

ẢNH HƯỞNG CỦA MẬT ĐỘ VÀ TẦN SUẤT CHO ĂN ĐẾN HIỆU QUẢ ƯƠNG GIỐNG VÀ STRESS Ở CÁ LEO – *Wallago attu* (Bloch & Schneider, 1801)

Võ Đức Nghĩa^{1*}, Nguyễn Đức Thành¹, Lê Thị Thu An¹, Phan Thanh Hiệp²,
Nguyễn Văn Huy¹

¹Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Huế; ²Trung tâm giống tỉnh Quảng Trị.

*Tác giả liên hệ: voducnghia@huaf.edu.vn

Nhận bài: 21/05/2021 Hoàn thành phản biện: 05/08/2021 Chấp nhận bài: 09/08/2021

TÓM TẮT

Nhằm xác định ảnh hưởng của mật độ và tần suất cho ăn đến sinh trưởng và tỉ lệ sống cá Leo *Wallago attu* giai đoạn ương giống, thí nghiệm được tiến hành với 5 mức mật độ (1, 2, 4, 8 và 16 con/L) và các tần suất cho ăn (1, 2, 3, 4 và 5 lần/ngày). Kết quả nghiên cứu cho thấy mật độ ương và tần suất cho ăn đã ảnh hưởng có ý nghĩa thống kê đến tỉ lệ sống của cá thí nghiệm. Tỉ lệ sống của cá giảm ở mật độ ương nuôi cao ($p < 0,05$). Tỉ lệ ăn thịt đồng loại giảm ở các nghiệm thức mật độ nuôi thấp. Tần suất cho ăn có tương quan thuận với tỉ lệ sống, tỉ lệ sống của cá tăng trên 50% khi tăng số lần cho ăn lên 3 – 5 ngày/lần. Tỉ lệ ăn thịt đồng loại của cá có mối tương quan nghịch với tần suất cho ăn. Nồng độ cortisol trong máu cá được xem như chỉ thị đối với mức độ stress của cá. Kết quả của nghiên cứu này cho thấy rằng nồng độ cortisol của cá Leo ở mật độ nuôi cao và tần suất cho ăn 1 và 2 lần/ngày cao hơn so với những nghiệm thức còn lại. Do vậy, mức độ stress của cá Leo có thể được xem như một trong những yếu tố chính dẫn đến hiện tượng ăn thịt lẫn nhau và làm giảm tỉ lệ sống đối với loài cá này ở giai đoạn giống. Những kết quả của nghiên cứu này có thể cung cấp thông tin hữu ích nhằm nâng cao hiệu quả của việc ương nuôi cá Leo giống thông qua quản lý mật độ nuôi và tần suất cho ăn.

Từ khóa: Cá Leo, Mật độ ương, Stress, Tần suất cho ăn, *Wallago attu*

EFFECTS OF STOCKING DENSITY AND FEEDING FREQUENCY ON THE EFFECTIVENESS OF LARVAL REARING AND STRESS IN *Wallago attu* (Bloch & Schneider, 1801)

Vo Duc Nghia^{1*}, Nguyen Duc Thanh¹, Le Thi Thu An¹, Phan Thanh Hiep²,
Nguyen Van Huy¹

¹University of Agriculture and Forestry, Hue University;

²Aquaculture Seed Center of Quang Tri province.

ABSTRACT

In order to elucidate the effects of stocking density and feeding frequency on the growth and survival of *Wallago attu*, post-hatch larvae were stocked at different densities (1, 2, 4, 8 and 16 individuals per liter) and fed with (1, 2, 3, 4 and 5-times per day). The results indicate that stocking density and feeding frequency had significant influences on the survival rate of the larvae ($p < 0.05$). In particular, the survival rate of larvae decreased at trials with high stocking density ($p < 0.05$) due to the cannibalism. The percentage of cannibalism decreased in treatments with low stocking densities. Regarding effects of feeding frequency, the proportionality between the survival rate of larvae and high feeding frequency was observed in this study ($p < 0.05$). The survival rate of larvae reached 50% when fish were fed 3-5 times per day. The cannibalism had negative relationship with frequency of daily feeding. The cortisol concentration in fish blood is considered as an indicator of stress levels of fish. The results of this study indicated that cortisol concentration of *W. attu* reared at high stocking density and fed 1-2 times/day was higher than that in other treatments. Therefore, stress levels of *W. attu* could be one of the main factors causing cannibalism and reduction of survival rate at larval stages. This study provided useful information to enhance the effectiveness of larval rearing of *W. attu* via controlling stocking density and feeding frequency.

Keywords: Feeding frequency, Freshwater catfish, Stocking density, Stress, *Wallago attu*

1. MỞ ĐẦU

Cá Leo - *Wallago attu* phân bố tại nhiều nước Châu Á như Ấn Độ, Bangladesh, Pakistan, Sri Lanka, Nepal, Afghanistan, Indonesia, Myanmar, Thái lan, Campuchia và Việt Nam (Gupta và cs., 2014). Cá Leo có tốc độ sinh trưởng nhanh, giá trị dinh dưỡng và đặc biệt hàm lượng protein cao (Devadasan, 1978). Do vậy, cá Leo được xem như loài cá có giá trị thương mại tại nhiều nước trên thế giới (Lilabati, 1996). Theo IUCN (2020), quần thể cá Leo tự nhiên được liệt kê vào nhóm “sắp nguy cấp” với xu hướng giảm nhanh về số cá thể trong quần thể (Ng. và cs., 2019).

Theo Rebl (2017), mật độ nuôi và tần suất cho cá ăn là những yếu tố chính quyết định năng suất và hiệu quả của hệ thống nuôi cá. Thời gian và tần suất cho cá ăn đã được báo cáo là ảnh hưởng đến lượng thức ăn và hiệu suất tăng trưởng ở các loài cá khác nhau như cá hồng Úc *Pagrus auratus* (Booth MA, 2008), cá Trê châu Phi *Clarias gariepinus* Burchell 1822 (Aderolu, 2010). Chất lượng nước, biện pháp quản lý, mật độ thả nuôi, tần suất cho ăn và điều kiện dinh dưỡng đều có liên quan trực tiếp đến hiệu quả ương cá (Wang N, 1998). Do đó, tối ưu hóa các yếu tố này có thể giảm đáng kể chi phí sản xuất nuôi trồng thủy sản và ngăn ngừa suy giảm chất lượng nước do cho ăn dư thừa (Aderolu, 2010).

Ở hầu hết các loài cá, mật độ nuôi cao làm giảm tỷ lệ sống và tăng trưởng của cá (Abdel, 2002). Theo Ellis và cs. (2002), cá Hôi vân (*Oncorhynchus mykiss*) nuôi ở mật độ cao đã giảm tỉ lệ sống và giảm tính an toàn sức khỏe trên động vật thủy sản. Trong điều kiện ương giống cá, mật độ của môi trường đã ảnh hưởng đến việc ăn thịt đồng loại, vì thế yếu tố này cần được lựa chọn một cách phù hợp trong hệ thống ương nuôi để giảm tỉ lệ ăn thịt lẫn nhau (Kestemont và cs., 2003).

Trong thực tế, người nuôi cá thường cho ăn dựa trên quan sát tình hình cá sử dụng thức ăn. Tuy nhiên, rất khó để xác định thời điểm mà cá đã no và cá đã ăn quá mức nhu cầu. Dạ dày và ruột của cá có thể vượt quá khả năng do cho ăn quá nhiều, dẫn đến giảm khả năng tiêu hóa và hấp thụ thức ăn (Du, 2006). Mặt khác, tần suất cho ăn không hợp lý dẫn đến tăng trưởng kém và tỷ lệ chết cao, đặc biệt là ở các hệ thống nuôi thâm canh (Du, 2006). Khi tần suất cho ăn không phù hợp có thể dẫn đến tốc độ tăng trưởng chậm hơn, tăng tỉ lệ cá bị đói, gây hấn trong các loài và gia tăng ăn thịt đồng loại (Folkvord và Ottera, 1993). Ngoài ra, trong ương nuôi khi cho ăn không hợp lý dẫn đến cá nuôi bị stress và sức khỏe kém. Ngược lại, tần suất cho ăn hợp lý không chỉ mang lại lợi ích cho cá mà còn đem lại lợi nhuận trong nuôi trồng thủy sản (Ashley, 2006).

Cortisol là hormone steroid được sản xuất bởi tuyến thượng thận và còn được gọi là hormone chống stress. Hàm lượng cortisol là chỉ số được sử dụng để đánh giá mức độ stress của cá và chỉ số an toàn sức khỏe trên động vật thủy sản (Martinez, 2009). Đa số các loài cá cortisol trong huyết tương thay đổi từ 2 – 42 ng/mL, nồng độ cortisol có thể thay đổi tùy thuộc vào sự tác động của yếu tố bên ngoài mà cơ thể cá có những phản ứng chống lại các yếu tố gây ra stress (Pottinger, 1992). Đối với cá Hôi (*Oncorhynchus mykiss*) nồng độ cortisol dao động từ 2 – 25 ng/mL, sự thay đổi nồng độ cortisol liên quan đến các yếu tố gây ra stress cho cá và các yếu tố khác như loài cá, kích thước cá, tuổi cá, thời gian trong ngày, nhiệt độ nước trong bể nuôi và giai đoạn sinh sản.

Đến nay ở Việt Nam vẫn chưa có nghiên cứu nào công bố liên quan đến các giải pháp ương cá Leo ở giai đoạn nhỏ và trên cơ sở kế thừa các kết quả nghiên cứu đối với cá Leo về mật độ ương cá (Sahoo và cs.,

2002), ánh sáng, chu kỳ quang và chế độ cho ăn (Giri và cs., 2002), thức ăn và tần suất cho ăn (Sahoo và cs., 2012). Nghiên cứu này được thực hiện nhằm đánh giá ảnh hưởng của mật độ nuôi và tần suất cho ăn đến tăng trưởng, tỉ lệ sống, mức độ phân đàn và nồng độ cortisol của cá Leo giai đoạn từ cá bột đến cá hương. Kết quả của đề tài sẽ góp phần hoàn thiện qui trình ương nuôi cá Leo giống đạt hiệu quả cao hơn.

2. NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Cá thí nghiệm được bố trí trong các bể nhựa, mỗi bể có kích thước (dài x rộng x cao: 75 cm x 45 cm x 45 cm). Nước sử dụng để ương cá thí nghiệm là nước máy được xử lý bằng máy ozone ECO-5 do Công ty Ecomax Water sản xuất để khử clo trước khi cấp vào bể ương, trong quá trình thí nghiệm bể ương cá được sục khí liên tục.

Cá thí nghiệm được sinh sản nhân tạo từ nguồn cá bố mẹ nuôi vỗ tại Trại cá Trúc Kinh thuộc Trung tâm giống thủy sản tỉnh Quảng Trị. Cá đưa vào thí nghiệm ở giai đoạn sau khi trứng nở 3 ngày (cá sắp hết noãn hoàng), cá có khối lượng và chiều dài trung bình ở thí nghiệm 1: $(2,67 \pm 0,12 \text{ mg/con và } 5,9 \pm 0,4 \text{ mm/con})$; ở thí nghiệm 2: $(2,9 \pm 0,1 \text{ mg/con và } 6,0 \pm 0,3 \text{ mm/con})$

Thức ăn sử dụng trong thí nghiệm bao gồm: Gan bò hấp chín (trong 100 g có protein thô 18,7 g, lipid 3,5 g) và moina tươi sống (trong 100 g có protein thô 16,4 g, lipid 3,8 g). Gan bò được hấp chín và xay mịn trước khi cho ăn, bổ sung moina và duy trì với mật độ 50 cá thể moina/lít nước, sau 30 phút kể từ khi cho ăn thức ăn gan bò nhằm giảm việc sử dụng động vật phù du (moina). Các loại thức ăn được phân tích thành phần sinh hóa tại phòng thí nghiệm Khoa Thủy Sản và phòng thí nghiệm Khoa Chăn nuôi – Thú y, Trường Đại học Nông Lâm.

Lượng thức ăn cho cá ăn thỏa mãn theo nhu cầu trong khoảng 10% khối lượng thân. Đáy bể được siphon sạch các thức ăn dư trước khi thay nước mới 50% vào mỗi buổi sáng. Các thông số môi trường: nhiệt độ ($^{\circ}\text{C}$) được đo bằng nhiệt kế; các yếu tố pH, DO và NH_3 được đo bằng bộ kit Sera của Đức sản xuất.

2.2. Phương pháp bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm 1: Ảnh hưởng của mật độ đến sinh trưởng và tỷ lệ sống cá Leo từ bột lên hương

Thí nghiệm được bố trí theo kiểu ngẫu nhiên hoàn toàn trong hệ thống bể nhựa cấp nước vào 100 lít/bể; với 5 nghiệm thức mật độ, mỗi nghiệm thức được lặp lại 3 lần, thời gian thí nghiệm là 14 ngày, cá được cho ăn 4 lần/ngày và được tiến hành trong phòng thí nghiệm có bố trí điều hòa để ổn định nhiệt độ. Nghiệm thức 1: mật độ 1 con/lít nước; nghiệm thức 2: mật độ 2 con/lít nước; nghiệm thức 3: mật độ 4 con/lít nước; nghiệm thức 4: mật độ 8 con/lít nước và nghiệm thức 5: mật độ 16 con/lít nước.

Thí nghiệm 2: Ảnh hưởng của tần suất cho ăn đến sinh trưởng và tỷ lệ sống cá Leo từ bột lên hương

Các điều kiện ở thí nghiệm 2 tương tự thí nghiệm 1. Thí nghiệm này gồm có 5 nghiệm thức cho ăn với các tần suất khác nhau, mỗi nghiệm thức được lặp lại 3 lần, thời gian thí nghiệm là 14 ngày với mật độ thả cá: 2 con/lít (Sahoo và cs., 2002). Ở mỗi nghiệm thức, tổng lượng thức ăn trong ngày khoảng 10% khối lượng thân và chia đều ở mỗi lần cho ăn. Nghiệm thức 1: cho cá ăn 1 lần/ngày vào lúc 17 giờ; nghiệm thức 2: cho cá ăn 2 lần/ngày vào lúc 8 giờ và 17 giờ; nghiệm thức 3: cho cá ăn 3 lần/ngày vào lúc 8 giờ, 14 giờ và 20 giờ; nghiệm thức 4: cho cá ăn 4 lần/ngày vào lúc 8 giờ, 12 giờ, 16 giờ và 20 giờ; nghiệm thức 5: cho cá ăn 5

lần/ngày vào lúc 8 giờ, 11 giờ, 14 giờ 17 giờ và 20 giờ.

2.3. Các chỉ tiêu theo dõi

2.3.1. Nhóm chỉ tiêu sinh trưởng

Khối lượng (WB) và chiều dài toàn thân (TL) của cá được xác định tại thời điểm bắt đầu và khi kết thúc thí nghiệm làm cơ sở tính toán các thông số sinh trưởng và mức phân đàn (CV). Số lượng cá chết và nguyên nhân gây chết được xác định hàng ngày. Tỷ lệ chết (NDR) được hiểu là tỷ lệ cá chết trong thời gian thí nghiệm mà không rõ nguyên nhân (vẫn còn xác cá trong bể thí nghiệm). Tỷ lệ ăn thịt đồng loại (CR) được tính bằng tỷ lệ các cá thể chết không có xác (cá lớn nuốt cá bé).

Một số công thức tính toán:
Tỷ lệ ăn thịt đồng loại (CR%) (Hseu và cs., 2003):

$$CR (%) = [(F_s - F_e - F_d) / F_s] \times 100$$

Tỷ lệ chết (NDR%):

$$NDR (%) = \% \text{ Tổng tỷ lệ chết} - \% \text{ Tỷ lệ ăn thịt đồng loại (CR)}$$

Hệ số biến thiên (CV%):

$$CV (%) = \frac{\text{Độ lệch chuẩn}}{\text{Giá trị trung bình}}$$

Tốc độ sinh trưởng riêng về khối lượng (SGR_w) và chiều dài (SGR_L) (Zonneveld N và cs, 1991):

$$SGR (\%/ngày) = \frac{[\ln W_e - \ln W_s]}{N} \times 100$$

Tỷ lệ sống (SR%):

$$SR (%) = F_e \times 100 / F_s$$

Trong đó: CR: Tỷ lệ ăn thịt đồng loại (%); F_s : Số cá ban đầu; F_e : Số cá còn lại; F_d : Số cá chết không phải do ăn nhau; SGR: Tốc độ sinh trưởng riêng; W_e : Khối lượng cá khi kết thúc thí nghiệm; W_s : Khối lượng cá khi bắt đầu thí nghiệm; N: Thời gian thí nghiệm tính theo ngày; SR: Tỷ lệ sống (%).

2.3.2. Xác định nồng độ cortisol

Kết thúc thí nghiệm 15 cá thể ở mỗi nghiệm thức được thu mẫu để xác định nồng độ cortisol (cá được gây mê quá liều bằng phenoxyethanol 0,5 mL/L), mỗi cá thể được giữ riêng ở mỗi ống eppendorf 1,5 mL (đã có sẵn dung dịch 1% sodium citrate và 1% ascorbic acid solution), giữ lạnh trên nước đá trong suốt quá trình lấy mẫu; sau đó được bảo quản ở -80 °C đến khi cần xác định mức cortisol. Do kích thước cá nhỏ nên toàn bộ cơ thể cá được sử dụng để xác định hàm lượng cortisol (Bastien Sadoul, 2019). Trước khi phân tích, mẫu cá được rửa đông và đồng nhất với dung dịch đệm PBS buffer (pH 7.2) và mô chất đồng nhất được ly tâm 2 lần ở 10.000 vòng trong 2 phút ở 4 °C. Phần nổi trên bề mặt dùng micro pipet hút ra và sử dụng để xác định hàm lượng cortisol bằng phương pháp miễn dịch enzyme bộ dụng cụ xét nghiệm Fish Cortisol ELISA Kit (Competitive EIA) mã số No. LS-F10078 theo hướng dẫn của công ty LSBio, LifeSpan BioSciences, Inc.

2.4. 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), phân tích phương sai một yếu tố (One way - ANOVA) được dùng để kiểm tra ảnh hưởng của mật độ và tần suất cho ăn lên sinh trưởng và tỷ lệ sống của cá.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Diễn biến các yếu tố môi trường trong các bể ương cá

Bảng 1. Diễn biến các yếu tố môi trường ở các mật độ*

Yếu tố	Các mức mật độ				
	NT1	NT2	NT4	NT8	NT16
Nhiệt độ (°C)	26,1 – 27,5	26,5 – 27,3	26,2 – 27,4	26,5 – 27,5	26,5 – 27,3
	26,7 ± 0,52 ^a	26,5 ± 0,45 ^a	26,4 ± 0,51 ^a	26,5 ± 0,47 ^a	26,4 ± 0,43 ^a
pH	7,2 – 7,5	7,3 – 7,4	7,3 – 7,6	7,3 – 7,5	7,1 – 7,6
	7,4 ± 0,21 ^a	7,3 ± 0,32 ^a	7,4 ± 0,34 ^a	7,4 ± 0,27 ^a	7,3 ± 0,44 ^a
DO (mg/L)	4,8 – 5,8	4,6 – 5,7	4,4 – 5,5	4,2 – 5,4	4,1 – 5,1
	5,6 ± 0,51 ^a	5,3 ± 0,62 ^a	5,1 ± 0,75 ^a	4,8 ± 0,78 ^a	4,6 ± 0,82 ^a
NH ₃ (mg/L)	0,0 – 0,1	0,0 – 0,18	0,0 – 0,16	0,0 – 0,1	0,0 – 0,1
	0,06 ± 0,04 ^a	0,09 ± 0,04 ^a	0,09 ± 0,05 ^a	0,09 ± 0,06 ^a	0,09 ± 0,06 ^a

*Hàng trên là giá trị thấp nhất và cao nhất; Hàng dưới là giá trị trung bình và độ lệch chuẩn; Các giá trị trên cùng một hàng có cùng ký tự ^a không sai khác thống kê ($p > 0,05$). NT1: số liệu môi trường của nghiệm thức mật độ 1 con/lít và cá ăn 1 lần/ngày; NT2: nghiệm thức mật độ 2 con/lít và cá ăn 2 lần/ngày; NT3: nghiệm thức mật độ 4 con/lít và cá ăn 3 lần/ngày; NT4: nghiệm thức mật độ 8 con/lít và cá ăn 4 lần/ngày và NT5: nghiệm thức mật độ 16 con/lít và cá ăn 5 lần/ngày.

Kết quả ở Bảng 1 cho thấy không có sự sai khác thống kê về các chỉ tiêu môi trường trong quá trình ương cá Leo giữa các nghiệm thức ($p > 0,05$). Yếu tố nhiệt độ dao động trong khoảng 26,1 – 27,5°C. Giá trị pH trong các bể nuôi ổn định trong khoảng 7,1 – 7,6. Hàm lượng oxy hòa tan (DO) trong nước luôn duy trì ở mức 4,1 – 5,8 mg/L. Trong suốt quá trình ương cá, nước trong các bể được shiphon các chất bẩn, thức ăn dư thừa và thay nước mới vào mỗi buổi sáng nên hàm lượng NH₃ đều ở mức

thấp không gây ảnh hưởng đến sinh trưởng của cá. Theo Nguyễn Duy Quỳnh Trâm (2016) và Boyd (1990), các yếu tố môi trường nhiệt độ, pH, oxy hòa tan và NH₃ trong quá trình thí nghiệm là phù hợp với sinh trưởng và phát triển của cá Leo.

3.2. Ảnh hưởng của mật độ đến hiệu quả ương cá Leo

3.2.1. Ảnh hưởng của mật độ đến sinh trưởng cá Leo

Bảng 2. Sinh trưởng của cá Leo khi ương các mật độ khác nhau

Chỉ tiêu theo dõi	Mật độ (Con/L)				
	1	2	4	8	16
TL _s (mm)	5,90 ± 0,40 ¹	5,90 ± 0,40	5,90 ± 0,40	5,90 ± 0,40	5,90 ± 0,40
BW _s (mg)	2,67 ± 0,12	2,67 ± 0,12	2,67 ± 0,12	2,67 ± 0,12	2,67 ± 0,12
TL _e (mm)	58,5 ± 0,50 ^b	57,3 ± 1,53 ^b	48,7 ± 4,84 ^b	34,0 ± 4,58 ^a	35,9 ± 5,01 ^a
BW _e (mg)	281,1 ± 10,3 ^c	277,6 ± 11,6 ^c	215,9 ± 14,2 ^b	147,2 ± 19,8 ^a	140,2 ± 34,0 ^a
SGR _L (%/ngày)	16,4 ± 0,52 ^c	16,3 ± 0,67 ^c	15,1 ± 0,74 ^{cb}	12,5 ± 1,20 ^a	12,9 ± 0,87 ^{ab}
SGR _w (%/ngày)	33,3 ± 0,39 ^b	33,2 ± 0,51 ^b	31,4 ± 0,41 ^b	28,6 ± 1,04 ^a	28,2 ± 1,79 ^a

¹Độ lệch chuẩn. ^{a, b, c}: Số liệu cùng hàng có các chữ cái khác nhau thể hiện sai khác có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

Sinh trưởng của cá Leo khi ương ở các mật độ khác nhau được trình bày ở Bảng 2 Sinh trưởng về chiều dài (TL) và khối lượng (BW) khi kết thúc thí nghiệm ở nghiệm thức ương với mật độ 1 con/L và 2 con/L lớn hơn so với các nghiệm thức còn lại. Hai nghiệm thức ương với mật độ 8

con/L và 16 con/L có mức tăng trưởng thấp và không có sự sai khác với nhau về mặt thống kê ($p > 0,05$). Tốc độ sinh trưởng về chiều dài (SGR_L) và khối lượng (SGR_w) của các nghiệm thức ương với mật độ 1 con/L, 2 con/L và 4 con/L không có sự khác biệt về thống kê ($p > 0,05$).

Kết quả nghiên cứu này phù hợp với kết luận của Abdel (2002), hầu hết các loài cá khi ương với mật độ cao thì khả năng tăng trưởng sẽ chậm. Nguyên nhân được cho là khi nuôi với mật độ cao giữa các cá thể có sự cạnh tranh về thức ăn và không gian sinh sống điều này đã dẫn đến đàn cá phát triển không đồng đều. Theo Vijayan và cs. (1990), khi nghiên cứu trên cá *Salvelinus fontinalis* mật độ nuôi cao đã làm thay đổi quá trình chuyển hóa năng lượng theo hướng bất lợi dẫn đến tăng trưởng của cá chậm hơn. Mật độ nuôi không phù hợp ảnh hưởng tiêu cực đến cả tốc độ tăng trưởng của cá và khả năng sử dụng thức ăn (Abou và cs., 2007). Theo Wendelaar Bonga (1997), nghiên cứu trên cá Hồi vân *Oncorhynchus mykiss* cũng cho kết quả tương tự.

Mục đích của thí nghiệm này nhằm tìm ra mật độ ương cá phù hợp khi cho cá ăn gan bò và giảm tối thiểu sử dụng thức ăn tươi sống vì thể moina chỉ được bổ sung sau 30 phút kể từ khi cho cá ăn gan bò. Trong điều kiện tự nhiên, đa số các loài cá sau khi hết noãn hoàng đều sử dụng thức ăn là động

vật phù du. Nhưng trong môi trường nuôi, tập tính ăn của cá phụ thuộc vào nguồn thức ăn được cung cấp vào bể nuôi (Csengeri và Petitjean, 1987). Theo quan sát trong quá trình thí nghiệm, gan bò được cá ăn một cách chủ động. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Sahoo và cs. (2006) và Csengeri và Petitjean (1987). Những tác giả này đã khẳng định rằng sử dụng gan để cho ấu trùng cá Leo và cá Chép thay thế một phần thức ăn tươi sống như Zooplankton cho kết quả tốt, đặc biệt phù hợp với những thời điểm không có thức ăn tươi sống hoặc ương các đối tượng cá khác có quy mô nhỏ trong phòng thí nghiệm. Theo Mohanty và cs. (1993), dùng gan để bổ sung vào khẩu phần ăn cho cá Rohu (*Labeo rohita*) đạt kết quả tăng trưởng tốt. Tăng trưởng cao nhất khi cho cá ăn gan của động vật có thể là do hàm lượng dinh dưỡng cao, các phân tử enzyme nguyên vẹn và tỷ lệ rửa trôi chất dinh dưỡng từ tế bào gan thấp (Sahoo và cs., 2006).

3.2.2. Ảnh hưởng của mật độ đến sự phân đàn và tỷ lệ sống cá Leo

Bảng 3. Sự phân đàn và tỷ lệ sống của cá Leo khi ương các mật độ khác nhau

Chi tiêu theo dõi	Mật độ (Con/L)				
	1	2	4	8	16
CV _L (%)	0,85 ± 0,01 ^{1a}	2,67 ± 0,07 ^a	9,99 ± 0,95 ^b	13,6 ± 1,78 ^c	14,2 ± 1,97 ^c
CV _w (%)	3,66 ± 0,13 ^a	4,17 ± 0,17 ^a	6,58 ± 0,45 ^a	13,7 ± 1,78 ^b	25,1 ± 5,38 ^c
CR (%)	19,3 ± 1,15 ^a	23,7 ± 1,76 ^a	42,4 ± 1,66 ^b	53,3 ± 1,53 ^c	69,1 ± 5,15 ^d
NDR (%)	21,7 ± 0,58 ^a	20,8 ± 1,76 ^a	19,6 ± 2,89 ^a	20,0 ± 2,48 ^a	16,7 ± 0,46 ^a
SR (%)	59,0 ± 1,73 ^d	55,5 ± 3,00 ^d	38,0 ± 3,63 ^c	26,7 ± 4,00 ^b	14,2 ± 4,70 ^a

¹Độ lệch chuẩn. ^{a,b,c,d}: Số liệu cùng hàng có các chữ cái khác nhau thể hiện sai khác có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

Mức độ phân đàn của cá được xác định dựa vào hệ số biến thiên chiều dài (CV_L) và khối lượng (CV_w). Cá ương với mật độ 16 con/L và 8 con/L có hệ số CV cao hơn so với các nghiệm thức còn lại. Sự phân đàn ở nghiệm thức ương với mật độ 1 con/L và 2 con/L không có sự khác biệt lớn ($p > 0,05$).

Trong thí nghiệm này do không có điều kiện để bố trí thiết bị camera quan sát thường xuyên hành vi của cá nên kết quả về tỉ lệ ăn thịt đồng loại (CR) chỉ tính là những cá thể bị mất đi “không còn xác” trong bể do cá nuốt/ăn thịt hoặc có thể những cá thể chết do nguyên nhân khác trước rồi sau đó mới bị ăn thịt hết toàn bộ cơ thể “không còn xác” ở trong bể thì tính vào tỉ lệ CR; các trường hợp còn lại (chết còn nguyên con,

còn bộ phận đầu hoặc đuôi) tính vào tỉ lệ chết NDR. Tuy nhiên, theo quan sát trong quá trình thí nghiệm của chúng tôi thấy rằng cá Leo là một loài cá dữ có tập tính ăn thịt đồng loại chủ yếu là nuốt toàn bộ cơ thể của các cá thể nhỏ hơn.

Tỉ lệ ăn thịt đồng loại (CR) và tỉ lệ chết (NDR) của cá Leo khi ương ở các mật độ khác nhau được thể hiện ở Bảng 3. Nghiệm thức ương với mật độ 1 con/L và 2 con/L có tỉ lệ ăn thịt đồng loại (CR) không khác biệt nhau về mặt thống kê ($p>0,05$) và thấp hơn so với các nghiệm thức còn lại. Tỉ lệ ăn thịt đồng loại tăng lên khi ương cá với mật độ cao và cao nhất ở nghiệm thức 16 con/L (69,1%). Tỉ lệ chết tự nhiên (NDR) của cá ở các nghiệm thức không có sự khác biệt ($p>0,05$). Tỷ lệ sống của cá có mối tương quan nghịch với mật độ ương cá. Tỷ lệ sống cao nhất ở nghiệm thức 1 con/L (59%) và không có sự khác biệt thống kê với nghiệm thức 2 con/L (55,5%) ($p<0,05$).

Kết quả nghiên cứu này phù hợp với kết quả của Sahoo và cs. (2012) khi mật độ ương cá thấp tỷ lệ ăn thịt đồng loại giảm và tỷ lệ sống được nâng lên. Theo Hecht và Appelbaum (1988), khi nghiên cứu trên cá *Clarias gariepinus* ở giai đoạn cá bột và cá giống tập tính ăn thịt đồng loại của loài cá này đã làm giảm tỷ lệ sống. Tương tự Ketavic và cs. (1989) cũng cho rằng hành vi ăn thịt đồng loại của cá *Dicentrarchus labrax* là nguyên nhân chính làm giảm tỉ lệ sống của cá. Vì thế, trong giai đoạn đầu ương các loài cá dữ Li và Mathias (1982) cho rằng cần có không gian sống thích hợp và mật độ nuôi thấp sẽ giảm tỷ lệ ăn thịt đồng loại và nâng cao tỷ lệ sống của cá. Từ kết quả của thí nghiệm này, ương cá Leo ở giai đoạn đầu với mật độ 2 con/L là phù hợp cho sự tăng trưởng và tỷ lệ sống của cá.

3.3. Ảnh hưởng của tần suất cho ăn đến hiệu quả ương cá Leo

3.3.1. Ảnh hưởng của tần suất cho ăn đến sinh trưởng cá Leo

Bảng 4. Sinh trưởng của cá Leo khi cho ăn các tần suất khác nhau

Chỉ tiêu theo dõi	Tần suất cho cá ăn (Lần/ngày)				
	1	2	3	4	5
TL _s (mm)	6,00 ± 0,30 ^l	6,00 ± 0,30	6,00 ± 0,30	6,00 ± 0,30	6,00 ± 0,30
BW _s (mg)	2,90 ± 0,10	2,90 ± 0,10	2,90 ± 0,10	2,90 ± 0,10	2,90 ± 0,10
TL _e (mm)	34,3 ± 3,79 ^a	44,0 ± 2,00 ^b	57,8 ± 1,11 ^c	57,4 ± 0,84 ^c	58,8 ± 0,81 ^c
BW _e (mg)	206,1 ± 43,4 ^a	244,1 ± 36,2 ^b	276,1 ± 14,6 ^c	276,4 ± 13,7 ^c	280,4 ± 10,5 ^c
SGR _L (%/ngày)	12,4 ± 0,50 ^a	14,2 ± 0,59 ^b	16,2 ± 0,33 ^c	16,1 ± 0,36 ^c	16,3 ± 0,45 ^c
SGR _w (%/ngày)	30,4 ± 1,41 ^a	31,6 ± 1,19 ^b	32,5 ± 0,55 ^c	32,6 ± 0,51 ^c	32,7 ± 0,29 ^c

^lĐộ lệch chuẩn. ^{a,b,c}: Số liệu cùng hàng có các chữ cái khác nhau thể hiện sai khác có ý nghĩa thống kê ($p<0,05$).

Có nhiều yếu tố ảnh hưởng đến sự tăng trưởng của cá bao gồm mật độ nuôi, thức ăn, kích cỡ cá và tần suất cho ăn. Trong thí nghiệm này đánh giá sự sinh trưởng của cá Leo khi cho ăn các tần suất khác nhau. Kết quả Bảng 4 cho thấy, chiều dài toàn thân (TL), khối lượng trung bình (BW), tốc độ tăng trưởng chiều dài (SGR_L) và khối lượng (SGR_w) khi kết thúc thí nghiệm giữa các nghiệm thức cho ăn 3, 4 và 5 lần/ngày không có sự khác biệt về mặt thống kê ($p>0,05$) và lớn hơn so với nghiệm thức cho

ăn 1 và 2 lần/ngày. Chiều dài toàn thân (TL), khối lượng trung bình (BW) và tốc độ tăng trưởng (SGR) ở nghiệm thức cho ăn 1 lần/ngày là thấp nhất tiếp đến là nghiệm thức cho ăn 2 lần/ngày. Kết quả này chứng tỏ rằng khi ương cá cho ăn nhiều lần/ngày có hiệu quả hơn về mặt tăng trưởng.

Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Yoo và Lee (2016) khi cho cá *Takifugu obscurus* ăn 3 - 4 lần/ngày đã cải thiện được mức tăng trưởng của cá. Theo Folkvord và

Ottera (1993), nghiên cứu trên cá Tuyết (*Gadus morhua*) với kích cỡ cá giống dưới 1 gam và cho ăn 3 - 4 lần ngày đã cho sinh trưởng và tỷ lệ sống tốt nhất. Mặt khác, khi tần suất cho ăn không phù hợp có thể dẫn đến tốc độ tăng trưởng chậm hơn, tăng tỉ lệ

cá bị đói, xảy ra hiện tượng gây hấn trong các loài và gia tăng tỉ lệ ăn thịt đồng loại (Folkvord và Ottera, 1993).

3.3.2. Ảnh hưởng của tần suất cho ăn đến sự phân đàn và tỷ lệ sống cá Leo

Bảng 5. Sự phân đàn và tỷ lệ sống của cá Leo khi cho ăn các tần suất khác nhau

Chi tiêu theo dõi	Tần suất cho cá ăn (Lần/ngày)				
	1	2	3	4	5
CV _L (%)	11,2 ± 1,3 ^{1c}	4,60 ± 0,21 ^b	1,90 ± 0,04 ^a	1,46 ± 0,02 ^a	1,37 ± 0,02 ^a
CV _W (%)	21,7 ± 4,85 ^c	15,1 ± 2,21 ^b	5,32 ± 0,28 ^a	4,97 ± 0,25 ^a	3,77 ± 0,14 ^a
CR (%)	66,8 ± 1,15 ^c	56,2 ± 1,53 ^b	36,3 ± 2,89 ^a	34,8 ± 1,61 ^a	34,5 ± 1,32 ^a
NDR (%)	12,4 ± 0,29 ^a	12,6 ± 1,04 ^a	12,4 ± 1,04 ^a	16,0 ± 1,00 ^a	13,0 ± 2,50 ^a
SR (%)	20,8 ± 1,44 ^a	31,2 ± 1,26 ^b	51,3 ± 1,89 ^c	49,2 ± 0,76 ^c	52,5 ± 1,73 ^c

¹Độ lệch chuẩn. ^{a,b,c}: Số liệu cùng hàng có các chữ cái khác nhau thể hiện sai khác có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

Mức độ phân đàn về chiều dài (CV_L) và khối lượng (CV_W) của nghiệm thức cho ăn 1 lần/ngày có sự khác biệt lớn nhất so với các nghiệm thức còn lại ($p < 0,05$), tiếp theo là nghiệm thức cho ăn 2 lần/ngày. Mức độ phân đàn giữa các nghiệm thức cho cá ăn 3, 4 và 5 lần/ngày không có sự khác biệt về mặt thống kê ($p > 0,05$). Thông số này cũng lý giải rằng sự phân đàn lớn ở nghiệm thức cho ăn 1 lần/ngày và 2 lần/ngày dẫn đến những cá thể lớn vượt đàn ăn thịt những cá bé do phát triển không đồng đều. Tỉ lệ ăn thịt đồng loại (CR) của cá Leo ở nghiệm thức cho ăn 1 lần/ngày là cao nhất (66,8%), tiếp theo là nghiệm thức cho ăn 2 lần/ngày (56,2%). Các nghiệm thức cho cá ăn 3, 4 và 5 lần/ngày không có sai khác với nhau ($p > 0,05$). Tỉ lệ chết (NDR) ở tất cả các nghiệm thức không có sự khác biệt về mặt thống kê ($p > 0,05$) dao động từ 12,4% đến 16,0%. Tỷ lệ sống ở các nghiệm thức có xu hướng tăng dần khi số lần cho cá ăn tăng lên. Tỷ lệ sống ở nghiệm thức cho cá ăn 1 lần/ngày là thấp nhất (20,8%) tiếp theo là nghiệm thức cho ăn 2 lần/ngày (31,2%); tỷ lệ sống giữa nghiệm thức cho cá ăn 3, 4 và 5 lần/ngày không có sự khác biệt với nhau ($p > 0,05$).

áp dụng biện pháp tách riêng các cá thể vượt đàn nên những cá thể này chính là nguyên nhân dẫn đến tỷ lệ ăn thịt đồng loại tăng cao hơn. Theo Giri và cs. (2002), khi nghiên cứu về cá Leo cũng đã chỉ ra rằng các yếu tố quản lý thức ăn, ánh sáng và giá thể đã có tác động rất lớn đến hành vi cá ăn thịt lẫn nhau. Việc tăng tần suất cho ăn trong ngày đã giảm số cá bị đói dẫn đến tỉ lệ ăn thịt đồng loại giảm đồng thời nâng cao tỷ lệ sống được Ketavic và cs. (1989) quan sát trên cá vược *Dicentrarchus labrax*. Từ kết quả nghiên cứu này chúng tôi đưa ra khuyến cáo nên cho cá Leo ăn 3 – 4 lần/ngày ở giai đoạn này là phù hợp về mặt tăng trưởng, tỷ lệ sống và giảm số công lao động cho cá ăn nhiều lần/ngày.

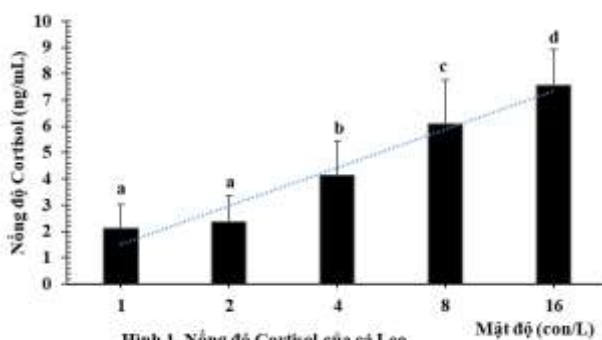
Trên đây là kết quả nghiên cứu về mật độ và tần suất cho cá ăn, để tăng tính hiệu quả trong ương giống cá Leo giai đoạn đầu cần áp dụng tổng hợp các giải pháp kỹ thuật như phân cỡ tách nuôi riêng các cá thể vượt đàn ở giai đoạn đầu và bổ sung các loại thức ăn phù hợp với cá.

Kết quả tỉ lệ sống của thí nghiệm này thấp so với nghiên cứu của Sahoo và cs. (2006) khi áp dụng biện pháp phân cỡ và tách nuôi riêng những cá thể vượt đàn là (58,6 ± 1,76%), trong thí nghiệm này không

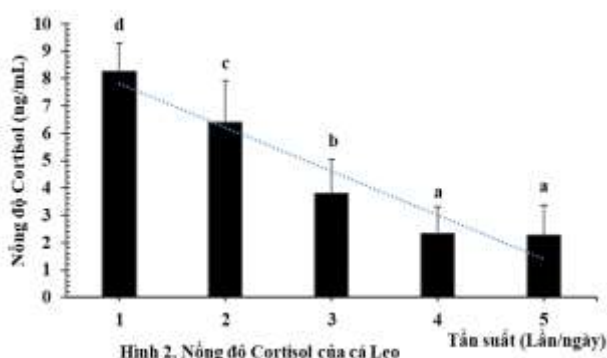
3.4. Ảnh hưởng của mật độ và tần suất cho ăn đến stress của cá Leo

Kết quả Hình 1 cho thấy rằng, nồng độ cortisol khi ương cá với mật độ 1 con/L và 2 con/L tương ứng là 2,12 ng/mL và 2,43 ng/mL giữa hai mật độ này không có sự khác biệt về thống kê ($p>0,05$). Tuy nhiên, khi mật độ càng cao thì nồng độ cortisol càng tăng lên và cao nhất ở mật độ 16 con/L là 7,54 ng/mL và có sự khác biệt lớn so với

các nghiệm thức còn lại ($p<0,05$). Ngược lại, nồng độ cortisol khi cho cá ăn nhiều lần trong ngày lại có xu hướng giảm (Hình 2); cho cá ăn 1 lần/ngày nồng độ cortisol cao nhất 8,26 ng/mL và có sự sai khác so với các nghiệm thức còn lại ($p<0,05$). Khi cho cá ăn 4 và 5 lần/ngày nồng độ cortisol thấp (2,33 ng/mL và 2,27 ng/mL) và không có sự khác biệt về mặt thống kê giữa hai nghiệm thức này ($p>0,05$).



Hình 1. Nồng độ Cortisol của cá Leo



Hình 2. Nồng độ Cortisol của cá Leo

Trong tự nhiên, cá bị ảnh hưởng bởi nhiều yếu tố gây ra stress khác nhau và trong hệ thống ương nuôi nhân tạo cũng có những yếu tố kỹ thuật không phù hợp gây ra những tác động tiêu cực đến cá. Mật độ nuôi, nhiệt độ, vận chuyển, tiêm vắc-xin, phân cỡ và tần suất cho cá ăn là những yếu tố chính gây ra stress cho cá trong điều kiện nuôi (Iwama, 1998). Nghiên cứu này đã đánh giá ảnh hưởng của mật độ nuôi và tần suất cho ăn gây ra stress đối với cá Leo –

Wallago attu trong giai đoạn đầu ương giống thông qua chỉ số nồng độ cortisol.

Sự thay đổi nồng độ cortisol của cá thường phản ứng ngay lập tức khi cá bị tác động của các yếu tố gây ra stress (Carey và cs., 1998). Mật độ nuôi cao được cho là một trong những tác nhân gây stress ảnh hưởng đến sinh lý cá dẫn đến tình trạng cá bị thương và có thể điều chỉnh các hành vi bơi lội hay trở nên hung hăng. Mặt khác, khi nuôi ở mật độ cao hoặc chế độ cho ăn không phù hợp đã giảm tính “phúc lợi động vật”

thủy sản (Ellis và cs., 2002). Mật độ thả cá cao khiến cá bị stress liên tục dẫn đến stress mãn tính (Barcellos và cs., 1999). Khi cá bị stress bởi các yếu tố như mật độ hay tần suất cho ăn dẫn đến tăng nồng độ cortisol trong cơ thể (Abreu, 2009). Khi mật độ càng cao thì nồng độ cortisol càng tăng lên, nồng độ cortisol được sử dụng như chỉ số đo lường mức độ stress của cá (Martinez, 2009). Ngoài ra, trong ương nuôi khi cho ăn với tần suất không hợp lý dẫn đến cá nuôi bị stress và sức khỏe kém (Ashley, 2006).

Như vậy, kết quả nồng độ cortisol của nghiên cứu này nằm trong khoảng dao động của một số loài cá được các tác giả đã công bố từ 2 – 42 ng/mL (Pottinger, 1992). Kết quả của nghiên cứu này là cơ sở quan trọng để đưa ra mật độ nuôi cũng như tần suất cho cá ăn hợp lý nhằm nâng cao hiệu quả ương nuôi cá Leo đồng thời đảm bảo tính phúc lợi đối với động vật thủy sản.

4. KẾT LUẬN

4.1. Kết luận

Mật độ ương cá Leo phù hợp là 2 con/L ở giai đoạn cá bột lên cá hương.

Tần suất cho cá Leo ăn 3 - 4 lần/ngày là phù hợp và cho kết quả sinh trưởng và tỉ lệ sống tốt hơn so với các nghiệm thức khác.

Khi ương cá Leo với mật độ thấp và tần suất cho cá ăn nhiều lần/ngày thì nồng độ cortisol của cá ở mức độ thấp hơn so với khi ương với mật độ cao và cho ăn ít lần/ngày.

4.2. Kiến nghị

Cần có những nghiên cứu sâu hơn về các loại thức ăn, nhu cầu dinh dưỡng của cá Leo ở giai đoạn ương cá bột lên cá hương nhằm đưa ra các khẩu phần thức ăn phù hợp.

Tiếp tục có những nghiên cứu liên quan đến các chất bổ sung vào thức ăn giúp cá giảm stress và giảm tỷ lệ ăn thịt lẫn nhau trong quá trình ương nuôi.

LỜI CẢM ƠN

Nhóm tác giả bày tỏ lòng biết ơn đến trường Đại học Nông Lâm, Đại học Huế và Sở Khoa học và Công nghệ tỉnh Quảng Trị đã hỗ trợ cho nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Tài liệu tiếng Việt

Nguyễn Duy Quỳnh Trâm. (2016). *Giáo trình quản lý chất lượng nước trong nuôi trồng thủy sản*. Nhà xuất bản Đại học Huế. 167 trang.

2. Tài liệu tiếng nước ngoài

Abdel-Fattah and El-Sayed. (2002). Effects of stocking density and feeding levels on growth and feed efficiency of *Nile tilapia* (*Oreochromis niloticus* L.) fry[J]. *Aquaculture Research*, 33, 621–626.

Abou Y., Fiogbe, E. D. and Micha, J. (2007). Effects of stocking density on growth, yield and profitability of farming *Nile tilapia*, *Oreochromis niloticus* L., fed Azolla diet, in earthen ponds. *Aquaculture Research*, 38(6), 595–604.

Abreu J., Takahashi, L., Hoshiba, M. and Urbinati, E. (2009). Biological indicators of stress in pacu (*Piaractus mesopotamicus*) after capture. *Brazilian Journal of Biology*, 69(2), 415–421.

Aderolu A.Z., Seriki B.M., Apatira A.L. (2010). Effects of feeding frequency on growth, feed efficiency and economic viability of rearing African catfish (*Clarias gariepinus*, Burchell 1822) fingerlings and juveniles. *African Journal of Food Science*, 5, 286–290.

Ashley, P.J. (2006). Fish welfare: Current issues in aquaculture. *Applied Animal Behaviour Science*, 104, 199–235.

Barcellos L. J. G., S. Nicolaiewsky, S. M. G. De Souza, and F. Luther. (1999). Effects of stocking density and social interaction on acute stress response in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L) fingerlings. *Journal of Aquaculture Research*, 30(11), 887–892.

Bastien Sadoul and Benjamin Geffroy. (2019). Measuring cortisol, the major stress

- hormone in fishes. *Journal Fish Biology*, 94, 540–555.
- Booth, M.A., Tucker, B.J., Allan, G.L. (2008). Effect of feeding regime and fish size on weight gain, feed intake and gastric evacuation in juvenile Australian snapper *Pagrus auratus* [J]. *Aquaculture*, 282(1), 104–109.
- Boyd, C.E. (1990). *Water Quality in Ponds for Aquaculture*. Alabama Agricultural Experiment Station. Auburn University, Alabama, USA, pp. 480.
- Carey, J., McCormick, S. (1998). Atlantic salmon smolts are more responsive to an acute handling and confinement stress than parr. *Aquaculture*, 168(1-4), 237-253.
- Csengeri, I. and Petitjean, M. (1987). Fresh liver powder: a new starter diet for the larvae of a Cyprinid fish. *Aquaculture*, 65, 189-192.
- Devadasan, K. (1978). Studies on frozen storage characteristics of fillets from six species of fresh water fishes. *Fishery Technology*, 14(2), 127-130.
- Du, Z.Y., Liu Y.J., Tian, L.X., He J.G., Cao, J.M., Liang G.Y. (2006). The influence of feeding rate on growth, feed efficiency and body composition of juvenile grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). *Aquaculture*, 14, 247–57.
- Ellis, T., North, B., Scott, A.P., Bromage, N.R., Porter M, Gadd D. (2002). The relationships between stocking density and welfare in farmed rainbow trout. *Journal Fish Biology*, 61, 493–531.
- Folkvord, A. and Ottera, H. (1993). Effects of initial size distribution, day length and feeding frequency on growth, survival, and cannibalism in juvenile Atlantic cod (*Gadus morhua* L.). *Aquaculture*, 114, 243-260.
- Giri, S.S., S.K. Sahoo, B.B. Sahu, A.K. Sahu, S.N. Mohanty, P.K. Mukhopadhyay and S. Ayyappan. (2002). Larval survival and growth in *Wallago attu* effects of light, photoperiod and feeding regimes. *Aquaculture*, 213, 151-161.
- Gupta, S. and S. Banerjee. (2014). *Indigenous ornamental fish trade of West Bengal*, Narendra Publishing House.
- Hecht, T., Appelbaum, S. (1988). Observations on intraspecific aggression and coeval sibling cannibalism by larval and juvenile *Clarias gariepinus* (Clariidae: Pisces) under controlled conditions. *Journal Zoology*, 214, 21–44.
- Hseu, J.R., Lu F.I., Su H.M., Wang, L.S., Tsai, C.L. (2003). Effect of exogenous tryptophan on cannibalism, survival and growth in juvenile grouper, *Epinephelus coioides*. *Aquaculture* 218(1-4), 251- 263.
- Iwama, G. K. (1998). *Stress in fish*. Annals of the New York Academy of Sciences, 851(1), 304-310.
- Kestemont, P., Jourdan, S., Houbart, M., Melard, C., Paspatis, M., Fontaine, P., Cuvier, A., Kentouri, M., Baras, E. (2003). Size heterogeneity, cannibalism and competition in cultured predatory fish larvae: biotic and abiotic influences. *Aquaculture*, 227, 333–356.
- Ketavic, I., Jug-Dujakovic, J., and Glamuzina, B. (1989). Cannibalism as a factor affecting the survival of intensively cultured sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fingerlings. *Aquaculture*, 77, 135-143.
- Li, S. and J.A. Mathias. (1982). Causes of high mortality among cultured larval walleyes. *Transactions of the American Fisheries Society*, 111, 710-721.
- Lilabati, H. and Vishwanath. W. (1996). Nutritional quality of fresh water catfish (*Wallago attu*) available in Manipur, India. *Food chemistry*, 57(2): 197-199.
- Martinez, M. Porchas, L. R. Martinez–Cordova, R. Ramos–Enriquez. (2009). Cortisol and Glucose. “Reliable indicators of fish stress?”, *Pan–American Journal of Aquatic Sciences*, 4(4), 158–178.
- Mohanty, S.N., S.K. Swain and S.D. Tripathi. (1993). Growth and survival of rohu spawn fed on a liver based diet. *Journal of Inland Fisheries Society*, 25, 41-45.
- Ng, H.H., de Alwis Goonatilake, S., Fernando, M. & Kotagama, O. (2019). *Wallago attu* (errata version published in 2020). *The IUCN Red List of Threatened Species* 2019.

- Pottinger, T.G., Prunet, P. and Pickering, A.D. (1992). The effects of confinement stress on circulating prolactin levels in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in freshwater. *General and Comp Endocrin*, 88, 454–460.
- Rebl A., M. Zebunke, A. Borchel, R. Bochert, M. Verleih, and T. Goldammer (2017). Microarray-predicted marker genes and molecular pathways indicating crowding stress in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 473, 355–365.
- Sahoo, S.K., S.S., Giri, A.K. Sahu and S.D. Gupta. (2002). Cannibalism, a cause of high mortality in *Wallago attu* (Schneider) larvae. *Indian Journal of Fisheries* 49(2), 173-177.
- Sahoo, S.K., S.S., Giri, A.K. Sahu and S.D. Gupta. (2006). Effect of feeding and management on growth and survival of *Wallago attu* (Schneider) larvae during hatchery rearing. *Indian Journal of Fisheries* 53, 327-332.
- Sahoo, S.K., S.S., Giri, A.K. Sahu and S.D. Gupta. (2012). Effect of Animal Origin Feeds and Frequency of Feeding on Growth, Survival and Cannibalism in *Wallago attu* (Bloch & Schneider) Larvae During Hatchery Rearing. *Asian Fisheries Science* 25, 66-74.
- Vijayan, M.M, Ballantyne, J.S., Leatherland, J.F. (1990). High stocking density alters the energy metabolism of brook charr, *Salvelinus fontinalis*. *Aquaculture*, 88(3-4), 371–81.
- Wang, N., Hayward, R.S, Noltie, D.B. (1998). Variation in food consumption, growth, and growth efficiency among juvenile hybrid sunfish held individually. *Aquaculture*, 167, 43–52.
- Wendelaar, Bonga, S. E. (1997). Stress response in fish. *Physiological Reviews*, 77(3), 591–625.
- Yoo, G., Lee, J. (2016). The effect of feeding frequency, water temperature, and stocking density on the growth of river puffer *Takifugu obscurus* reared in a zeroexchange water system. *Fish Aquatic Science*, 19, 23-30.
- Zonneveld, N., Huismanm, E.A, Boon, J.H. (1991). *Principals of Fisheries Culture*. Pustaka Utama. Gramedia, Jakarta, Indonesian, p. 71.