

THÔNG BÁO KHOA HỌC

ẢNH HƯỞNG CỦA hCG VÀ LHRH-A LÊN THÀNH PHẦN SINH HÓA CỦA TINH SÀO CÁ ĐÌA (*Siganus guttatus*)

EFFECTS OF hCG AND LHRH-A ON THE TESTICULAR BIOCHEMICAL COMPOSITIONS OF GOLDEN RABBITFISH (*Siganus guttatus*)

Nguyễn Văn An¹, Nguyễn Văn Minh², Phạm Quốc Hùng²

Ngày nhận bài: 10/8/2019; Ngày phân biệt thông qua: 25/9/2019; Ngày duyệt đăng: 28/9/2019

TÓM TẮT

Nghiên cứu này được thực hiện nhằm đánh giá ảnh hưởng của hormone ngoại sinh hCG (human Chorionic Gonadotropin), LHRH-A (Luteinizing Hormone-releasing hormone analog) kết hợp chất kháng dompamine (Domperidon-DOM) đến thành phần sinh hóa tinh sào cá đìa (*Siganus guttatus*) 1+ tuổi nuôi trong ao đất tại Khánh Hòa. Thí nghiệm được bố trí với 3 nghiệm thức, trong đó mỗi nghiệm thức gồm 20 cá thể cá được tiêm (i) 1500 IU hCG/kg; (ii) 50 µg LHRH-A + 5 mg DOM/kg và (iii) 1 ml nước muối sinh lý/kg ở nhóm cá đối chứng. Sau khi tiêm hormone 12 giờ và 24 giờ, cá được giải phẫu để thu tinh sào, đánh giá mức độ thành thực và phân tích thành phần sinh hóa. Kết quả nghiên cứu cho thấy ở nghiệm thức tiêm hCG, hàm lượng protein, lipid và độ ẩm trước khi tiêm lần lượt là 14,80 ± 0,05 (%), 11,91 ± 0,10 (%) và 79,23 ± 0,10 (%), sau khi tiêm 24 giờ, hàm lượng protein tăng lên 16,25 ± 0,05 (%). Ngược lại, hàm lượng lipid và độ ẩm giảm tương ứng xuống còn 8,27 ± 0,10 (%) và 59,56 ± 0,10 (%). Đối với nghiệm thức tiêm LHRH-A + DOM, sau khi tiêm 24 giờ hàm lượng protein và độ ẩm giảm xuống còn 12,44 ± 0,05 (%) và 72,32 ± 0,01 (%); hàm lượng tro và lipid thay đổi không đáng kể.

Từ khóa: Cá đìa, *Siganus guttatus*, hCG, LHRH-A

ABSTRACT

This study aimed to determine the effects of exogenous hormones (hCG and LHRH-A+DOM) on testicular biochemical compositions of the 1+ year old rabbitfish reared in earthen ponds in Khanh Hoa province. The experiment was conducted with 3 treatments; each treatment had 20 fish injected with (i) 1500 IU hCG/kg of body weight (BW); (ii) binary of 50 µg LHRH-A and 5 mg DOM/kg of BW; (iii) 1 ml saline water/kg of BW as the control fish. After 12-h and 24-h of injection, the fish were euthanized for collecting testes to assess the maturation and analyze biochemical composition. The results showed that in the hCG treatment, the content of protein, lipid and moisture pre-injection were 14.80±0.05 (%), 11.91±0.10 (%) and 79.23±0.10 (%) respectively. After 24-h of injection, the protein content increased to 16.25 ± 0.05 (%); contrarily, lipid content and moisture decreased by 8.27±0.10 (%) and 59.56±0.10 (%) respectively. Meanwhile, at 24-h post injection, the binary LHRH-A and DOM treatment reduced the testicle protein content and moisture to 12.44±0.05 (%) and 72.32±0.01 (%), respectively. The contents of ash and lipid in the fish injected with the binary LHRH-A and DOM did not change significantly.

Keywords: Golden rabbit fish, *Siganus guttatus*, hCG, LHRH-A

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cá đìa (*S. guttatus*) là loài cá biển có giá trị kinh tế. Hiện nay cá đìa được nuôi khá phổ biến ở các vùng đầm phá các tỉnh Nam Trung

Bộ, trong ao đất hoặc nuôi lồng bè kết hợp với tôm hùm hoặc một số loài cá biển khác [1; 6]. Ở nước ta, tiềm năng phát triển nuôi cá đìa là rất lớn [1]. Thức ăn chủ yếu của cá đìa là rong biển, nhưng trong điều kiện nuôi nhốt cá vẫn sinh trưởng tốt khi cho ăn thức ăn nhân tạo.

¹ Trường Đại học Kiên Giang; NCS Trường Đại học Nha Trang

² Viện Nuôi trồng Thủy sản - Trường Đại học Nha Trang

Cá diá có thể chịu đựng được sự thay đổi độ mặn và nhiệt độ khá rộng [6] nên có thể nuôi ở nước lợ, ao hoặc lồng ở biển và nuôi quanh năm [6; 8]. Hiện nay giống cá diá vẫn còn phụ thuộc nhiều vào tự nhiên, chưa chủ động được nguồn giống nhân tạo ở quy mô thương mại [1; 16]. Mặc dù ở Việt Nam đã có một số nghiên cứu liên quan đến cá diá như sinh học sinh sản [2; 3; 10; 11], thử nghiệm sản xuất giống [5; 14; 15], nhưng kết quả còn hạn chế. Một trong những nguyên nhân ảnh hưởng đến tỷ lệ thụ tinh và chất lượng con giống là chất lượng trứng và tinh trùng [4; 7; 9].

Thành phần sinh hóa của tinh sào như hàm lượng protein, lipid, độ ẩm và tro có liên quan đến giai đoạn phát triển của tinh sào [13]. Các nghiên cứu trước đây chỉ ra rằng protein đóng vai trò quan trọng trong việc bảo vệ tinh trùng, trong đó có chứa một số enzyme quan trọng cho quá trình trao đổi chất [19; 20]. Hiểu biết về sự thay đổi thành phần sinh hóa của tinh sào có ý nghĩa quan trọng trong việc dự báo trạng thái thành thực sinh dục cũng như phục vụ cho việc quản lý đàn cá bố mẹ. Những can thiệp của hormone ngoại sinh thông qua thức ăn hoặc liệu pháp tiêm giúp thúc đẩy nhanh quá trình thành thực của cá [17]. hCG và LHRH-A là những hormone nhân tạo được sử dụng khá phổ biến trong sinh sản nhân tạo cá xương. Những hormone này kích thích sự tiết steroid của tuyến sinh dục, giúp thúc đẩy sự chín và thành thực tinh trùng [23]. Xuất phát từ thực tiễn nêu trên, chúng tôi tiến hành nghiên cứu sự thay đổi về thành phần sinh hóa trong tinh sào của cá diá, dưới ảnh hưởng của hormone, nhằm tìm ra loại hormone thích hợp và điều chỉnh chế độ dinh dưỡng trong quá trình nuôi vỗ, từ đó góp phần nâng cao chất lượng sản phẩm sinh dục, cải thiện kết quả sinh sản nhân tạo ở đối tượng này..

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đàn cá nghiên cứu

Đàn cá diá đực 1+ tuổi có chiều dài và khối lượng toàn thân trung bình lần lượt là $30,64 \pm 1,03$ cm và $524,55 \pm 84,54$ g. Cá thí nghiệm có màu sắc tự nhiên, bơi lội bình thường, linh

hoạt, không dị tật, dị hình và không có biểu hiện bệnh; được nuôi trong ao đất tại tỉnh Khánh Hòa ($12^{\circ}52'15''N$, $108^{\circ}40'33''E$), sau đó được thuần dưỡng 10 ngày trong bể xi măng $4m^3$ với mật độ 6 con/ m^3 ($3kg/m^3$) trước khi được đưa vào tiêm hormone. Cá được cho ăn hàng ngày bằng thức ăn công nghiệp dùng cho cá biển với thành phần protein (42%), lipid (6%), tro (16%), chất xơ (3%) và độ ẩm (11%) với tỷ lệ 2-3 % khối lượng thân. Nhiệt độ nước, độ mặn, pH và oxy hòa tan trong bể nuôi lần lượt là $28-32^{\circ}C$, 29-34 ‰, 7,8-8,6 và 3,5-4,6 mg/l.

2. Bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm được bố trí với 3 nghiệm thức, mỗi nghiệm thức gồm 20 cá thể:

Nghiệm thức 1: cá được tiêm 1500 IU hCG/kg cá

Nghiệm thức 2: cá được tiêm 50 μ g LHRH-A + 5 mg DOM/kg cá

Nghiệm thức 3 (đối chứng): cá được tiêm 1 ml nước muối sinh lý/kg cá

Sau khi tiêm, cá được đưa vào bể và duy trì các yếu tố môi trường giống như trước khi tiêm hormone. Cá thí nghiệm ngừng cho ăn sau khi tiêm hormone.

3. Thu và phân tích mẫu

Trước khi tiêm hormone, tiến hành chọn ngẫu nhiên 10 cá thể để đánh giá mức độ thành thực và phân tích thành sinh hóa của tinh sào. Sau khi tiêm hormone 12 giờ và 24 giờ, cá được giải phẫu để thu tinh sào nhằm đánh giá mức độ thành thực và phân tích thành phần sinh hóa. Mức độ thành thực của tinh sào được đánh giá theo bậc thang của Nikolskii (1963) [12] và Sakun (1954) [21]. Trong nghiên cứu này, cá đực 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 tinh sào khi mổ ra. Trong một vài trường hợp, khi vuốt nhẹ ở bụng, tinh dịch màu trắng sữa chảy ra ngoài qua lỗ sinh dục.

4. Phân tích thống kê

Ảnh hưởng của hCG và LHRH-A đến thành phần sinh hóa của tinh sào được phân tích theo phương pháp phương sai một yếu tố (one-way ANOVA) và kiểm định Duncan với mức ý nghĩa

$P < 0,05$ bằng phần mềm SPSS. Số liệu được trình bày dưới dạng giá trị trung bình \pm độ lệch chuẩn.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

1. Thành phần sinh hóa của tinh sào cá diạ ở giai đoạn thành thực và chưa thành thực

Trong nghiên cứu này, chúng tôi thu 60 mẫu tinh sào từ đàn cá diạ thí nghiệm trong tháng 4 năm 2018. Các mẫu tinh sào được phân thành 2 nhóm, nhóm tinh sào chưa thành

thực (giai đoạn III) và nhóm tinh sào thành thực (giai đoạn IV-V) [12; 21] (Hình 1). Kết quả phân tích thành phần sinh hóa của 2 nhóm tinh sào được thể hiện qua Bảng 1. Kết quả cho thấy, hàm lượng protein và tro của tinh sào ở giai đoạn thành thực cao hơn so với giai đoạn chưa thành thực. Ngược lại, hàm lượng lipid ở giai đoạn thành thực thấp hơn so với giai đoạn chưa thành thực. Trong khi đó độ ẩm không khác nhau nhiều giữa 2 giai đoạn phát triển của tinh sào.

Bảng 1. Thành phần sinh hóa của tinh sào cá diạ 1+ tuổi nuôi trong ao đất tại Khánh Hòa

Các chỉ tiêu	Tinh sào giai đoạn chưa thành thực (III)	Tinh sào giai đoạn thành thực (IV-V)
Protein (%)	13,60 \pm 1,30	14,80 \pm 1,20
Lipid (%)	13,14 \pm 0,60	11,91 \pm 0,50
Tro (%)	0,90 \pm 0,02	1,69 \pm 0,06
Độ ẩm (%)	75,59 \pm 2,80	79,23 \pm 2,40

Protein, lipid, độ ẩm và tro là các chỉ tiêu sinh hóa cơ bản phản ánh mức độ thành thực sinh dục của tinh sào ở cá xương [13]. Vào mùa sinh sản, các chất dự trữ tích lũy ở các cơ quan được huy động để tổng hợp protein nuôi dưỡng các tế bào sinh dục phát triển. Khi đó, nhu cầu dinh dưỡng và năng lượng cho quá trình thành thực và tạo giao tử ở cá tăng lên [18]. Trong thời kỳ tạo giao tử, sự sinh trưởng của tuyến

sinh dục tăng lên liên tục. Trong khi đó, sự sinh trưởng của tế bào sinh dưỡng hầu như dừng lại. Thậm chí, sau khi cá dừng ăn, tuyến sinh dục vẫn tiếp tục tích lũy lipid và protein [13; 18]. Chất dinh dưỡng được chuyển hóa vào tuyến sinh dục chủ yếu có nguồn gốc từ mô sinh dưỡng ở cá bố mẹ, có khoảng 7,0-8,7 % lipid từ tế bào sinh dưỡng được chuyển hóa vào tuyến sinh dục của cá [12].



A
Cá diạ (*S. guttatus*)



B
Tinh sào giai đoạn III
Tinh sào có kích thước lớn, màu trắng sáng, chưa có tinh dịch



C
Tinh sào giai đoạn IV-V
Tinh sào có màu trắng đục, căng đầy, ấn nhẹ có tinh dịch chảy ra ngoài

Hình 1. Hình thái tinh sào cá diạ giai đoạn chưa thành thực (B) và thành thực (C)

So với các loài động vật có xương sống khác, hàm lượng protein trong tinh sào cá là khá thấp [22]. Trong nghiên cứu này, hàm lượng protein trong tinh sào cá địa thành thực là 14,8%, tỷ lệ này cao hơn nhiều so với một số loài cá xương khác [22], và chỉ thấp hơn cá hồi Đại Tây Dương (*Salmo salar*) 30% [4]. Nhiều tác giả cho rằng thành phần protein này có thể đóng vai trò quan trọng trong việc bảo vệ tinh trùng và nó có chứa một số enzyme quan trọng của quá trình trao đổi chất [4; 19; 20].

2. Ảnh hưởng của hormone lên thành phần sinh hóa của tinh sào cá địa

Bảng 2. Mức độ thành thực của cá địa đực sau khi tiêm hormone

Thời điểm	Nghiệm thức		
	Đối chứng	hCG	LHRH-A + DOM
Trước khi tiêm	Giai đoạn III, IV và V		
12 giờ sau khi tiêm	Giai đoạn V	Giai đoạn V	Giai đoạn V
24 giờ sau khi tiêm	Giai đoạn V	Giai đoạn V	Giai đoạn V

Việc xác định thành phần sinh hóa của tinh sào cá địa dưới ảnh hưởng của các hormone ngoại sinh là cơ sở khoa học để lựa chọn loại và liều lượng hormone phù hợp trong sinh sản nhân tạo. Ngoài ra, thông tin về thành phần sinh hóa của tinh sào giúp người nuôi lựa chọn và bổ sung thành phần dinh dưỡng vào

Đàn cá đực trước khi tiêm được giải phẫu ngẫu nhiên 10 cá để đánh giá mức độ thành thực của tinh sào. Kết quả cho thấy tinh sào cá đực được xác định ở các giai đoạn III, IV và V. Sau khi tiêm 12 giờ và 24 giờ, tất cả tinh sào cá đực đều chuyển sang giai đoạn V. Điều này cho thấy hCG và LHRH-A + DOM có ảnh hưởng đến sự thành thực hoàn toàn của tinh sào sau 12 giờ. Điều đáng lưu ý là ở nghiệm thức đối chứng, việc tiêm nước muối sinh lý cũng làm cho cá đực thành thực hoàn toàn. Kết quả thí nghiệm được trình bày ở Bảng 2.

khẩu phần ăn hằng ngày trong quá trình nuôi vỗ cá bố mẹ, giúp thúc đẩy nhanh quá trình thành thực và nâng cao chất lượng sản phẩm sinh dục [2; 7; 15]. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của hCG và LHRH-A lên thành phần sinh hóa của tinh sào cá địa được trình bày ở Bảng 3 và 4.

Bảng 3. Ảnh hưởng của hCG lên thành phần sinh hóa tinh sào (Giai đoạn IV-V)

Thời điểm	Thành phần sinh hóa			
	Độ ẩm (%)	Tro (%)	Protein (%)	Lipid (%)
Trước khi tiêm	79,23 ± 0,10 ^a	1,69 ± 0,10 ^a	14,80 ± 0,05 ^a	11,91 ± 0,10 ^b
12 giờ sau khi tiêm	67,25 ± 0,10 ^b	1,49 ± 0,10 ^a	18,66 ± 0,05 ^b	6,96 ± 0,10 ^a
24 giờ sau khi tiêm	59,56 ± 0,1 ^b	1,55 ± 0,10 ^a	16,25 ± 0,05 ^b	8,27 ± 0,1 ^a

Trong cùng một cột, giá trị có chỉ số trên khác nhau chỉ sự sai khác có ý nghĩa thống kê (P<0,05)

hCG là loại kích dục tố dị chủng, được dùng có hiệu quả trên nhiều loài cá, gây được những phản ứng oxy hóa cho các enzyme chuyển hóa protein và lipid như dehydrogenara và estaraza [5; 23]. Do đó, hàm lượng protein tăng lên đáng kể sau khi tiêm hormone. Kết quả phân tích cho thấy không có sự sai khác về hàm lượng tro (P>0,05) trước và sau khi tiêm hCG. Tuy nhiên, hàm lượng protein, lipid và độ ẩm đã có sự sai khác có ý nghĩa thống kê (P<0,05)

ở thời điểm 12 giờ và 24 giờ sau khi cá được tiêm 1500 IU hCG/kg cá (Bảng 3). Tương tự, khi phân tích thành phần sinh hóa của tinh sào cá địa ở nghiệm thức tiêm 50 µg LHRH-A + 5 mg DOM/kg cá, cho thấy hàm lượng protein và độ ẩm có sự sai khác có ý nghĩa thống kê ở thời điểm 12 giờ và 24 giờ sau khi cá được tiêm hormone, ngược lại hàm lượng lipid và tro không có sự sai khác có ý nghĩa thống kê (Bảng 4).

Bảng 4. Ảnh hưởng của LHRH-A + DOM lên thành phần sinh hóa tinh sào (Giai đoạn IV-V)

Thời điểm	Thành phần sinh hóa			
	Độ ẩm (%)	Tro (%)	Protein (%)	Lipid (%)
Trước khi tiêm	79,23 ± 0,10 ^a	1,69 ± 0,10 ^a	14,80 ± 0,05 ^a	11,91 ± 0,10 ^a
12 giờ sau khi tiêm	77,65 ± 0,10 ^a	1,57 ± 0,10 ^a	14,61 ± 0,05 ^a	9,22 ± 0,10 ^a
24 giờ sau khi tiêm	72,32 ± 0,10 ^b	1,62 ± 0,10 ^a	12,44 ± 0,05 ^b	10,26 ± 0,10 ^a

LHRH-A là một GnRH (hormone giải phóng gonadotropin/Gonadotropin-releasing hormone) tổng hợp. Đây là hormone gây phóng thích kích dục tố, tác động lên tuyến yên tiết ra FSH (Follicle-stimulating hormone) và LH (Luteinizing hormone), hai hormone này ảnh hưởng lên tuyến sinh dục, kích thích tuyến sinh dục tiết hormone steroid [23]. FSH tham gia nhiều chức năng khác nhau trong tinh sào, kích thích tổng hợp androgen trong tế bào Leydig và điều khiển hoạt động của tế bào Sertoli trong quá trình tạo tinh [17; 23]. Hàm lượng FSH trong huyết tương cao ở giai đoạn đầu quá trình tạo tinh và đạt cực đại trong suốt thời kỳ phát triển của tinh sào, sau đó giảm xuống sau khi sinh sản. Hàm lượng LH trong huyết tương thấp trong thời kỳ đầu quá trình tạo tinh, bắt đầu tăng lên trong thời kỳ phát triển và đạt cực đại trong lúc sinh sản [17; 23].

Trong điều kiện nuôi nhốt, biến động của các yếu tố môi trường như nhiệt độ, độ mặn, quang kỳ,... thường gây bất lợi, gây stress cho cá và 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 [16; 17].

Do vậy việc tiêm hCG và LHRH-A + DOM đã kích thích tuyến sinh dục tiết steroid kích thích sự thành thực sinh dục, cụ thể ở đây là tinh sào và thúc đẩy quá trình sinh tinh.

IV. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

Hai loại hormone hCG và LHRH-A, với liều lượng 1500 IU hCG/kg và 50 µg LHRH-A (kết hợp với 5 mg DOM/kg), khi tiêm vào cá địa đực đã thúc đẩy quá trình thành thực sinh dục hoàn toàn của tinh sào. Ngoài ra, hCG và LHRH-A còn có tác dụng thay đổi thành phần sinh hóa, đặc biệt là hàm lượng protein, của tinh sào sau khi tiêm vào cá 12 và 24 giờ ở nhiệt độ 28-30°C. Tuy nhiên, sự ảnh hưởng của hai loại hormone này là chưa thật sự rõ ràng ở các nghiệm thức, cũng như tại thời điểm trước và sau khi tiêm hormone. Do vậy, để hiểu rõ hơn ảnh hưởng và cơ chế của hai loại hormone này, cần có các nghiên cứu tiếp theo về cơ chế ảnh hưởng, hàm lượng steroid hormone trong huyết tương cá địa.

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. Lê Văn Dân, Lê Đức Ngoan (2006). Nghiên cứu sự phát triển tuyến sinh dục cá địa (*Siganus guttatus* Bloch, 1787) ở vùng đầm phá Thừa Thiên Huế. Tạp chí Nông nghiệp và phát triển nông thôn, Số 2/2016, 61-64.
2. 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 địa (*Siganus guttatus*). Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn; Số 3+4/2017, 190-195.
3. Phạm Quốc Hùng, Phạm Huy Trường, Nguyễn Văn An (2018). Ảnh hưởng của hCG, LHRH-A lên đặc điểm sinh lý sinh sản cá địa (*Siganus guttatus*). Tạp chí Khoa học Công nghệ Thủy sản, Số 3/2018, 38-43.

Tiếng Anh

4. Aas, G. H., Terje, R., Bjarne, G. (1991). Evaluation of milt quality of Atlantic salmon. *Aquaculture*, 95: 125-132.
5. Ayson, F. G. (1991). Induced spawning of rabbitfish, *Siganus guttatus* (Bloch) using human chorionic gonadotropin (hCG). *Aquaculture* 95, 133-137. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(91\)90080-Q](https://doi.org/10.1016/0044-8486(91)90080-Q)
6. Ayson, F. G., Reyes O. S. & Jesus-Ayson, E. G. T. (2014). Seed production of rabbitfish *Siganus guttatus*. Technical report, Southeast Asian Fisheries Development Center (SEAFDEC).
7. Bozkurt, Y., Gretmen, F., Kokcu, O., Erçin, U. (2011). Relationships between seminal plasma composition and sperm quality parameters of the *Salmo trutta macrostigma* (Dumeril, 1858) semen: with emphasis on sperm motility, *Czech Journal of Animal Science*, 56(8): 355–364.
8. Hara, S., Duray, M. N., Parazo, M., Taki, Y. (1986). Year-round spawning and seed production of the rabbitfish, *Siganus guttatus*. *Aquaculture*, 59: 259-272. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(86\)90008-6](https://doi.org/10.1016/0044-8486(86)90008-6).
9. Hatef, A.H.N., Amiri, B.M., Alavi, S.M.H., Karami, M. (2007). Sperm density, seminal plasma composition and their physiological relationship in the endangered Caspian brown trout (*Salmo trutta caspius*), *Aquaculture Research*, 38: 1175 – 1181.
10. Juario, J. V., Duray, M. N., Duray, V. M., Nacario, J. F., Almendras, J. M. E. (1985). Breeding and larval rearing of the rabbitfish, *Siganus guttatus* (Bloch). *Aquaculture*, 44: 91-101. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(85\)90012-2](https://doi.org/10.1016/0044-8486(85)90012-2)
11. Lam, T. J. (1974). Siganids: Their biology and mariculture potential. *Aquaculture*, 3: 325-354. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(74\)90001-5](https://doi.org/10.1016/0044-8486(74)90001-5)
12. Nikolskii, G. V. (1963). The ecology of fishes: G. V. Nikolsky / translated from the Russian by L. Birkett Academic Press London, 353.
13. Peiris, T. S. S., Grero, J. (1973). Chemical analyses of some Ceylon fishes - 3. *Bulletin of the Fisheries Research Station, Sri Lanka (Ceylon)*, 24(1-2): 1-12.
14. Pham, H. Q., Phan, U. V. (2016). Embryonic and larval development and effects of salinity levels on egg and ovary performances in rabbitfish (*Siganus guttatus*). *The Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh*, 68: 1-7. <http://hdl.handle.net/10524/54961>
15. 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*. *Journal of the World Aquaculture Society*, 47 (5): 691-700. <https://doi.org/10.1111/jwas.12312>
16. Pham, H. Q., Nguyen, A. V., (2019). Seasonal changes in hepatosomatic index, gonadosomatic index and plasma estradiol-17 β level in captive reared female rabbitfish (*Siganus guttatus*). *Aquaculture Research*, 50 (8): 2191-2199. <https://doi.org/10.1111/are.14100>
17. Rahman, S., Takemura, A., Takano, K. (2000). Annual changes in testicular activity and plasma steroid hormones in the golden rabbitfish *Siganus guttatus* (Bloch). *Fisheries Science*, 66: 894-900. <https://doi.org/10.1046/j.1444-2906.2000.00144.x>
18. Rahman, S., Takemura, A., Park, J., Takano, K. (2003). Lunar cycle in the reproductive activity in the forktail rabbitfish. *Fish Physiology and Biochemistry*, 28: 443-444.
19. Rainis, S., Gasco, L., Ballestrazzi, R. (2005). Comparative study on milt quality features of different finfish species. *Italian Journal of Animal Science*, 4(4): 355-363.
20. Rakitin, A., Ferguson, M.M., Trippel, E.A. (1999). Spermatocrit and spermatozoa density in Atlantic cod (*Gadus morhua*): Correlation and variation during the spawning season. *Aquaculture*, 170: 349–358.
21. Sakun, O. F., (1954). Analysis of gonadal function in male and female *Vimba vimba* with special reference to the nature of spawning. *Dokl Akad Nauk SSSR*, 98, 505-507
22. Suquet, M., Cosson, J., Germaine, D., Chauvaud, C.M., Laurent, C.F. (1994). Sperm features in turbot (*Scophthalmus maximus*): a comparison with other freshwater and marine fish species. *Aquatic Living Resources*: 283-294.
23. Yaron, Z., Levavi-Sivan, B. (2011). Endocrine regulation of fish reproduction. In: Farrell A.P., (ed.), *Encyclopedia of Fish Physiology: From Genome to Environment*, 2: 1500–1508. San Diego: Academic Press. <http://doi.org/10.1016/B978-0-1237-4553-8.00058-7>