

THÔNG BÁO KHOA HỌC

CÁC GIAI ĐOẠN PHÁT TRIỂN PHÔI VÀ ẤU TRÙNG CỦA CÁ KHOANG CỔ LƯNG YÊN NGỰA – *Amphiprion polymnus* (Linnaeus, 1978) TRONG ĐIỀU KIỆN THÍ NGHIỆM

EMBRYOLOGY AND EARLY ONTOGENY OF SADDLEBACK CLOWNFISH – *Amphiprion polymnus* (Linnaeus, 1978) IN THE LABORATORY

Nguyễn Thị Hải Thanh¹, Huỳnh Minh Sang², Ngô Anh Tuấn³,
Nguyễn Văn Quang¹, Võ Thị Hà¹, Lê Thị Kiều Oanh¹

Ngày nhận bài: 6/11/2018; Ngày phản biện thông qua: 24/11/018; Ngày duyệt đăng: 30/11/2018

TÓM TẮT

Cá khoang cổ lưng yên ngựa (KCLYN) *Amphiprion polymnus* (Linnaeus, 1978) thuộc nhóm cá đẻ trứng dính. Cá đẻ trứng trên các giá thể là các vật dụng được đặt sẵn trong bể đẻ trong điều kiện nuôi dưỡng nhân tạo. Cá bố mẹ chăm sóc phôi và ấu trùng trong suốt quá trình ấp nở. Các quá trình quan sát được thực hiện trong điều kiện phòng thí nghiệm ở nhiệt độ 27–28°C; độ mặn 33-34‰.

Nghiên cứu mô tả sự phát triển phôi và ấu trùng của cá KCLYN từ trứng thụ tinh đến khi phôi nở được phân chia theo các giai đoạn phát triển của cá xương. Giai đoạn kích hoạt trứng đánh dấu bằng sự xuất hiện 1 tế bào ở cực động vật (1h30' sau thụ tinh). Giai đoạn phân cắt, khối noãn hoàng giữ nguyên không tham gia quá trình phân cắt, quá trình phân cắt trứng chỉ diễn ra ở khu vực đĩa phôi nằm phía cực động vật, chia nguyên phôi bào thành 64 phôi bào trên đĩa phôi (5h20' sau thụ tinh). Kết thúc giai đoạn phôi nang là bằng sự biến mất của eo thắt và các tế bào phôi mọc phủ che một phần noãn hoàng (18h15' sau thụ tinh). Cuối giai đoạn phôi vị, tấm thần kinh hình thành và chồi mắt xuất hiện tại cực động vật (1 ngày 3h20' sau thụ tinh). Sau đó các cơ quan và hệ thần kinh, tuần hoàn, tiêu hóa, bài tiết dần được hình thành và tiếp tục hoàn thiện sau khi cá nở (7 ngày 5h20').

Từ khóa: cá khoang cổ lưng yên ngựa, *Amphiprion polymnus*, phôi, ấu trùng

ABSTRACT

Amphiprion polymnus (Linnaeus, 1978) belongs to the group of spawning fish. Fish lay eggs on substrates that are placed in the spawning tank under artificial feeding conditions. The breeding pairs care for embryos and larvae during hatching. Observations were made under laboratory conditions at 27-28°C; salinity 33-34‰.

The present study describes the embryonic development and early ontogeny of Saddleback Anemonefish from fertilized eggs to a larva. Stage of oocytes and egg activation marked by a cell in the animal pole (1h30' post fertilization). The cleavage occurs only in the embryonic region at the animal pole; dividing the blastocyst into multiple blastocysts until the blastocysts 64 blastocysts on the embryo plate (5h20'). The end of blastocyst stage is the disappearance of the ligament and the embryonic cells partially cover the yolk sac (18h15'). At the end of the gastrula stage, the nerve and eye buds appear at the animal pole (1 day 3h20'). The organs and nervous system, circulation, digestion, excretion gradually formed and continued to improve after the fish hatch (7 days 5h20' post fertilization).

Key words: Saddleback Anemonefish, *Amphiprion polymnus*, embryology, early ontogeny

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Nghiên cứu về vòng đời và sự phát triển cá thể trong đó có giai đoạn phôi chưa thật sự được

chú trọng và tập trung nghiên cứu của nhiều nhà khoa học. Quan sát quá trình phát triển phôi và ấu trùng là yếu tố quan trọng trong quá trình sản xuất giống, làm cơ sở cho sự tác động của các biện pháp kỹ thuật phù hợp nhằm tác động đến chất lượng cá giống cũng như các chất bổ sung

¹ Chi nhánh Ven biển, Trung tâm Nhiệt Đới Việt - Nga

² Viện Hải dương học

³ Thành phố Nha Trang

thức ăn, môi trường ương nuôi phù hợp cho cá bố mẹ, phôi, ấu trùng và cá bột, cá con.

Cá KCLYN là một trong những loài cá phân bố tự nhiên tại vùng biển Việt Nam, cùng với sự suy thoái của các rạn san hô – như rừng nhiệt đới dưới biển – đồng nghĩa với ngôi nhà chung của các sinh vật rạn biển mất dần đến sự suy giảm đáng kể số lượng cá ngoài tự nhiên bên cạnh việc lặn thu gom phục vụ cho nhu cầu xuất khẩu làm cảnh được thực hiện đã và đang tiếp tục diễn ra. Điều tất yếu dẫn đến là sự suy giảm quần đàn cá trong tự nhiên. Việc nghiên cứu quá trình phát triển phôi và ấu trùng, tạo tiền đề cho các nghiên cứu thử nghiệm sinh sản nhân tạo nhằm từng bước phát triển và làm chủ công nghệ sinh sản nhân tạo cá, tạo cơ sở cho việc xuất khẩu chủ động cá KCLYN khai thác từ tự nhiên gây suy thoái nguồn lợi là việc làm cần thiết.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Phôi cá KCLYN - *Amphiprion polymnus* (Linnaeus, 1978) được cá bố mẹ đẻ và thụ tinh trong điều kiện nhân tạo. Phôi được thu từ 3 cặp cá bố mẹ đã được thuần dưỡng và sinh sản nhân tạo trong từng bể kính theo từng cặp, các bể có hệ thống lọc sinh học tuần hoàn. Trong các bể có đặt các giá thể dùng làm tổ cho cá sinh sản (lọ hoa, viên gạch, san hô chết, vỏ ốc ...) có thể tích bể 500L/bể. Cá bố mẹ có kích thước $\geq 11,7\text{cm}$ và khối lượng $\geq 33,83\text{g}$. Quan sát quá trình phát triển phôi bằng cách thu ngẫu nhiên 10 trứng/ lần và đưa vào phòng thí nghiệm đặt trong một cốc thủy tinh có sục khí. Trứng được quan sát từ thụ tinh đến 8 ngày sau khi nở. Ở trứng tiếp tục được các cặp cá bố mẹ chăm sóc cho đến khi nở thành cá con trong các bể nuôi.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Phôi được quan sát ngay khi cá bố mẹ đẻ và thụ tinh trong các bể thí nghiệm có giá thể.

Nhắc các giá thể được cá đẻ trứng vào đưa nhẹ lên phía gần trên mặt. Sử dụng dao lam khẽ tách các phôi ra khỏi giá thể; sử dụng pipet nhựa đưa phôi vào trong các cốc thủy tinh và quan sát trong phòng thí nghiệm.

Phôi luôn đặt trong cốc thủy tinh thể tích 2L được sục khí 24/24 và quan sát, mô tả quá trình phát triển phôi và ấu trùng. Đặt phôi trên

đĩa cầu lõm hoặc lam kính và quan sát dưới các loại kính phù hợp. Lần lượt quan sát, xác định thời gian, đặt phôi lại trong cốc thủy tinh để tiếp tục sử dụng cho những lần quan sát sau.

Cá KCLYN là loài đẻ trứng dính, cá bố mẹ chăm sóc phôi và ấu trùng trong suốt giai đoạn ấp trứng, vì vậy, thường xuyên loại bỏ các phôi quan sát trong điều kiện phòng thí nghiệm bị chết hoặc dị hình bằng cách thu phôi đang được cá bố mẹ ấp trong bể kính để tiếp tục xác định quá trình phát triển của phôi và ấu trùng.

Hình ảnh về sự phát triển phôi thai được thực hiện trong khoảng thời gian 5 phút trong 24 giờ đầu tiên, vào khoảng thời gian 10-15 phút vào ngày thứ 2, thứ 3 sau khi thụ tinh và khoảng 30 phút cho đến khi trứng nở. Việc phân chia các giai đoạn phát triển trứng, ấu trùng dựa trên sự phân chia các giai đoạn phát triển của các xương [1, 3-4,]. Ngoài ra, mô tả các bước phát triển trong mỗi giai đoạn còn tham khảo các nghiên cứu phát triển phôi cá xương và cá khoang cổ [1-5, 9-10,12-14].

Phôi cá được quan sát bằng kính soi nổi Olympus SZ61 có độ phóng đại tối đa: 14 đến 90 lần kính hiển vi soi ngược CKX41. Chụp ảnh bằng máy ảnh kỹ thuật số Canon EOS 650D. Quá trình phát triển phôi diễn ra hoàn toàn trong màng phôi, kích thước phôi không đổi trong suốt quá trình phát triển cho đến khi cá con nở, vì vậy chỉ cần đo kích thước khi bắt đầu quan sát. Đo kích thước phôi bằng thước vi thị kính kính soi nổi có độ chính xác 1µm

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

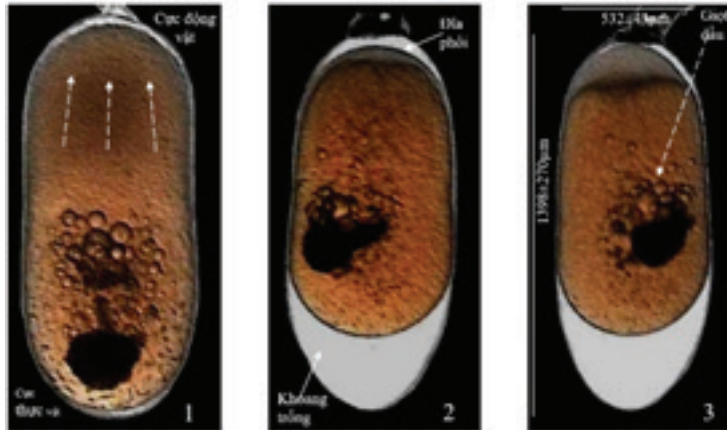
Cá KCLYN thuộc nhóm cá đẻ trứng dính, trứng cá có màu vàng, vàng cam hoặc cam đậm. Trứng có hình ô van với sự phân biệt hai cực của tế bào dựa trên lớp màng gắn kết của trứng cá với vật bám. Cực động vật của trứng đặc trưng bởi sự gắn kết của phân này với chất nền cá đẻ trứng trong khi cực thực vật có noãn hoàng và các hạt chất béo khác nhau phân tán trong đó các hạt noãn hoàng và các giọt dầu có kích cỡ khác nhau. Phôi cá có kích thước chiều dài là $1398 \pm 270\mu\text{m}$ và chiều rộng $523 \pm 43\mu\text{m}$.

3.1 Sự thụ tinh và kích hoạt trứng

Sau khi tinh trùng xâm nhập vào tế bào trứng, màng thụ tinh và xoang thụ tinh được hình thành (Hình 1. 1). Đồng thời, nước xâm

nhập vào khoảng trống giữa lớp vỏ và lớp màng đệm của trứng, bắt đầu từ cực động vật đến cực thực vật. Sự xâm nhập của nước làm nở noãn hoàng và lớp vỏ trứng tách biệt tạo thành khoang quanh noãn hoàng (perivitelline) tách biệt vỏ tế bào trứng và noãn hoàng bằng một khoảng trống, trong đó khoảng trống ở cực thực vật lớn hơn so với cực động vật. Phần noãn hoàng co lại nhưng kích thước trứng cá không

thay đổi. Tế bào chất ở các phần khác của trứng cũng dồn về cực động vật, lúc đầu chỉ là một đĩa phôi mỏng phía cực động vật (Hình 1.2), sau đó lượng tế bào chất tăng dần lên và tạo thành một đỉnh chóp trên cực động vật hình dạng tương tự như 1 mái vòm lớn đánh dấu sự quá trình kích hoạt trứng hoàn tất thường được gọi là giai đoạn 1 tế bào (Hình 1.3).



Hình 1: Các giai đoạn phát triển phôi (từ trứng vừa thụ tinh đến 1 tế bào)

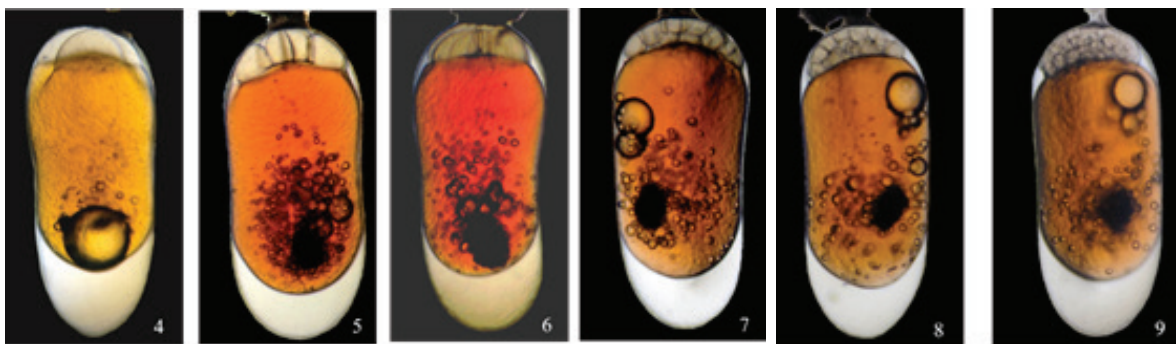
1. Trứng thụ tinh; 2. Đĩa phôi mỏng phía cực động vật; 3. Giai đoạn phôi 1 tế bào

3.2 Giai đoạn phân cắt trứng

Trứng cá khoang cổ lưng yên ngựa (KCLYN) cũng như các loại trứng cá thuộc dạng trứng đoạn hoàng, phân cắt trứng thuộc dạng không hoàn toàn (dạng đĩa). Quá trình phân cắt trứng chỉ diễn ra ở khu vực đĩa phôi, nằm phía cực động vật, khối noãn hoàng giữ nguyên không tham gia quá

trình phân cắt.

Giai đoạn 2 phôi bào: Sự phân cắt đầu tiên bắt đầu bằng cách chia đĩa phôi thành hai nguyên bào phôi, kích thước nguyên bào phôi chỉ bằng 1/2 của nguyên bào ban đầu. Quan sát rõ tế bào chất bên trong. Các giọt dầu rất nhỏ và di chuyển về phía cực thực vật (Hình 2.4).



Hình 2: Các giai đoạn phát triển phôi (Từ giai đoạn 2 đến 16 phôi bào)

4. Giai đoạn 2 phôi bào; 5. Giai đoạn 4 phôi bào; 6. Giai đoạn 8 phôi bào; 7. Giai đoạn 16 phôi bào; 8. Giai đoạn 32 phôi bào; 9. Giai đoạn 64 phôi bào

Giai đoạn 4 phôi bào: 4 nguyên bào phôi tương ứng xuất hiện ở lần phân bào thứ hai trên mặt phẳng thẳng đứng vuông góc với rãnh phân bào thức nhất. Các phôi bào nhỏ hơn và có kích

thước bằng nhau (Hình 2.5).

Giai đoạn 8 phôi bào: 8 nguyên bào phôi xuất hiện khoảng hơn hai giờ sau khi thụ tinh, kết quả từ sự xuất hiện 2 đường phân chia vuông

góc với 2 đường đã có chia 4 nguyên phôi bào thành 8 phôi bào với kích thước bằng nhau và nhỏ hơn kích thước giai đoạn trước (Hình 2.6).

Giai đoạn 16 phôi bào: 16 phôi bào xuất hiện khoảng ba giờ sau khi thụ tinh bởi một đường phân chia ngang. Các phôi bào nhỏ hơn và chỉ có một nửa kích thước của phôi bào ở giai đoạn trước. Các giọt dầu được quan sát thấy trong noãn hoàng (Hình 2.7).

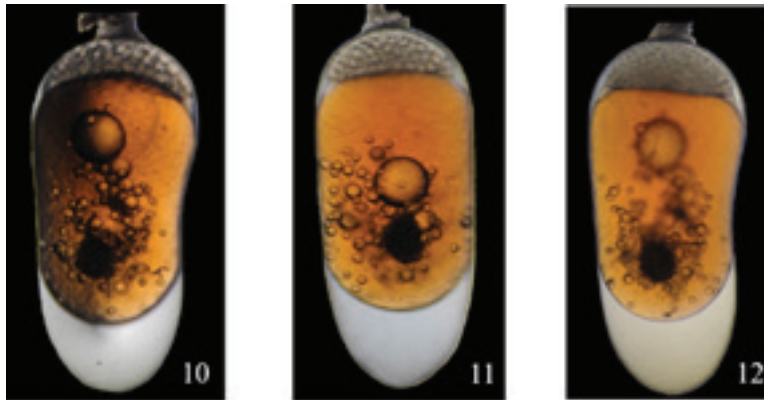
Các phôi bào tiếp tục được phân chia theo cấp số nhân 2 lần so với số phôi bào trước đó. Số lượng phôi bào lần lượt là 32 (Hình 2.8) và 64 phôi bào (Hình 2.9). Ở giai đoạn 64 phôi bào, các phôi bào sắp xếp lại các phôi bào thành hai lớp, đánh dấu sự hoàn thành của giai đoạn phân cắt. Giai đoạn phân cắt được hoàn thành sau khoảng 5 giờ 30 phút trứng thụ tinh.

3.3 Giai đoạn phôi nang

Các phôi bào mở rộng theo chiều ngang và sắp xếp như một lớp phẳng gọi là bì phôi hoặc đĩa phôi. Phôi được phát triển từ các phôi bào tiếp tục phân chia theo cấp số nhân đến khi các kích thước của chúng trở nên rất nhỏ và xếp chồng thành nhiều lớp tạo thành một khối hình bán cầu nằm phía cực động vật tách biệt với phần noãn hoàng ở phía cực thực vật.

Ở giai đoạn phôi nang, có thể chia thành các giai đoạn phôi nang cao, phôi nang thấp và phôi nang muộn với sự phân biệt dựa vào vị trí đĩa phôi.

Phôi nang cao: đĩa phôi nhô lên cao trên túi noãn hoàng, eo thắt giữa phôi và khối noãn hoàng nhìn thấy rõ rệt. Số lượng phôi bào tiếp tục tăng lên, ở cuối giai đoạn này, vì phân cắt nhiều lần, kích thước phôi bào nhỏ dần nên hầu như không nhìn rõ ranh giới giữa các phôi bào (Hình 3. 10, 11, 12).

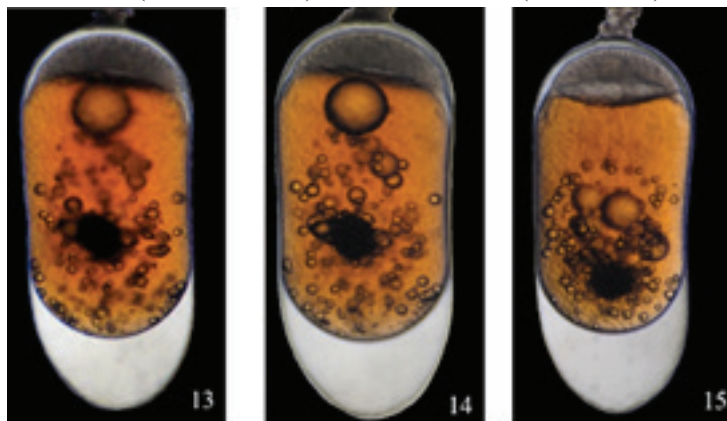


Hình 3: Các giai đoạn phát triển phôi nang cao

10. Phôi nang cao (128 phôi bào); 11. 256 phôi bào; 12. Giai đoạn nhiều phôi bào

Phôi nang thấp: đĩa phôi có xu hướng phủ xuống túi noãn hoàng, do vậy eo thắt giữa phôi và khối noãn hoàng bớt rõ rệt dần (Hình 4. 13, 14).

Phôi nang muộn: đĩa phôi phủ xuống dần, eo thắt giữa phôi và khối noãn hoàng hoàn toàn biến mất (Hình 4. 15).



Hình 4: Các giai đoạn phát triển phôi nang thấp, phôi nang muộn

13. Phôi nang thấp (eo thắt bớt rõ dần); 14. Phôi nang thấp (eo thắt biến mất); 15. Phôi nang muộn

Như vậy, phôi nang của cá KCLYN gồm phôi bì hình thành mũ ở trên cùng và tấm viền phôi ở ngay phía dưới và tiếp xúc chặt chẽ với noãn hoàng.

3.4 Giai đoạn phôi vị

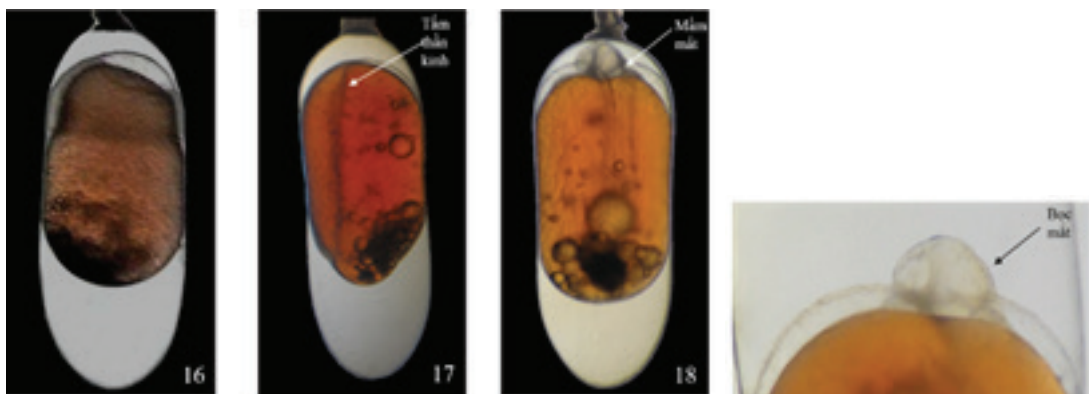
Khi đĩa phôi phủ từ $\frac{1}{3}$ đến $\frac{1}{2}$ túi noãn hoàng thì quá trình tạo phôi vị bắt đầu. Phôi vị hóa là quá trình vận động, trong đó, các khu vực của phôi nang thay đổi cấu trúc và vị trí để tạo nên các lá phôi là mầm mỏng của các tổ chức và cơ quan tương lai của cơ thể. Quá trình này gọi là phôi vị hóa. Cá KCLYN thuộc lớp cá xương, do đó trứng thuộc kiểu tận hoàng, nghĩa là noãn hoàng nằm lệch một bên mà quá trình phôi vị hóa trở nên đặc biệt. [8]

Ở giai đoạn phôi nang, có 2 lá phôi là thượng bì và hạ bì. Giai đoạn phôi vị làm tiêu biến xoang phôi nang tạo thành một xoang phôi mới là xoang phôi vị. Phôi gồm 3 lá phôi là ngoại bì, nội bì và trung bì. Trong đó, trung bì hình thành trong thời kỳ phôi vị hóa sau ngoại bì và

nội bì. Khi hình thành xong thì trung bì là toàn bộ những tế bào nằm giữa ngoại bì.

Các phôi bào di chuyển xuống từ cực động vật để che một phần của noãn hoàng gọi là mọc phủ. Các tế bào phôi bắt đầu di chuyển vào bên trong để tạo thành ba lớp mầm gọi là sự hình thành phôi vị hay hình thành lá phôi thứ 3 (Hình 5. 16).

Khi phôi vị hóa, đĩa phôi trở nên mỏng hơn còn mép phôi ở ngoài cùng của nó lại dày lên tạo ra vòng rìa. Đĩa phôi lớn dần, đĩa phôi càng lớn thì vòng rìa càng lan dần từ cực động vật xuống cực thực vật. Vào đầu phôi vị hóa, lá dưới phôi giống như một cái lưỡi tiến về phía trước giữa lớp ngoài và đĩa phôi, dần dần mọc phủ lên noãn hoàng, trùm lấy toàn khối. Đến gần cuối phôi vị hóa, các mép mọc phủ khép gần kín ở phần đuôi thân phôi, tấm thần kinh hình thành (Hình 5. 17). Cuối giai đoạn này, khi mép phôi bao trùm toàn khối noãn hoàng, mầm mắt xuất hiện báo hiệu sự hình thành các cơ quan.



Hình 5: Các giai đoạn phát triển phôi vị

16. Đầu phôi vị; 17. Hình thành tấm thần kinh; 18. Cuối phôi vị (Xuất hiện mầm mắt)

3.5. Biệt hóa và hình thành cơ quan

Sự hình thành cơ quan là giai đoạn phát triển bắt đầu sau giai đoạn phôi vị. Sự hình thành các cơ quan, lúc đầu hình thành những cơ quan đặc thù cho ấu trùng và khi phát triển, cá dần hoàn chỉnh cơ thể. Đặc trưng của quá trình phát triển phôi của cá KCLYN là từ lúc được cá đẻ ra ngoài môi trường và luôn nằm trong màng phôi, thời gian phát triển tương đối dài (7 ngày tuổi⁺). Vì vậy, phân chia quá trình phát triển phôi cá giai đoạn hình thành cơ quan theo ngày chỉ mang tính chất tương đối phụ thuộc vào quan sát sự xuất hiện của các cơ quan qua lớp màng phôi.

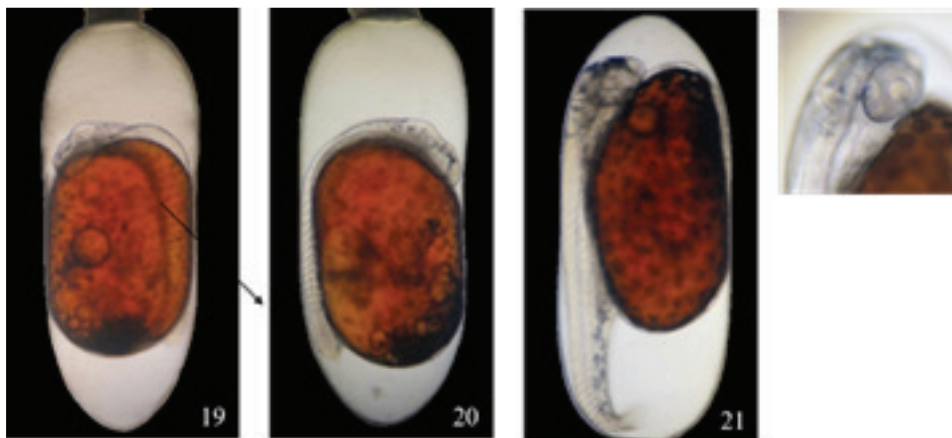
3.5.1. Giai đoạn phôi cá 2 ngày tuổi

Tấm thần kinh rõ ràng dần, rãnh thần kinh xuất hiện. Các ống thần kinh theo chiều dọc được hình thành và gắn vào noãn hoàng. Lúc đầu cơ thể trong suốt không có cấu trúc cơ (H6. 19).

Đầu với hai con mắt được tách ra nổi bật so với phần còn lại của cơ thể. Mầm đuôi xuất hiện, đốt sống và xương sống hình thành (H6. 20).

Tim xuất hiện, đuôi phát triển dài ra và chưa có sắc tố. Phần đầu rõ ràng và áp chặt vào phần noãn hoàng, xuất hiện 3 túi não sơ khai xuất hiện (não trước, não giữa và não sơ khai) chỉ là những nếp gấp lớn trên đỉnh đầu phôi (H 6.21).

3.5.1. Giai đoạn phôi cá 3 ngày tuổi



Hình 6: Các giai đoạn phát triển cơ quan ở phôi 2 ngày tuổi

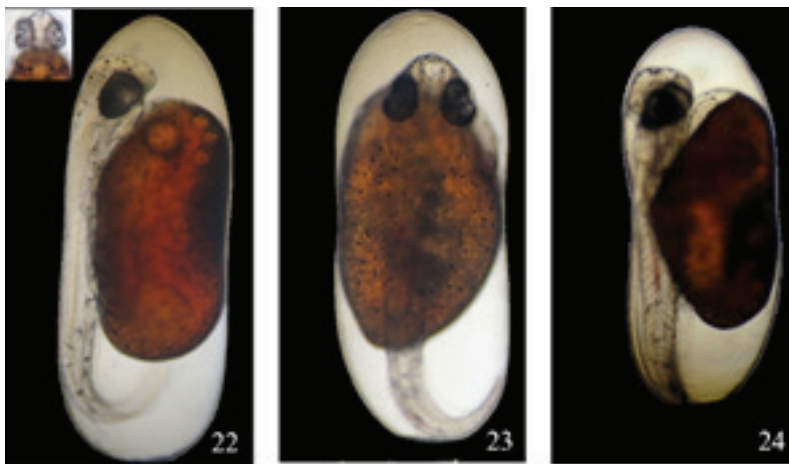
19. Hình thành rãnh thần kinh; 20. Mầm đuôi rõ ràng; 21. Tim xuất hiện, đuôi cử động

Đầu cá tách ra khỏi khối noãn hoàng. Đuôi dài ra và tách ra khỏi noãn hoàng, cơ thể vẫn dính vào noãn hoàng. Đá tai rõ ràng. Quan sát mắt, chôi đuôi, và tế bào sắc tố đen nằm ở đầu và trên bề mặt noãn hoàng rõ rệt (H 7. 22).

Miệng nguyên thủy xuất hiện, mắt có sắc tố đen dần lên. Ở giai đoạn này phôi phát triển mạnh. Cơ thể vẫn còn dính noãn hoàng nhưng giảm dần diện tích tiếp xúc. Đuôi cử động nhẹ

và ít, tim đập chậm (H7. 23).

Tim hoạt động mạnh hơn, phôi xuất hiện, hệ thống tuần hoàn với các động mạch, tĩnh mạch xuất hiện, lúc đầu chưa có hồng cầu, sau đó hồng cầu xuất hiện làm phần đuôi cá dần có các cụm máu màu hồng nhạt. Chiều dài cơ thể cá tăng lên rõ rệt. Đá tai nhỏ được quan sát dễ dàng. Các tế bào sắc tố đen đã được tăng lên trong ở khu vực đầu. (H7. 24)



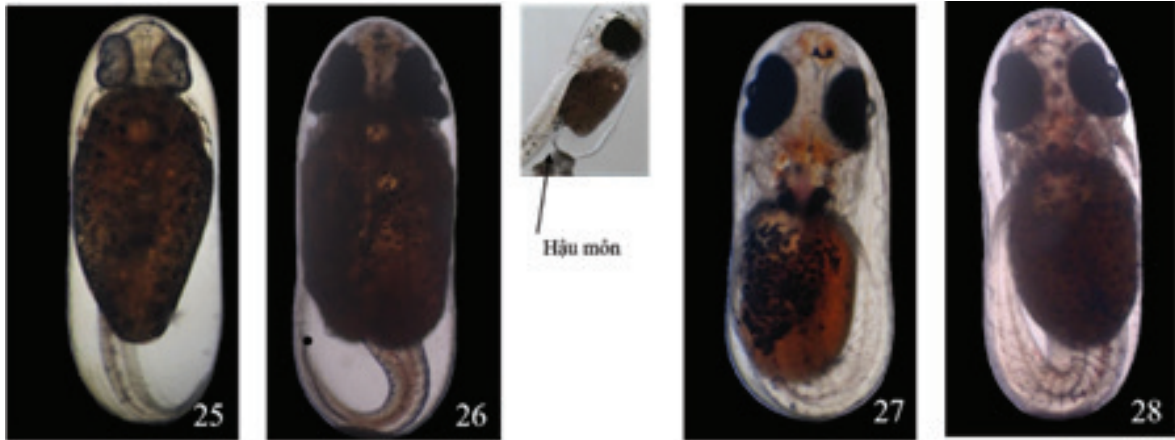
Hình 7: Các giai đoạn phát triển cơ quan ở phôi 3 ngày tuổi

22. Đầu tách khỏi noãn hoàng; 23. Miệng rõ ràng; 24. Phổi xuất hiện

3.5.2. Giai đoạn phôi cá 4-7 ngày tuổi

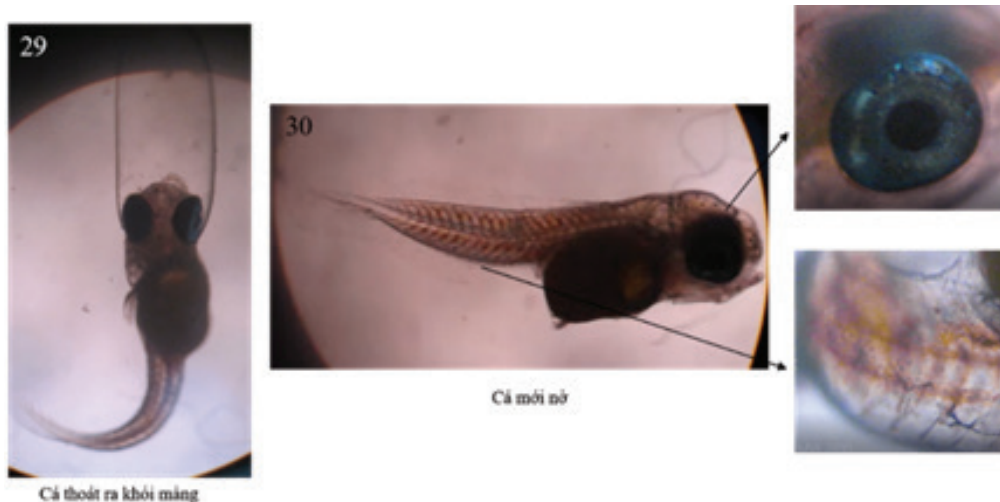
Kích thước noãn hoàng giảm dần trong khi phôi đang phát triển cơ thể lớn dần lên. Đầu và đuôi được tách ra rõ ràng khỏi noãn hoàng. Ba túi chứa não chính: não trước, não giữa và não sau đã được nhìn thấy rõ trong vùng đầu. Nắp mang xuất hiện (H8. 25).

Đôi mắt to và nổi bật có sắc tố màu nâu đen. Phần đầu có nhiều sắc tố và ít hơn ở vùng đuôi. Trục cột sống rõ ràng. Các tế bào máu đỏ chạy trong các mạch máu có thể được quan sát cho thấy hoạt động của hệ tuần hoàn. Đầu và đuôi của phôi được mở rộng chạm vào nang trứng. Ống hậu môn xuất hiện (H8.26).



Hình 8: Các giai đoạn phát triển cơ quan ở phôi 4-7 ngày tuổi

25. Nắp mang rõ ràng (phôi 3 ngày); 26. Hậu môn xuất hiện (phôi 4 ngày); 27. Hệ tuần hoàn hoạt động khắp cơ thể (phôi 5 ngày); 28. Phôi vận động mạnh (phôi 6 ngày)



Hình 9: Giai đoạn phôi nở, cá con thoát ra ngoài môi trường

29. Phôi nở (phôi 7 ngày); 30. Cá 1 ngày tuổi;

Kích thước các cơ quan phát triển lớn lên, noãn hoàng nhỏ dần. Bụng lớn hơn và phủ lên noãn hoàng. Các tế bào sắc tố đen được phân bố đều trong toàn bộ cơ thể (H8. 27).

Phôi được mở rộng hơn và chứa đầy hầu hết nang trứng. Vây ngực khá lớn. Mang hoạt động mạnh. Phôi chuyển động mạnh và thường xuyên hơn. (H8.28).

3.5 Giai đoạn cá nở

Phôi bắt đầu nở bằng cách đuôi vận động mạnh để phá vỡ nang trứng. Ấu trùng được giải phóng khỏi nang và trở thành cá con mới nở (H9. 29). Vây lưng, vây đuôi và vây hậu môn liên tục theo đường dọc. Vây bụng không rõ

ràng ở giai đoạn này (H9. 30).

Thảo luận

Cá khoang cổ là một trong những nhóm loài được sớm nghiên cứu thử nghiệm sinh sản nhân tạo thành công trên thế giới. Kết quả quan sát quá trình phát triển phôi cho thấy, thời gian phát triển phôi của cá *A. polytmus* dài hơn so với cá khoang cổ hệ *A. ocellaris* (152 giờ sau thụ tinh) [11, 13]; kết quả cũng cho thấy thời gian phát triển phôi cũng dài hơn so trên cùng loài cá KCLYN *A. polytmus* tại vịnh Thái Lan (6 ngày⁺), điều này có thể lý giải do nhiệt độ quan sát quá trình phát triển phôi cá ở 27-28 độ, nhiệt độ phòng thí nghiệm nên có thể thấp

Bảng 1. Các giai đoạn phát triển phôi cá khoang cổ yên ngựa, *Amphiprion polymnus*

Các giai đoạn	Thời gian (từ lúc cá đẻ)			Các đặc điểm phát triển	
	Ngày	Giờ	Phút		
<i>Sự thụ tinh và kích hoạt trứng</i>					
1			10	Ngay sau thụ tinh, tế bào chất dồn về cực động vật	
2		1	25	Tạo thành khoang trống quanh noãn hoàng (do nước xâm nhập cực động, thực vật)	
3		1	30	1 tế bào	
<i>Giai đoạn phân cắt trứng</i>					
4		1	55	2 phôi bào	
5		2	5	4 phôi bào	
6		2	10	8 phôi bào	
7		3	5	16 phôi bào	
8		4	55	32 phôi bào	
9		5	20	64 phôi bào	
<i>Giai đoạn phôi nang</i>					
10		6	02	128 phôi bào	
11		7	25	256 phôi bào	
12		13	15	Phôi nang cao	
13		15	25	Phôi nang thấp (eo thắt mờ dần)	
14		17	5	Phôi nang thấp (eo thắt biến mất)	
15		18	15	Phôi nang muộn	
<i>Giai đoạn phôi vị</i>					
16			20	10	Đầu giai đoạn phôi vị
17	1	0	15		Hình thành tám thần kinh
18	1	3	20		Cuối giai đoạn phôi vị, mầm mắt hình thành
<i>Biệt hóa và hình thành cơ quan</i>					
19	1	4	35		Hình thành rãnh thần kinh, đốt sống và xương sống
20	1	5	50		Hình thành mầm đuôi
21	1	22	10		Tim xuất hiện, đuôi phát triển dài ra và bắt đầu chuyển động chậm, bọc mắt xuất hiện, 3 túi não sơ khai xuất hiện: não trước, não giữa và não sau
22	2	8	40		Đầu tách dần khỏi noãn hoàng, đá tai xuất hiện
23	2	12	5		Miệng xuất hiện
24	2	15	3		Tim bắt đầu hoạt động mạnh hơn, phôi xuất hiện
25	3	2	10		Nắp mang xuất hiện, mắt có nhiều sắc tố đen nên có màu sẫm dần
26	4	10	50		Xuất hiện hậu môn
27	5	14	55		Kích thước noãn hoàng nhỏ dần, nắp mang rõ ràng, hình thành các cơ quan
28	6	1	30		Phôi cử động nhiều, mang hoạt động theo nhịp tim
29	7	5	20		Phôi nở

hơn so với nhiệt độ ngoài trời của những tác giả khác. So sánh thời gian và các giai đoạn phát triển phôi, ấu trùng cá khoang cổ đỏ *A. frenatus* và cá khoang cổ hề *A. ocellaris* tại Việt Nam và kích thước trứng cũng cho thấy, thời gian phát triển của cá *A. polymnus* dài hơn, kích thước phôi cá nhỏ hơn so với 2 loài trên [5-8, 11].

IV. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

Sự phát triển phôi và ấu trùng cá khoang cổ lưng yên ngựa từ trứng mới thụ tinh đến khi cá nở trải qua 6 giai đoạn: Giai đoạn kích hoạt trứng; giai đoạn phân cắt; giai đoạn phôi nang

và phôi vị tiếp đến là sự hình thành các cơ quan đến khi cá nở với đến khi cá nở với thời gian 7 ngày⁺. Kết quả nghiên cứu làm cơ sở khoa học cho việc nghiên cứu sinh sản xuất giống nhân tạo cá KCLYN tiếp theo.

Kết quả nhằm cung cấp cơ sở dữ liệu và thực tiễn để tiến hành các thí nghiệm về ảnh hưởng của các biện pháp kỹ thuật phù hợp nhằm tác động đến chất lượng cá giống cũng như các chất bổ sung thức ăn, môi trường ương nuôi phù hợp cho cá bố mẹ, phôi, ấu trùng và cá bột, cá con hướng đến sinh sản nhân tạo thành công cá KCLYN.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Tiếng Việt

1. Nguyễn Tường Anh, (1996). Sinh học đại cương: Sự đa dạng, sự sinh sản và phát triển của động vật, Đại học Khoa học tự nhiên.
2. Lê Hoàng Thị Mỹ Dung & Hùng Phạm Quốc, (2015). Sinh học động vật thủy sản thực hành, Nhà xuất bản Nông nghiệp.
3. Lê Hoàng Thị Mỹ Dung & Phạm Quốc Hùng, (2015). Sinh học động vật thủy sản thực hành. Sinh học sinh sản và phát triển Nhà xuất bản Nông nghiệp.
4. Lưu Thị Dung & Phạm Quốc Hùng, (2005). Mô và Phôi Động vật Thủy sản, Nhà Xuất Bản Nông nghiệp
5. Hà Lê Thị Lộc, (2004). Nghiên cứu đặc điểm sinh học sinh sản cá khoang cổ đỏ (*Amphiprion frenatus* Brevoort, 1856) vùng biển Nha Trang, NXB KHKT.
6. Hà Lê Thị Lộc, (2005). Nghiên cứu cơ sở sinh học phục vụ cho sinh sản nhân tạo cá khoang cổ (*Amphiprion spp.*) vùng biển Khánh Hòa, Viện Hải dương học Nha Trang.
7. Hà Lê Thị Lộc, Nguyễn Thị Thanh Thủy & Hồ Ngọc Huỳnh, 2009. Quá trình phát triển phôi và biến thái ấu thể của cá khoang cổ Nemo *A. ocellaris* Cuvier 1830 trong điều kiện thí nghiệm. Tạp chí Khoa học và Công nghệ Biển, T9, 103-115.
8. Hồ Ngọc Huỳnh, (2010). Mô tả quá trình phát triển phôi, biến thái ấu thể của cá khoang cổ nemo (*Amphiprion ocellaris* Cuvier, 1830) và nghiên cứu ảnh hưởng của chế độ dinh dưỡng, độ muối đối với cá con từ 15 đến 60 ngày tuổi, Trường Đại học Nha Trang.

Tiếng Anh

9. Allen G. R., (1985). Anemo fishes: Their classification and biology.
10. Arezo M.J., Pereiro, & L. & Berois N., 2005. Early development in the annual fish *Cynolebias viarius*. Journal of Fish Biology,, 66, 1357-1370.
11. Chuan T. S., 2006. Embryonic development of clownfish *Amphiprion ocellaris* under laboratory conditions. Journal of Sustainability Science and Management, 1, 64-73.
12. Holliday F. G. T., (1969). The Effects of Salinity on the Eggs and Larvae of Teleosts. in W. S. Hoar & D. J. Randall editors. Fish Physiology. Academic Press.
13. Inayah Yasir. & Jian G. Qin, 2007. Embryology and early ontogeny of an anemonefish *Amphiprion ocellaris*. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom, 87, 1025-1033.
14. Rattanayuvakorn S., Mungkornkarn P., Thongpan A. & Chatchavalvanich K., 2005. Embryonic development of saddleback anemonefish, *Amphiprion polymnus*, Linnaeus (1758). Kasetsart J (Nat Sci), 39, 455-463.