

THÔNG BÁO KHOA HỌC

**ĐÁNH GIÁ HOẠT LỰC TINH TRÙNG HẦU THÁI BÌNH DƯƠNG  
(*Crassostrea gigas* Thunberg, 1973)**

**THÔNG QUA CÁC THỜI ĐIỂM THU MẪU KHÁC NHAU  
ESTIMATING SPERM MOTILITY OF PACIFIC OYSTER (*Crassostrea gigas* Thunberg, 1973)  
THROUGH DIFFERENT THE TIME OF SAMPLE COLLECTION**

**Nguyễn Thị Tý Trâm<sup>1</sup>, Lê Minh Hoàng<sup>2</sup>, Trương Thị Bích Hồng<sup>2</sup>, Mai Như Thủy<sup>2</sup>**

Ngày nhận bài: 28/2/2019; Ngày phản biện thông qua: 11/4/2019; Ngày duyệt đăng: 10/6/2019

**TÓM TẮT**

Mục tiêu của nghiên cứu nhằm tìm ra thời điểm thu mẫu cho hoạt lực tinh trùng hầu Thái Bình Dương tốt nhất. Thí nghiệm tiến hành tại thời điểm cuối tháng 3 (L1), giữa tháng 4 (L2) và cuối tháng 4 (L3). Đánh giá hoạt lực thông qua xác định tỉ lệ pha loãng (1:50, 1:100, 1:150, 1:200 tinh trùng: nước biển nhân tạo); áp suất thẩm thấu (300, 400, 500, 600 mOsm/kg); cation  $Na^+$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $K^+$ ,  $Mg^{2+}$  (nồng độ cation lần lượt là 0,2; 0,4; 0,6; 0,8M) khác nhau ở thời điểm thu mẫu L1, L2 và L3. Hoạt lực tinh trùng được đánh giá thông qua các thông số về phần trăm và thời gian tinh trùng hoạt lực. Kết quả cho thấy tinh trùng hầu TBD hoạt lực tốt nhất khi được pha loãng ở tỉ lệ 1:200 tại thời điểm L3, áp suất thẩm thấu là 500 mOsm/kg tại thời điểm L3, nồng độ các cation lần lượt  $Na^+ = 0,4M$ ,  $Ca^{2+} = 0,2M$ ,  $Mg^{2+} = 0,4M$  tại thời điểm L3 và  $K^+ = 0,4M$  tại thời điểm L2. Tỉ lệ thụ tinh cao nhất khi cho thụ tinh trong môi trường nước biển nhân tạo, thấp hơn ở nước biển tự nhiên đã xử lý, tiếp sau đó dung dịch có áp suất thẩm thấu 500mOsm/kg và thấp nhất ở dung dịch cation  $Na^+ 0,4M$  với kết quả lần lượt là 75,77±5,26%; 71,78±3,25%; 49,94±2,12%; 35,8±5,27%.

Từ khóa: Hầu Thái Bình Dương, *Crassostrea gigas*, thời điểm thu mẫu, hoạt lực tinh trùng

**ABSTRACT**

The objective of this study was to determine the time of sampling for the Pacific Oyster sperm (TBD) motility. The experiment was conducted at the end of March (L1), mid April (L2) and late April (L3). Evaluate activity by determining dilution ratio (1:50, 1: 100, 1: 150, 1: 200 sperm: artificial seawater); Osmotic pressure (300, 400, 500, 600 mOsm/kg); Cation  $Na^+$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $K^+$ ,  $Mg^{2+}$  (cation concentrations are 0.2, 0.4, 0.6, 0.8M respectively) at the time of sampling L1, L2 and L3. Sperm motility was assessed through parameters of percentage and duration of sperm motility. The results showed that spermatozoa were best when diluted at 1: 200 at L3, ASTT at 500 mOsm/kg at L3,  $Na^+ = 0.4M$ ,  $Ca^{2+} = 0.2M$ ,  $Mg^{2+} = 0.4M$  at L3 and  $K^+ = 0.4M$  at L2. The highest fertilization rates for artificial insemination in artificial seawater are lower than in treated natural sea water, followed by a 500 mOsm/kg osmotic pressure solution and the lowest in  $Na^+ = 0.4M$  solution with the result of 75.77 ± 5.26% respectively; 71.78 ± 3.25%; 49.94 ± 2.12%; 35.8 ± 5.27%.

Key words: Pacific oysters, dilution ratio, osmolality, cation concentration, sperm motility

**1. ĐẶT VẤN ĐỀ**

Hầu Thái Bình Dương (TBD) là loài nhuyễn thể phân bố rộng về mặt địa lý và sinh thái, có thể sống ở vùng nước có độ mặn từ 10 - 30‰ [2]. Hiện nay, hầu TBD được nuôi khá

phổ biến, cho giá trị kinh tế cao, hàm lượng dinh dưỡng lớn, thịt thơm ngon. Hầu TBD có nguồn gốc từ Nhật Bản, là đối tượng nuôi mới được di nhập vào nước ta mấy năm gần đây. So với một số loài hầu bản địa đang được nuôi thì hầu TBD có nhiều tính ưu việt như có tốc độ sinh trưởng nhanh hơn, vỏ mỏng, tỉ lệ phần thịt tương đối cao, trung bình đạt 20 – 25% khối

<sup>1</sup> Học Viên cao học lớp 55NT-1, Viện Nuôi trồng thủy sản, Trường Đại học Nha Trang

<sup>2</sup> Viện Nuôi trồng Thủy sản, Trường Đại học Nha Trang

lượng cơ thể. Nhờ đó, trong một vài năm tới, hầu TBD sẽ trở thành đối tượng nhuyễn thể chủ lực phục vụ cho xuất khẩu. Mặt khác, chúng là đối tượng ăn lọc, thức ăn chủ yếu vi sinh vật và mùn bã hữu cơ kích thước nhỏ khoảng 10µm nên được coi là loài có vai trò làm sạch môi trường. Ở các vùng nuôi thủy sản, hầu TBD thường được nuôi ghép với các đối tượng khác đã cho thấy hiệu quả rất lớn về môi trường [2].

Hiện nay, nhu cầu con giống hầu TBD rất lớn, song, vẫn chưa thể đáp ứng đủ, chất lượng con giống chưa cao. Sản xuất giống hầu nhân tạo, chủ động con giống có chất lượng đáp ứng nhu cầu nuôi thương phẩm sẽ góp phần thúc đẩy nghề nuôi động vật thân mềm Việt Nam phát triển. Sản xuất giống thành công ngoài chất lượng trứng tốt thì chất lượng tinh trùng đưa vào thụ tinh nhân tạo cũng phải tốt. Để đánh giá chất lượng tinh trùng đã có một số công trình nghiên cứu chứng minh được rằng hoạt lực là một chức năng quan trọng của tinh trùng, cho phép tinh trùng tiếp cận và xâm nhập vào tế bào trứng để tiến hành thụ tinh [9], đồng thời nó là một yếu tố quan trọng quyết định đến kết quả sinh sản nhân tạo. Có nhiều yếu tố ảnh hưởng đến chất lượng tinh trùng như: mùa vụ sinh sản, thời điểm thu mẫu, nhiệt độ, thức ăn... [3]. Đánh giá chất lượng tinh trùng thông qua các thời điểm thu mẫu khác nhau là yêu cầu cần thiết để xác định thời điểm cho chất lượng tinh trùng tốt nhất giúp cho sinh sản nhân tạo hầu TBD thành công hơn. Ngoài ra, việc đánh giá các yếu tố khác nhau ảnh hưởng đến chất lượng tinh trùng hầu TBD sẽ cung cấp những thông số tối ưu (tỉ lệ pha loãng, áp suất thẩm thấu, nồng độ các cation) trong từng thời điểm thu mẫu cụ thể để tiến hành đánh giá và nghiên cứu cho những đề tài sau này.

## II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 1. Chuẩn bị mẫu tinh hầu trước khi đánh giá

Hầu bố mẹ được thu gom từ các địa điểm thu mua Hầu ở chợ Vĩnh Hải, phường Vĩnh Hải, Nha Trang, Khánh Hòa, chủ yếu, hầu được nhập từ Lương Sơn, Vĩnh Lương, Nha Trang, Khánh Hòa. Sau khi lựa chọn được những cá thể có kích cỡ thành thực phù hợp dao động

từ 8-10 cm thì tiến hành kiểm tra giới tính. Sử dụng micropipet hút 1µl sản phẩm sinh dục hòa với nước biển nhân tạo đưa lên kính hiển vi quan sát, nếu mẫu là sản phẩm sinh dục cái thì có hình quả lê hoặc hình tròn không chuyển động, nếu là sản phẩm sinh dục đực thì chúng là các tinh trùng kích thước nhỏ và hoạt động, trứng có đường kính lớn hơn tinh trùng rất nhiều. Sau khi xác định giới tính, những con đực được giữ trên đá lạnh để tiến hành thí nghiệm. Trong quá trình lưu giữ chú ý không để nước lẫn vào tuyến sinh dục (TSD) đực.

### 2. Đánh giá sơ bộ chất lượng tinh trùng

Hoạt lực tinh trùng được xác định bằng cách pha loãng tinh trùng với nước biển nhân tạo. Tinh dịch được pha loãng với tỉ lệ 1:100 (1µl tinh dịch và 99µl nước biển nhân tạo), hỗn hợp đặt lên lam kính quan sát dưới kính hiển vi có kết nối camera. Những mẫu có trên 85% tinh trùng hoạt động được đưa vào nghiên cứu.

### 3. Xác định các yếu tố ảnh hưởng đến hoạt lực tinh trùng hầu TBD

Kiểm tra ảnh hưởng các yếu tố: tỉ lệ pha loãng, áp suất thẩm thấu, nồng độ các cation  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ .

Đầu tiên hoạt lực tinh trùng được xác định sau khi pha loãng với nước biển nhân tạo ở các tỉ lệ 1:50; 1:100; 1:150; 1:200 (tinh dịch: nước biển nhân tạo). Thành phần nước biển nhân tạo bao gồm: 27g NaCl; 0,5g KCl; 1,2g  $\text{CaCl}_2$ ; 4,6g  $\text{MgCl}_2$  và 0,5g  $\text{NaHCO}_3$  được pha trong 1 lít nước cất. Tinh dịch được pha loãng theo các tỉ lệ trên đưa lên lam kính quan sát dưới kính hiển vi. Quan sát hoạt lực tinh trùng và xác định tỉ lệ pha loãng tối ưu, tỉ lệ pha loãng tốt nhất sẽ được lựa chọn để tiến hành cho các thí nghiệm sau.

Xác định ảnh hưởng của ASTT lên hoạt lực tinh trùng, dùng muối NaCl pha với nước cất để có các dung dịch với mức nồng độ khác nhau 300; 400; 500; 600 mOsm/kg. Kiểm tra ảnh hưởng của ASTT đối với vận động tinh trùng bằng cách cho tinh dịch vào dung dịch có nồng độ ASTT nêu trên với tỉ lệ pha loãng tối ưu đã xác định. Sau đó phân tích chọn ra nồng độ ASTT tối ưu cho hoạt lực tinh trùng hầu TBD.

Để xác định ảnh hưởng của nồng độ cation lên hoạt lực tinh trùng, thí nghiệm sử dụng bốn loại cation ở những nồng độ khác nhau. Cation Na<sup>+</sup> trong dung dịch NaCl, cation K<sup>+</sup> trong dung dịch KCl, cation Ca<sup>2+</sup> trong dung dịch CaCl<sub>2</sub>, cation Mg<sup>2+</sup> trong dung dịch MgCl<sub>2</sub> ở các nồng độ 0,2; 0,4; 0,6; 0,8M. Kiểm tra hoạt lực tinh trùng và chọn ra nồng độ tốt nhất.

Mỗi thí nghiệm được lặp lại 3 lần, mỗi lần 3 lần quan sát.

Hoạt lực tinh trùng kiểm tra dưới kính hiển vi có độ phóng đại 400 lần và được kết nối với máy tính thông qua camera để quan sát hoạt lực của tinh trùng một cách thuận lợi nhất. Kiểm tra hoạt lực tinh trùng bao gồm các thông số: phần trăm và thời gian tinh trùng hoạt động. Phần trăm tinh trùng hoạt động được xác định bằng phương pháp ước lượng chủ quan bằng mắt thường [8]. Thời gian hoạt lực được tính từ

lúc tinh trùng bắt đầu được kích hoạt vận động cho đến khi ngừng vận động [11].

**4. Thử nghiệm cho thụ tinh nhân tạo**

Tách TSD của hàu, sau đó cho sản phẩm sinh dục đực và cái lần lượt vào 4 cốc thủy tinh có thể tích 500ml chứa lần lượt nước biển nhân tạo, nước biển tự nhiên đã được xử lý sạch, dung dịch có ASTT tối ưu nhất và dung dịch chứa cation tốt nhất. Trứng được đếm cho vào cốc với mật độ khoảng 200 trứng/ml. Cho tinh trùng thụ tinh ngay với trứng. Khuấy đảo đều trứng và tinh trùng. Sục khí cho quá trình thụ tinh hiệu quả hơn. Sau 2 – 3 giờ tiến hành kiểm tra tỉ lệ thụ tinh (ở thời điểm này nếu trứng được thụ tinh thì tế bào có sự phân chia rõ ràng).

Để xác định số trứng đã được thụ tinh, lấy 1ml mẫu để đếm trứng dưới kính hiển vi, lặp lại 3 lần để tính ra tổng số trứng và xác định tỉ lệ thụ tinh theo công thức sau [4]:

$$\text{Tỉ lệ thụ tinh} = \frac{\text{Số trứng đã thụ tinh}}{\text{Số trứng trong mẫu lấy ngẫu nhiên trong cốc}} \times 100\%$$

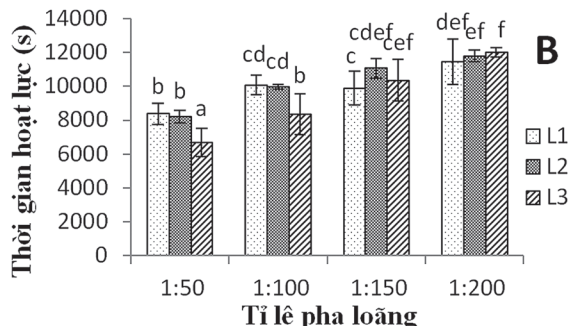
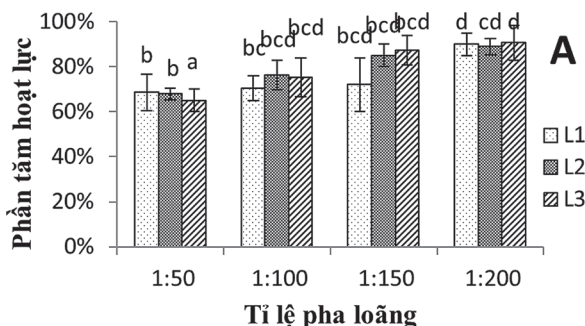
**5. Phân tích và xử lý số liệu**

Số liệu thu thập được xử lý trên phần mềm SPSS 22.0 và Excel 2010. Kết quả về tỉ lệ pha loãng, ASTT và nồng độ các cation được xử lý theo phép phân tích phương sai một yếu tố (one-way ANOVA) với mức ý nghĩa P <0,05. Sau khi tìm ra được giá trị trung bình dùng

phương pháp kiểm định Duncan so sánh sự sai khác giữa các thí nghiệm. Kết quả được trình bày dưới dạng trung bình ± độ lệch chuẩn (SD).

**III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN**

**1. Ảnh hưởng của tỉ lệ pha loãng ở từng thời điểm thu mẫu lên hoạt lực tinh trùng hàu TBD**



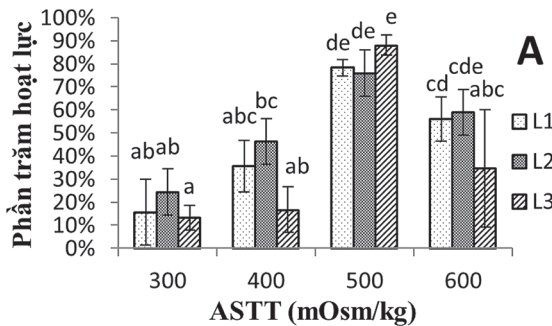
**Hình 1: Ảnh hưởng của tỉ lệ pha loãng tại từng thời điểm thu mẫu lên hoạt lực tinh trùng hàu TBD**

Kết quả thí nghiệm ảnh hưởng của tỉ lệ pha loãng tại từng thời điểm thu mẫu lên hoạt lực tinh trùng hàu TBD ở Hình 1(A) cho thấy tinh trùng có phần trăm hoạt lực cao nhất ở tỉ lệ 1:200 tại thời điểm L3 với 90,67±7,77% tinh trùng hoạt động. Thấp nhất ở tỉ lệ 1:50 thời điểm L3 (50,67±26,65%). Tinh trùng pha loãng

theo tỉ lệ 1:200 ở thời điểm L3 có sai khác về mặt thống kê với những tỉ lệ pha loãng còn lại trong các thời điểm thu mẫu về phần trăm hoạt lực (P<0,05). Theo Hình 1(B), tinh trùng có thời gian hoạt lực cao nhất ở tỉ lệ pha loãng 1:200 cũng tại thời điểm L3 (12013±296,87s). Thấp nhất ở tỉ lệ 1:50 của thời điểm T3

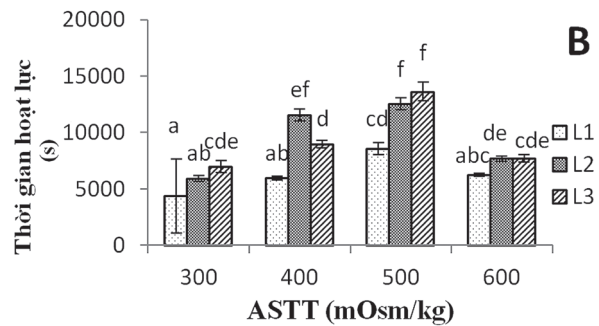
(6700±840,71s). Về thời gian hoạt lực, tỉ lệ pha loãng 1:200 có sai khác về mặt ý nghĩa thống kê so với các tỉ lệ pha loãng còn lại trong các thời điểm thu mẫu ( $P < 0,05$ ).

Kết quả này lớn hơn so với tinh trùng sò điệp (*Pecten maximus*) [7] và tinh trùng cầu gai (*Tripneustes gratila*) [1] với tỉ lệ pha loãng tốt nhất lần lượt 1:40 và 1:50.



Pha loãng là yếu tố quan trọng cho phép tất cả các tinh trùng được kích hoạt cùng một lúc và tránh sai sót trong trường hợp quan sát với mật độ tinh trùng cao. Điều này đặc biệt quan trọng trong các loài có mật độ tinh trùng cao và tinh trùng chuyển động nhanh chóng [10].

**2. Ảnh hưởng của ASTT tại từng thời điểm thu mẫu lên hoạt lực tinh trùng hầu TBD**



**Hình 2: Ảnh hưởng của ASTT tại từng thời điểm thu mẫu lên hoạt lực tinh trùng hầu TBD**

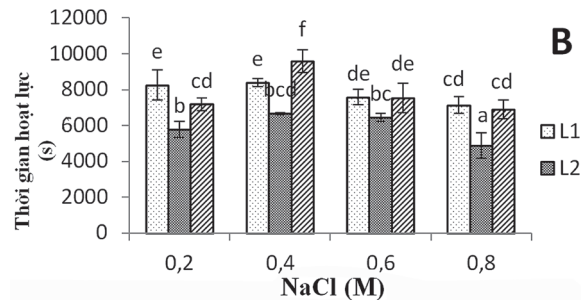
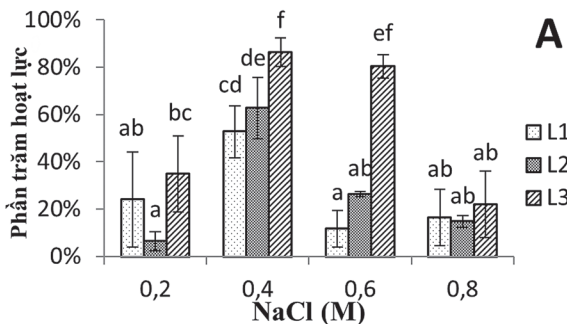
Kết quả ở Hình 2 (A), tinh trùng có phần trăm hoạt lực cao nhất ở mức nồng độ 500 mOsm/kg vào thời điểm thu mẫu L3 (88±4,36%) và thấp nhất ở nồng độ 300 mOsm/kg cũng tại thời điểm này (15,67±14,15%). Giá trị cao nhất này cho thấy có sự sai khác về mặt ý nghĩa thống kê so với các nồng độ khác ở thời điểm thu mẫu khác ( $P < 0,05$ ). Quan sát hoạt lực của tinh trùng ở Hình 2 (B) cho thấy, thời gian tinh trùng sống dài nhất (13600±868,10s) ở nồng độ 500 mOsm/kg vào thời điểm thu mẫu L3 và ngắn nhất là ở nồng độ 300 mOsm/kg thời điểm L1 (4360±3258,47s). Giá trị cao nhất này

không có sự sai khác ý nghĩa thống kê với nồng độ 500 mOsm/kg (13106,67±961,11s) và 400 mOsm/kg (11580±533,29s) vào thời điểm L2 ( $P > 0,05$ ) nhưng có sự sai khác ý nghĩa thống kê với tất cả các nồng độ thẩm thấu còn lại trong các thời điểm thu mẫu ( $P < 0,05$ ).

Kết quả này tương tự nồng độ áp suất thẩm thấu tốt nhất ở Cầu gai (*Tripneustes gratila*) [1].

**3. Ảnh hưởng của các cation  $Na^+$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $K^+$  tại từng thời điểm thu mẫu lên hoạt lực tinh trùng hầu TBD**

**3.1. Ảnh hưởng của cation  $Na^+$  tại từng thời điểm thu mẫu lên hoạt lực tinh trùng hầu TBD.**



**Hình 3: Ảnh hưởng của cation  $Na^+$  tại từng thời điểm thu mẫu lên hoạt lực tinh trùng hầu TBD**

Ảnh hưởng của cation  $Na^+$  ở Hình 3 (A) cho thấy phần trăm tinh trùng hoạt lực tốt nhất ở nồng độ 0,4M tại thời điểm L3 (86,33±6,03%) và thấp nhất ở nồng độ 0,2M trong thời điểm thu mẫu L2 (6,33±4,04%). Giá trị lớn nhất về

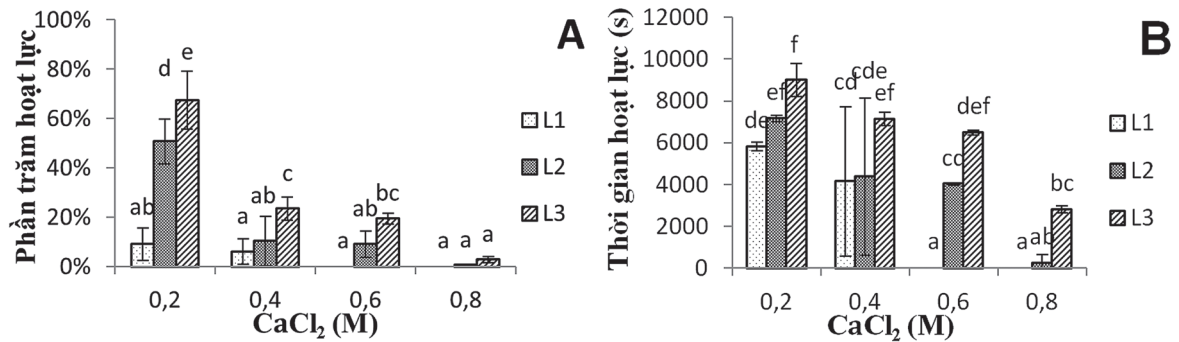
phần trăm hoạt lực của tinh trùng này có sự sai khác về ý nghĩa thống kê với các giá trị còn lại trong từng thời điểm thu mẫu ( $P < 0,05$ ).

Theo Hình 3 (B) thì tinh trùng hầu TBD sống lâu nhất trong dung dịch có nồng độ pha loãng

0,4M thời điểm thu mẫu L3 (9600±634,98s) và ngắn nhất ở mức nồng độ 0,8M tại thời điểm L2 chỉ có 4880±715,82s. Thời gian mà tinh trùng hầu TBD có hoạt lực lâu nhất có sự sai khác về ý nghĩa thống kê so với các thời gian mà tinh trùng hoạt động khi được pha trong dung dịch có nồng độ cation Na<sup>+</sup> khác tại các thời điểm thu mẫu khác (P<0,05).

Kết quả này cao hơn so với tinh trùng loài cầu gai (*Tripneustes gratila*) [1] chỉ 0,2M Na<sup>+</sup>. Cation Na<sup>+</sup> được biết có một vai trò thứ yếu trong việc kích hoạt và điều tiết khả năng vận động tinh trùng cá và động vật không xương sống khác [6].

3.2. Ảnh hưởng của cation Ca<sup>2+</sup> tại từng thời điểm thu mẫu lên hoạt lực tinh trùng hầu TBD.



Hình 4: Ảnh hưởng của cation Ca<sup>2+</sup> tại từng thời điểm thu mẫu lên hoạt lực tinh trùng hầu TBD

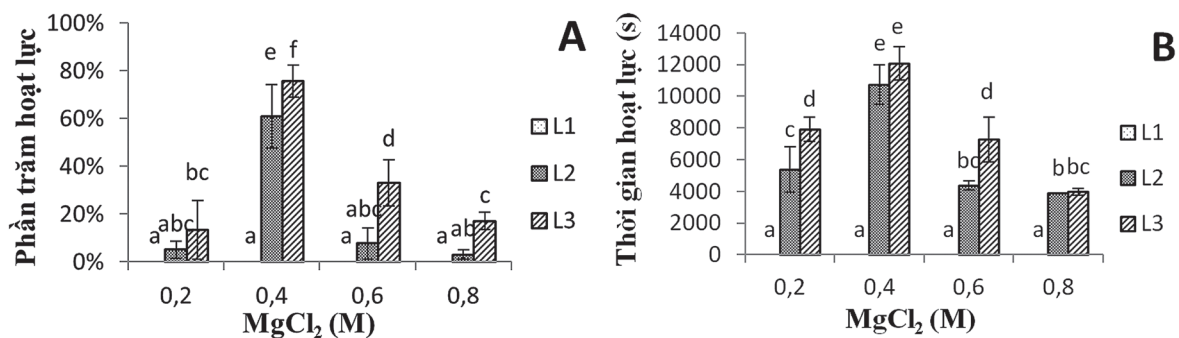
Quan sát hoạt lực tinh trùng hầu TBD trong dung dịch pha loãng có chứa 0,2; 0,4; 0,6; 0,8M Ca<sup>2+</sup> tại Hình 4 (A) ta thấy phần trăm tinh trùng hoạt lực lớn nhất ở nồng độ 0,2M tại thời điểm thu mẫu L3 (67,33±11,68%). Chúng có hoạt lực thấp nhất ở nồng độ 0,8M thời điểm L2 (0,33±0,57%). Tinh trùng bị bất hoạt ở 2 nồng độ 0,6 và 0,8M tại thời điểm L1. Giá trị lớn nhất về phần trăm hoạt lực của tinh trùng này có sự sai khác về ý nghĩa thống kê với tất cả các giá trị khác trong từng thời điểm thu mẫu (P<0,05).

và thấp nhất trong dung dịch có nồng độ 0,8M thời điểm L2 (240±415,69s). Ở 2 nồng độ 0,6 và 0,8M thời điểm L1 tinh trùng bị bất hoạt nên chúng không có thời gian hoạt lực. Thời gian mà tinh trùng sống lâu nhất có sự sai khác về ý nghĩa thống kê với các thời gian sống khi pha trong dung dịch có nồng độ cation Ca<sup>2+</sup> khác trong thời điểm thu mẫu khác (P<0,05).

Tại Hình 4 (B) thì tinh trùng hầu TBD có thời gian hoạt lực lâu nhất trong dung dịch 0,2M thời điểm thu mẫu L3 (9000±786,89s)

Kết quả này giống trên cầu gai (*Tripneustes gratila*) [1]. Theo Alavi và ctv (2014), nồng độ Ca<sup>2+</sup> tốt nhất cho hoạt lực tinh trùng hầu TBD (*Crassostrea gigas*) và sò điệp Nhật Bản (*Patinopecten yessoensis*) là 0,001M [5].

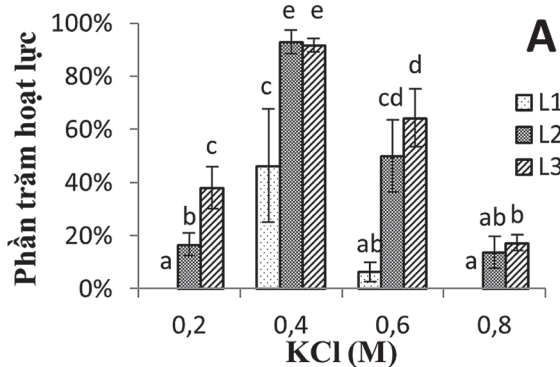
3.3. Ảnh hưởng của cation Mg<sup>2+</sup> tại từng thời điểm thu mẫu lên hoạt lực tinh trùng hầu TBD.



Hình 5: Ảnh hưởng của cation Mg<sup>2+</sup> tại từng thời điểm thu mẫu lên hoạt lực tinh trùng hầu TBD

Kết quả của nghiên cứu cho thấy ở Hình 3.5, tình trạng bất hoạt ở tất cả các nồng độ tại thời điểm thu mẫu L1 về cả thời gian và phần trăm hoạt lực. Theo Hình 5 (A), tình trạng hầu TBD có phần trăm hoạt lực lớn nhất ở nồng độ 0,4M thời điểm L3 (75,66±6,66%) và thấp nhất ở nồng độ 0,8M thời điểm L2 (3,0±2,0%). Kết quả nồng độ 0,4M Cation  $Mg^{2+}$  thời điểm L3 lớn nhất về phần trăm tình trạng hoạt lực có sự sai khác về ý nghĩa thống kê với tất cả các giá trị khác trong từng thời điểm thu mẫu ( $P<0,05$ ).

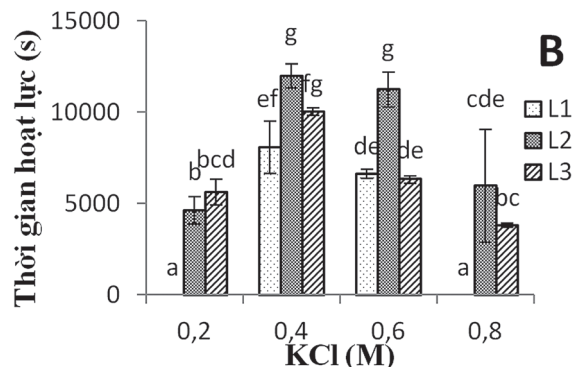
Tại Hình 5 (B), tình trạng hầu TBD hoạt lực với thời gian lâu nhất trong dung dịch



có nồng độ pha loãng 0,4M thời điểm L3 (11986,67±1227,41s) và ngắn nhất ở nồng độ 0,8M thời điểm L2 (3880±34,64s). Tuy nhiên, giá trị lớn nhất này không có sự sai khác về ý nghĩa thống kê so với khi tình trạng có thời gian sống trong dung dịch 0,4M thời điểm L2 (10734±1240,32s) ( $P>0,05$ ). Nhưng chúng có sự sai khác về ý nghĩa thống kê so với các nồng độ còn lại từng thời điểm thu mẫu ( $P<0,05$ ).

Kết quả cao hơn nghiên cứu trên tình trạng cầu gai (*Tripneustes gratila*) [1] là 0,2M  $Mg^{2+}$ .

3.4. Ảnh hưởng của cation  $K^+$  tại từng thời điểm thu mẫu lên hoạt lực tình trạng hầu TBD.



Hình 6: Ảnh hưởng của cation  $K^+$  tại từng thời điểm thu mẫu lên hoạt lực tình trạng hầu TBD

Quan sát tình trạng hầu TBD hoạt lực trong dung dịch pha loãng có chứa 0,2; 0,4; 0,6; 0,8M  $K^+$  tại 3 thời điểm thu mẫu khác nhau ở Hình 3.6 ta thấy chúng bị bất hoạt trong dung dịch chứa 0,2 và 0,8M thời điểm L1. Ở Hình 6 (A), phần trăm hoạt lực của tình trạng lớn nhất ở nồng độ 0,4M thời điểm L2 (93±4,36%) và thấp nhất ở nồng độ 0,6M thời điểm L1 (6,33±3,51%). Giá trị lớn nhất này có sự sai khác về ý nghĩa thống kê so với các giá trị khác trong những thời điểm thu mẫu ( $P<0,05$ ) nhưng không có sự sai khác về ý nghĩa thống kê so với nồng độ 0,4M thời điểm L3 (91,66±2,52%) ( $P>0,05$ ).

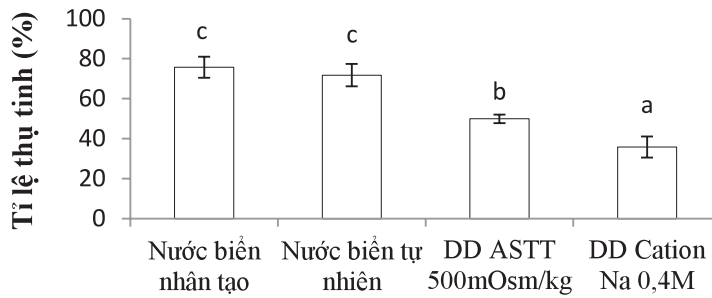
Theo Hình 6 (B), ta thấy tình trạng hầu TBD sống lâu nhất trong dung dịch có nồng độ 0,4M thời điểm L2 (11240±670,02s) và có tuổi thọ ngắn nhất khi được pha loãng với dung dịch có nồng độ 0,2M  $K^+$  thời điểm L2 (3414±2663,78s). Thời gian tình trạng hầu TBD sống lâu nhất có sự sai khác về ý nghĩa thống kê với các thời gian sống khi được pha trong dung dịch có nồng độ cation  $K^+$  khác trong từng thời điểm thu mẫu ( $P<0,05$ ). Tuy

nhien, thời gian này lại không có sự sai khác về ý nghĩa thống kê so với thời gian tình trạng sống khi được pha loãng ở nồng độ 0,6M tại thời điểm L2 (11240±969,95s) ( $P>0,05$ ).

Kết quả này tương tự với nghiên cứu trên Cầu gai (*Tripneustes gratila*) [1], nhưng lớn hơn rất nhiều so với nghiên cứu trên sò điệp Nhật Bản (*Patinopecten yessoensis*) tình trạng có hoạt lực tốt nhất khi pha loãng ở dung dịch có nồng độ  $K^+=0,01M$  (pH=7) [5].

#### 4. Thử nghiệm cho thụ tinh nhân tạo

Sau khi tiến hành cho thụ tinh nhân tạo ở 4 môi trường khác nhau bao gồm nước biển nhân tạo, nước biển tự nhiên đã qua xử lý, dung dịch có áp suất thẩm thấu 500 mOsm/kg và dung dịch chứa cation  $Na^+$  0,4M thu được kết quả tốt nhất ở môi trường nước biển nhân tạo với tỉ lệ thụ tinh đạt 75,77±5,26%. Tỉ lệ thụ tinh ở môi trường nước biển tự nhiên thấp hơn không đáng kể đạt 71,78±3,25%. Khi cho thụ tinh nhân tạo trong dung dịch có áp suất thẩm thấu 500 mOsm/kg tỉ lệ thụ tinh đạt 49,94±2,12%. Thấp nhất ở dung dịch chứa cation  $Na^+$  0,4M với



Hình 7: Ảnh hưởng của môi trường thụ tinh đến tỉ lệ thụ tinh nhân tạo Hàu TBD

35,8±5,27%. Kết quả được mô tả ở Hình 3.7.

Kết quả tốt nhất này lại không sai khác về ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức cho thụ tinh trong nước biển tự nhiên ( $P>0,05$ ). Nhưng vẫn có sự sai khác về mặt ý nghĩa thống kê so với 2 nghiệm thức thụ tinh trong dung dịch có ASTT 500 mOsm/kg và dung dịch cation  $Na^+$  0,4M ( $P<0,05$ ).

#### IV. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

##### 1. Kết luận

**Các yếu tố ảnh hưởng đến hoạt lực tinh trùng hàu TBD**

Tỉ lệ pha loãng 1:200 ở thời điểm thu mẫu L3 tối ưu nhất cho hoạt lực tinh trùng hàu TBD.

Tinh dịch hàu TBD pha loãng trong dung dịch có nồng độ ASTT 500 mOsm/kg thời điểm thu mẫu L3 là có hoạt lực tốt nhất.

Cation  $Na^+$  = 0,4M ở thời điểm L3 thích hợp nhất cho tinh trùng hàu TBD hoạt lực.

Cation  $Ca^{2+}$  = 0,2M ở thời điểm L3 thích hợp nhất cho tinh trùng hàu TBD hoạt lực.

Cation  $Mg^{2+}$  = 0,4M ở thời điểm L3 thích hợp nhất cho tinh trùng hàu TBD hoạt lực.

Cation  $K^+$  = 0,4M thời điểm thu mẫu L2 thích hợp nhất cho tinh trùng hàu TBD hoạt lực.

##### Thử nghiệm cho thụ tinh nhân tạo

Kết quả cho thụ tinh nhân tạo tốt nhất ở nước biển nhân tạo với tỉ lệ thụ tinh đạt 75,77±5,26%.

##### 2. Kiến nghị

Để đánh giá chất lượng tinh trùng tốt hơn, những nghiên cứu sau cần quan sát thêm tỉ lệ tinh trùng bất thường, theo dõi quá trình phát triển phôi, xác định tỉ lệ nở và theo dõi quá trình phát triển của ấu trùng.

Cần đánh giá chất lượng tinh trùng hàu TBD trong khoảng thời gian rộng hơn là suốt mùa vụ sinh sản để có được kết quả khách quan hơn.

Những nghiên cứu sau cần tiến hành đánh giá chất lượng tinh trùng hoạt lực ở các yếu tố nhiệt độ, pH, ánh sáng, độ mặn để biết được giá trị chính xác của từng yếu tố cho tinh trùng hoạt lực tối ưu nhất nhằm nâng cao kết quả thụ tinh và chất lượng con giống trong sản xuất giống nhân tạo.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

##### Tiếng Việt

- Giang Hoàng Hà, Lê Minh Hoàng, Huỳnh Minh Sang. 2014. Nghiên cứu đặc điểm sinh lý sinh sản và thử nghiệm sinh sản nhân tạo cầu gai *Tripneustes gratila* (Linnaeus, 1758). Luận văn Thạc sĩ. Trường Đại học Nha Trang.
- Giang Nguyễn Trường, (2011), Đề tài khoa học cấp nhà nước KC.06/06-10, Báo cáo khoa học của Viện nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản I.
- Hùng Phạm Quốc, Nguyễn Tường Anh, Nguyễn Đình Mão, (2014), Hormone và sự điều khiển sinh sản ở cá.

Nhà xuất bản Nông Nghiệp, Thành phố Hồ Chí Minh.

4. Minh Lê Thị Hồng. 2009. Nghiên cứu kỹ thuật bảo quản tinh hầu Cửa Sông (*Crassostrea rivularis*) trong nitơ lỏng (-196°C) Khóa luận tốt nghiệp. Đại học nông nghiệp Hà Nội.

#### Tiếng Anh

5. Alavi S.M.H., Matsumura N., Shiba K., Itoh N., Takahashi K.G., Inaba K., et al., (2014), Roles of extracellular ions and pH in 5-HT-induced sperm motility in marine bivalve, *Reproduction*, 147,331-345.

6. Cabrita E., Robles V., Herraes P., (2009), *Methods in Reproductive Aquaculture Marine and Freshwater Species*, CRC Press Taylor & Francis Group, 93-149.

7. Faure C., Devauchelle N., Girard J. P., (1994), Ionic factors affecting motility, respiration and fertilization rate of the sperm of the bivalve *Pecten maximus* (L.), *Journal of Comparative Physiology B*, 164,(6),444-450.

8. Fauvel C., M. Suquet, J. Cosson, (2010), Evaluation of fish sperm quality, *Journal of Applied Ichthyology*, 26,(5),636 - 643.

9. Le M.H., Lim H.K., Min B.H., Park M.S., Chang Y.J., (2011b), Semen cryopreservation of yellow croaker *Larimichthys polyactis*, *Reviews in fish biology and fisheries*, 21,789-797.

10. Yao Z., Richardson G.F., Crim L.W., (1999), A diluent for prolonged motility of ocean pout (*Macrozoarces americanus*) sperm, *Aquaculture*, 174,(1-2),183-193.

11. Persov G.M., (1941), "An account of sturgeon culture work with reference to the use of the method of pituitary injections", in Gerbil'skii, N.L., Editor, *The method of pituitary injections and its role in reproduction of fish resources*. 42 - 50 p.