

THÔNG BÁO KHOA HỌC

ẢNH HƯỞNG CỦA TỈ LỆ PHA LOÃNG, NỒNG ĐỘ THẨM THẤU VÀ NỒNG ĐỘ CÁC CATION LÊN HOẠT LỰC TINH TRÙNG HÀU THÁI BÌNH DƯƠNG (*Crassostrea gigas* Thunberg, 1793)

EFFECTS OF DILUTION RATIO, OSMOLALITY AND CONCENTRATIONS OF CATIONS ON SPERM MOTILITY IN PACIFIC OYSTER (*Crassostrea gigas* Thunberg, 1793)

Nguyễn Thị Tý Trâm¹, Trương Thị Bích Hồng¹,
Mai Như Thủy¹, Lê Minh Hoàng¹

Ngày nhận bài: 4/4/2018; Ngày phân biện thông qua: 29/5/2018; Ngày duyệt đăng: 25/6/2018

TÓM TẮT

Mục tiêu của nghiên cứu là tìm ra tỉ lệ pha loãng, nồng độ thẩm thấu và nồng độ các cation tối ưu cho hoạt lực tinh trùng hàu Thái Bình Dương *Crassostrea gigas*. Tinh trùng hàu Thái Bình Dương được pha loãng ở các tỉ lệ 1:50, 1:100, 1:150 và 1:200 (tinh dịch: nước biển nhân tạo) để xác định tỉ lệ pha loãng cho hoạt lực tinh trùng tốt nhất. Sau đó, tỉ lệ pha loãng này được sử dụng cho các thí nghiệm áp suất thẩm thấu (nồng độ 300, 400, 500, 600 mOsm/kg) và cation Na^+ , Ca^{2+} , K^+ , Mg^{2+} (nồng độ 0,2; 0,4; 0,6; 0,8M). Mỗi quan sát được lặp lại 3 lần. Kết quả cho thấy, hoạt lực tinh trùng hàu Thái Bình Dương tốt nhất khi pha loãng ở tỉ lệ 1:200; áp suất thẩm thấu 500 mOsm/kg; nồng độ tối ưu của các cation Na^+ , K^+ , Ca^{2+} lần lượt là 0,4M, 0,4M và 0,2M. Khi có sự hiện diện của Mg^{2+} , tinh trùng hàu không có hoạt lực ở các nồng độ được thực hiện trong nghiên cứu. Tỉ lệ thụ tinh đạt cao nhất khi thụ tinh trong môi trường nước biển nhân tạo, tiếp theo môi trường nước biển tự nhiên đã xử lý, sau đó là 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 $75,77 \pm 5,26\%$; $71,78 \pm 3,25\%$; $49,94 \pm 2,12\%$; $35,8 \pm 5,27\%$.

Từ khóa: Hàu Thái Bình Dương, tỉ lệ pha loãng, áp suất thẩm thấu, cation, hoạt lực tinh trùng

ABSTRACT

The objective of the present study was to determine the optimal dilution rate, osmotic pressure and cation concentrations on sperm motility of *Crassostrea gigas*. Semen was diluted in artificial seawater at different ratios (1:50, 1: 100, 1: 150 and 1: 200) to find the best dilution ratio for sperm motility. Then, the best dilution rate from this experiment was applied for osmotic pressure tests (concentrations of 300, 400, 500, 600 mOsm/kg) and effect of cations Na^+ , Ca^{2+} , K^+ , Mg^{2+} (concentration 0, 2, 0.4, 0.6, 0.8M). Each observation was repeated 3 times. The results indicated that the best performance of Pacific oyster sperm were remarkable at the dilution rate 1: 200; osmolality 500 mOsm/kg and the cation concentrations of Na^+ and K^+ 0.4M, Ca^{2+} 0.2M. In the presence of Mg^{2+} , sperm of Pacific oyster were not active at any concentrations in the study. The highest fertilization rates was observed when artificial inseminating in artificial seawater, followed by the treated natural sea water, than by a 500 mOsm/kg osmotic pressure solution and the lowest in Na^+ 0.4M solution with respectively the result are $75.77 \pm 5.26\%$; $71.78 \pm 3.25\%$; $49.94 \pm 2.12\%$; $35.8 \pm 5.27\%$.

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

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hàu Thái Bình Dương (TBD) *Crassostrea gigas* là loài nhuyễn thể có giá trị kinh tế cao, thịt thơm ngon, giàu dinh dưỡng và có tốc độ sinh trưởng nhanh, chỉ sau 8 tháng nuôi hàu đã

đạt kích thước thương phẩm [2]. Đến nay, hàu TBD đã trở thành một trong những đối tượng nuôi chính trong các loài động vật thân mềm. Tuy nhiên, ở Việt Nam, hàu là đối tượng được di nhập nên nguồn cung cấp giống cho người nuôi chủ yếu từ sản xuất giống nhân tạo. Để sản

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

xuất giống nhân tạo tại chỗ, chủ động con giống có chất lượng đáp ứng nhu cầu nuôi thương phẩm, ngoài chất lượng trứng thì chất lượng tinh trùng đưa vào sinh sản nhân tạo cũng phải cao. Hoạt lực tinh trùng là thông số cơ bản để đánh giá được chất lượng và khả năng thụ tinh của tinh trùng hàu TBD. Có nhiều yếu tố ảnh hưởng đến chất lượng tinh trùng như: mùa vụ sinh sản, thời điểm thu mẫu, nhiệt độ, thức ăn... [5]. Hoạt lực tinh trùng cũng bị ảnh hưởng bởi một vài yếu tố trong môi trường hoạt động của chúng như tỉ lệ pha loãng, áp suất thẩm thấu và nồng độ các cation (Na^+ , Ca^{2+} , K^+ , Mg^{2+}). Những nghiên cứu tương tự đã được thực hiện trên rất nhiều đối tượng cá biển như cá đù vàng (*Larimichthys polyactis*) [13], cá bơn Đại Tây Dương (*Hippoglossus hippoglossus*) [12], cá chêm mõm nhọn (*Psammoperca waigiensis*) [6], cá mú cạp (*Epinephelus fuscoguttatus*) [4], cá dia (*Siganus guttatus*) [3] ... Tuy nhiên, báo cáo về ảnh hưởng của tỉ lệ pha loãng, áp suất thẩm thấu và các cation lên hoạt lực tinh trùng động vật thân mềm cũng như hàu TBD còn rất hạn chế. Vì vậy, nghiên cứu “Ảnh hưởng tỉ lệ pha loãng, áp suất thẩm thấu và các cation lên hoạt lực tinh trùng hàu Thái Bình Dương” được thực hiện góp phần đóng góp những thông tin hữu ích cho bảo quản lạnh tinh trùng và cải thiện môi trường thụ tinh nhân tạo loài này tốt hơn.

II. VẬT LIỆU PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Thu mẫu tinh hàu TBD

Hàu TBD được lấy tại các điểm thu mua hàu và lựa chọn kĩ càng về kích thước thành thực dao động từ 8 – 10 cm, sau đó được vận chuyển về phòng thí nghiệm tiến hành kiểm tra giới tính. 1µl sản phẩm sinh dục được hòa với nước biển nhân tạo và quan sát trên kính hiển vi. Nếu mẫu là trứng thì có hình quả lê hoặc hình tròn không chuyển động, nếu là tinh trùng thì chúng có kích thước nhỏ và vận động, trứng có đường kính lớn hơn tinh trùng gấp nhiều lần. Sau khi xác định giới tính, những con đực được giữ trên đá lạnh để tiến hành thí nghiệm.

2. Đánh giá sơ bộ chất lượng tinh trùng

Tinh trùng được pha loãng với tỉ lệ 1:100 (1µl tinh dịch trong 100 µl nước biển nhân tạo), hỗn hợp được 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. Thí nghiệm ảnh hưởng của tỉ lệ pha loãng lên hoạt lực tinh trùng

Để tiến hành thí nghiệm này, tinh trùng của hàu được pha loãng trong nước biển nhân tạo với các tỉ lệ 1:50; 1:100; 1:150; 1:200 (tinh dịch: nước biển nhân tạo). Nước biển nhân tạo dùng để pha loãng tinh trùng có thành phần gồm: 27g NaCl; 0,5g KCl; 1,2g CaCl_2 ; 4,6g MgCl_2 và 0,5g NaHCO_3 được pha trong 1 lít nước cất. Quan sát hoạt lực của tinh trùng dưới kính hiển vi có kết nối camera 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.

4. Thí nghiệm ảnh hưởng của áp suất thẩm thấu lên hoạt lực tinh trùng

Sử dụng dung dịch NaCl với các mức nồng độ khác nhau 300; 400; 500; 600 mOsm/kg để pha loãng tinh trùng với tỷ lệ tối ưu đã xác định ở trên. Dựa vào thời gian hoạt lực của tinh trùng và phần trăm số tinh trùng hoạt lực để phân tích, xác định nồng độ ASTT tốt nhất cho hoạt lực tinh trùng hàu TBD.

5. Thí nghiệm ảnh hưởng của các cation lên hoạt lực tinh trùng

Để xác định ảnh hưởng của nồng độ cation lên hoạt lực của tinh trùng hàu, thí nghiệm sử dụng bốn loại cation ở những nồng độ khác nhau. Cation Na^+ trong dung dịch NaCl, cation K^+ trong dung dịch KCl, cation Ca^{2+} trong dung dịch CaCl_2 , cation Mg^{2+} trong dung dịch MgCl_2 . Mỗi cation được thí nghiệm với bốn mức nồng độ 0,2; 0,4; 0,6 và 0,8M. Nồng độ tốt nhất cho mỗi loại cation được lựa chọn dựa trên kết quả hoạt lực tinh trùng được kiểm tra.

Hoạt lực tinh trùng được kiểm tra dưới kính hiển vi có độ phóng đại 400 lần. Kính hiển vi được kết nối với máy tính thông qua camera để quan sát hoạt lực của tinh trùng một cách thuận lợi nhất. Hoạt lực tinh trùng được đánh giá dựa vào 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 [12]. Thời gian hoạt lực được

tính từ lúc tinh trùng bắt đầu được kích hoạt vận động cho đến khi ngừng vận động [15].

6. Thử nghiệm cho thụ tinh nhân tạo Thái Bình Dương

Trứng, tinh trùng của một con cái và một con đực thành thực nhất được cho vào lần lượt 4 môi trường nước khác nhau bao gồm nước biển nhân tạo, nước biển tự nhiên đã xử lý sạch, dung dịch có ASTT tối ưu nhất và dung

dịch chứa cation tốt nhất. 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, trứng trong 1 ml mẫu được đếm dưới kính hiển vi. Tổng số trứng thụ đã thụ tinh là trung bình số trứng được đếm trong 3 lần và tỉ lệ thụ tinh được xác định theo công thức:

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

Tỉ lệ thụ tinh=(Số trứng đã thụ tinh)/(Số trứng trong mẫu lấy ngẫu nhiên trong cốc) ×100%

7. Phân tích và xử lý số liệu

Mỗi thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Số liệu được xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel, SPSS 22.0. 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, dùng kiểm định Duncan so sánh sự sai khác giữa các nghiệm thức. Kết quả được trình bày dưới dạng trung bình ± độ lệch chuẩn (SD).

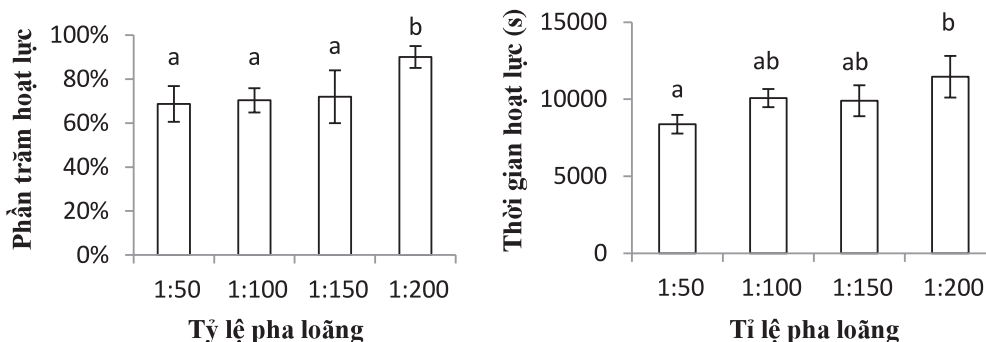
III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

1. Ảnh hưởng của tỉ lệ pha loãng lên hoạt lực tinh trùng

Pha loãng tinh trùng là yếu tố quan trọng giúp kích hoạt toàn bộ tinh trùng cùng một lúc.

Pha loãng giúp giảm mật độ của tinh trùng, vì nếu mật độ quá cao sẽ ảnh hưởng đến khả năng bơi của tinh trùng do chúng phải cạnh tranh cao trong một không gian hẹp dẫn đến nhanh chóng tiêu tốn năng lượng và chết nhanh hơn. Nhưng khi mật độ quá thấp, quãng đường tinh trùng bơi để gặp trứng xa hơn cũng làm giảm khả năng thụ tinh. Do đó, tỉ lệ pha loãng tối ưu là yếu tố quan trọng để giúp tinh trùng có hoạt lực tốt trong thụ tinh nhân tạo [9].

Kết quả thí nghiệm cho thấy có sự sai khác về phần trăm hoạt lực của tinh trùng giữa tỉ lệ pha loãng 1:200 với các tỷ lệ 1:50, 1:100 và 1:150. Tinh trùng có phần trăm hoạt lực cao nhất (90 ± 5%) với tỷ lệ pha loãng 1:200 và thấp nhất là ở tỉ lệ 1:50 (68,66 ± 4,67%). Thời gian hoạt lực của tinh trùng cũng đạt cao nhất với tỷ lệ pha loãng 1:200 (11.460 ± 1.350,99s) và thấp nhất với tỷ lệ 1:50 (8.380 ± 612,86s) (Hình 1).



Hình 1: Ảnh hưởng của tỉ lệ pha loãng lên hoạt lực tinh trùng hàu TBD

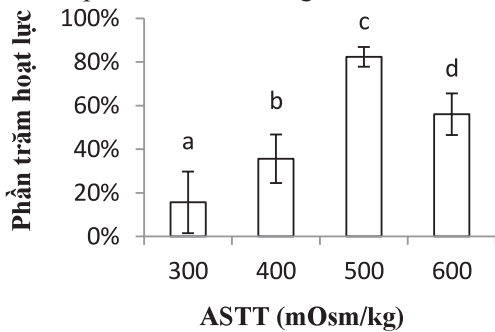
Các chữ cái a, b khác nhau thể hiện sự sai khác có ý nghĩa thống kê của phần trăm và thời gian hoạt lực tinh trùng hàu TBD (P < 0,05)

Kết quả này khác với nghiên cứu trên tinh trùng sò điệp (Pecten maximus) [10] và tinh trùng cầu gai (Tripneustes gratila) [1], với tỉ lệ

pha loãng tốt nhất đã được xác định lần lượt là 1:40 và 1:50.

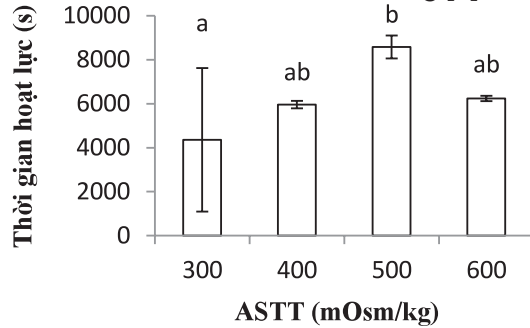
2. Ảnh hưởng áp suất thẩm thấu lên hoạt lực tinh trùng

Kết quả cho thấy, có sự sai khác về phần trăm hoạt lực của tinh trùng giữa các nồng độ thẩm thấu khác nhau. Ở nồng độ thẩm thấu 500 mOsm/kg, tinh trùng hầu TBD có hoạt lực tốt nhất cả về phần trăm và thời gian hoạt lực, lần



lượt là $82,33 \pm 4,51\%$ và $8.580 \pm 519,61s$. Hoạt lực của tinh trùng thấp nhất ở nồng độ thẩm thấu 300 mOsm/kg, với phần trăm hoạt lực là $15,67 \pm 14,15\%$ và thời gian hoạt lực $4.360 \pm 3.258,47s$.

Nghiên cứu trên cầu gai (*Tripneustes gratila*) cho thấy, 500 mOsm/kg cũng là nồng độ thẩm thấu tối ưu cho hoạt lực tinh trùng [1].



Hình 2: Ảnh hưởng của áp suất thẩm thấu lên hoạt lực tinh trùng hầu TBD

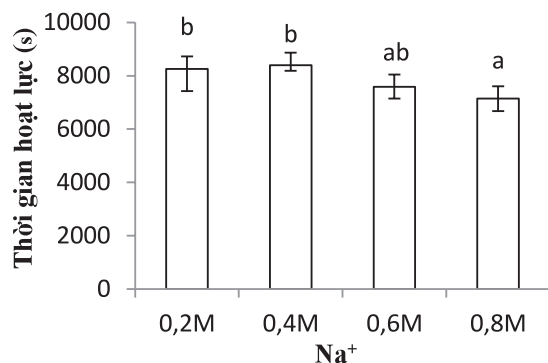
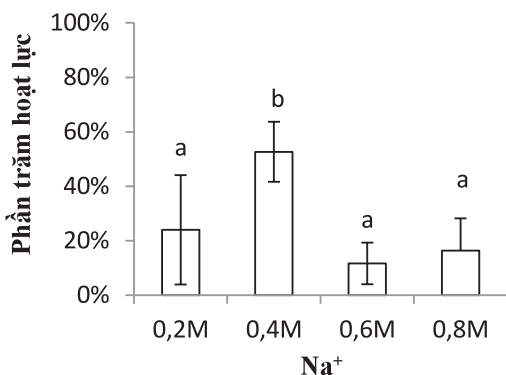
Các chữ cái a, b, c, d khác nhau thể hiện sự sai khác có ý nghĩa thống kê của phần trăm và thời gian hoạt lực tinh trùng hầu TBD ($P < 0,05$)

3. Ảnh hưởng các cation lên hoạt lực tinh trùng hầu TBD

Hầu hết các loài động vật thủy sản đều có năm ion chiếm ưu thế trong huyết tương tinh dịch, bao gồm các cation Natri, Kali, Canxi, Magie và anion Clorua. Tùy theo từng loài mà các cation có nồng độ thích hợp khác nhau, tạo điều kiện tốt nhất cho tinh trùng hoạt động [8].

Cũng giống như các loài cá biển, tinh trùng hầu TBD bất hoạt trong buồng se và dịch

tương, khi được phóng thích vào nước biển, tinh trùng bắt đầu hoạt động. Sự trao đổi Na^+/H^+ qua màng tế bào dẫn đến sự thay đổi pH trong tế bào lần lượt sinh ra các phản ứng năng lượng, kích thích tinh trùng vận động [11]. Cation Na^+ được biết có một vai trò thứ yếu trong việc kích hoạt và điều tiết khả năng vận động của tinh trùng cá và động vật không xương sống khác [8].



Hình 3: Ảnh hưởng của cation Na^+ lên hoạt lực tinh trùng Hầu TBD

Các chữ cái a, b khác nhau thể hiện sự sai khác có ý nghĩa thống kê của phần trăm và thời gian hoạt lực tinh trùng hầu TBD ($P < 0,05$)

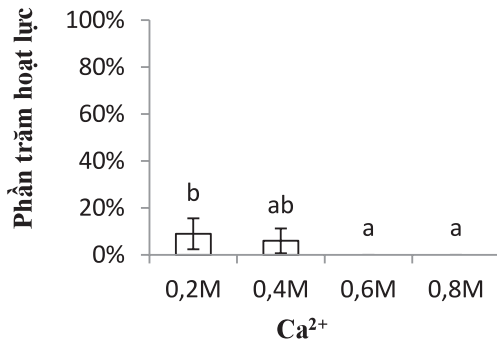
Đối với cation Na^+ , tinh trùng hầu TBD có phần trăm hoạt lực cao nhất là $52,67 \pm 11,02\%$ ở nồng độ 0,4M và có sự sai khác với các nồng độ còn lại. Với nồng độ 0,6M và 0,8M phần trăm hoạt lực tinh trùng rất thấp, lần lượt là

$11,67 \pm 7,64\%$ và $16,33 \pm 11,93\%$. Về thời gian hoạt lực, ở các nồng độ 0,4M, 0,2M à 0,6M, tinh trùng có thời gian hoạt lực lần lượt là $8.400 \pm 216,33s$, $8.260 \pm 832,11s$ và $7.580 \pm 434,05s$. Thời gian hoạt lực thấp nhất là 7.140

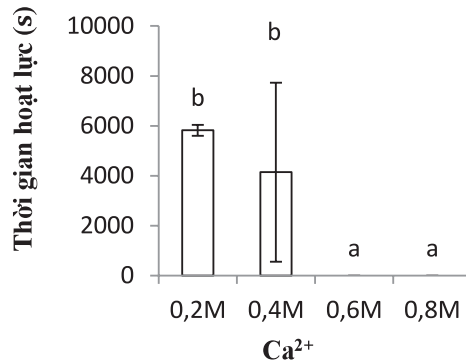
± 468,61s ở nồng độ 0,8M.

Kết quả nghiên cứu trên cầu gai (*Tripneustes gratila*) cho thấy, với nồng độ $Na^+ = 0,2M$, tinh trùng có hoạt lực cao nhất [1].

Đối với Ca^{2+} và K^+ là hai cation chính hiện diện trong huyết tương của tinh dịch và được coi là cation chìa khóa để kích hoạt sự vận động của tinh trùng [9].



Kết quả nghiên cứu trên hàu TBD cho thấy, tinh trùng có hoạt lực tốt nhất ở nồng độ $Ca^{2+} 0,2M$, tuy nhiên hoạt lực rất yếu: chỉ có $9 \pm 6,56\%$ phần trăm tinh trùng hoạt động và thời gian hoạt lực là $5.820 \pm 216,33s$. Hoạt lực tinh trùng thấp hơn ở nồng độ 0,4M với phần trăm và thời gian hoạt lực lần lượt $6 \pm 5,29\%$, $4.140 \pm 3.586,47s$. Còn ở nồng độ 0,6M và 0,8M tinh trùng bị bất hoạt.



Hình 4: Ảnh hưởng của cation Ca^{2+} lên hoạt lực tinh trùng Hàu TBD

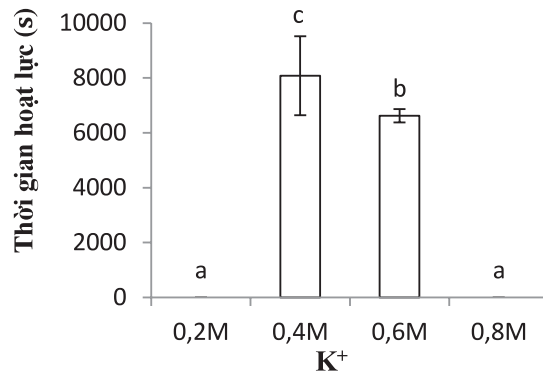
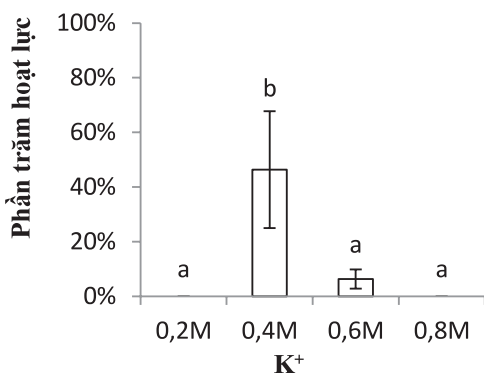
Các chữ cái a, b khác nhau thể hiện sự sai khác có ý nghĩa thống kê của phần trăm và thời gian hoạt lực tinh trùng hàu TBD ($P < 0,05$)

Nghiên cứu trên cầu gai (*Tripneustes gratila*) cũng cho kết quả tương tự như nghiên cứu này [1]. Theo Alavi và ctv (2014), nồng độ Ca^{2+} tốt nhất cho hoạt lực tinh trùng hàu TBD (*Crassostrea gigas*) và sò điệp Nhật Bản (*Patinopecten yessoensis*) là 0,001M [7]. Mỗi loài khác nhau, ở những vùng địa lý khác nhau thì nồng độ cation Ca^+ tốt nhất cho hoạt lực tinh trùng có thể khác nhau.

Ảnh hưởng của cation K^+ lên hoạt lực tinh trùng hàu TBD được thể hiện ở Hình 5.

Ở thí nghiệm này, tại nồng độ 0,2M và 0,8M tinh trùng bị bất hoạt. Tuy nhiên, ở nồng độ 0,4M tinh trùng có hoạt lực cao nhất, với phần trăm hoạt lực là $46,33 \pm 21,36\%$, thời gian hoạt lực là $8.080 \pm 1.437,92s$ và có sự sai khác về hoạt lực của tinh trùng với nồng độ 0,6M ($6,33 \pm 3,51\%$ và $6.620 \pm 242,49s$).

Kết quả này tương tự với nghiên cứu trên cầu gai (*Tripneustes gratila*) [1], nhưng khác so với nghiên cứu trên sò điệp Nhật Bản (*Patinopecten yessoensis*) Tinh trùng sò điệp



Hình 5: Ảnh hưởng của cation K^+ lên hoạt lực tinh trùng Hàu TBD

Các chữ cái a, b khác nhau thể hiện sự sai khác có ý nghĩa thống kê của phần trăm và thời gian hoạt lực tinh trùng hàu TBD ($P < 0,05$)

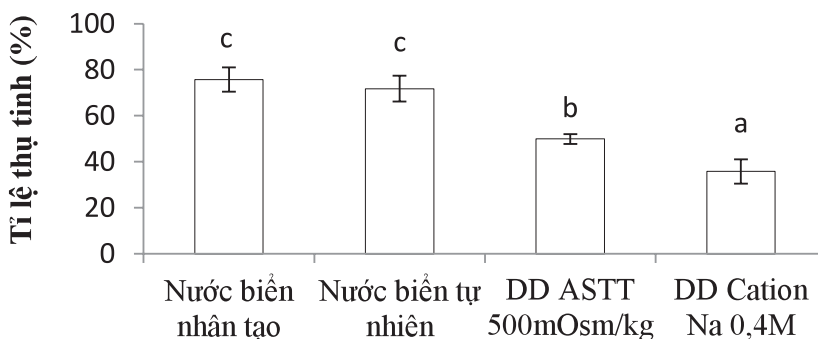
Nhật Bản có hoạt lực tốt nhất ở nồng độ $K^+ = 0,01M$ (pH=7) [7].

Riêng đối với cation Mg^{2+} , tinh trùng hào TBD bị bất hoạt ở tất cả các nồng độ (0,2M, 0,4M, 0,6M và 0,8M).

Kết quả nghiên cứu trên tinh trùng cầu gai (*Tripneustes gratila*) [1] hoạt lực tốt nhất ở 0,2M Mg^{2+} với phần trăm hoạt lực $13 \pm 2,08\%$ và thời gian hoạt lực đạt $2.720 \pm 121,66s$.

4. Thử nghiệm cho thụ tinh nhân tạo hào Thái Bình Dương:

Kết quả thụ tinh nhân tạo hào TBD ở 4 môi trường khác nhau cho thấy có sự sai khác ($P < 0,05$) về tỉ lệ thụ tinh giữa môi trường nước biển (nhân tạo/ tự nhiên) với môi trường dung dịch có nồng độ thẩm thấu 500 mOsm/kg và dung dịch Na^+ 0,4M. Tuy nhiên, kết quả này không có sự sai khác ($P > 0,05$) giữa môi trường nước biển nhân tạo và môi trường nước biển tự nhiên. Tỉ lệ thụ tinh cao nhất ở môi trường nước biển nhân tạo ($75,77 \pm 5,26\%$), tiếp theo là ở môi trường nước biển tự nhiên ($71,78 \pm 3,25\%$) và thấp nhất ở dung dịch chứa cation Na^+ 0,4M ($35,8 \pm 5,27\%$) (Hình 6)



Hình 6: Ảnh hưởng của môi trường thụ tinh đến tỉ lệ thụ tinh nhân tạo Hào TBD

2. Kiến nghị

Tiến hành thêm các thí nghiệm ảnh hưởng của nhiệt độ, pH để đánh giá đầy đủ hơn các yếu tố ảnh hưởng lên hoạt lực tinh trùng hào TBD.

Theo dõi tỉ lệ nở và quá trình phát triển của ấu trùng nhằm đánh giá chất lượng tinh trùng đầy đủ hơn.

IV. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

1. Kết luận

Tinh trùng hào TBD pha loãng ở tỉ lệ 1:200 (tinh dịch: nước biển nhân tạo) cho kết quả tốt nhất về phần trăm hoạt lực ($90 \pm 5\%$) và thời gian hoạt lực ($11.460 \pm 1.350,99s$).

Nồng độ thẩm thấu tối ưu cho hoạt lực của tinh trùng hào TBD là 500 mOsm/kg với phần trăm và thời gian hoạt lực lần lượt là $82,33 \pm 4,51\%$, $8.580 \pm 519,61s$.

Tinh trùng hào TBD hoạt lực tối ưu ở nồng độ $Na^+ = 0,4M$ (với thời gian hoạt lực là $8.400 \pm 216,33s$ và có $52,67 \pm 11,02\%$ tinh trùng hoạt lực); $K^+ = 0,4M$ ($8.080 \pm 1.437,92s$ và $46,33 \pm 21,36\%$).

Trong các nồng độ Ca^{2+} thí nghiệm, ở nồng độ 0,2M tinh trùng có hoạt cao nhất nhưng chỉ có $9 \pm 6,56\%$ phần trăm tinh trùng hoạt động và thời gian hoạt lực là $5.820 \pm 216,33s$.

Tinh trùng hào TBD bị bất hoạt ở tất cả các nồng độ Mg^{2+} thí nghiệm.

Thụ tinh nhân tạo hào TBD đạt kết quả tốt nhất khi thực hiện trong nước biển nhân tạo, với tỉ lệ thụ tinh đạt $75,77 \pm 5,26\%$.

Thực hiện thêm thí nghiệm ảnh hưởng của nồng độ cation Mg^{2+} ở khoảng thời gian rộng hơn với nồng độ khác nhau để có được kết luận chính xác nhất.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Tài liệu tiếng Việt

1. Hoàng Hà Giang, 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*.
2. Nguyễn Trường Giang, 2011, Nghiên cứu công nghệ sản xuất giống thương phẩm hàu Thái bình Dương (*Crassostrea gigas*) phục vụ xuất khẩu. Đề tài khoa học cấp nhà nước KC.06/06-10, Báo cáo khoa học của Viện nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản I.
3. Võ Thị Ngọc Giàu, Phạm Quốc Hùng, 2014, Đánh giá chất lượng tinh trùng cá địa *Siganus guttatus* (Bloch, 1787). *Luận văn thạc sĩ. Trường Đại học Nha Trang*.
4. Hoàng Thị Hiền, Lê Minh Hoàng, 2014, Một số đặc tính của tinh trùng lý, hóa học của tinh trùng cá mú cộp *Epinephelus fuscoguttatus* (Forsskal, 1775). *Luận văn thạc sĩ. Trường Đại học Nha Trang*.
5. Phạm Quốc Hùng, 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.
6. Nguyễn Thị Hồng Nhung, 2013, Nghiên cứu đánh giá chất lượng tinh trùng và ảnh hưởng của một số yếu tố lên hoạt lực tinh trùng cá chêm mõm nhọn *Psammoderus waiginesis* (Cuvier và Valenciennes, 1828). *Luận văn thạc sĩ. Trường Đại học Nha Trang*.

Tài liệu tiếng Anh

7. 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.
8. Cabrita E., Robles V., Herraes P., 2009, Methods in Reproductive Aquaculture Marine and Freshwater Species, CRC Press Taylor & Francis Group, 93-149.
9. Cosson J., Groison L.A., Suquet M., Fauvel C., Dreanno C., Billard R., 2008, Marine fish spermatozoa: racing ephemeral swimmers, *Reproduction*, 136,(3),277-294.
10. 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.
11. Ferdi A., Van DORSTEN., Markus WYSS., Theo WALLIMANN., Klaas NICOLAY., 1997, Activation of sea-urchin sperm motility is accompanied by an inorganic cation exchange flux, *Biochem J*, 325,411-416.
12. Fauvel C., Suquet M., Cosson J., 2010, Evaluation of fish sperm quality. *Journal of Applied Ichthyology*, 26 (5): 636 - 643.
13. Harald B.T., Benfey J.T., Martin-Robichaud D.J., Power J., 2001, The relationship between sperm density, spermatozoa, sperm motility and fertilization success in Atlantic halibut, *Hippoglossus hippoglossus*, *Aquaculture*, 194,(3),277-294.
14. Le M.H., Lim H.K., Min B.H., Park M.S., Son M.H., Lee J.U., et al., 2011, Effects of varying dilutions, pH, temperature and cations on spermatozoa motility in fish *Larimichthys polyactis*, *Environmental Biology*, 32,271-276.
15. 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, LGU Press, Leningrad. 42 - 50.