

ẢNH HƯỞNG THỜI GIAN KÍCH THÍCH HORMONE LÊN ĐẶC TÍNH SINH HÓA CỦA DỊCH TƯƠNG CÁ CHÈM MỠM NHỌN *Psammoperca waigiensis*
EFFECTS OF TIME AFTER HORMONAL STIMULATION ON BIOCHEMICAL FEATURES OF SEMINAL PLASMA IN WAIGIEU SEAPERCH *Psammoperca waigiensis*

Lê Minh Hoàng, Nguyễn Văn Minh, Phạm Quốc Hùng và Ngô Văn Mạnh

Viện Nuôi trồng thủy sản, Đại học Nha Trang

Tác giả liên hệ: Lê Minh Hoàng (Email: hoanglm@ntu.edu.vn)

Ngày nhận bài: 01/11/2020; Ngày phản biện thông qua: 17/11/2020; Ngày duyệt đăng: 24/12/2020

TÓM TẮT:

Mục tiêu của nghiên cứu này nhằm đánh giá ảnh hưởng của thời gian kích thích hormone với domperidone (DOM), luteinizing hormone releasing hormone analog (LHRHa) và human chorionic gonadotropin (HCG) lên đặc tính sinh hóa của dịch tương cá chêm mỡm nhọn *Psammoperca waigiensis* sau thời gian tiêm 72h. Cá đực được tiêm ở góc vây bụng với 0.9% nước muối sinh lý (đối chứng) hoặc tiêm một liều đơn DOM (20 mg/kg khối lượng cá (KL)) hoặc LHRHa (20, 50, hoặc 80 µg/kg KL) hoặc HCG (500, 1000, hoặc 1500 IU/kg KL). Tinh dịch được thu trước khi tiêm hormone (0 h) để đánh giá đặc tính sinh hóa dịch tương đầu tiên và thu tại thời điểm sau 24 h, 48 h, và 72 h sau khi tiêm hormone để đánh giá ảnh hưởng của hormone lên đặc tính sinh hóa của dịch tương. Kết quả thí nghiệm của nghiên cứu này cho thấy rằng việc tiêm kích thích hormone như được trình bày ở trên làm thay đổi hàm lượng ion Na⁺ nhưng các đặc tính hóa sinh còn lại của dịch tương thay đổi không đáng kể. Như vậy có thể kết luận rằng việc tiêm hormone kích thích lên cá đực trong nghiên cứu này làm đặc tính sinh hóa thay đổi không đáng kể.

Từ khóa: Cá chêm mỡm nhọn, kích thích hormone, đặc tính sinh hóa, LHRHa, HCG, DOM

ABSTRACT:

The objective of the present study was to assess the effects of time after stimulation with domperidone (DOM), luteinizing hormone releasing hormone analog (LHRHa) and human chorionic gonadotropin (HCG) on biochemical features of seminal plasma in Waigieu seaperch *Psammoperca waigiensis* over period 72h post injection. Male broodfishes were injected pectoral fin corner with either 0.9% saline solution (control) or a single dose of DOM (20 mg/kg body weight (BW)) or LHRHa (20, 50, or 80 µg/kg BW) or HCG (500, 1000, or 1500 IU/kg BW). Milt samples were collected before hormone induction (0 h) to assess original milt properties condition, and at 24 h, 48 h, and 72 h post injection (p.i.) to examine the effects of hormone treatments on aspects of spermiation. Results showed that the treatment with saline solution or DOM or LHRHa did not significantly alter seminal plasma biochemical properties.

Keywords: Waigieu seaperch, hormonal stimulation, biochemical features, LHRHa, HCG, DOM

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Đặc tính sinh hóa của dịch tương ở cá có thể bị ảnh hưởng bởi nhiều yếu tố như dinh dưỡng, các yếu tố môi trường (nhiệt độ, ánh sáng, độ mặn), mùa vụ sinh sản, stress, di truyền và thậm chí việc tiêm hormone kích thích sinh sản lên cá đực (Bobe and Labbé 2010, Hajirezaee et al. 2010). Việc kích thích

hormone cho sinh sản nhân tạo cá được dùng phổ biến vì nó có thể làm gia tăng hoạt động rụng trứng ở cá cái và tiết tinh ở cá đực. Tính cho đến thời điểm này, nhiều loại hormone sẵn có trên thị trường và được ứng dụng nghiên cứu trên nhiều loại cá thuộc các họ trong bộ cá vược (Perciformes) như: Cichlidae, Percichthyidae, Moronidae, Centropomidae,

Channidae, Sparidae, Carangidae, Sciaenidae, Serranidae, Rachycentridae, Scombridae, Lutjanidae. Hơn nữa, hoạt động tiết tinh và rụng trứng của nhiều loài cá biển kể cả họ cá chêm (Centropomidae hay Latidae) có thể được gia tăng do kích thích hormone và chủ yếu là human chorionic gonadotropin (HCG), luteinizing hormone releasing hormone analog (LHRHa) và domperidone (DOM) (Pham et al. 2007a, Mañanós et al. 2009, Mylonas et al. 2010, Pham et al. 2010b, Mehdi and Ehsan 2013, Elakkanai et al. 2015, Pham and Le 2016). Kết quả của những nghiên cứu này cho rằng các loại hormone kích thích phù hợp với từng loài cá nhất định để kích thích hoạt động tiết tinh như làm tăng các đặc tính hóa sinh của dịch tương.

Cá chêm mõm nhọn, *Psammoperca waigiensis* (Cuvier and Valenciennes, 1828), là một loài cá biển thuộc họ cá chêm (Latidae hay Centropomidae) nằm trong bộ cá vược (Perciformes). Loài cá này được phân bố ở vùng biển nhiệt đới thuộc châu Á Thái Bình Dương và châu Úc (Shimose and Tachihara 2006, Pham et al. 2012). Cùng với các loài cá biển nhiệt đới khác đã được nuôi lâu dài tại Việt Nam như cá mú (*Epinephelus spp*), cá bớp (*Rachycentron canadum*), cá hồng bạc (*Lutjanus erythropterus*), cá hồng Mỹ (*Scyaenops ocellatus*), cá chêm trắng (*Lates calcarifer*) và cá chim vây vàng (*Trachinotus blochii*). Cá chêm mõm nhọn đã thu hút sự chú ý như là đối tượng nuôi biển mới bởi vì có giá trị kinh tế cao, ưa chuộng trên thị trường và có khả năng thích ứng với phạm vi rộng của các yếu tố môi trường (Nguyen et al. 2003, Shimose and Tachihara 2006, Pham et al. 2007a, Pham et al. 2007b, Pham et al. 2010b, Pham et al. 2012). Đây cũng là loài cá có thể sinh sản trong điều kiện nuôi nhốt mà không cần kích thích hormone nhưng kết quả sinh sản thấp (Nguyen et al. 2003). Mùa vụ sinh sản của loài cá này diễn ra giữa tháng 4 và tháng 10 đối với cá cái và giữa tháng 3 và tháng 11 đối với cá đực (Pham et al. 2012). Pham et al. (2007a) và (2010a) báo cáo ảnh hưởng của việc sử dụng các loại

hormone khác nhau như (Thyroxin (T4), LHRHa, carp pituitary extract (CPE), HCG or DOM) lên một số đặc tính huyết tương của cá chêm mõm nhọn cái. Bên cạnh đó Le and Brown (2016) đã nghiên cứu ảnh hưởng của hormone lên đặc tính lý học và hình thái của tinh trùng cá chêm mõm nhọn. Tuy nhiên vẫn chưa có nghiên cứu nào thực hiện để đánh giá ảnh hưởng của hormone lên đặc tính sinh hóa của dịch tương của loài cá này. Vì thế, mục tiêu của nghiên cứu này là nhằm đánh giá ảnh hưởng của thời gian kích thích hormone với domperidone (DOM), luteinizing hormone releasing hormone analog (LHRHa) và human chorionic gonadotropin (HCG) lên đặc tính sinh hóa của dịch tương trên cá chêm mõm nhọn *Psammoperca waigiensis* sau thời gian tiêm hormone 72h.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Cá đực và thu tinh dịch

Cá chêm mõm nhọn trưởng thành được đánh bắt bằng hoạt động câu và lặn tại Vịnh Nha Trang giữa tháng 2 đến tháng 11 năm 2012. Sau đó, cá được vận chuyển đến lồng nuôi 4×4×3m đặt trong ao nuôi tại trại thực nghiệm nuôi Hải sản Cam Ranh, Khánh Hòa. Mặt trên của lồng được bao phủ bởi lưới bảo vệ cá nhảy ra ngoài. Cá bố mẹ được cho ăn hàng ngày với cá tạp được bổ sung vitamin E với khẩu phần cho ăn là 5% khối lượng cơ thể cá cho đến khi cá thành thực để tiến hành thí nghiệm. Kích cỡ cá đực sử dụng cho các thí nghiệm được trình bày ở Bảng 1. Cá đực được gây mê bằng Ethylene glycol monophenylether với liều lượng là 200 ppm trước khi thu tinh dịch. Tinh dịch được thu bằng cách ấn nhẹ nhàng bụng cá từ phía trước ra phía sau. Tinh dịch chảy ra cho thẳng vào ống nhựa 1.5 ml có đậy nắp. Trong quá trình thu tinh dịch, bụng cá và xung quanh lỗ huyết sinh dục được lau bằng khăn sạch để tránh lẫn tạp tinh dịch với nước tiểu, phân, máu và nhớt cá. Ống tinh dịch sau khi thu xong ngay lập tức bảo quản trên đá lạnh cho đến khi sử dụng phân tích các thông số đặc tính hóa sinh.

Bảng 1. Khối lượng (KL, g) và chiều dài (CD, cm) của cá chẽm mõm nhọn *Psammoperca waigiensis* sử dụng cho thí nghiệm

	NMSL (n=4)	DOM (n=4)	LHRHa ($\mu\text{g/kg KL}$)			HCG (IU/kg KL)		
			20 (n=4)	50 (n=4)	80 (n=4)	500 (n=4)	1000 (n=4)	1500 (n=4)
KL	562,5 \pm 137,7	587,5 \pm 175,0	550,0 \pm 129,1	587,5 \pm 103,1	575,0 \pm 86,6	525,0 \pm 150,0	537,5 \pm 137,7	562,5 \pm 149,3
CD	26,8 \pm 1,4	26,9 \pm 1,7	26,8 \pm 1,4	27,0 \pm 1,1	27,0 \pm 1,1	26,5 \pm 1,6	26,5 \pm 1,4	26,6 \pm 1,4

DOM: domperidone (20 mg/kg KL); LHRHa: luteinizing hormone releasing hormone analog; HCG: and human chorionic gonadotropin; NMSL: nước muối sinh lý 0.9%.

2.2. Thiết kế thí nghiệm

Tất cả thí nghiệm được thực hiện giữa tháng 3 đến tháng 5 (Thời điểm cá thành thực sinh dục) tại lồng nuôi cá bố mẹ. Tại thời điểm bắt đầu thí nghiệm (0h), 32 con cá đực được chọn ngẫu nhiên cho quá trình thu tinh như được mô tả ở trên. Sau đó, 28 con cá đực được lựa chọn ngẫu nhiên để tiêm vào gốc vây bụng với từng loại hormone như 20 mg/kg khối lượng (KL) domperidone (DOM) hoặc 20, 50, 80 $\mu\text{g/kg KL}$ luteinizing hormone releasing hormone analog (LHRHa) (Lam Hua Dragon Co. Ltd., Hong Kong) hoặc 500, 1000, 1500 IU/kg KL human chorionic gonadotropin (HCG) (Ningbo Renjian Pharmaceutical Co.,Ltd, China). Liều lượng hormone được sử dụng trong nghiên cứu này là dựa vào các nghiên cứu trước trên các loài cá biển nuôi vùng nhiệt đới (Pham *et al.* 2007a, Mañanós *et al.* 2009, Le and Brown 2016, Pham and Le 2016). 04 con cá đực còn lại được tiêm nước muối sinh lý 0,9% như là thí nghiệm đối chứng. Cá đực sau khi tiêm xong thì mỗi con được lưu giữ tại các lồng lưới nhỏ (1x1x3m) riêng biệt để dễ dàng cho thao tác thu tinh dịch. Cá đực sau đó được gây mê để thu tinh dịch như mô tả ở trên sau thời điểm 24, 48 và 72 h sau khi tiêm hormone. Đặc tính sinh hóa của dịch tương được xác định dựa theo các nghiên cứu của Le *et al.* (2011) và Le *et al.* (2014).

2.3. Phân tích đặc tính sinh hóa của dịch tương

Đặc tính hóa sinh của dịch tương bao gồm (ion Na, K, Ca, Mg, Cl và protein tổng số), pH và áp suất thẩm thấu. Để tiến hành xác định các đặc tính sinh hóa này, tinh dịch cho vào 1,5 eppendorf tube rồi sau đó li tâm (15.000 rpm) khoảng 10 phút. Sau khi li tâm

thì tiến hành tách phân dịch tương ở phía trên rồi tiến hành xác định pH và áp suất thẩm thấu. pH được xác định bằng máy đo pH (pH test, Romania). Nồng độ thẩm thấu được xác định bằng máy đo áp suất thẩm thấu (Advanced Instruments Inc., USA). Các đặc tính hóa sinh của dịch tương được xác định bằng máy Fuji Dri-Chem 3500 (Fujifilm Co. Ltd., Japan).

2.4. Xử lý số liệu thống kê

Số liệu được tính toán và trình bày dưới dạng GTTB \pm SD (độ lệch chuẩn) đối với chiều dài và khối lượng cá thí nghiệm. Các số liệu đặc tính hóa sinh của dịch tương được trình bày dưới dạng GTTB \pm SEM (sai số chuẩn trung bình). Để xác định sự khác nhau đặc tính sinh hóa của dịch tương, phương sai một yếu tố (one-way ANOVA) và phép thử Duncan (P<0,05) được sử dụng từ phần mềm SPSS phiên bản 22.0.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

Kết quả ở các Bảng 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 và 9 cho thấy rằng: Có sự thay đổi đáng kể nồng độ Na⁺, K⁺ (p<0,05) nhưng lại không có sự thay đổi đáng kể nồng độ các ion Cl⁻, Mg²⁺, Ca²⁺, protein tổng số, nồng độ thẩm thấu cũng như pH (p>0,05) trong dịch tương cá chẽm mõm nhọn sau khi được kích thích bởi HCG với liều lượng 1000 IU/kg tại thời điểm thu mẫu sau 48h và so với DOM (20 mg/kg), LHRHa (20, 50, 80 $\mu\text{g/kg}$), HCG (500, 1000, 1500 IU/kg) và nước muối sinh lý (đối chứng) tại các thời điểm 0h, 24h, 48h và 72h.

Vai trò của Hormone lên sinh sản của các loài cá xương đã được tổng hợp bởi nhiều nghiên cứu nhằm để đảm bảo đủ lượng tinh

dịch cho sinh sản nhân tạo (Mañanos *et al.* 2009, Mylonas *et al.* 2010, Mehdi and Ehsan 2013, Elakkanai *et al.* 2015). LHRHa, HCG và DOM là một trong những loại Hormone thường dùng để kích thích rụng trứng và tiết tinh ở các loài cá cái và cá đực. Hơn nữa, sự phát triển tuyến sinh dục và sinh sản như rụng trứng ở cá cái và tiết tinh ở cá đực dưới sự điều khiển ba cấp độ của vùng dưới đồi – tuyến yên – tuyến sinh dục. Bởi vì các cơ quan này có sự tương tác với nhau trong quá trình sinh sản ở cá. Có rất nhiều phương pháp kích thích hormone được sử dụng trên các loại cá và tùy theo loài cá mà loại và liều lượng hormone khác nhau (Zohar and Mylonas 2001, Mañanos *et al.* 2009, Mylonas *et al.* 2010, Pham *et al.* 2010b, Zohar *et al.* 2010, Mehdi and Ehsan 2013, Elakkanai *et al.* 2015). Một nghiên cứu của Pham *et al.* (2010a) thí nghiệm tiêm HCG

1500 IU/kg BW và LHRHa 50 µg/kg BW ở cá cái cá chêm mồm nhọn tại thời điểm 48 h p.i. cho kết quả nâng cao tỷ lệ đẻ nhưng lại giảm tỷ lệ thụ tinh so với thyroxin (T4) 0.5 mg/kg. Một nghiên cứu khác gần đây của Le and Brown (2016) cho rằng tiêm HCG 1000 IU/kg BW lên cá đực cá chêm mồm nhọn tại thời điểm 48 h p.i thu được thể tích tinh dịch, tổng số tinh trùng, hoạt lực tinh trùng cũng như thời gian hoạt lực tinh trùng cao hơn so với các nghiệm thức thí nghiệm khác. Nghiên cứu này cho thấy hàm lượng ion Na⁺ thay đổi đáng kể ở các nghiệm thức thí nghiệm nhưng cá ion và thành phần sinh hóa của dịch tương thay đổi không đáng kể sau khi tiêm các loại hormone ở các liều lượng khác nhau. Trong khi đó báo cáo của Linhart *et al.* (2003) và Verma *et al.* (2009) cho rằng thành phần sinh hóa của dịch tương cá thay đổi sau khi tiêm hormone.

Bảng 2. Nồng độ ion Na⁺ (mmol/l) trong dịch tương cá chêm mồm nhọn *Psammoderus waigiensis* sau khi được kích thích bởi các hormone

TG (h)	NMSL 0,9%	DOM (20 mg/kg)	LHRHa (µg/kg)				HCG (IU/kg)	
			20	50	80	500	1000	1500
0	139,45±1,41 ^{a,A}	140,73±1,16 ^{a,A}	140,38±2,04 ^{a,A}	137,98±1,48 ^{a,A}	141,78±2,26 ^{a,A}	139,23±1,52 ^{a,A}	138,95±1,73 ^{a,A}	139,38±1,42 ^{a,A}
24	138,90±1,70 ^{a,A}	140,20±0,99 ^{a,A}	146,88±3,97 ^{a,A}	146,10±2,71 ^{a,A}	142,73±2,78 ^{a,A}	138,63±1,80 ^{a,A}	141,75±2,09 ^{a,A}	141,93±3,96 ^{a,A}
48	141,90±4,61 ^{a,A}	141,48±0,62 ^{a,A}	148,30±5,34 ^{a,A}	149,80±1,74 ^{a,A}	151,20±5,60 ^{a,A}	142,58±3,95 ^{a,A}	149,05±2,45 ^{a,B}	147,70±3,56 ^{a,A}
72	141,63±4,75 ^{a,A}	140,90±1,05 ^{a,A}	148,00±5,44 ^{a,A}	147,78±2,26 ^{a,A}	150,95±5,65 ^{a,A}	141,63±4,07 ^{a,A}	151,48±1,80 ^{a,B}	143,68±3,53 ^{a,A}

Kết quả được biểu diễn dưới dạng GTTB±SE. Giá trị với các ký tự khác nhau được hiểu là sai khác có ý nghĩa (chữ thường cho hàng, chữ hoa cho cột) (ANOVA, p<0,05). TG: Thời gian; DOM: domperidone; LHRHa: luteinizing hormone releasing hormone analog; HCG: human chorionic gonadotropin.

Bảng 3. Nồng độ ion K⁺ (mmol/l) trong dịch tương cá chêm mồm nhọn *Psammoderus waigiensis* sau khi được kích thích bởi các hormone

TG (h)	NMSL 0,9%	DOM (20 mg/kg)	LHRHa (µg/kg)				HCG (500 IU/kg)	
			20	50	80	500	1000	1500
0	16,95±0,61 ^a	17,25±0,57 ^a	16,70±0,59 ^a	17,50±0,44 ^a	16,73±0,59 ^a	16,83±0,52 ^a	16,95±0,41 ^{a,A}	16,93±0,63 ^a
24	16,68±0,59 ^a	17,08±0,60 ^a	16,43±0,72 ^a	17,25±0,46 ^a	16,63±0,63 ^a	17,05±0,65 ^a	17,48±0,50 ^{a,AB}	17,25±0,59 ^a
48	17,08±0,62 ^a	17,30±0,78 ^a	16,70±0,78 ^a	17,65±0,34 ^a	17,03±0,54 ^a	17,30±0,59 ^a	18,10±0,27 ^{a,AB}	17,68±0,77 ^a
72	16,88±0,72 ^a	17,13±0,86 ^a	16,55±0,68 ^a	17,48±0,40 ^a	17,40±0,36 ^a	17,00±0,56 ^a	18,28±0,26 ^{a,B}	17,90±0,79 ^a

Kết quả được biểu diễn dưới dạng GTTB±SE. Giá trị với các ký tự khác nhau được hiểu là sai khác có ý nghĩa (chữ thường cho hàng, chữ hoa cho cột) (ANOVA, p<0,05). TG: Thời gian; DOM: domperidone; LHRHa: luteinizing hormone releasing hormone analog; HCG: human chorionic gonadotropin; NMSL: nước muối sinh lý (đối chứng).

Bảng 4. Nồng độ ion Cl⁻ (mmol/l) trong dịch tương cá chêm mỗm nhọn *Psammoperca waigiensis* sau khi được kích thích bởi các hormone

TG (h)	NMSL 0,9%	DOM (20 mg/kg)	LHRHa (µg/kg)			HCG (IU/kg)		
			20	50	80	500	1000	1500
0	114,13±0,28 ^a	114,28±0,36 ^a	114,55±0,61 ^a	115,08±0,57 ^a	114,25±0,38 ^a	114,08±0,31 ^a	114,83±0,28 ^a	114,200,32 ^a
24	113,98±0,37 ^a	114,23±0,40 ^a	114,33±0,76 ^a	114,93±0,47 ^a	114,53±0,29 ^a	114,30±0,49 ^a	114,98±0,42 ^a	113,95±0,53 ^a
48	114,03±0,35 ^a	113,98±0,54 ^a	114,05±0,76 ^a	114,48±0,74 ^a	114,23±0,42 ^a	114,10±0,62 ^a	114,85±0,30 ^a	114,23±0,31 ^a
72	113,75±0,27 ^a	113,80±0,62 ^a	113,78±0,84 ^a	114,23±0,64 ^a	113,75±0,53 ^a	114,75±0,77 ^a	115,10±0,33 ^a	114,48±0,23 ^a

Kết quả được biểu diễn dưới dạng GTTB±SE. Giá trị với các ký tự giống nhau được hiểu là sai khác không có ý nghĩa (ANOVA, p>0,05). TG: Thời gian; DOM: domperidone; LHRHa: luteinizing hormone releasing hormone analog; HCG: human chorionic gonadotropin; NMSL: nước muối sinh lý (đối chứng).

Bảng 5. Nồng độ ion Mg²⁺ (mmol/l) trong dịch tương cá chêm mỗm nhọn *Psammoperca waigiensis* sau khi được kích thích bởi các hormone

TG (h)	NMSL 0,9%	DOM (20 mg/kg)	LHRHa (µg/kg)			HCG (IU/kg)		
			20	50	80	500	1000	1500
0	6,05±0,18 ^a	6,15±0,18 ^a	6,35±0,25 ^a	6,45±0,29 ^a	6,30±0,19 ^a	6,10±0,21 ^a	6,10±0,15 ^a	6,13±0,15 ^a
24	5,98±0,23 ^a	6,10±0,15 ^a	6,23±0,29 ^a	6,53±0,35 ^a	6,38±0,20 ^a	6,15±0,18 ^a	6,20±0,23 ^a	6,28±0,25 ^a
48	6,03±0,26 ^a	6,55±0,56 ^a	6,25±0,27 ^a	6,75±0,26 ^a	6,55±0,06 ^a	6,28±0,25 ^a	6,33±0,34 ^a	6,48±0,17 ^a
72	6,10±0,20 ^a	6,50±0,57 ^a	6,18±0,22 ^a	6,73±0,27 ^a	6,63±0,11 ^a	6,45±0,36 ^a	6,45±0,36 ^a	6,58±0,26 ^a

Kết quả được biểu diễn dưới dạng GTTB±SE. Giá trị với các ký tự giống nhau được hiểu là sai khác không có ý nghĩa (ANOVA, p>0,05). TG: Thời gian; DOM: domperidone; LHRHa: luteinizing hormone releasing hormone analog; HCG: human chorionic gonadotropin; NMSL: nước muối sinh lý (đối chứng).

Bảng 6. Nồng độ ion Ca²⁺ (mmol/l) trong dịch tương cá chêm mỗm nhọn *Psammoperca waigiensis* sau khi được kích thích bởi các hormone

TG (h)	NMSL 0,9%	DOM (20 mg/kg)	LHRHa (µg/kg)			HCG (500 IU/kg)		
			20	50	80	500	1000	1500
0	13,28±0,65 ^a	13,33±0,82 ^a	13,68±0,82 ^a	13,85±0,47 ^a	13,20±0,71 ^a	13,30±0,66 ^a	13,50±0,74 ^a	13,18±0,58 ^a
24	13,25±0,67 ^a	13,15±0,90 ^a	13,40±0,95 ^a	13,95±0,50 ^a	12,95±0,80 ^a	13,43±0,57 ^a	13,73±0,69 ^a	13,35±0,56 ^a
48	13,45±0,66 ^a	13,43±1,03 ^a	13,53±0,89 ^a	14,15±0,65 ^a	13,15±0,70 ^a	13,68±0,53 ^a	14,00±0,73 ^a	13,75±0,72 ^a
72	13,50±0,62 ^a	13,20±1,16 ^a	13,40±0,82 ^a	14,10±0,68 ^a	13,25±0,64 ^a	13,55±0,64 ^a	14,50±0,92 ^a	13,93±0,73 ^a

Kết quả được biểu diễn dưới dạng GTTB±SE. Giá trị với các ký tự giống nhau được hiểu là sai khác không có ý nghĩa (ANOVA, p>0,05). TG: Thời gian; DOM: domperidone; LHRHa: luteinizing hormone releasing hormone analog; HCG: human chorionic gonadotropin; NMSL: nước muối sinh lý (đối chứng).

Bảng 7. Protein tổng số (g/l) trong dịch tương cá chêm mỗm nhọn *Psammoperca waigiensis* sau khi được kích thích bởi các hormone

TG (h)	NMSL 0,9%	DOM (20 mg/kg)	LHRHa (µg/kg)			HCG (IU/kg)		
			20	50	80	500	1000	1500
0	1,03±0,13 ^a	1,05±0,16 ^a	1,08±0,14 ^a	0,98±0,06 ^a	1,00±0,15 ^a	1,00±0,14 ^a	1,03±0,10 ^a	0,98±0,09 ^a
24	1,05±0,12 ^a	1,08±0,14 ^a	1,05±0,15 ^a	1,03±0,03 ^a	1,05±0,14 ^a	1,10±0,12 ^a	1,05±0,09 ^a	1,03±0,09 ^a
48	1,03±0,13 ^a	1,13±0,14 ^a	1,15±0,13 ^a	1,05±0,05 ^a	1,10±0,11 ^a	1,20±0,11 ^a	1,10±0,07 ^a	1,05±0,06 ^a
72	1,00±0,14 ^a	1,08±0,18 ^a	1,08±0,14 ^a	1,03±0,06 ^a	1,00±0,04 ^a	1,13±0,13 ^a	1,05±0,06 ^a	1,00±0,07 ^a

Kết quả được biểu diễn dưới dạng GTTB±SE. Giá trị với các ký tự giống nhau được hiểu là sai khác không có ý nghĩa (ANOVA, p>0,05). TG: Thời gian; DOM: domperidone; LHRHa: luteinizing hormone releasing hormone analog; HCG: human chorionic gonadotropin; NMSL: nước muối sinh lý (đối chứng).

Bảng 8. Nồng độ thẩm thấu (mOsm/kg) trong dịch tương cá chêm mỡ nhon *Psammoperca waigiensis* sau khi được kích thích bởi các hormone

TG (h)	NMSL 0,9%	DOM (20 mg/kg)	LHRHa (µg/kg)			HCG (IU/kg)		
			20	50	80	500	1000	1500
0	338,30±1,54 ^a	337,15±0,69 ^a	337,53±1,35 ^a	340,10±2,44 ^a	341,65±3,26 ^a	338,13±1,61 ^a	339,03±2,06 ^a	338,33±1,52 ^a
24	338,13±1,65 ^a	336,88±0,53 ^a	336,53±1,45 ^a	342,55±4,61 ^a	341,53±3,21 ^a	338,15±1,64 ^a	340,83±1,78 ^a	337,60±1,65 ^a
48	337,33±1,77 ^a	336,38±0,79 ^a	339,18±4,04 ^a	342,33±4,73 ^a	338,38±2,49 ^a	338,65±1,75 ^a	344,25±4,35 ^a	337,80±1,62 ^a
72	336,88±1,33 ^a	335,90±0,7 ^a	338,70±4,1 ^a	340,63±5,0 ^a	338,10±2,6 ^a	337,68±1,21 ^a	343,15±4,61 ^a	337,53±1,76 ^a

Kết quả được biểu diễn dưới dạng GTTB±SE. Giá trị với các ký tự giống nhau được hiểu là sai khác không có ý nghĩa (ANOVA, p>0,05). TG: Thời gian; DOM: domperidone; LHRHa: luteinizing hormone releasing hormone analog; HCG: human chorionic gonadotropin; NMSL: nước muối sinh lý (đối chứng)

Bảng 9. pH trong dịch tương cá chêm mỡ nhon *Psammoperca waigiensis* sau khi được kích thích các hormone

TG (h)	NMSL 0,9%	DOM (20 mg/kg)	LHRHa (µg/kg)			HCG (IU/kg)		
			20	50	80	500	1000	1500
0	7,75±0,06 ^a	7,70±0,07 ^a	7,65±0,09 ^a	7,73±0,05 ^a	7,70±0,09 ^a	7,78±0,05 ^a	7,75±0,06 ^a	7,75±0,06 ^a
24	7,73±0,09 ^a	7,73±0,06 ^a	7,63±0,10 ^a	7,75±0,06 ^a	7,73±0,10 ^a	7,80±0,07 ^a	7,80±0,09 ^a	7,78±0,08 ^a
48	7,75±0,10 ^a	7,70±0,08 ^a	7,60±0,08 ^a	7,78±0,06 ^a	7,78±0,09 ^a	7,83±0,08 ^a	7,85±0,13 ^a	7,80±0,09 ^a
72	7,70±0,08 ^a	7,63±0,11 ^a	7,63±0,09 ^a	7,73±0,08 ^a	7,73±0,09 ^a	7,73±0,06 ^a	7,83±0,15 ^a	7,70±0,07 ^a

Kết quả được biểu diễn dưới dạng GTTB±SE. Giá trị với các ký tự giống nhau được hiểu là sai khác không có ý nghĩa (ANOVA, p>0,05). TG: Thời gian; DOM: domperidone; LHRHa: luteinizing hormone releasing hormone analog; HCG: human chorionic gonadotropin; NMSL: nước muối sinh lý (đối chứng).

Morisawa (1985) báo cáo rằng nồng độ ion Na⁺ trong dịch tương cá xương nằm trong khoảng 75 – 175 mM/l. Nồng độ ion Na⁺ cao nhất trên cá chêm mỡ nhon ở nghiên cứu này là 151,48±1,80mM/l do được kích thích bởi HCG 1000 IU/kg tại thời điểm thu mẫu sau 72h và thấp nhất là 138,63±1,80 mM/l do được kích thích bởi HCG 500 IU/kg tại thời điểm thu mẫu sau 24h, nằm trong khoảng như Morisawa (1985) đã báo cáo; cao hơn so với nồng độ Na⁺ trong dịch tương cá rô 124 mM/l (Lahnsteiner *et al.* 1995), cá hồi 46,21 mM/l (Bozkurt *et al.* 2011), tuy nhiên lại thấp hơn so với cá da trơn 164 mM/l (Tan-Fermin *et al.* 1999). Nồng độ ion K⁺ sau khi được kích thích bởi các hormone trong nghiên cứu này dao động trong khoảng 16,43±0,72 đến 18,28±0,26 (mM/l), tương đương với nồng độ K⁺ trong dịch tương cá da trơn 18 mM/l (Tan-Fermin *et al.* 1999), cao hơn so với nồng độ K⁺ trong dịch tương cá rô 10 mM/l (Lahnsteiner *et al.* 1995), và thấp hơn so với cá chép 70 mM/l (Morisawa *et al.* 1983) và cá hồi 46 mM/l (Bozkurt *et al.* 2011). Sự gia

tăng đáng kể ion Na⁺, K⁺ trong nghiên cứu này tương tự với kết luận của Linhart *et al.* (2003) trong nghiên cứu trên cá *Polyodon spatula* rằng việc kích thích sinh sản bằng bột tuyến yên cá chép (Carp pituitary powder) và LHRHa dẫn đến sự khác biệt nồng độ các ion trong dịch tương; Seifi và ctv (2011) cũng kết luận rằng nồng độ Na⁺, K⁺, Cl⁻, protein tổng số trong dịch tương đều thay đổi đáng kể (p<0,01) bởi việc sử dụng các hormone khác nhau (Ovaprim, HCG, cPG) trên thí nghiệm giữa cá chép được nuôi nhốt và cá chép được đánh bắt ngoài tự nhiên. Tuy nhiên kết quả nghiên cứu này lại trái ngược với kết quả nghiên cứu trên cá tầm thia *Polyodon spatula* của Linhart *et al.* (2003).

Nồng độ Ca²⁺, Mg²⁺ thay đổi không đáng kể bởi việc sử dụng các hormone LHRHa (20, 50, 80 µg/kg), HCG (500, 1000, 1500 IU/kg), DOM 20 mg/kg so với tiêm nước muối sinh lý (NMSL). Kết quả này tương tự với kết quả nghiên cứu của Seifi *et al.* (2011) trên thí nghiệm giữa cá chép được nuôi nhốt và cá chép được đánh bắt ngoài tự nhiên được kích thích bởi các hormone khác

nhau (Ovaprim, HCG, cPG). Cũng giống như vậy, các thông số dịch tương trên cá *Cirrhinus mrigala* cũng được báo cáo rằng có sự ảnh hưởng đáng kể bởi việc tiêm hormone Ovaprim (sGnRH + Domperidon) kích thích sinh sản trên cá đực (Verma *et al.* 2009).

Nồng độ thẩm thấu trong dịch tương cá *Barbus shapeyi* cũng thay đổi đáng kể bởi việc kích thích các hormone khác nhau, nồng độ thẩm thấu cao nhất được quan sát thấy trên cá này là do được kích thích bởi LHRHa2 (10 µg/kg) tại thời điểm sau 16h tiêm là 320,67±2,96 (Kalbassi *et al.* 2014). Trong khi đó ở nghiên cứu này, việc tiêm LHRHa không dẫn đến nồng độ thẩm thấu cao nhất, nồng độ thẩm thấu cao nhất trong dịch tương cá chêm mỡ nhon được quan sát thấy trong nghiên cứu là 344,25±4,35 do được tiêm bởi HCG 1000 IU/kg sau 48h (p>0,05).

pH trong dịch tương cá chêm mỡ nhon thay đổi không đáng kể bởi việc kích thích bằng các hormone sinh sản so với nước muối sinh lý, dao động trong khoảng 7,60±0,08 do được kích thích bởi LHRHa 20 µg/kg đến 7,85±0,13 do được kích thích bởi HCG 1000 IU/kg. pH trong dịch tương cá bon đuôi vàng tăng cao sau khi được kích thích bởi GnRHa (Clearwater and Crim 1998). Nghiên cứu của (Seifi *et al.* 2011) đã báo cáo rằng pH trong dịch tương thay đổi đáng kể (p<0,01) sau khi được kích thích bởi hormone cPG 3 mg/kg sau 12h, HCG 1500 IU/

kg sau 12h, Ovaprim (sGnRHa+domperidon) 0,5 ml/kg sau 24h so với NMSL 0,7% ở nhóm cá chép được nuôi nhốt và nhóm cá chép được thu ngoài tự nhiên.

4. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ XUẤT Ý KIẾN

Tóm lại, nghiên cứu ảnh hưởng của hormone lên đặc tính sinh hóa cá chêm mỡ nhon được thể hiện thông qua thay đổi hàm lượng ion Na⁺ mà không làm ảnh hưởng đến các đặc tính sinh hóa khác trong dịch tương. Kết quả nghiên cứu này cho thấy có sự ảnh hưởng không đáng kể của loại, liều lượng, thời gian sau khi tiêm các loại hormone kích thích sinh sản lên đặc tính sinh hóa dịch tương cá chêm mỡ nhon đực.

Tuy nhiên, như đã thảo luận ở trên việc sử dụng Thyroxin (T4) với liều lượng 0,5 mg/kg thông qua chế độ ăn hoặc tiêm có kết quả tốt hơn về tỷ lệ thụ tinh và tỷ lệ đẻ so với HCG và LHRHA. Vì vậy cần thực hiện thêm nhiều thí nghiệm hơn nữa với nghiệm thức sử dụng T4 lên đặc tính sinh hóa đối với cá chêm mỡ nhon đực.

5. 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 106.05-2017.343. Chúng tôi xin chân thành cảm ơn đến NAFOSTED đã tài trợ kinh phí để thực hiện nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Le, M.H., Lim, H.K., Min, B.H., Lee, J.U., Chang, Y.J., 2011. Semen properties and spermatozoan structure of yellow croaker, *Larimichthys polyactis*. The Israeli Journal of Aquaculture - Bamidgeh, 1-8.
2. Pham, Q. H., Nguyen, T. A., Kjorsvik, E., Nguyen, D. M., Arukwe, A., 2012. Seasonal reproductive cycle in Waigieu seaperch (*Psammoperca waigiensis*). Aquaculture Research.43, 815-830.
3. Pham, Q. H., Nguyen, T. A., Nguyen, D. M., Arukwe, A., 2010a. Sex steroid levels, oocyte maturation and spawning performance in Waigieu seaperch (*Psammoperca waigiensis*) exposed to Thyroxin, Human Chorionic Gonadotropin, Luteinizing Hormone Releasing Hormone and Carp Pituitary Extract. Comparative and Biochemistry Physiology, Part A: Molecular & Integrative Physiology.155, 223-230.
4. Pham, Q. H., Nguyen, T. A., Nguyen, D.M., 2007a. Could Domperidone via oral administration enhance final

- oocyte maturation and ovulation and in the long-term affect egg and larval quality in sand bass (*Psammoperca waigiensis*)? Aquaculture Asia Vol XII No 4, October -December 2007, 35-38.
5. Pham, Q. H., Nguyen, T. A., Nguyen, D.M., 2007b. Holding salinity during the breeding season effects final oocyte maturation and egg quality in sand bass (*Psammoperca waigiensis*, Cuvier & Valenciennes 1828). Aquaculture Asia Vol XII No 3, July-September 2007, 37-39.
 6. Shimose, T., Tachihara, K., 2006. Age, growth and reproductive biology of the Waigieu seaperch *Psammoperca waigiensis* (Perciformes: Latidae) around Okinawa Island, Japan. Ichthyology Research.53, 166-171.
 7. Bobe, J., Labbé, C., 2010. Egg and sperm quality in fish. General and Comparative Endocrinology.165, 535-548.
 8. 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 J Anim Sci.56, 355-364.
 9. Clearwater, S.J., Crim, L.W. , 1998. Gonadotropin releasing hormone-analogue treatment increases sperm motility, seminal plasma pH and sperm production in yellowtail flounder *Pleuronectes ferrugineus*. Journal of Fish Physiology and Biochemistry.19, 349-357.
 10. Elakkanai, P., Francis, T., Ahilan, B., Jawahar, P., Padmavathy, P., Jayakumar, N., Subburaj, A., 2015. Role of GnRH, HCG and kisspeptin on reproduction of fishes. Indian Journal of Science and Technology.8, 1-10.
 11. Hajirezaee, S., Amiri, B.M., Mirvaghefi, A., 2010. Fish milt quality and major factors influencing the milt quality parameters: A review. African Journal of Biotechnology.9, 9148-9154.
 12. Kalbassi, M.R., Lorestani, R., Marammazi, J.G., 2014. Improvement of Sperm Quality Indices of Benni Fish (*Barbus sharpeyi*) by Application of LHRHA2 and Metoclopramide. J Agr Sci Tech.16, 91-104.
 13. Lahnsteiner, F., Berger, B., Weismann, T., Patzner, R., 1995. Fine Structure and Motility of Spermatozoa and Composition of the Seminal Plasma in the Perch. J Fish Biol 47, 492-508.
 14. Le, M.H., Brown, Paul B., 2016. Effects of time after hormonal stimulation on milt properties in Waigieu seaperch *Psammoperca waigiensis*. The Israeli Journal of Aquaculture - Bamidgheh.68, 1-10.
 15. Le, M.H., Nguyen, T.H.N., Pham, P.L., 2014. Semen properties of waigieu seaperch *Psammoperca waigiensis*. The Israeli Journal of Aquaculture - Bamidgheh.66, 7 pages.
 16. Linhart, O., Mims, S.D., Boris Gomelsky, B., Hiott, A.E., Shelton, W.L., Cosson, J. , 2003. Ionic composition and osmolality of paddlefish (*Polyodon spathula*, Acipenseriformes) seminal fluid. Aquaculture International.11, 357-68.
 17. Mañanós, E., Duncan, N., Mylonas, C.C. Reproduction and control of ovulation, spermiation and spawning in cultured fish. In: Cabrita E, Robles V, Herráez MP, editors. Methods in Reproductive Aquaculture: Marine and Freshwater Species. USA: CRC Press, Taylor & Francis Group, Boca Raton, FL, USA; 2009. p. 3-80.
 18. Mehdi, Y., Ehsan, M.S., 2013. A review of the control of reproduction and hormonal manipulations in finfish species. International Journal of Agricultural Research and Reviews.1, 15-21.
 19. Morisawa, M., 1985. Initiation Mechanism of Sperm Motility at Spawning in Teleosts. Zool Sci 2, 605-615.
 20. Morisawa, M., Suzuki, K., Morisawa, S., 1983. Effects of Potassium and Osmolality on Spermatozoan Motility of Salmonid Fishes. J Exp Biol.107, 105-113.
 21. Mylonas, C.C., Fostier, A., Zanuy, S., 2010. Broodstock management and hormonal manipulations of fish reproduction. General and Comparative Endocrinology.165, 516-534.
 22. Nguyen, T.N., Luc, M.D., Nguyen, D.T., 2003. Studies on artificial seed breeding of waigieu seaperch

- Psammoperca waigiensis* (Cuvier and Valenciennes, 1828). Components of scientific research and technological development between the University of Fisheries and SUMA Management, Ministry of Fisheries. in Vietnamese.
23. Pham, Q.H., Kjørsvik, E., Nguyen, T.A., Nguyen, D.M., Arukwe, A., 2010b. Reproductive cycle in female Waigieu seaperch (*Psammoperca waigiensis*) reared under different salinity levels and the effects of dopamine antagonist on steroid hormone levels. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*.383 137–145.
24. Pham, Q.H., Le, M.H., 2016. Effects of thyroxin and domperidone on oocyte maturation and spawning performances in the rabbit fish (*Siganus guttatus*). *Journal of the World Aquaculture Society*.Accepted.
25. Seifi, T., Imanpoor, M.R., Golpour, A., 2011. The effect of different hormonal treatment on semen quality parameters in cultured and wild carp. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*.11, 595 - 602.
26. Tan-Fermin, J.D., Miura, T., Adachi, S., Yamauchi, K., 1999. Seminal Plasma Composition, Sperm Motility and Milt Dilution in the Asian Catfish *Clarias macrocephalus* (Gunther). *Aquaculture*.171, 323-338.
27. Verma, D.K., Routray, P., Nanda, P.K., Sarangi, N., 2009. Seasonal variation in semen: characteristics and biochemical composition of seminal plasma of mrigal, *Cirrhinus mrigala* *Asian Fisheries Science*.22, 429-443.
28. Zohar, Y., Muñoz-Cueto, J.A., Elizur, A., Kah, O., 2010. Neuroendocrinology of reproduction in teleost fish. *General and Comparative Endocrinology*.165, 438-455.
29. Zohar, Y., Mylonas, C.C., 2001. Endocrine manipulations of spawning in cultured fish: from hormones to genes. *Aquaculture*.197, 99-136.