

THÔNG BÁO KHOA HỌC

ẢNH HƯỞNG CỦA hCG VÀ LHRH-A LÊN ĐẶC ĐIỂM SINH LÝ SINH SẢN CÁ ĐÌA (SIGANUS GUTTATUS)

EFFECTS OF hCG & LHRH-A ON REPRODUCTIVE PHYSIOLOGY IN GOLDEN RABBIT FISH (SIGANUS GUTTATUS)

Phạm Quốc Hùng¹, Phạm Huy Trường², Nguyễn Văn An³

Ngày nhận bài: 14/8/2018; Ngày phản biện thông qua: 10/9/2018; Ngày duyệt đăng: 28/9/2018

TÓM TẮT

Nghiên cứu được thực hiện trên 60 mẫu cá cái có chiều dài và khối lượng toàn thân trung bình lần lượt là $31,22 \pm 2,28$ cm và $606,67 \pm 104,04$ gram. Thí nghiệm được bố trí bởi 3 nghiệm thức, mỗi nghiệm thức 20 mẫu. Nghiệm thức 1 (đối chứng) cá được tiêm nước muối sinh lý; nghiệm thức 2: cá được tiêm 1500 IU hCG/kg cá cái và nghiệm thức 3: cá được tiêm 50 μ g LHRH-A + 5mg DOM/kg cá cái. Trước và sau khi tiêm 12 giờ và 24 giờ, cá được giải phẫu để thu buồng trứng, đánh giá mức độ thành thục và phân tích thành phần sinh hóa. Kết quả phân tích cho thấy, thành phần sinh hóa của buồng trứng cá trước và sau khi tiêm có sự thay đổi lớn về hàm lượng protein và lipid trong buồng trứng. Sức sinh sản tuyệt đối dao động từ 420.632 đến 732.353 trứng/cá cái. Sức sinh sản tương đối dao động từ 826 đến 1221 trứng/g cá cái. Kích thước noãn bào ở giai đoạn chưa thành thục dao động từ 53 đến 148 μ m và ở giai đoạn thành thục dao động từ 364 đến 371 μ m.

Từ khóa: Cá đìa, *Siganus guttatus*, thành phần sinh hóa, trứng cá, LHRH-A, hCG

ABSTRACT

The experiment was conducted on 60 broodfish *Siganus guttatus* with total length and body weight were 31.22 ± 2.28 cm và 606.67 ± 104.04 gram, respectively. There were 3 treatments in the study. Fish in treatment 1 (control) were injected with saline water; fish in treatment 2 were injected with 1500 IU hCG/kg and fish in treatment 3 were injected with 50 μ g LHRH-A + 5 mg DOM/kg. Before and after injection at 12 hours and 24 hours interval, fish were sacrificed to collect gonads, evaluate mature degree and to analyze egg biochemical compositions. The results indicated that the egg biochemical compositions before and after injection were different for protein and lipid levels. The absolute fecundities varied from 420,632 to 732,353 egg per female depending upon the size of fish. The relative fecundities ranged from 826 to 1221 egg per g of female. Immature egg diameter varied between 53 and 148 μ m, while mature egg diameter varied between 364 and 371 μ m.

Keywords: Rabbit fish, *Siganus guttatus*, biochemical composition, egg, LHRH-A, hCG

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cá đìa (*Siganus guttatus*) hiện được nuôi khá phổ biến tại các vùng đầm phá nước lợ cũng như nuôi lồng trên biển ở nước ta. Đây là loài cá biển có giá trị kinh tế cao, thịt thơm ngon, giàu dinh dưỡng [13]. Tuy nhiên, con giống vẫn còn phụ thuộc vào khai thác tự nhiên [2]. Việc sản xuất giống cá đìa còn gặp nhiều hạn chế như tỷ lệ đẻ thấp, việc ương nuôi ấu trùng gặp nhiều khó khăn, dẫn đến tỷ lệ sống của ấu

trùng không cao, khó đạt được kích thước cá giống. Ở nước ta, nghiên cứu về sinh lý, nội tiết sinh sản và kích thích sinh sản trong điều kiện nuôi nhốt chưa được chú ý đầy đủ [12]. Ngoài ra, việc thử nghiệm các loại hormone hoặc chất kích thích sinh sản như hCG (human chorionic gonadotropin), não thùy thể, GnRH α và một số chất khác lên sự phát triển buồng trứng và quá trình tích lũy noãn hoàng trên cá đìa chưa được thực hiện [1]. Trước bối cảnh đó, chúng tôi thực hiện nghiên cứu ảnh hưởng của hCG và LHRH-A đến một số đặc điểm sinh lý sinh

¹ Viện Nuôi trồng Thủy sản, Trường Đại học Nha Trang

² Trung tâm Khuyến nông Khánh Hòa

³ Trường Đại học Kiên Giang

sản của cá địa cái, nhằm cung cấp dữ liệu khoa học, góp phần hướng đến hoàn thiện quy trình sinh sản nhân tạo và sản xuất giống.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đàn cá nghiên cứu

Đàn cá nghiên cứu có chiều dài và khối lượng toàn thân trung bình lần lượt là $31,22 \pm 2,28$ cm và $606,67 \pm 104,04$ gram. Cá bố mẹ được thu gom từ các lồng bè nuôi trên biển tại Cam Ranh thuộc tỉnh Khánh Hòa ($12^\circ 52' 15''N$, $108^\circ 40' 33''E$) sau đó được thuần dưỡng 10 ngày trong bể xi măng ở mật độ 6 con/m³ trước khi thí nghiệm. Cá được cho ăn hàng ngày bằng thức ăn công nghiệp cho cá biển với thành phần protein (42%), lipid (6%), tro (16%), chất xơ (3%) và độ ẩm (11%) với tỷ lệ 2-3 % trọng lượng thân. Buồng trứng cá cái đang ở giai đoạn tích lũy noãn hoàng. Đàn cá được lựa chọn để thí nghiệm đáp ứng các yêu cầu như: khỏe mạnh, màu sắc tự nhiên, bơi lội linh hoạt, không bị dị tật, dị hình, không có biểu hiện bệnh.

2. Bố trí thí nghiệm

Cá bố mẹ được nuôi trong bể xi măng ở mật độ 3kg/m³ ở điều kiện môi trường thích hợp, như nhiệt độ nước dao động 28-32°C; độ mặn: 28-32‰; pH: 7,8-8,6 và oxy hòa tan (DO): 3,5-4,6 mg/l. Thí nghiệm được bố trí với 3 nghiệm thức.

Nghiệm thức 1: Đối chứng (tiêm nước muối sinh lý)

Nghiệm thức 2: Tiêm 1500 IU hCG/kg cá cái

Nghiệm thức 3: Tiêm 50 µg LHRH-A + 5mg DOM/kg cá cái

Sau khi tiêm, cá được thả lại vào bể nuôi và tiến hành thu mẫu sau các mốc thời gian 12 giờ và 24 giờ. Trong quá trình thí nghiệm cá không được cho ăn. Các yếu tố môi trường được duy trì giống như trước khi tiêm hormone.

3. Phương pháp thu và phân tích mẫu

Kích thước noãn bào được đo trên kính hiển vi quang học có gắn trục vi thị kính. Thành phần sinh hóa của trứng được phân tích tại Viện Công nghệ Sinh học và Môi trường, trường Đại học Nha Trang. Sức sinh sản tuyệt đối là tổng số trứng ở giai đoạn III-IV trong buồng trứng cá cái. Sức sinh sản tương đối là số lượng trứng

giai đoạn III-IV trong 1 gram khối lượng cá cái [10, 11]. Trong nghiên cứu này, cá cái được xem là thành thực khi có một số dấu hiệu như bụng to tròn, mềm đều và lỗ sinh dục nở rộng kết hợp với quan sát buồng trứng sau khi mổ cá. Trong một vài trường hợp khi vuốt nhẹ ở bụng, trứng có thể chảy ra ngoài qua lỗ sinh dục. Trước khi tiêm hormone, chúng tôi giải phẫu ngẫu nhiên 10 cá cái để đánh giá mức độ thành thực của buồng trứng, cũng như xác định một số đặc điểm sinh lý, sinh học sinh sản. Sau khi cá được tiêm hormone, 12 giờ và sau 24 giờ, chúng tôi tiến hành giải phẫu, đánh giá mức độ thành thực và phân tích thành phần sinh hóa của buồng trứng để so sánh với trước khi tiêm.

4. Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu được trình bày dưới dạng giá trị trung bình \pm độ lệch chuẩn (Mean \pm SD). Số liệu được xử lý sơ bộ bằng phần mềm Microsoft Excel 2013. Ảnh hưởng của hormone hCG và LHRH-A đến thành phần sinh hóa của trứng cá được phân tích theo phương pháp phương sai một yếu tố (One-way ANOVA) và kiểm định Duncan với mức ý nghĩa $P < 0,05$ thông qua phần mềm SPSS version 18.0.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

1. Sức sinh sản và kích thước noãn bào của đàn cá thí nghiệm

Sức sinh sản là một trong những chỉ tiêu sinh học sinh sản quan trọng. Qua đó, chúng ta có thể ước tính số lượng trứng đẻ ra mỗi lần, từ đó xây dựng kế hoạch sản xuất giống sát với thực tế và yêu cầu. Kết quả xác định sức sinh sản của chúng tôi trên đàn cá cái có khối lượng dao động từ 440 đến 600 gram có kết quả thể hiện ở Bảng 1. Trong nghiên cứu này sức sinh sản tuyệt đối của cá địa dao động từ 420.632 đến 732.353 trứng, tương ứng với sức sinh sản tương đối dao động từ 826 đến 1221 trứng/g cá cái. Nghiên cứu của Yeldan và Avsar [14] trên cá địa *Siganus rivulatus*, chỉ ra rằng sức sinh sản tuyệt đối trung bình là 434.761 trứng/cá cái.

Các loài cá có kích thước noãn bào lớn thường có sức sinh sản nhỏ và ngược lại, những loài cá có sức sinh sản lớn thường có kích thước noãn bào nhỏ. Sức sinh sản và kích thước noãn

Bảng 1: Sức sinh sản của đàn cá nghiên cứu theo khối lượng cá cái

STT	Kích thước cá cái (chiều dài và khối lượng)	Sức sinh sản tuyệt đối (trứng III-IV/cá cái)	Sức sinh sản tương đối (trứng/gram cá cái)
1	29 cm; 440 g	420.632	956
2	31 cm; 580 g;	478.943	826
3	30 cm; 600 g;	732.353	1.221
	Trung bình ± độ lệch chuẩn	543.976 ± 165.724	1001 ± 201

bào còn phụ thuộc vào tập tính chăm sóc con của cá bố mẹ [10, 11]. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi về kích thước noãn bào qua các giai đoạn phát triển được thể hiện ở Bảng 2. So với các loài cá địa khác cùng họ, đường kính trứng thành thực của cá địa *Siganus rivulatus* lớn hơn cá địa *Siganus guttatus* và trung bình đạt 440

µm [14]. Cá địa là loài thụ tinh ngoài, do đó trong môi trường tự nhiên có nhiều yếu tố bất lợi như nhiệt độ, dòng chảy, kẻ thù do vậy sức sinh sản của cá phải lớn để tăng tần xuất bắt gặp tinh trùng, tỷ lệ thụ tinh và duy trì giống loài đặc biệt đối với các loài cá không có tập tính chăm sóc trứng.

Bảng 2: Kích thước noãn bào đàn cá thí nghiệm

STT	Các giai đoạn phát triển noãn bào	Đường kính (µm)
1	Phase nhân và chất nhiễm sắc tiền ngoại vi nhân	53 ± 12
2	Phase tiền ngoại vi nhân và ngoại vi nhân	82 ± 18
3	Phase không bào hóa	148 ± 40
4	Phase thể noãn hoàng – tích lũy noãn hoàng	364 ± 40
5	Phase cực hóa, chín và rụng trứng	371 ± 52

2. Thành phần sinh hóa của trứng cá

Protein, ẩm, tro và lipid là các chỉ tiêu sinh hóa căn bản phản ánh mức độ tích lũy dinh dưỡng hay noãn hoàng trong tế bào trứng,

từ đó dự báo mức độ thành thực của cá [1]. Do đó việc xác định thành phần sinh hóa của trứng cá trong tuyến sinh dục là cần thiết. Kết quả nghiên cứu được thể hiện ở Bảng 3 và 4.

Bảng 3: Biến động thành phần sinh hóa trong buồng trứng cá địa cái (giai đoạn IV) sau khi tiêm 1500 IU hCG/kg cá cái

Thời điểm	Thành phần sinh hóa			
	Độ ẩm (%)	Tro (%)	Protein (%)	Lipid (%)
Trước khi tiêm	67,91 ± 0,1 ^a	0,32 ± 0,1 ^a	21,74 ± 0,05 ^a	28,83 ± 0,1 ^b
12 giờ sau khi tiêm	65,4 ± 0,1 ^a	0,75 ± 0,1 ^a	37,9 ± 0,05 ^b	6,5 ± 0,1 ^a
24 giờ sau khi tiêm	66,8 ± 0,1 ^a	0,78 ± 0,1 ^a	36,98 ± 0,05 ^b	5,5 ± 0,1 ^a

Các ký tự khác nhau trong cùng một cột cho thấy sự khác nhau có ý nghĩa thống kê (p<0.05) (one-way ANOVA và Duncan's post-hoc test).

Kết quả phân tích chỉ ra không có sự sai khác về độ ẩm và tro ($P > 0,05$) trước và sau khi cá cái được tiêm hCG. Tuy nhiên, hàm lượng protein và lipid đã có sự khác nhau có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$) ở thời điểm 12 giờ và 24 giờ sau khi cá được tiêm hormone (Bảng 3). Tương tự như vậy thành phần sinh hóa buồng trứng cá cũng được quan sát đối với nghiệm thức tiêm LHRH-A + 5mg DOM (Bảng 4).

LHRH-A là GnRH tổng hợp, tác động lên tuyến yên, kích thích tuyến yên tiết kích dục

tổ. Các kích dục tố như FSH và LH đến lượt mình ảnh hưởng lên tuyến sinh dục, kích thích tuyến sinh dục tiết hormon steroid [1, 4]. Từ đó, steroid kích thích tế bào gan tổng hợp chất tiền noãn hoàng và sau đó kết nạp vào noãn bào. hCG gây được những phản ứng oxy hóa cho các enzym chuyển hóa protein và lipid như dehydrogenaza và esteraza [1, 5]. Do đó dưới ảnh hưởng của hCG, hàm lượng protein và lipid trong buồng trứng có sự gia tăng hàm lượng đáng kể.

Bảng 4: Biến động thành phần sinh hóa trong buồng trứng cá địa (giai đoạn IV) sau khi tiêm 50 µg LHRH-A + 5mg DOM/kg cá cái

Thời điểm	Thành phần sinh hóa			
	Độ ẩm (%)	Tro (%)	Protein (%)	Lipid (%)
Trước khi tiêm	67,91 ± 0,1 ^a	0,32 ± 0,1 ^a	21,74 ± 0,05 ^a	28,83 ± 0,1 ^b
12 giờ sau khi tiêm	71,8 ± 0,1 ^a	0,79 ± 0,1 ^a	36,89 ± 0,05 ^b	6,4 ± 0,1 ^a
24 giờ sau khi tiêm	58,8 ± 0,1 ^a	0,72 ± 0,1 ^a	33,65 ± 0,05 ^b	8,1 ± 0,1 ^a

Các ký tự khác nhau trong cùng một cột cho thấy sự khác nhau có ý nghĩa thống kê ($p < 0.05$) (one-way ANOVA và Duncan's post-hoc test).

Thành phần lipid và protein trong trứng đóng vai trò quan trọng. Chất lượng noãn hoàng cũng như tỷ lệ dưỡng chất trong trứng ảnh hưởng đến quá trình phát triển phôi và chất lượng ấu trùng cá về sau [7, 8]. Do vậy việc đảm bảo các yếu tố môi trường, bổ sung dinh dưỡng trong khẩu phần ăn cho cá bố mẹ trong quá trình nuôi vỗ hoặc can thiệp bằng hormone ngoại sinh như hCG hay LHRH-A là cần thiết, giúp thúc đẩy quá trình tích lũy noãn hoàng và thành thực sớm. Trong điều kiện nuôi nhốt, các yếu tố môi trường thường bất lợi gây stress cho cá, ức chế sự tiết hormone sinh dục và sinh sản, từ đó các quá trình trao đổi chất, chuyển hóa năng lượng và tích lũy noãn hoàng đều chậm do thiếu hormone kích thích. Do vậy việc tiêm hCG và LHRH-A đã kích thích tuyến sinh dục tiết steroid kích thích sự thành thực của noãn bào, chín và rụng trứng [1, 4,5]

3. Đánh giá mức độ thành thực của cá sau khi tiêm hormone

Sau khi tiêm hormone, cá được giải phẫu để kiểm tra độ thành thực của buồng trứng từ

đó đánh giá ảnh hưởng của hCG và LHRH-A lên khả năng chuyển hóa của buồng trứng. Kết quả đánh giá ở các mốc thời gian 12 giờ và 14 giờ sau khi tiêm được thể hiện ở Bảng 5. Buồng trứng của đàn cá nghiên cứu trước khi tiêm hormone được đánh giá có độ thành thực không đồng đều. Các buồng trứng của các cá bắt gặp đang ở giai đoạn II, III và IV. Sau khi tiêm hormone 12 giờ và 24 giờ, độ thành thực của buồng trứng ở các nghiệm thức không có sự sai khác. Hơn nữa độ thành thực sau khi tiêm không khác so với trước khi tiêm. Các cá thể cá sau khi giải phẫu có độ thành thực của buồng trứng giai đoạn II, III và IV. Tuy nhiên quan sát của chúng tôi có hơn 80% số cá cái có buồng trứng giai đoạn III-IV. Điều này chưa thể nhận định rằng hCG và LHRH-A có vai trò ảnh hưởng đến sự phát triển của noãn bào, kích thích nang trứng tiết estradiol và thúc đẩy sự tích lũy noãn hoàng và thành thực của cá địa cái.

Từ kết quả thu được, chúng tôi có thể nhận định rằng trong khoảng thời gian 12-24 giờ là




Bảng 5: Mức độ thành thực của cá cái sau khi tiêm hormone

Thời điểm	Nghiệm thức		
	Đối chứng (nước muối sinh lý)	hCG	LHRH-A + DOM
Trước khi tiêm		Giai đoạn II, III và IV	
12 giờ sau khi tiêm	Giai đoạn III	Giai đoạn V	Giai đoạn II, III
24 giờ sau khi tiêm	Giai đoạn III, IV	Giai đoạn II, IV	Giai đoạn II, III

chưa đủ dài để các quá trình chuyển hóa về mặt sinh lý và nội tiết sinh sản diễn ra, kích thích sự thành thực hoàn toàn của noãn bào và buồng trứng. Quá trình thành thực sinh dục ngoài yếu tố hormone, còn có cả các yếu tố môi trường,

đinh dưỡng và sự có mặt của con khác giới. Đặc biệt cá dia là loài đẻ trứng dính do đó sự có mặt của các giá thể cũng có ảnh hưởng đến sự thành thực.

Hình 1: Phân loại độ thành thực của buồng trứng cá dia (*Siganus guttatus*) [3, 6, 9]

		
Cá dia <i>Siganus guttatus</i>	Buồng trứng giai đoạn II: màu hồng nhạt, thể tích nhỏ, mạch máu nhỏ xung quanh. các hạt trứng không thể quan sát bằng mắt thường.	Buồng trứng giai đoạn IV: màu sắc đậm, mạch máu phát triển, thể tích và khối lượng tăng lên đáng kể, các hạt trứng to và có thể quan sát bằng mắt thường.

IV. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

hCG và LHRH-A là hai hormone ngoại sinh ở liều lượng 1500 IU hCG và 50 µg LHRH-A kết hợp 5 mg DOM đã có ảnh hưởng đến thành phần sinh hóa của trứng cá dia (*Siganus guttatus*), thúc đẩy quá trình tích lũy dinh dưỡng (protein noãn hoàng) vào noãn bào. Tuy nhiên sự ảnh hưởng của hCG và LHRH-A lên mức độ thành thực hoàn toàn của buồng trứng giữa các nghiệm thức cũng như ở các thời điểm trước và sau khi tiêm hormone không thể hiện rõ ràng. Do đó để nắm rõ tác động của 2 loại hormone này, các nghiên cứu tiếp theo về cơ chế ảnh hưởng, hàm lượng steroid hormone trong huyết tương cần phải

được thực hiện.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Quỹ phát triển khoa học và công nghệ quốc gia (*NAFOSTED*) trong đề tài mã số **106.05-2017.40.**

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Tiếng Việt

1. Nguyễn Tường Anh - Phạm Quốc Hùng, 2016. Sách chuyên khảo “Cơ sở ứng dụng Nội tiết học Sinh sản cá”. Nhà xuất bản Nông nghiệp 2016, 180 trang.
2. Lê Văn Dân và Lê Đức Ngoan, 2006. “Nghiên cứu sự phát triển tuyến sinh dục cá diêm (Siganus guttatus Bloch, 1787) ở vùng đầm phá Thừa Thiên Huế”, Tạp chí Nông nghiệp và phát triển nông thôn 2; 2006, tr. 61-64.
3. Lê Hoàng Thị Mỹ Dung, Phạm Quốc Hùng, 2015. Sách hướng dẫn thực hành “Sinh học động vật thủy sản thực hành – Sinh học sinh sản và phát triển”, Nhà xuất bản Nông nghiệp 2015.
4. Phạm Quốc Hùng (chủ biên), Nguyễn Tường Anh, Nguyễn Đình Mão, 2014. Sách tham khảo: “Hormon và sự điều khiển sinh sản ở cá”, Nhà xuất bản Nông nghiệp 2014.
5. Phạm Quốc Hùng & Nguyễn Tường Anh, 2011. Sách tham khảo: “Sinh sản nhân tạo cá - ứng dụng hormone steroid”, Nhà xuất bản Nông nghiệp 2011.
6. Phạm Quốc Hùng, Phan Văn Út, Lê Minh Hoàng, Nguyễn Văn Minh, Phạm Phương Linh, 2017. Chu kỳ phát triển buồng trứng và ảnh hưởng của Vitamin C lên một số đặc điểm sinh học sinh sản cá Diêm (Siganus guttatus). Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn; Số 3+4/2017, trang 190-195.

Tiếng Anh

7. Pham H. Q., Phan U. V., 2016. Embryonic and larval development and effects of salinity levels on egg and ovary performances in rabbit fish (*Siganus guttatus*) The Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh; Vol 68, 2016, pp: 1-7.
8. Pham, H. Q. and Le, H. M., 2016, Effects of Thyroxin and Domperidone on Oocyte Maturation and Spawning Performances in the Rabbit Fish, *Siganus guttatus*. J World Aquacult Soc. Vol 47 (5), 691-700. doi:10.1111/jwas.12312
9. Pham Quoc Hung, Phan Van Ut, Nguyen Van An, Le Minh Thong, Ngo Van Luong, 2016. Seasonal ovary development and effects of vitamine E on egg performances in the rabbit fish (*Siganus guttatus*). Journal of Fisheries Science and Technology, Nha Trang University, Vol 3/2016: 72-77.
10. Nikolskii, G. V. 1963. The ecology of fishes : G. V. Nikolsky / translated from the Russian by L. Birkett Academic Press London, 353.
11. Sakun, O.F. và Butskaya N.A. 1968. Chu kỳ phát triển tuyến sinh dục của cá (Nguyễn Tường Anh dịch). Tài liệu lưu hành nội bộ.
12. Sri Susilo, E., Harnadi, L. and Takemura, A. 2009. Tropical monsoon environments and the reproductive cycle of the orange-spotted spinefoot *Siganus guttatus*. Marine Biology Research, 5: 179-185.
13. Soletchnik, P., 1984. Aspects of nutrition and reproduction in *Siganus guttatus* with emphasis on application to aquaculture. Tigbauan, Iloilo: SEAFDEC AQD; 75 p.
14. Yeldan H., and Avsar D., 2000. A Preliminary Study on the Reproduction of the Rabbitfish (*Siganus rivulatus*) in the Northeastern Mediterranean. Turk J Zool 24, 173-182.