

## ẢNH HƯỞNG CỦA LIỀU LƯỢNG HORMONE HCG ĐẾN KẾT QUẢ SINH SẢN TRÊN CÁ LEO (*Wallago attu*)

Lê Thị Thu An, Nguyễn Văn Huy, Lê Văn Dân, Võ Đức Nghĩa\*

Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Huế

\*Tác giả liên hệ: [yoducnghia@huaf.edu.vn](mailto:yoducnghia@huaf.edu.vn)

Nhận bài: 22/08/2023 Hoàn thành phản biện: 14/10/2023 Chấp nhận bài: 14/10/2023

### TÓM TẮT

Nghiên cứu này nhằm đánh giá ảnh hưởng của liều tiêm HCG đến kết quả sinh sản của cá Leo (*Wallago attu*). Cá cái thành thực được tiêm HCG với 5 liều, lần lượt là 1.000, 2.000, 3.000, 4.000, 5.000 IU/kg. Cá đực được tiêm HCG với nồng độ 1.500 IU/kg. Ngoài ra, một nghiệm thức được tiêm nước muối sinh lý sử dụng để làm đối chứng (ĐC). Kết quả cho thấy đường kính trứng của cá Leo đạt 1,67 - 1,71 mm và khoảng cách trung bình giữa túi nhân đến màng tế bào trứng dao động từ  $0,21 \pm 0,05$  mm đến  $0,22 \pm 0,03$  mm là cá có thể tham gia sinh sản. Cá ở nghiệm thức ĐC không rụng trứng sau 24 giờ kể từ liều tiêm quyết định. Kích thích sinh sản cá Leo cái ở liều 4.000 IU HCG/kg đạt kết quả tốt nhất với tỷ lệ rụng trứng 100%, tỷ lệ thụ tinh 87,3%, tỷ lệ nở 84,7% và năng suất cá bột 6,3 vạn/kg cá cái tham gia sinh sản. Thời gian phát triển phôi của cá Leo dao động từ 18 đến 20 giờ. Cá bột sau 2,5 - 3 ngày sẽ tiêu hết noãn hoàng và bắt đầu sử dụng thức ăn bên ngoài.

**Từ khóa:** Cá Leo, Đường kính trứng, Liều lượng HCG, Kích thích sinh sản, Sự rụng trứng

## THE EFFECTS OF HCG HORMONE DOSAGES ON REPRODUCTIVE PERFORMANCE OF *FRESHWATER CATFISH* (*Wallago attu*)

Le Thi Thu An, Nguyen Van Huy, Le Van Dan, Vo Duc Nghia\*

University of Agriculture and Forestry, Hue University

### ABSTRACT

The present study was to investigate the effects of different HCG concentrations on the reproductive performance of *Wallago attu*. Matured female broodstock was injected with five dosages of HCG: 1,000, 2,000, 3,000, 4,000, and 5,000 IU/kg. Males were injected with a concentration of 1,500 IU/kg. Additionally, a group of broodstock was injected with physiological saline and used as a control (ĐC). The results of this study showed that the oocyte diameter of *W. attu* ranged from 1.67 mm to 1.71 mm, and the average distance between the germinal vesicle and the edge of the oocyte ranged from  $0.21 \pm 0.05$  mm to  $0.22 \pm 0.03$  mm, indicating that the fish were capable of participating in spawning. In the broodstock from the control group, no ovulation was observed within 24 hours after the injection. The reproductive stimulation of *W. attu* females with a dose of 4,000 IU HCG/kg gave the best results, with a 100% ovulation rate, 87.4% fertilization rate, 84.5% hatching rate, and a fry yield of 63,000 individuals/kg of female fish participating in spawning. The embryo development time of *W. attu* ranged from 18 to 20 hours. The fry consumed all the yolk and started using external food after 2.5 to 3 days.

**Keywords:** HCG hormone dosage, Ovulation, Oocyte diameter, Spawning induction, *Wallago attu*

## 1. MỞ ĐẦU

Trong những năm gần đây, cá Leo đã được nuôi khá phổ biến tại một số tỉnh miền Trung với kết quả khả quan. Tuy nhiên, việc đảm bảo số lượng con giống chất lượng cao và chi phí sản xuất thấp đáp ứng nhu cầu thị trường được xem như một trong những thách thức trong việc phát triển nuôi cá Leo. Sự thiếu hụt cơ sở dữ liệu về đặc điểm sinh học sinh sản, sự hao hụt lớn về số lượng do hiện tượng ăn lẫn nhau trong giai đoạn cá giống là những nguyên nhân chính dẫn đến việc chủ động nguồn giống cá Leo gặp nhiều khó khăn (Sahoo và cs., 2002).

Thành công của việc sinh sản nhân tạo cá Leo đã được các nghiên cứu trong và ngoài nước công bố (Sahoo và cs., 2006; Raizada và cs., 2015; Dương Nhựt Long và Nguyễn Hoàng Thanh, 2008; Nguyễn Đình Vinh và cs., 2016). Tuy nhiên, các kết quả này chưa được mô tả cụ thể về mức độ thành thực, kích thước đường kính trứng cá, khoảng cách giữa nhân đến màng tế bào trứng, thời điểm tiêm chất kích thích hay nguồn gốc của các loại hormone, đây là những yếu tố ảnh hưởng rất lớn đến kết quả sinh sản. Đối với cá được nuôi trong ao do điều kiện sinh thái không thích hợp để cá có thể sinh sản tự nhiên, nên phải tiêm các chất kích thích sinh sản vào cơ thể cá làm thay đổi hoạt động nội tiết của trục não bộ - tuyến yên - tuyến sinh dục nhằm kích thích cá bố mẹ rụng trứng và phóng tinh (Phạm Quốc Hùng và cs., 2014).

Trong các loại chất kích thích sinh sản sử dụng cho cá, HCG là hormone được dùng phổ biến và có hiệu quả cho nhiều loài cá với liều lượng tiêm dao động từ 500 – 5.000 IU/kg cá cái (Cacot và cs., 2002). Nồng độ HCG tiêm cho cá phụ thuộc vào mức độ tinh khiết của chế phẩm cũng như sự thành thực của cá (Phạm Quốc Hùng và cs., 2014). Trong nghiên cứu này, ngoài các tiêu chí lựa chọn về ngoại hình, độ tuổi của cá, chỉ tiêu

kích thước đường kính trứng, sự lệch nhân của tế bào trứng cũng được đánh giá để đảm bảo tính đồng nhất của cá thí nghiệm. Mặt khác, khi sử dụng chất kích thích sinh sản phù hợp sẽ giúp cá đẻ đồng loạt, đẻ róc và các chỉ tiêu sinh sản như: tỉ lệ rụng trứng, tỉ lệ trứng thụ tinh, tỉ lệ nở cao và hiệu quả hơn so với việc không dùng chất kích thích (Cacot và cs., 2002).

Trên cơ sở đó, mục tiêu của nghiên cứu này nhằm xác định liều lượng hormone HCG phù hợp để kích thích quá trình chín, rụng trứng và theo dõi quá trình phát triển phôi của cá Leo làm cơ sở khoa học cho việc xây dựng qui trình sản xuất giống nhân tạo phục vụ mục tiêu đa dạng hóa đối tượng nuôi nước ngọt ở tỉnh Thừa Thiên Huế và khu vực miền Trung.

## 2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Vật liệu nghiên cứu

Thí nghiệm sử dụng 18 cá cái và 9 cá đực sau khi nuôi vỗ đã thành thực (cá cái có khối lượng trung bình  $2,15 \pm 0,11$  kg/con, chiều dài  $60,4 \pm 3,24$  cm/con; cá đực có khối lượng trung bình  $1,57 \pm 0,08$  kg/con, chiều dài  $53,3 \pm 2,41$  cm/con) được lựa chọn để tiến hành thí nghiệm. Tất cả cá cái được đánh dấu bằng phương pháp gắn microchip i-Tag162s for fish của hãng BTS-ID® RFID và scan kiểm tra ID-number bởi thiết bị Microchip reader R-540 – Handheld (Sản xuất tại Đức) trước khi đưa vào thí nghiệm.

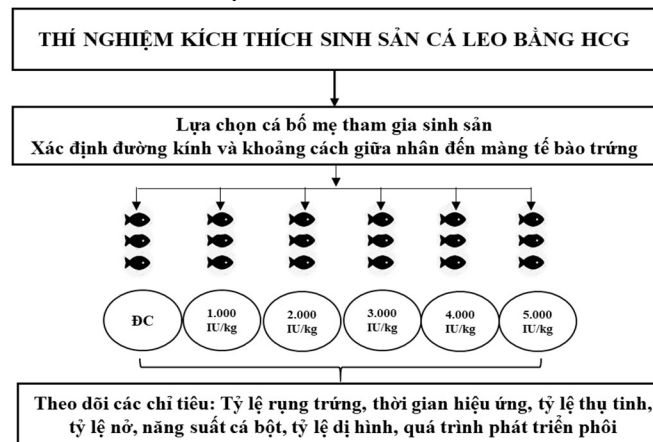
Cá Leo đực và cái được đưa vào các bể composite dạng hình tròn (dung tích 1,0 m<sup>3</sup> và chỉ cấp nước 0,7 m<sup>3</sup>/bể) nhốt riêng trước khi tiêm. Chất kích thích được sử dụng trong nghiên cứu này là HCG (Sigma, USA). Trước khi tiêm, cá được gây mê bằng Aqui-S® với nồng độ 5 ml/m<sup>3</sup> (Sản xuất tại công ty Bayer VN); khi cá chuyển sang

trạng thái mê, vớt cá ra để trên khăn ẩm (tránh mất nhớt) và tiến hành tiêm.

## 2.2. Phương pháp bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm kích thích sinh sản cá Leo bằng HCG được tiến hành theo Hình 1. Hormone HCG được tiêm cho cá cái với năm nghiệm thức ở các liều tiêm 1.000 IU/kg, 2.000 IU/kg, 3.000 IU/kg, 4.000 IU/kg, 5.000 IU/kg và nghiệm thức đối chứng (ĐC) không tiêm HCG (chỉ tiêm nước muối sinh lý). Ở mỗi liều tiêm được

tiến hành lặp lại trên 3 cá cái. Cá cái được tiêm 2 lần, liều sơ bộ tiêm lượng HCG bằng 1/3 tổng liều tiêm và sau 24 giờ sẽ tiến hành tiêm liều quyết định. Cá cái sau khi tiêm được nuôi nhốt riêng từng nghiệm thức/bể (cá đã được đánh dấu bằng phương pháp gắn microchip) để theo dõi các chỉ tiêu nghiên cứu. Cá đực được tiêm HCG với nồng độ 1.500 IU/kg, tiêm cùng lần với liều quyết định cá cái (thể tích dung môi để tiêm cho 1 kg cá là 0,3 mL).



Hình 1. Sơ đồ bố trí thí nghiệm kích thích sinh sản

Cá cái sau khi tiêm được giữ trong bể composite theo từng nghiệm thức riêng (03 cá cái/nghiệm thức/bể) và duy trì nhiệt độ nước 28 - 29 °C, pH 7,2 - 7,3, DO 5,1 - 5,4 mg/L. Trong vòng 24 giờ kể từ khi tiêm liều quyết định, tiến hành kiểm tra độ chín muồi và rụng trứng bằng cách vuốt nhẹ bụng cá cái. Nếu trứng chảy ra thì tiến hành vuốt trứng cho thụ tinh nhân tạo bằng cách mổ cá đực để lấy túi tinh thụ tinh cho trứng (trứng của mỗi cá cái được vuốt riêng ra một bát xứ). Buồng tinh của mỗi cá đực được sử dụng để thụ tinh với trứng của hai cá cái.

Trong thí nghiệm này, trứng sau khi thụ tinh cho dính vào giá thể. Giá thể làm bằng lưới nylon căng trên một khung nhựa hình vuông, mỗi cạnh dài 40 cm. Đặt giá thể ngập 3 - 5 cm trong nước và rải đều trứng đã thụ tinh lên. Khung ấp trứng đặt trong bể

composite dạng hình tròn (dung tích 1,0 m<sup>3</sup> và chỉ cấp nước 0,7 m<sup>3</sup>/bể) có lắp sục khí nhẹ (duy trì DO > 5 mg/L). Để tính số lượng trứng cần ấp cho mỗi khung giá thể, trong nghiên cứu này đã tiến hành thu ngẫu nhiên 1 gam trứng/mẫu (lặp lại 3 lần) rồi đếm tổng số trứng trên mỗi gam (trung bình 250 trứng/gam); mỗi khung ấp được 40 gam, tương ứng với mật độ 10.000 trứng/khung giá thể.

## 2.3. Xác định kích thước và sự lệch nhân của tế bào trứng

Xác định đường kính trứng áp dụng phương pháp sinh thiết (biopsy) theo mô tả của Wylie và cs. (2019), sử dụng que thăm trứng bằng nhựa mã REF-1103000 của hãng Laboratoire CCD (Sản xuất tại Pháp) để thu trứng của cá từ buồng trứng (3 cá cái/nghiệm thức). Trứng thu được giữ trong

dung dịch Ringer (120 mM NaCl; 5 mM KCl; 3,5 mM CaCl<sub>2</sub>; 3,5 mM MgSO<sub>4</sub>; 3 mM NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>; 10 mM HEPES; pH 7,4) để đo kích thước trứng (30 trứng/cá cái) bằng kính hiển vi gắn với trắc vi thị kính (Kruss optronic, Đức).

Ngoài ra, 6 tế bào trứng khác trên mỗi cá thể được thu thập ngẫu nhiên và ngâm trong dung dịch Serra (ethanol, formalin và axit axetic được pha với tỉ lệ 6:3:1 theo thể tích) để xác định vị trí của nhân theo phương pháp của Stoeckel (2000). Sau khoảng 10 – 15 phút, nhân của tế bào trứng sẽ được nhìn thấy rõ ràng, khoảng cách giữa tâm nhân và màng của tế bào trứng được đo bằng kính hiển vi (quan sát dưới vật kính 4X) gắn với trắc vi thị kính để đánh giá các giai đoạn trưởng thành của tế bào trứng.

## 2.4. Xác định đặc điểm phát triển của phôi cá Leo

Các giai đoạn phát triển phôi của cá Leo được xác định theo phương pháp của Langeland và Kimmel (1997). Quá trình phát triển phôi gồm 2 giai đoạn: (i) Giai đoạn phát triển bên trong trứng gồm có 6 giai đoạn phụ: Giai đoạn thụ tinh, giai đoạn trứng phân cắt, giai đoạn phôi nang, giai đoạn phôi vị, giai đoạn hình thành các cơ quan và giai đoạn trứng nở; (ii) Giai đoạn phát triển bên ngoài trứng: Là giai đoạn sau khi nở đến khi kết thúc dinh dưỡng bằng noãn hoàng.

## 2.5. Các chỉ tiêu theo dõi

- (1) Thời gian hiệu ứng: Tính từ khi cá được tiêm liều quyết định đến khi cá rụng trứng.
- (2) Tỉ lệ thụ tinh (tính khi trứng phát triển đến giai đoạn phôi vị):

$$\text{Tỉ lệ thụ tinh (\%)} = \frac{\text{Số trứng ở giai đoạn phôi vị}}{\text{Số trứng đem ấp}} \times 100$$

(3) Tỉ lệ nở:

$$\text{Tỉ lệ nở (\%)} = \frac{\text{Tổng số cá mới nở}}{\text{Tổng số trứng được thụ tinh}} \times 100$$

(4) Năng suất cá bột (NSCB):

$$\text{NSCB (vạn/kg)} = \frac{\text{Tổng số cá bột (vạn)}}{\text{Tổng khối lượng của cá cái tham gia đẻ (kg)}}$$

(5) Tỉ lệ dị hình:

$$\text{Tỉ lệ dị hình (\%)} = \frac{\text{Số lượng cá bị dị hình (con)}}{\text{Số lượng cá bột thu được (con)}} \times 100$$

(Dấu hiệu cá bị dị hình: cá cong thân, gù lưng, vẹo cột sống, dị tật trên tia vây)

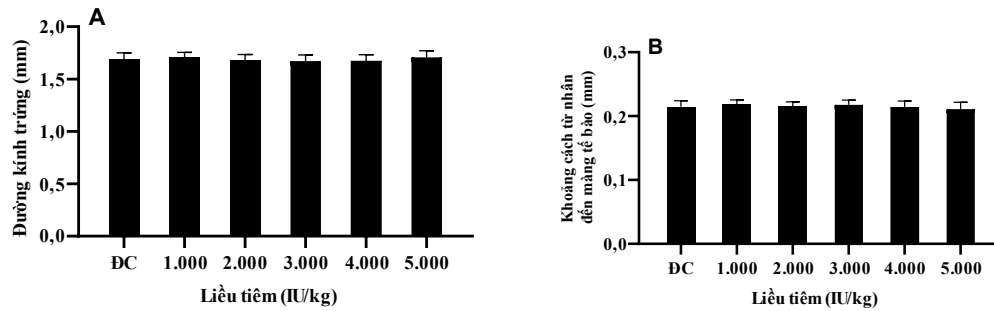
## 2.6. Xử lý số liệu

Số liệu được xử lý bằng phương pháp thống kê sinh học trên phần mềm Excel 2016 và SPSS (phiên bản 20.0 cho Windows). Kiểm định thống kê được thực hiện ở mức ý nghĩa  $p < 0,05$ , bằng phép thử Tukey. Phần mềm Graphpad Prism phiên bản 9.0 dành cho Windows được sử dụng để vẽ các biểu đồ.

## 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 3.1. Đường kính và khoảng cách giữa nhân đến màng tế bào trứng

Trong nghiên cứu này đã tiến hành xác định kích thước trứng và khoảng cách từ vị trí của nhân (GV- germinal vesicle) đến màng tế bào trứng cá Leo nhằm lựa chọn cá cái đã thành thực được đồng đều ở tất cả các nghiệm thức thí nghiệm tham gia sinh sản thể hiện qua Hình 2.

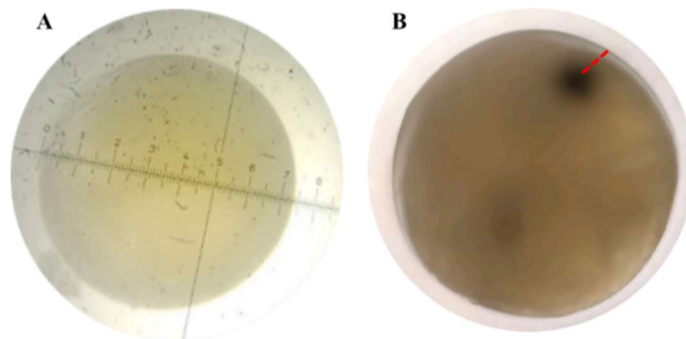


**Hình 2.** Đường kính (A) và khoảng cách từ nhân đến màng tế bào trứng (B)

Số liệu được trình bày dưới dạng giá trị trung bình  $\pm$  SE.

Kết quả về đường kính trung bình của tế bào trứng ở các nghiệm thức dao động từ  $1,67 \pm 0,06$  mm đến  $1,71 \pm 0,05$  mm. Trong sản xuất giống nhân tạo, biết được kích thước trứng là cơ sở khoa học quan trọng nhằm dự đoán về mùa vụ sinh sản của cá và lựa chọn cá mẹ tham gia sinh sản (Wylie và cs., 2019). Các nghiên cứu tương tự cũng được thực hiện trên cá Trê phi *Clarias gariepinus* (Absalom và cs., 2017), cá da trơn *Mystus montanus* (Arockraj và cs., 2004) và cá Leo *Wallago attu* có đường kính tế bào trứng dao động từ 1,1 đến 1,9 mm (Prasad và Desai, 2020)

Khoảng cách trung bình giữa GV đến màng tế bào trứng cá Leo được lựa chọn tham gia thí nghiệm dao động từ  $0,21 \pm 0,05$  mm đến  $0,22 \pm 0,03$  mm. Vị trí của nhân (Hình 3B) là một chỉ số quan trọng thể hiện giai đoạn phát triển của tế bào trứng. Do đó, chỉ số này là một công cụ đánh giá có giá trị trong các nghiên cứu về sinh học sinh sản của cá (Stoeckel, 2000). Đối với trứng của các loài cá da trơn, ở điều kiện bình thường không thể nhìn thấy nhân của noãn bào khi chưa được xử lý hóa chất. Tuy nhiên, khi trứng được ngâm trong dung dịch Serra, các tế bào trứng của cá sẽ được làm sạch bởi hóa chất này và dễ dàng quan sát vị trí của nhân (Stoeckel, 2000).



**Hình 3.** Tế bào trứng cá Leo

Hình A – Trứng cá soi tươi (ngâm trong dung dịch Ringer); Hình B – Sự di chuyển nhân (túi mầm) đến màng tế bào trứng (ngâm trong dung dịch Serra)

Theo Nagahama và cs. (1955), nhân của tế bào trứng cá di chuyển từ trung tâm ra ngoài vi trong quá trình phát triển và

thành thực (trứng chín) của tế bào trứng. Do đó, việc xác định vị trí GV có thể tạo điều kiện cho: (i) Lựa chọn cá để tiêm hormone

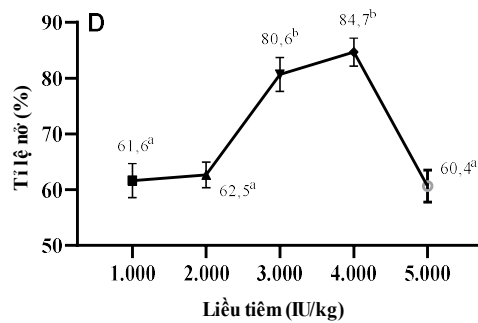
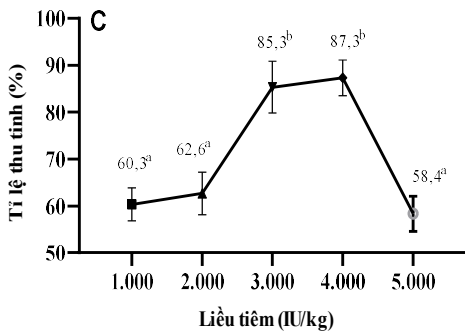
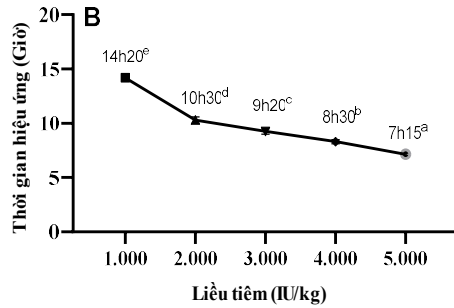
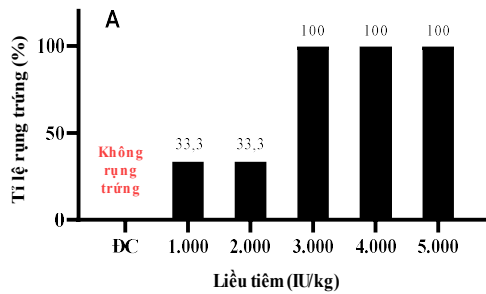
kích thích sinh sản (Pankhurst, 1985); (ii) Xác định các loại kích dục tố để tác động đến quá trình chín và rụng của tế bào trứng (Goetz, 1983); và (iii) Đánh giá các phương pháp, chế độ nuôi vỗ để thúc đẩy sự phát triển của tế bào trứng (Zohar và Mylonas, 2001). Như vậy, đối với cá Leo khi đường kính trứng đạt 1,67 - 1,71 mm và nhân tế bào trứng cá di chuyển từ trung tâm ra màng tế bào trứng là cá có thể tham gia sinh sản.

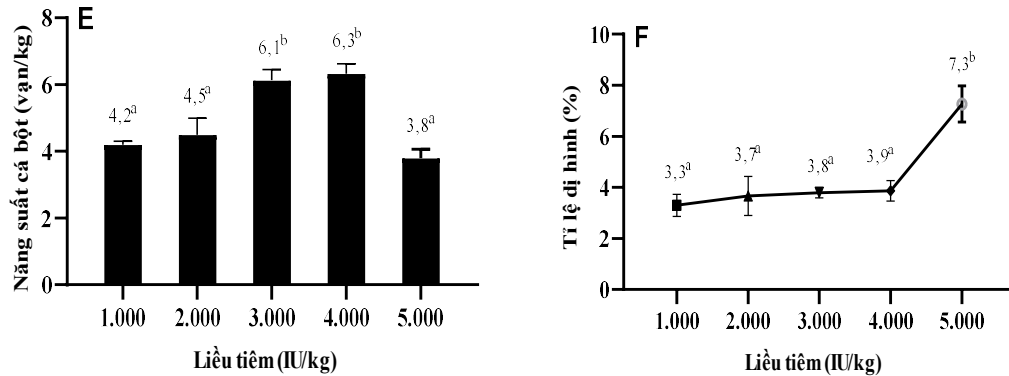
**3.2. Kết quả kích thích sinh sản cá Leo**

Kết quả thu được cho thấy ở nghiệm thức đối chứng (tiêm nước muối sinh lý) cá cái không rụng trứng, nghiệm thức tiêm với liều 1.000 và 2.000 IU/kg đạt 33,3% và các nghiệm thức còn lại tỉ lệ rụng trứng đạt 100% (Hình 4A). Thời gian hiệu ứng (Hình 4B) phụ thuộc vào liều lượng HCG sử dụng để kích thích sinh sản, có sự chênh lệch về thời gian hiệu ứng giữa các nghiệm thức khá lớn, dao động từ 7 giờ 15 phút đến 14 giờ 20 phút (p < 0,05).

Tỉ lệ thụ tinh (Hình 4C) và tỉ lệ nở (Hình 4D) khi tiêm liều 3.000 IU/kg cá cái cho kết quả lần lượt là 85,3% và 80,6%, các chỉ tiêu này sai khác không có ý nghĩa thống kê (p > 0,05) so với liều tiêm 4.000 IU/kg (87,3% và 84,7%). Tuy nhiên, tỉ lệ thụ tinh và tỉ lệ nở ở liều 3.000 IU/kg và liều 4.000 IU/kg có sự sai khác so với liều 1.000 IU/kg, 2.000 IU/kg và 5.000 IU/kg (p < 0,05).

Năng suất cá bột (Hình 4E) cao nhất ở nghiệm thức 4.000 IU/kg, đạt 6,3 vạn cá bột/kg cá cái, tiếp đến liều 3.000 IU/kg đạt 6,1 vạn cá bột/kg cá cái và thấp nhất ở liều 5.000 IU/kg đạt 3,8 vạn cá bột/kg cá cái. Tỉ lệ dị hình (Hình 4F) có sự khác biệt lớn ở nghiệm thức 5.000 IU/kg so với các nghiệm thức còn lại (p < 0,05). Đối với cá bột, tỉ lệ dị hình ảnh hưởng bởi tính di truyền, giao phối cận huyết, chế độ chăm sóc quản lý đàn cá bố mẹ và liều lượng hormone sử dụng để kích thích cá sinh sản (Zohar và Mylonas, 2001).





**Hình 4.** Các chỉ tiêu sinh sản khi tiêm HCG

Các ký tự <sup>a, b, c, d, e</sup> ở các liều tiêm sai khác với  $p < 0,05$ ; Nhiệt độ giữ cá sau khi tiêm 28 – 29 °C. Hình A – Tỷ lệ rụng trứng; Hình B – Thời gian hiệu ứng; Hình C – Tỷ lệ thụ tinh; Hình D – Tỷ lệ nở; Hình E – Năng suất cá bột; Hình F – Tỷ lệ dị hình

Cá Leo cũng giống như loài cá da trơn *Clarias batrachus* (Zairin và cs., 1992) khi trải qua quá trình tạo noãn hoàng trong điều kiện nuôi, nó không trải qua quá trình chín và rụng trứng của tế bào trứng trừ khi được gây ra bằng cách kích thích bởi kích dục tố sử dụng trong điều kiện sinh sản nhân tạo (Hình 5 và Hình 6). Cá Leo không thể

đề tự nhiên có thể liên quan đến vấn đề về điều kiện môi trường nuôi mặc dù cá đã đến giai đoạn thành thực và chín trứng. Mức hormone LH (Luteinizing hormone) cần thiết cho quá trình rụng trứng và đẻ trứng có thể không ở mức tối ưu trong điều kiện nuôi (Mylonas và Zohar, 2001a).



**Hình 5.** Tiêm hormone HCG và vuốt trứng cá (thí nghiệm thức 3.000 IU/kg)



**Hình 6.** Trứng cá cái và túi tinh cá đực thành thực (thí nghiệm thứ 3.000 IU/kg)

Các chỉ tiêu sinh sản đạt được trong nghiên cứu này tương đồng với báo cáo của Trung tâm giống thủy sản An Giang (2009) đã cho sinh sản nhân tạo cá Leo với tỉ lệ thụ tinh 70% - 85%, tỉ lệ nở 80% - 85%. Theo công bố của trung tâm giống thủy sản Nghệ An (2020), tỉ lệ đẻ của cá Leo trung bình đạt 96,6%. Tuy nhiên, các kết quả này chưa đưa ra quy trình chuẩn cho việc sinh sản nhân tạo cá Leo. Mặt khác, tiêu chuẩn cụ thể lựa chọn cá bố mẹ cho tham gia sinh sản nhân tạo trong các nghiên cứu trước đây chưa được mô tả đầy đủ như mức độ thành thực, kích thước đường kính trứng cá, khoảng cách trung bình giữa GV đến màng tế bào trứng, thời điểm tiêm chất kích thích hay nguồn gốc của các loại hormone sẽ ảnh hưởng rất lớn đến kết quả sinh sản.

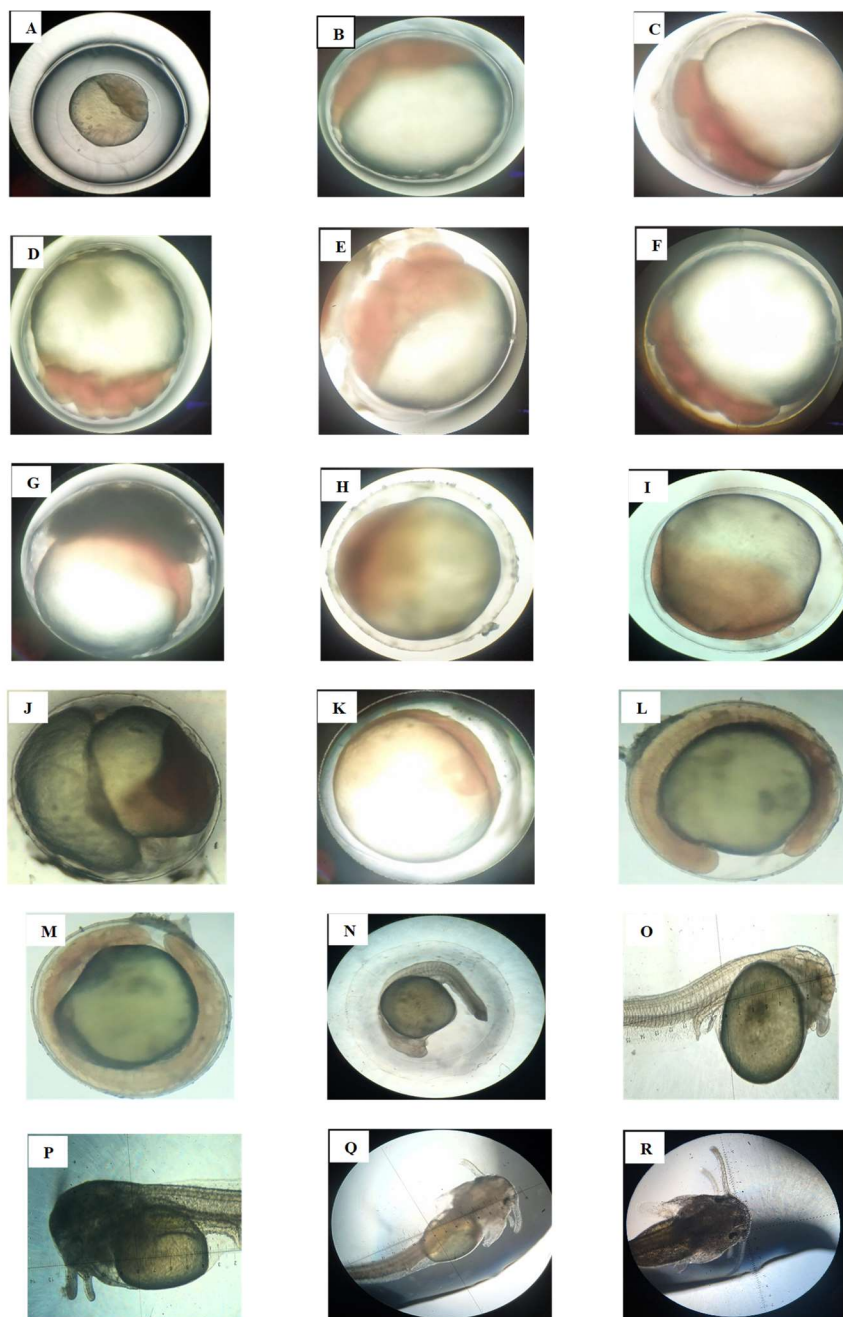
Từ kết quả nghiên cứu cho thấy, HCG có tác dụng làm rụng trứng trên cá Leo đã thành thực. Trong đó, để cải thiện tỉ lệ rụng trứng cũng như hiệu quả của việc sinh sản sử dụng HCG với liều tiêm 3.000 - 4.000 IU/kg cá cái cho kết quả tốt hơn so với các liều khác. Tuy nhiên, việc quyết định loại và liều tiêm kích thích cho cá sinh sản còn phụ thuộc vào sự phát triển của buồng trứng của cá, giai đoạn phát triển của cơ thể, điều kiện chế độ dinh dưỡng và các

yếu tố môi trường (Phạm Quốc Hùng và cs., 2014). Đối với cá Leo mức độ thành thực của các noãn bào trong buồng trứng không đồng đều thể hiện qua tiêu bản mô học tế bào buồng trứng, ở mỗi giai đoạn phát triển buồng trứng đều có sự xuất hiện của các noãn bào ở các phase khác nhau (Võ Đức Nghĩa và cs., 2022). Vì thế, khả năng tiếp nhận các chất kích thích sinh sản và liều lượng khác nhau cũng mang lại hiệu quả sinh sản cao thấp khác nhau. Trong sinh sản nhân tạo cá, việc tiêm, không tiêm hay tiêm liều lượng hormone kích thích sinh sản cá bao nhiêu là tùy thuộc vào đặc tính loài theo những đòi hỏi khác nhau về tín hiệu sinh thái sinh sản (Phạm Quốc Hùng và cs., 2014).

### 3.3. Quá trình phát triển phôi cá Leo

Kết quả theo dõi quá trình phát triển phôi cá Leo cho thấy đường kính trứng sau khi thụ tinh dao động 1,6 - 2,1 mm. Ở nhiệt độ nước trung bình 28,0 - 29,0 °C, pH 7,4 và DO > 5 mg/L, quá trình phát triển phôi của cá Leo dao động từ 18 đến 20 giờ. Cá mới nở dinh dưỡng bằng noãn hoàng, sau khoảng 2,5 - 3 ngày cá tiêu hết noãn hoàng và bắt đầu sử dụng thức ăn bên ngoài. Quá trình phát triển phôi của cá Leo được mô tả qua Hình 7.





**Hình 7.** Quá trình phát triển phôi của cá Leo

Nhiệt độ nước ấp trứng và theo dõi quá trình phát triển phôi 28,0 – 29,0 °C; A – Thành lập đĩa mầm (00h15); B – 2 tế bào (00h25); C – 4 tế bào (00h45); D – 8 tế bào (00h55); E – 16 tế bào (01h05); F – 32 tế bào (01h15); G – Nhiều tế bào (01h45); H – Phôi nang cao (02h15); I – Phôi nang thấp (04h15); J – Đầu phôi vị (06h15); K – Cuối phôi vị (7h10); L – Hình thành đốt sống (09h25); M – Phôi cử động (13h55); N – Cá bắt đầu nở (18h00); O – Cá mới nở (18h – 20h); P – Cá bột 1 ngày tuổi; Q – Cá bột 2 ngày tuổi; R – Cá bột 3 ngày tuổi

Như vậy, thời gian phát triển phôi của cá Leo ngắn hơn so với cá Trê lai 22 - 26 giờ ở nhiệt độ 27 - 30 °C (Lê Văn Dân, 2012) và cá Trê Phú Quốc 20 - 24 giờ ở nhiệt độ 29,5 - 30 °C (Phạm Thanh Liêm và cs., 2015) nhưng tương đương với thời gian phát triển của cá Trê vàng 18 - 21 giờ ở nhiệt độ 29,5 - 30 °C (Nguyễn Văn Kiểm và Lam Mỹ Lan, 2017).

Việc theo dõi quá trình phát triển phôi rất quan trọng, đặc biệt ở giai đoạn phát triển bên ngoài. Liều lượng và loại hormone kích thích cá sinh sản chưa được ghi nhận có ảnh hưởng đến sự phát triển của phôi cá (Adebiyi và cs., 2013; Zohar và Mylonas., 2001). Trong nghiên cứu này, tất cả các nghiệm thức cùng tiến hành đồng thời nên chưa đủ điều kiện để theo dõi tất cả quá trình phát triển phôi ở các liều tiêm khác nhau, vì vậy chúng tôi chỉ quan sát quá trình phát triển phôi ở nghiệm thức tiêm liều 3.000 IU/kg. Theo Ferosekhan và cs. (2015), thời gian phát triển phôi của cá ảnh hưởng lớn bởi yếu tố đặc trưng từng loài và nhiệt độ nước ấp trứng. Đối với cá Leo, quá trình ăn thịt đồng loại bắt đầu xảy ra khi cá kết thúc giai đoạn dinh dưỡng bằng noãn hoàng và sử dụng thức ăn bên ngoài. Giai đoạn này cấu trúc miệng của cá đã phát triển đầy đủ để hút, cắn và giữ con mồi (Võ Đức Nghĩa và cs., 2021). Vì vậy, biết được thời điểm cá bột sắp hết noãn hoàng nhằm tìm ra các giải pháp kiểm soát (thức ăn, mật độ, tần suất cho ăn...) giúp nâng cao hiệu quả trong ương cá giai đoạn ấu trùng và con giống là điều cần thiết.

#### 4. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

##### 4.1. Kết luận

Kích thước đường kính trứng của cá Leo đạt 1,67 - 1,71 mm và nhân tế bào trứng cá di chuyển từ trung tâm ra màng tế bào trứng là cá có thể tham gia sinh sản.

Hormone HCG có tác dụng gây rụng trứng trên cá Leo đã thành thực. Sử dụng HCG với liều tiêm 3.000 - 4.000 IU/kg cá cái cho tỉ lệ rụng trứng, tỉ lệ thụ tinh, tỉ lệ nở và năng suất cá bột đạt yêu cầu sản xuất giống.

Thời gian phát triển phôi của cá Leo dao động từ 18 đến 20 giờ. Cá mới nở dinh dưỡng bằng noãn hoàng, sau khoảng 2,5 - 3 ngày cá tiêu hết noãn hoàng và bắt đầu sử dụng thức ăn bên ngoài.

##### 4.2. Kiến nghị

Cần có những nghiên cứu phân tích hàm lượng FSH, LH, Progesteron và GnRH trong huyết tương nhằm biết được sự tương quan giữa hormone steroid và các giai đoạn phát triển của tuyến sinh dục làm cơ sở khoa học xây dựng giải pháp nuôi vỗ thích hợp trong sản xuất giống nhân tạo cá Leo.

Tiếp tục có những nghiên cứu sâu hơn để đánh giá sự tồn dư hoặc ảnh hưởng của HCG đến cá bột và tỉ lệ dị hình.

##### LỜI CẢM ƠN

Chúng tôi xin được cảm ơn trường Đại học Nông Lâm, Đại học Huế và sở Khoa học và Công nghệ tỉnh Quảng Trị đã hỗ trợ kinh phí cho nghiên cứu này.

##### TÀI LIỆU THAM KHẢO

###### 1. Tài liệu tiếng Việt

- Lê Văn Dân. (2012). Nghiên cứu sản xuất giống cá Trê lai (*Clarias gariepinus* x ♀ *C. Macrocephalus*) ở Thừa Thiên Huế, *Tạp chí khoa học, Đại học Huế* (2), 65-73.
- Phạm Quốc Hùng, Nguyễn Tường Anh và Nguyễn Đình Mão. (2014). Hormon và sự điều khiển sinh sản cá. *Nhà Xuất Bản Nông Nghiệp*, 107 trang.
- Nguyễn Văn Kiểm và Lam Mỹ Lan. (2017). Sử dụng Domperidon và 17, 20 P kích thích cá Trê vàng (*Clarias macrocephalus* Gunther, 1864) sinh sản, *Nghiên cứu khoa học và phát triển kinh tế, Trường Đại học Tây Đô*, (1), 215-223.
- Phạm Thanh Liêm, Nguyễn Hồng Quyết Thắng và Bùi Minh Tâm. (2015). Sinh sản nhân tạo cá Trê Phú Quốc (*Clarias gracilentus*) bằng các chất kích thích khác nhau, *Tạp chí Khoa học, Trường Đại học Cần Thơ Phần B: Nông nghiệp, Thủy sản và Công nghệ Sinh học*, 37(1), 112-119.
- Dương Nhật Long và Nguyễn Hoàng Thanh. (2008). Kết quả bước đầu về sinh sản nhân tạo cá Leo (*Wallago attu*), *Tạp chí Khoa học, Trường Đại học Cần Thơ*, (2), 29-38.
- Võ Đức Nghĩa, Nguyễn Anh Tuấn, Nguyễn Đức Thành, Lê Thị Thu An, Trần Nguyên Ngọc, Trần Thị Thúy Hằng, Ngô Trung Nhật Quang và Nguyễn Văn Huy. (2021). Ảnh hưởng của thức ăn, phân cỡ và giá thể đến hiệu quả ương

- giống cá Leo *Wallago attu* (Bloch & Schneider, 1801). *Tạp chí Khoa học & Công nghệ nông nghiệp*, 5(2), 2516- 2524.
- Trung tâm Giống Thủy sản An Giang. (2009). Báo cáo kết quả đề tài khoa học cấp tỉnh, Nghiên cứu kỹ thuật sinh sản nhân tạo cá Leo – *Wallago attu*, 45 trang.
- Nguyễn Đình Vinh, Tạ Thị Bình và Bùi Hào Quang. (2016). Thử nghiệm sinh sản cá Leo (*Wallago attu*) tại Nghệ An, *Tạp chí khoa học Trường Đại học Vinh*, 125(1A), 45-54.
- 2. Tài liệu tiếng nước ngoài**
- Absalom, K.V., Anpe, J.A., Igoche, L.E., Okunsebor, S.A. (2017). Fecundity and Egg Size of *Clarias gariepinus* in Pandam Lake, Quan-Pan LGA Plateau State, Nigeria.
- Adebiyi, F.A., Siraj, S.S., Harmin, S.A., Christianus, A. (2013). Embryonic and larval development of river catfish *Hemibagrus nemurus* (Valenciennes, 1840). *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances*, 8(2), 237-246.
- Arockraj, A.J., Haniffa, M.A., Seetharaman, S., Singh, S.P. (2004). Indices and fecundity of a threatened freshwater catfish *Mystus montanus*, *Journal of the Indian Fisheries Association*, 31(1), 87-96.
- Cacot, P., Legendre, M., Dan, T.Q., Lazard, J. (2002). Induced ovulation of *Pangasius bocourti* (Sauvage, 1880) with a progressive hCG treatment, *Aquaculture*, 213(1), 199-206.
- Duc Nghĩa Vo, Van Huy Nguyen, Duc Thanh Nguyen, Thi Thu An Le, Matthew J. Wylie, P. Mark Lokman, Anh Tuan Nguyen. (2022). Reproductive development of female wallago catfish (*Wallago attu*) in captivity, *Animal Reproduction Science*, 242, 107014.
- Ferosekhan, S., Sahoo, S.K., Giri, S.S., Saha, A., Paramanik M. (2015). Embryonic and Larval Development of Yellow Tail Catfish, *Pangasius pangasius*. *Journal of Aquaculture Research & Development*, 6(6), 1000343.
- Goetz, F. W. (1983). Hormonal control of oocyte maturation and ovulation in fishes. W. S. Hoar, D. J. Randall & E. M. Donaldson (Eds.), *Fish Physiology* (pp. 117-170). Academic Press, New York.
- Langeland, J., Kimmel, C.B. (1997). The embryology of fish. In: S. F. Gilbert and A. M. Raunio (Eds.), *Embryology Constructing the Organism* (pp. 383-407). Sinauer Associates, Sunderland, MA.
- Mylonas, C.C., & Zohar, Y. (2001a). Endocrine regulation and artificial induction of oocyte maturation and spermiation in basses of the Genus *Morone*, *Aquaculture*, 202, 205-220.
- Nagahama, Y., Yoshikuni, M., Yamashita, M., Tokumoto, T., Katsu, Y. (1995). Regulation of oocyte growth and maturation in fish, *Current Topics in Developmental Biology*, 30, 103-145.
- Pankhurst, N. W. (1985). Final maturation and ovulation of oocytes of the goldeye, *Hiodon alosoides* (Rafinesques), in vitro. *Canadian Journal of Zoology*, 63(5), 1003-1009.
- Prasad, H., Desai, A.Y. (2020). Fecundity, spawning and ova diameter of the *Wallago attu* from Bhadar reservoir of Gujarat, India, *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 8(4), 540-542.
- Raizada, S., Srivastava, P.P., Sahu, V., Yadav, K.C. (2015). Observations on captive breeding of the threatened freshwater shark *Wallago attu* (Bloch & Schneider, 1801), *Indian Journal of Fisheries*, 62(4), 120-124.
- Sahoo, S.K., Giri, S.S., Sahu, A.K. (2002). Cannibalism, a cause of high mortality in *Wallago attu* (Schneider) larvae: experiment of larval densities in hatchery rearing, *Indian Journal of Fisheries*, 49(2), 173-177.
- Sahoo, S.K., Giri, S.S., Sahu, A.K., Gupta, S.D. (2006). Effect of feeding and management on growth and survival of *Wallago attu* (Schneider) larvae during hatchery rearing, *Indian Journal of Fisheries*, 53(3), 327-332.
- Stoeckel, J.N. (2000). A Method for viewing the germinal vesicle in oocytes of commercial catfishes, *North American Journal of Aquaculture*, 62(3), 240-247.
- Wylie, M., Symonds, J., Setiawan, A., Irvine, G., Liu, H., Elizur, A., Lokman, P. (2019). Transcriptomic changes during previtellogenic and vitellogenic stages of ovarian development in Wreckfish (*Hāpuku*), *Polyprion oxygeneios* (Perciformes), *Fishes*, 4(1), 16.
- Zairin, J.M., Furukawa, K., Aida, K. (1992). Induction of ovulation by hCG injection in the tropical walking catfish *Clarias batrachus* reared under 23-25 °C, *Nippon Suisan Gakk*, 58, 1681-1685.
- Zohar, Y. & C. Mylonas. (2001). Endocrine manipulations of spawning in cultured fish: from hormones to genes. *Aquaculture*, 197(1), 99-136.