

STUDY ON MATING RATIO OF PORTUGUESE OYSTER BROODSTOCK (*CRASSOSTREA ANGULATA*) FOR ARTIFICIAL FERTILIZATION IN HATCHERIES IN VIETNAM

Vu Van Sang

Faculty of Biology, University of Science, Vietnam National University

Research Institute for Aquaculture number 1

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Received: 22/5/2023	The study was carried out to determine the suitable mating ratio of Portuguese oyster broodstock (<i>Crassostrea angulata</i>) for artificial fertilization. <i>C. angulata</i> broodstock used for the experiment were above 50 gram each. The experiment was designed with 4 different treatments: 1) <i>Treatment 1</i> : 1 male and 1 female; 2) <i>Treatment 2</i> : 1 male and 5 females; 3) <i>Treatment 3</i> : 1 male and 10 females; 4) <i>Treatment 4</i> : 1 male and 15 females with three replicas for each. For artificial fertilization, sperm and eggs were striped. Results show that the treatment 2 had fertilization rate of 85.5%; hatching rate of 86.5%; metamorphosis rate to D larvae of 75.6%, similarly was found in the treatment 3 with fertilization rate of 87.5%; hatching rate of 85.2%; metamorphosis rate to D larvae of 75.4%. The treatments 2 and 3 indicate significantly higher fertilization, hatching rates and metamorphosis rate to D larvae than the treatment 1 and 4 ($P < 0.05$). Therefore, fertilization rate of 1 male with 5 to 10 females will bring about the highest efficiency of artificial fertilization of Portuguese oyster hatcheries in Vietnam.
Revised: 04/8/2023	
Published: 04/8/2023	
KEYWORDS	
Portuguese oysters	
<i>Crassostrea angulata</i>	
Fertilization rate	
Hatching rate	
Metamorphosis rate	

NGHIÊN CỨU TỶ LỆ ĐỰC CÁI PHÙ HỢP CHO THỤ TINH NHÂN TẠO HÀU BÒ ĐÀO NHA (*CRASSOSTREA ANGULATA*) TRONG CÁC TRẠI SẢN XUẤT GIỐNG Ở VIỆT NAM

Vũ Văn Sáng

Khoa Sinh học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên – ĐH Quốc gia Hà Nội

Viện Nghiên cứu Nuôi trồng thủy sản 1

THÔNG TIN BÀI BÁO	TÓM TẮT
Ngày nhận bài: 22/5/2023	Nghiên cứu được thực hiện nhằm xác định tỷ lệ đực cái thích hợp cho thụ tinh nhân tạo hàu Bò Đào Nha, <i>Crassostrea angulata</i> . Hàu Bò Đào Nha bố mẹ sử dụng cho thí nghiệm có khối lượng từ 50 g/con. Thí nghiệm được bố trí gồm 04 nghiệm thức có tỷ lệ đực cái như sau: Nghiệm thức 1 (NT1) tỷ lệ ghép 1 đực và 1 cái; Nghiệm thức 2 (NT2) tỷ lệ ghép 1 đực và 5 cái; Nghiệm thức 3 (NT3): tỷ lệ ghép 1 đực và 10 cái; Nghiệm thức 4 (NT4): 1 đực và 15 cái. Mỗi nghiệm thức lặp lại 03 lần. Phương pháp thụ tinh nhân tạo bằng cách vuốt trứng và tinh của hàu bố mẹ sau đó thụ tinh theo tỷ lệ đực cái như trong 04 nghiệm thức. Kết quả thí nghiệm cho thấy, nghiệm thức 2 có tỷ lệ thụ tinh (85,5%), tỷ lệ nở (86,5%), tỷ lệ biến thái thành ấu trùng chữ D đạt 75,6%, tương đương với kết quả của nghiệm thức 3 cho tỷ lệ thụ tinh đạt 87,5%, tỷ lệ nở 85,2% và tỷ lệ biến thái thành ấu trùng chữ D đạt 75,4%. Hai nghiệm thức 2 và 3 đạt tỷ lệ thụ tinh, tỷ lệ nở, tỷ lệ biến thái thành ấu trùng chữ D cao hơn đáng kể so với 2 nghiệm thức 1 và 4 ($P < 0,05$). Do đó, tỷ lệ thụ tinh 1 đực với 5 cái hoặc 10 cái sẽ mang lại hiệu quả sản xuất giống cao nhất cho các trại giống hàu Bò Đào Nha ở Việt Nam.
Ngày hoàn thiện: 04/8/2023	
Ngày đăng: 04/8/2023	
TỪ KHÓA	
Hàu Bò Đào Nha	
<i>Crassostrea angulata</i>	
Tỷ lệ thụ tinh	
Tỷ lệ nở	
Tỷ lệ biến thái	

DOI: <https://doi.org/10.34238/tnu-jst.7994>

Email: vuvansangts50@gmail.com

<http://jst.tnu.edu.vn>

157

Email: jst@tnu.edu.vn

1. Đặt vấn đề

Hàu Bò Đào Nha (*Crassostrea angulata* Thunberg, 1793) là một loài nhuyễn thể hai mảnh vỏ có nguồn gốc từ Đài Loan, có tốc độ tăng trưởng nhanh và phân bố rộng. Do vậy, hàu Bò Đào Nha (BDN) được nuôi phổ biến ở nhiều quốc gia trên thế giới, đặc biệt ở Nhật Bản, Triều Tiên, Đài Loan, Pháp, Mỹ, Canada. Sản lượng hàu toàn cầu năm 2020 đạt 116,8 triệu tấn, trong đó Trung Quốc là nước có sản lượng lớn nhất 80,9 triệu tấn, tiếp đến là Hàn Quốc, Nhật Bản, Pháp. Hàu BDN được nhập và đưa vào Việt Nam từ năm 2006 với nhiều ưu điểm vượt trội so với các loài hàu bản địa đang được nuôi ở nước ta. Do vậy, hàu BDN đã nhanh chóng trở thành đối tượng nuôi quan trọng với các đặc tính ưu việt như kích thước, khối lượng cơ thể lớn, sinh trưởng nhanh và chất lượng thịt thơm ngon. Hiện nay, diện tích nuôi nhuyễn thể hai mảnh vỏ tại Việt Nam ngày càng được mở rộng về quy mô sản xuất, từ 28.133 ha năm 2011 đến 48.685 ha vào năm 2021 [1]. Sản lượng nhuyễn thể năm 2021 đạt 465.000 tấn, trong đó hàu là một trong ba đối tượng nuôi có sản lượng gia tăng nhiều nhất trong giai đoạn vừa qua. Năm 2021, cả nước hiện có 665 cơ sở sản xuất, kinh doanh giống nhuyễn thể, hàng năm cung cấp cho thị trường 30 tỷ con giống đáp ứng được 50% nhu cầu con giống hiện tại [2], [3].

Tuy nhiên, nguồn giống hàu BDN hiện nay cho nuôi thương phẩm chưa đáp ứng được yêu cầu về mặt chất lượng và số lượng. Nguồn cung cấp con giống hàu BDN cho nuôi thương phẩm không ổn định [4]-[6] do sản lượng hàu sản xuất từ các trại giống trong nước còn gặp một số khó khăn, trong đó có nguyên nhân về tỷ lệ thụ tinh của trứng chưa ổn định và việc xác định tỷ lệ đực cái phù hợp sẽ giúp cải thiện tỷ lệ này trong quá trình sinh sản nhân tạo [7], [8]. Mặc dù kỹ thuật thụ tinh nhân tạo đã được sử dụng phổ biến trong sinh sản hàu, tuy nhiên vẫn chưa có những nghiên cứu để đánh giá ảnh hưởng của mật độ tinh trùng đến tỷ lệ thụ tinh. Trong thực tiễn sản xuất, việc xác định được tỷ lệ đực cái dùng cho thụ tinh nhân tạo sẽ giúp cải thiện tỷ lệ thụ tinh thông qua việc tạo ra mật độ tinh trùng phù hợp. Chính vì lý do trên, chúng tôi tiến hành thực hiện nghiên cứu: “Xác định tỷ lệ đực, cái phù hợp cho thụ tinh nhân tạo hàu Bò Đào Nha, *Crassostrea angulata*” để mang lại hiệu quả sản xuất giống cao nhất cho các trại giống hàu Bò Đào Nha ở Việt Nam.

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Vật liệu nghiên cứu là Hàu Bò Đào Nha bố mẹ có kích cỡ ≥ 50 g/con, được thuần hoá trước khi tiến hành thí nghiệm.

2.2. Bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm được bố trí với 04 nghiệm thức có tỷ lệ đực : cái đưa vào thụ tinh khác nhau, mỗi nghiệm thức được bố trí lặp lại 03 lần và được bố trí như sau:

Nghiệm thức 1: 1 đực : 1 cái

Nghiệm thức 2: 1 đực : 5 cái

Nghiệm thức 3: 1 đực : 10 cái

Nghiệm thức 4: 1 đực : 15 cái

Số con hàu cái sử dụng cho một lần lặp là 31 con. Trứng của 31 con cái được vuốt và trộn đều trong 15,5 lít nước (một con cái tương ứng với 0,5 lít trứng). Sau đó, tinh trùng được lọc qua lưới lọc (100 μ m) để loại bỏ tạp chất và chia thành 4 phần, mỗi phần được đựng vào 04 chậu nhựa dùng để thụ tinh cho 04 nghiệm thức như sau: phần thứ 1: 0,5 lít trứng (Nghiệm thức 1); phần thứ 2: 2,5 lít trứng (Nghiệm thức 2); phần thứ 3: 5 lít trứng (nghiệm thức 3); phần thứ 4: 7,5 lít trứng (nghiệm thức 4). Số con đực sử dụng cho một lần lặp là: 4 con, tinh được vuốt chung vào 2 lít nước và khuấy đều, lọc qua lưới lọc để bỏ tạp chất, sau đó chia thành 4 phần bằng nhau, mỗi phần dùng để thụ tinh cho trứng đã được chuẩn bị ở 04 nghiệm thức ở trên. Sau khi đưa tinh

trùng vào các nghiệm thức, hỗn hợp tinh + trứng được khuấy đều trong khoảng 15 giây, để yên trong khoảng 2 phút và sau đó đưa vào bể ấp có chứa 100 lít nước/bể.

Điều kiện thí nghiệm: bố trí thí nghiệm trong nhà ở nhiệt độ thường, có sục khí 24/24h trong quá trình ấp.

- Sau khi thụ tinh 2 giờ, lấy mẫu để xác định tỷ lệ thụ tinh.
- Sau thụ tinh 5 giờ, lấy mẫu xác định tỷ lệ nở.
- Sau 24 giờ, lấy mẫu xác định tỷ lệ phát triển thành ấu trùng chữ D.

2.3. Phương pháp thu thập và xử lý số liệu

2.3.1. Phương pháp thu thập số liệu

Trứng được đếm bằng cách dùng cốc thủy tinh 100 ml múc ở 3 vị trí khác nhau trong bể ấp ấu trùng, rồi nhân với thể tích bể ấp, chia cho 3 lấy giá trị trung bình. Trứng thụ tinh được xác định bằng cách sử dụng buồng đếm động vật và soi trên kính hiển vi điện tử.

Tỷ lệ thụ tinh, tỷ lệ nở, tỷ lệ chuyển thành ấu trùng chữ D ở các nghiệm thức được tính theo công thức sau:

$$\text{Tỷ lệ thụ tinh (\%)} = 100 \times \frac{\text{tổng số trứng thụ tinh (trứng)}}{\text{tổng số trứng (trứng)}} \quad (1)$$

$$\text{Tỷ lệ nở (\%)} = 100 \times \frac{\text{tổng số trứng nở (trứng)}}{\text{tổng số trứng thụ tinh (trứng)}} \quad (2)$$

$$\text{Tỷ lệ thành ấu trùng chữ D (\%)} = 100 \times \frac{\text{tổng số ấu trùng chữ D (con)}}{\text{tổng số ấu trùng (con)}} \quad (3)$$

2.3.2. Phương pháp xác định các yếu tố môi trường

Các chỉ tiêu môi trường thí nghiệm cần theo dõi: Nhiệt độ, độ mặn, pH, NH_3 , NO_2^- được đo đặc và theo dõi 2 lần/ngày vào 8h sáng và 14h chiều.

Đo nhiệt độ: Dùng máy đo môi trường nước HANNA HI98194, độ chính xác 0,15°C.

Đo pH: Dùng máy đo môi trường nước HANNA HI98194, độ chính xác 0,02.

Độ mặn: Dùng khúc xạ kế độ chính xác 0,5‰.

Đo DO: Dùng máy đo môi trường nước HANNA HI98194, độ chính xác 0,1 mg/L.

Xác định NH_3 bằng bộ test kit sera so màu.

Xác định NO_3^- bằng bộ test kit sera so màu.

2.4. Phân tích số liệu

Số liệu được quản lý bằng phần mềm Excel và xử lý bằng phần mềm thống kê SPSS version 24.0.

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Kết quả theo dõi các yếu tố môi trường

Môi trường là yếu tố quan trọng ảnh hưởng đến đặc điểm sinh học của hàu, trong đó nhiệt độ và độ mặn là những yếu tố quan trọng nhất. Trong giai đoạn nuôi vỗ, nhiệt độ ảnh hưởng đến sự thành thực sinh dục và sinh sản của hàu; trong giai đoạn ấu trùng, nhiệt độ ảnh hưởng trực tiếp đến quá trình phát triển của phôi hàu [2]. Nhiệt độ thích hợp nhất cho hàu bố mẹ thành thực và sinh sản từ 24-26°C. Khi nhiệt độ thấp hơn 18°C, tỷ lệ sống của phôi rất thấp, hầu hết phôi bị chết trong quá trình phân cắt tế bào. Hơn nữa, nhiệt độ thấp làm giảm khả năng vận động của tinh trùng, tỷ lệ thụ tinh thấp. Nhìn chung, ngưỡng nhiệt độ thích hợp nhất cho sinh trưởng và phát triển của phôi từ 28-30°C [3]. Nghiên cứu ảnh hưởng nhiệt độ lên sự phân cắt của phôi hàu sữa (*Crassostrea lugubris*) trong các khoảng nhiệt độ 25-27°C, 29-31°C, 33-35°C. Kết quả thu được cho thấy, ở khoảng nhiệt độ 25-31°C phôi phân cắt và phát triển thành ấu trùng chữ D đạt tỷ lệ >50%. Ở nhiệt độ cao hơn có hiện tượng ấu trùng dị hình cao, tỷ lệ sống đến giai đoạn ấu trùng hình chữ D thấp, có những đợt thí nghiệm ấu trùng chết hoàn toàn trong giai đoạn ấu trùng chữ D [9]. Nhiệt độ có ảnh hưởng quan trọng đến tốc độ tăng trưởng của hàu BDN, nhiệt độ thích hợp nhất từ 27-30°C trong thời gian từ tháng 5 đến tháng 7 hằng năm [10]. Kết quả quan trắc các yếu tố môi trường trong quá trình thí nghiệm được trình bày trong bảng 1.

Bảng 1. *Biến động một số yếu tố môi trường trong quá trình thí nghiệm*

Yếu tố môi trường	Nghiệm thức 1	Nghiệm thức 2	Nghiệm thức 3	Nghiệm thức 4
Nhiệt độ (°C)	23 – 27	23- 27	23- 27	23- 27
pH	7,96 ± 0,43 ^a	7,85 ± 0,38 ^a	7,85 ± 0,38 ^a	7,85 ± 0,38 ^a
Độ mặn (‰)	27 – 31	29 – 32	29 – 32	29 – 32
DO (mg/L)	4,76 ± 0,38 ^a	4,82 ± 0,41 ^a	4,82 ± 0,41 ^a	4,82 ± 0,41 ^a
NH ₃ -N (mg/L)	0,032 ± 0,013 ^a	0,036 ± 0,014 ^a	0,034 ± 0,014 ^a	0,035 ± 0,014 ^a
NO ₂ -N (mg/L)	0,044 ± 0,010 ^a	0,042 ± 0,014 ^a	0,041 ± 0,014 ^a	0,041 ± 0,014 ^a

Ghi chú: Số liệu trình bày trong bảng là giá trị trung bình ± độ lệch chuẩn, các chữ cái giống nhau trong cùng một hàng là sai khác không có ý nghĩa thống kê ($P > 0,05$).

Bên cạnh đó, độ mặn ảnh hưởng đến sự phát triển tuyến sinh dục và mùa vụ sinh sản. Độ mặn cũng là yếu tố rất quan trọng ảnh hưởng đến sự phát triển của phôi. Nếu độ mặn quá cao, sự chênh lệch áp suất thẩm thấu giữa môi trường bên ngoài và bên trong tế bào làm cho phôi dễ bị teo do mất nước dẫn đến phôi không phát triển. Ngược lại, khi độ mặn quá thấp (<5‰) dẫn đến phôi bị trương nước không phát triển được. Độ mặn thích hợp để ấp nở hầu hết các loài cá dao động trong khoảng từ 22-30‰ [11]. Nhìn chung, các yếu tố môi trường trong các bể thí nghiệm nuôi vỗ cho thấy các chỉ tiêu theo dõi đều nằm trong khoảng thích hợp cho ấp nở trứng hầu và tương đương nhau ở các nghiệm thức (Bảng 1). Hàm lượng NH₃-N và NO₂-N không có sự khác biệt đáng kể giữa các nghiệm thức và đều nằm trong khoảng cho phép theo tiêu chuẩn Việt Nam về chất lượng nước biển ven bờ (TCVN 5943-1995).

3.2. Kết quả thử nghiệm ảnh hưởng của tỷ lệ đực : cái tới tỷ lệ thụ tinh, tỷ lệ nở và tỷ lệ phát triển thành ấu trùng chữ D

Tỷ lệ thụ tinh và nở của trứng là chỉ tiêu quan trọng để đánh giá hiệu quả của quá trình ghép cặp sinh sản [2]. Trong nghiên cứu này, tỷ lệ thụ tinh, tỷ lệ nở của trứng và tỷ lệ phát triển thành ấu trùng chữ D đạt cao nhất ở nghiệm thức 2 (tỷ lệ đực cái 1:5) lần lượt là 85,5%, 86,5%, 75,6% và nghiệm thức 3 (tỷ lệ đực cái 1:10) lần lượt là 87,5%, 85,2%, 75,4%. Ở nghiệm thức 1 (tỷ lệ đực cái 1:1) cho tỷ lệ thụ tinh, tỷ lệ nở của trứng và tỷ lệ phát triển thành ấu trùng chữ D thấp nhất (Bảng 2). Nhìn chung, tỷ lệ thụ tinh và tỷ lệ nở của ấu trùng hầu trong nghiên cứu này là tương đối cao, tuy vậy tỷ lệ này so với các công bố trước thì thấp hơn [12]. Kết quả của các thí nghiệm có thể chịu ảnh hưởng của điều kiện thí nghiệm, chất lượng trứng và tinh sử dụng. Thử nghiệm sản xuất giống đã công bố tỷ lệ thụ tinh và tỷ lệ nở thành ấu trùng trochophore đều đạt trên 90% khi ương ở nhiệt độ 29°C, độ mặn 20‰, tuy nhiên tỷ lệ này không ổn định và rất ít khi đạt được ở những lần sản xuất sau [13], [14]. Phương pháp cho đẻ bằng nâng nhiệt cũng ảnh hưởng đến tỷ lệ thụ tinh và tỷ lệ nở của trứng [12]. Hơn nữa, phương pháp thụ tinh bằng cách vuốt trứng và tinh cũng có thể là nguyên nhân ảnh hưởng đến tỷ lệ thụ tinh, tỷ lệ nở, tỷ lệ phát triển thành ấu trùng chữ D. Tuy vậy, kết quả thí nghiệm cho thấy tỷ lệ đực cái khác nhau có ảnh hưởng đến tỷ lệ thụ tinh, tỷ lệ nở và tỷ lệ biến thái của ấu trùng hầu đến giai đoạn ấu trùng chữ D. Ở tỷ lệ đực cái là 1:5 và 1:10 cho tỷ lệ thụ tinh, tỷ lệ nở và tỷ lệ sống đến ấu trùng chữ D cao nhất.

Bảng 2. *Ảnh hưởng của tỷ lệ đực, cái đến tỷ lệ thụ tinh, tỷ lệ nở và tỷ lệ phát triển thành ấu trùng trochophore (%)*

Chỉ tiêu	Thí nghiệm	Nghiệm thức 1	Nghiệm thức 2	Nghiệm thức 3	Nghiệm thức 4
Tỷ lệ thụ tinh (%)		67,0 ± 9,80 ^a	85,5 ± 8,49 ^b	87,5 ± 9,83 ^b	72,0 ± 9,60 ^c
Tỷ lệ nở (%)		65,0 ± 8,80 ^a	86,5 ± 8,49 ^b	85,2 ± 9,83 ^b	71,0 ± 9,70 ^c
Tỷ lệ phát triển thành ấu trùng Trochophore (%)		50,4 ± 9,61 ^a	75,65 ± 8,67 ^b	75,43 ± 9,67 ^b	55,4 ± 9,61 ^c

Ghi chú: Số liệu trình bày trong bảng là giá trị trung bình ± độ lệch chuẩn. Các chữ khác nhau trong cùng một hàng là sai khác có ý nghĩa ($P < 0,05$).

4. Kết luận

Tỷ lệ thụ tinh, tỷ lệ nở tỷ lệ phát triển thành ấu trùng chữ D đạt cao nhất ở các nghiệm thức 2 (1 đực và 5 cái) và nghiệm thức 3 (1 đực và 10 cái) với tỷ lệ lần lượt là: 85,5%; 86,5%; 75,65% (nghiệm thức 2) và 87,5%; 85,2%; 75,43% (nghiệm thức 3).

TÀI LIỆU THAM KHẢO/ REFERENCES

- [1] Directorate of Fisheries, *Annual report on aquaculture production in 2021*. Directorate of Fisheries. Ministry of Agriculture and Rural Development, 2021.
- [2] V. I. Vu, *Completing the technological process of Pacific oyster seed production*, Final Report. Ministry of Agriculture and Rural Development, 2021.
- [3] W. O. C. O'Connor, M. Dove, S. O'Connor, L. T. Luu, L. Xan, and C. T. Giang, *Building bivalve hatchery production capacity in Vietnam and Australia*, Final report of ACIAR project, 2012.
- [4] S. V. Vu, W. Knibb, N. T. Nguyen, I. V. Vu, W. O'Connor, M. Dove, and N. H. Nguyen, "First breeding program of the Portuguese oyster *Crassostrea angulata* demonstrated significant selection response in traits of economic importance," *Aquaculture*, vol. 518, 2020, Art. no. 734664.
- [5] S. V. Vu, W. Knibb, W. O'Connor, N. T. Nguyen, V. I. Vu, M. Dove, and N. H. Nguyen, "Genetic parameters for traits affecting consumer preferences for the Portuguese oyster," *Crassostrea angulata*. *Aquaculture*, vol. 526, 2020, Art. no. 735391.
- [6] V. I. Vu, V. S. Vu, W. O'Connor, P. T. Van, M. Dove, W. Knibb, and N. H. Nguyen, "Are strain genetic effect and heterosis expression altered with culture system and rearing environment in the Portuguese oyster (*Crassostrea angulata*)?" *Aquaculture Research*, vol. 48, no. 8, pp. 4058-4069, 2017.
- [7] T. T. D. Doan, B. Phung, and D. T. Nguyen, "Study on the effect of salinity on growth and survival rate of Pacific triploid oyster seed (*Crassostrea gigas*)," *Journal of PosSeed*, vol. 2, pp. 197-201, 2021.
- [8] V. I. Vu, T. T. Tran, T. G. Cao, V. S. Vu, and T. L. Dang, "Effects of different combinations of algal species diets on survival and growth of the Pacific oyster larvae in hatchery conditions," *Journal of Mekong Delta Fisheries - Research Institute for Aquaculture number 2*, vol. 18, pp. 23-33, 2020.
- [9] D. T. Ha, *Report on research results on developing technological process for artificial seed production and commercial oyster (*Crassostrea* sp.) culture*. Final report. Ministry of Science and Technology, Research Institute for Aquaculture number 1, 2005.
- [10] F. d. J. Reynaga Franco, J. M. Grijalva Chon, R. Castro Longoria, R. H. Barraza Guardado, J. A. Arreola Lizárraga, and J. Chávez Villalba, "Biological performance of *Crassostrea gigas* stocks produced at different hatcheries and cultivated under same environmental conditions," *Aquaculture Research*, vol. 50, pp. 621-633, 2019.
- [11] V. S. Vu, *Technical training document "Technical guide to artificial seed production of Pacific oysters*. National Center for Northern Broodstock centre, Research Institute for Aquaculture number 1, 2016.
- [12] H. T. Luong, "Effects of reproductive stimulation measures on reproductive parameters of Pacific oysters (*Crassostrea gigas* Thunberg 1793)," *Journal of Aquatic Science and Technology*, vol. 5, pp. 23-30, 2014.
- [13] T. G. Cao, *Report on research results on seed production and commercial culture of Pacific oysters (*Crassostrea gigas*) for export*. National research project. Ministry of Science and Technology, 2010.
- [14] V. I. Vu, W. O'Connor, V. S. Vu, P. T. Van, and W. Knibb, "Resolution of the controversial relationship between Pacific and Portuguese oysters internationally and in Vietnam," *Aquaculture*, vol. 473, pp. 389-399, 2017.