngoại vi nhân)	70,5 ± 6,6
Pha 4 (Pha không bào hóa)	157,5 ± 12,1
Pha 5 (Pha thể noãn hoàng)	320,0 ± 17,2
Pha 6 (Pha cực hóa, chín, rụng)	328,5 ± 25,6

**3. Thành phần sinh hóa của buồng trứng**

Thành phần sinh hóa của buồng trứng như protein, lipid, tro và độ ẩm được xem là các chỉ tiêu quan trọng, phản ánh mức độ tích lũy dinh dưỡng trong buồng trứng, từ đó có

thể dự báo được độ thành thực của cá [11]. Thành phần sinh hóa còn là nguồn năng lượng và dinh dưỡng cho quá trình phát triển noãn bào ở cá. Kết quả nghiên cứu được thể hiện ở Bảng 2.

**Bảng 2: Thành phần sinh hóa trong buồng trứng cá bè đưng**

Các chỉ tiêu sinh hóa	Giai đoạn buồng trứng	
	Giai đoạn II-III	Giai đoạn IV, V
Protein (%)	17,9	27
Lipid (%)	9,1	2,1
Tro (%)	2,4	1,2
Độ ẩm (%)	79,5	63,4

Kết quả phân tích cho thấy hàm protein đạt giá trị cao nhất khi buồng trứng cá ở giai đoạn IV, V (27%). Hàm lượng tro và lipid thì ngược lại, giảm dần khi buồng trứng chuyển từ giai đoạn chưa thành thực sang giai đoạn thành

thực. Điều này được cho là hợp lý vì khi cá bắt đầu tham gia sinh sản, những chất dự trữ tích lũy ở các cơ quan được huy động để tổng hợp thành protein nuôi dưỡng các tế bào sinh dục phát triển. Những chất dự trữ này chuyển vào

tuyến sinh dục, làm cho protein trong buồng trứng tăng lên (từ 17,9 % đến 27%). Bên cạnh đó, chất dinh dưỡng đưa vào tuyến sinh dục có nguồn gốc từ mô sinh dưỡng ở cá bố mẹ, ước tính có khoảng 7-8,7% lipid bị mất đi từ các tế bào sinh dưỡng và được chuyển vào buồng trứng [11].

Protein được xem là thành phần quan trọng trong buồng trứng cá. Đối với cá cái, thành phần này là nguồn năng lượng và vật chất phát triển tế bào, chuyển hóa thành các chất noãn hoàng [2; 4]. So với các loài động vật có xương sống khác, hàm lượng protein trong buồng trứng cá là khá thấp. Trong nghiên cứu này, hàm lượng protein ở buồng trứng cá bè đưng giai đoạn thành thực là cao hơn nhiều so với hàm lượng protein của buồng trứng cá diạ (*Siganus guttatus*) cùng giai đoạn đạt 14,8% [1]. Điều này có thể cho thấy ở mỗi loài cá khác nhau, hàm lượng protein trong buồng trứng khác nhau.

#### IV. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

Cá bè đưng là loài cá đẻ nhiều lần trong năm. Mùa sinh sản kéo dài, nhưng tập trung từ tháng 3 đến tháng 9. Tổ chức học buồng trứng

thể hiện tính không đồng bộ với sự hiện diện các noãn bào ở các giai đoạn phát triển khác nhau. Quá trình phát triển buồng trứng trải qua 6 giai đoạn giống như các loài cá biển nhiệt đới khác. Hệ số thành thực ở cá bè đưng khá thấp, cao nhất đạt 3,05%. Thành phần sinh hóa của buồng trứng thay đổi theo giai đoạn phát triển. Hàm lượng protein cao hơn ở giai đoạn thành thực, trong khi lipid, tro và ẩm lại cao hơn ở giai đoạn chưa thành thực. Kích thước noãn bào ở giai đoạn thành thực đạt  $328,5 \pm 25,60 \mu\text{m}$ . Sức sinh sản tuyệt đối trung bình đạt  $121.174 \pm 66.842$  trứng/cá cái. Sức sinh sản tương đối trung bình đạt  $107.607 \pm 49.916$  trứng/kg cá cái. Nhằm hoàn thiện quy trình sản xuất giống, các nghiên cứu tiếp theo về nội tiết sinh sản trên cá cái cần được thực hiện.

#### LỜI CẢM ƠN

Nhóm tác giả xin chân thành cảm ơn công ty TNHH Phương Hải Nha Trang, Giám đốc Lê Thị Như Phương đã tài trợ đàn cá bố mẹ cho nghiên cứu; cảm ơn học viên cao học Đào Thị Đoan Trang và các em sinh viên đại học Lò Thị Dương, Nguyễn Lập Đức đã hỗ trợ cho nghiên cứu này.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

##### Tiếng Việt

1. Nguyễn Văn An, Nguyễn Văn Minh, Phạm Quốc Hùng, 2019. Ảnh hưởng của hCG và LHRH-A lên thành phần sinh hóa của buồng trứng cá diạ (*Siganus guttatus*). *Tạp chí khoa học - công nghệ thủy sản*; Số 3/2019, trang 3-8.
2. Hứa Thị Ngọc Dung, Đào Thị Đoan Trang, Phạm Quốc Hùng, 2020. Nghiên cứu đặc điểm sinh học tinh sào cá khê vằn (*Gnathanodon speciosus*). *Tạp chí khoa học-công nghệ thủy sản*; Số 2/2020, trang 19-25.
3. Lê Hoàng Thị Mỹ Dung, Phạm Quốc Hùng, 2015. Sự phát triển noãn sào trong mùa sinh sản của cá chêm mõm nhọn – *Psammoperca waigiensis* (Cuvier, 1828). *Tạp chí khoa học - công nghệ thủy sản*, Số 4/2015, trang 27-33.
4. Phạm Quốc Hùng, Phạm Huy Trường, Nguyễn Văn An, 2018. Ảnh hưởng của hCG, LHRH-A lên đặc điểm sinh lý sinh sản cá diạ (*Siganus guttatus*). *Tạp chí khoa học-công nghệ thủy sản*; Số 3/2018, trang 38-43.

##### Tiếng Anh

5. Hung Quoc Pham, Anh Tuong Nguyen, Elin Kjørsvik, Mao Dinh Nguyen and Augustine Arukwe, 2012.

- Seasonal reproductive cycle in waigieu seaperch (*Psammoperca waigiensis*). *Aquaculture Research* 43 (6): 815-830.
6. Hung Q. Pham, Hoang M. Le, 2020. Seasonal changes in three indices of gonadal maturation in male golden rabbitfish (*Siganus guttatus*): implications for artificial propagation. *Fish Physiology and Biochemistry*, 46 (3), 1111-1120.
7. Nikolsky, G. V. 1963. The Ecology of Fishes. Academy press, London and New York, 352 pp.
8. Pham Quoc Hung, Le Thi Nhu Phuong, 2019. Seed production technology of golden trevally (*Gnathanodon speciosus*). *The International Fisheries Symposium 2019*. November 18-21, 2019, Kuala Lumpur, Malaysia.
9. Sakun O F, 1954. Analysis of gonadal function in male and female *Vimba vimba* with special reference to the nature of spawning. *Dokl Akad Nauk SSSR* 98:505-507.
10. Sakun, O F. & Butsakaia, 1968. Analysis of gonadal function in male and female *Vimba vimba* L. with special reference to the nature of spawning". *Dokl Akad Nauk SSSR* 98: 505-700.
11. Simpson, A., 1992. Differences in body size and lipid reserves between maturing and non-maturing Atlantic salmon parr, *Salmo salar*. *Canadian Journal of Zoology* 70: 1737-1742.
12. Tony S Dharma, 2014. The mass seed production of golden trevally fish (*Gnathanodon speciosus* forsskal) with different feed. *Journal of Tropical Marine Science and Technology*, 6, 383-390.
13. Tony S Dharma, Gigih S Wibawa dan AA. Ketut A, 2017. The hatchery technology of golden trevally fish (*Gnathanodon speciosus*) for the sustainable development of the aquaculture in Indonesian. Asian Pacific Aquaculture 2017. *The World Aquaculture Society*.
14. Zeyl J N, Love P O, Higgs M D, 2014. Evaluating gonadosomatic index as an estimator of reproductive condition in the invasive round goby *Neogobius melanostomus*. *Journal of Great Lakes Research*, 40:164-171.