

## **ĐÁNH GIÁ HOẠT LỰC TINH TRÙNG CÁ CHÊM MỠM NHỌN (*Psammoperca waigiensis*) BẢO QUẢN TRONG TỦ LẠNH THÔNG QUA MÙA VỤ SINH SẢN**

Lê Minh Hoàng\*, Phạm Quốc Hùng

*Viện Nuôi trồng Thủy sản, Đại học Nha Trang*

*Email\* : hoanglm@ntu.edu.vn*

Ngày gửi bài: 26.01.2016

Ngày chấp nhận: 06.06.2016

### TÓM TẮT

Mục tiêu của nghiên cứu này nhằm tìm ra tỷ lệ pha loãng tối ưu cũng như nồng độ kháng sinh Gentamycin thích hợp bổ sung vào quá trình bảo quản tinh trùng cá chêm mỡm nhọm *Psammoperca waigiensis* trong tủ lạnh thông qua mùa vụ sinh sản. Tinh dịch được pha loãng trong ASP (artificial seminal plasma) với các tỷ lệ 1:1, 1:3, 1:5 và 1:7 (tinh dịch: ASP). Gentamycin được sử dụng để bổ sung vào quá trình bảo quản với các nồng độ 100, 200 và 300ppm. Kết quả thu được cho thấy tinh trùng được pha loãng với tỷ lệ 1:3 và bổ sung 200ppm Gentamycin cho hoạt lực tốt nhất vào đầu và giữa vụ sinh sản, trong khi đó tinh trùng thu ở cuối vụ sinh sản cho hoạt lực tốt nhất ở tỷ lệ 1:5 và 300ppm Gentamycin.

Từ khóa: Bảo quản lạnh, cá chêm mỡm nhọm, hoạt lực tinh trùng, kháng sinh, tinh trùng, tỷ lệ pha loãng.

### **Estimating Sperm Motility of Waigieu Seaperch (*Psammoperca waigiensis*) Preserved in Refrigerator throughout the Reproductive Season**

#### ABSTRACT

The objectives of this study were to find the optimal sperm dilution and gentamycin concentration for Waigieu seaperch, *Psammoperca waigiensis*, chilled sperm preservation throughout the spawning season. The semen were diluted at 1:1, 1:3, 1:5 and 1:7 in artificial seminal plasma. Gentamycin was added at concentration of 100, 200 and 300 ppm. Semen dilution at 1:3 and addition of 200ppm gentamycin with sperm collected at the beginning spawning season and the middle spawning season and dilution ratio of 1:5 with 300ppm gentamycin with seperm collected at end spawning season yielded highest sperm motility.

Keywords: Chilled preservation, dilution, gentamycin, sperm, sperm motility, waigieu seaperch.

#### 1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cá chêm mỡm nhọm *Psammoperca waigiensis* là loài phân bố ở vùng biển nhiệt đới và có giá trị kinh tế cao. Hiện nay, trên thế giới nói chung và Việt Nam nói riêng không có nhiều nghiên cứu về loài này. Nguyễn Trọng Nho và Lục Minh Diệp (2003) đã tiến hành nghiên cứu đặc điểm sinh học sinh sản và cho thử nghiệm sản xuất giống nhân tạo loài cá này, tuy nhiên số lượng con giống vẫn còn hạn chế (Nguyễn Trọng Nho và Lục Minh Diệp, 2003). Để có thể sản xuất một lượng con giống lớn nhằm cung

cấp cho nuôi thương phẩm, những nghiên cứu về sinh sản nhân tạo và ương nuôi cá chêm mỡm nhọm là rất cần thiết. Do đó, thành công của quá trình bảo quản lạnh tinh trùng cá chêm mỡm nhọm sẽ giúp có được nguồn tinh trùng trong bất cứ thời gian nào và giảm chi phí nuôi giữ cá đực.

Bảo quản tinh trùng đóng vai trò quan trọng trong các chương trình chọn giống và bảo tồn nguồn gen của vật nuôi, góp phần cung cấp nguồn nguyên liệu cho công nghệ di truyền phân tử áp dụng trong các chương trình chọn giống. Nhờ bảo quản tinh ta có thể chủ động trong quá trình sản xuất giống nhân tạo, nhất

là trường hợp có hiện tượng lệch pha trong sự thành thục giữa giới đực và cái. Việc bảo quản tinh góp phần làm đơn giản hóa quá trình vận chuyển cá bố từ nơi này đến nơi khác. Ngoài ra, phương pháp này còn hạn chế tối đa việc lưu giữ cá đực, bảo tồn dòng thuần và ngăn cản suy giảm chất lượng di truyền do lai cận huyết (Rana and McAndrew, 1989).

Những năm gần đây, cá chêm mồm nhọn là loài được nuôi rất phổ biến, đặc biệt là ở Việt Nam (Pham *et al.*, 2012; Shimose and Tachihara, 2006). Tuy nhiên, vẫn chưa có các nghiên cứu về việc xác định các điều kiện tối ưu cho quá trình bảo quản lạnh tinh trùng trong khi trên thế giới đã có nhiều nghiên cứu trên các đối tượng như: cá tuyết Đại Tây dương *Gadus morhua*, cá tuyết chấm đen *Melanogrammus aeglefinus* (DeGraaf and Berlinsky, 2004a), cá chép *Cyprinus carpio* (Nguyen and Le, 2013), cá đù vàng *Larimichthys polyactis* (Le *et al.*, 2011), cá mú cọp *Epinephelus fuscoguttatus* (Lê Minh Hoàng và Đặng Hoàng Trường, 2015)... nhưng vẫn chưa tiến hành nghiên cứu bảo quản tinh trùng cá chêm mồm nhọn trong tủ lạnh ở các thời điểm thu mẫu khác nhau. Do đó, việc đánh giá chất lượng tinh trùng bảo quản trong tủ lạnh tại các thời điểm khác nhau trong mùa vụ sinh sản của cá chêm mồm nhọn *Psammoperca waigiensis* là hết sức cần thiết.

## 2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Thời gian, địa điểm và đối tượng nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện tại phòng thí nghiệm Sinh lý của Viện Nuôi trồng Thủy sản – trường Đại học Nha Trang từ tháng 11/2014 – 11/2015 trên đối tượng cá chêm mồm nhọn *Psammoperca waigiensis*. Cá chêm mồm nhọn trưởng thành được thu thập từ tự nhiên và nuôi giữ trong lồng tại Bè Vũng Ngán, Nha Trang, Khánh Hòa. Cá được cho ăn hàng ngày bằng cá tạp có bổ sung thức ăn với khẩu phần là 3-5% khối lượng cơ thể cá. Pham *et al.* (2012) cho biết cá chêm mồm nhọn đực có mùa vụ sinh sản từ tháng 3 đến tháng 11. Thời điểm đầu mùa vụ (tháng 3), giữa mùa vụ (tháng 7) và cuối mùa vụ

(tháng 11) được dùng cho các thí nghiệm trong nghiên cứu này. Ở mỗi thời điểm, tinh dịch được thu thập từ 3 cá đực riêng biệt. Kích cỡ của cá đực sử dụng cho thí nghiệm được trình bày ở bảng 1. Cá đực được gây mê bằng Ethylene glycol monophenylether với liều lượng 200ppm 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 được bảo quản trên đá lạnh xay cho đến khi sử dụng cho thí nghiệm. Mẫu tinh dịch được đánh giá chất lượng thông qua các thông số như tỷ lệ tinh trùng hoạt động và vận tốc tinh trùng. Các thông số này được phân tích bằng CASA (computer aided for sperm analysis) với phần mềm ImageJ. Tinh trùng được pha loãng với nước biển nhân tạo ở tỉ lệ 1:100 và quan sát dưới kính hiển vi Olympus BX41 (Nhật Bản) độ phóng đại 40× có kết nối với camera để ghi lại video. Các video này được cho vào phần mềm ImageJ để phân tích hoạt lực và vận tốc tinh trùng. Mỗi mẫu tinh dịch được quan sát 3 lần.

### 2.2. Bố trí thí nghiệm

#### 2.2.1. Xác định đặc tính lý học của tinh dịch

Sau khi thu thập được tinh dịch cá, tiến hành xác định một số đặc tính lý hóa sinh của tinh trùng cá. Thể tích của tinh dịch được xác định bằng 1,5 ml eppendorf tube, mật độ của tinh trùng được xác định bằng phương pháp đếm ở buồng đếm tinh trùng (Makler Counting Chamber, UK) và độ quán tính của tinh trùng được xác định bằng Hawksley micro-hematocrit reader (UK).

Số lượng tinh trùng trên một đơn vị thể tích được tính toán bằng thể tích của tinh trùng với mật độ của tinh trùng. Để tiến hành xác định pH, áp suất thẩm thấu và các đặc tính hóa sinh, cho tinh dịch cho vào 1,5 eppendorf tube rồi li tâm (15.000rpm) khoảng 10 phút. Sau khi li tâm, tiến hành tách phần dịch tương ở phía trên

rồi tiến hành xác định pH và áp suất thẩm thấu. pH được xác định bằng máy đo pH để bàn (HANNA HI 2211, Rumania). Áp suất thẩm thấu được xác định bằng máy đo áp suất thẩm thấu (Advanced Instruments Osmometer 3MO Plus, US).

### 2.2.2. Thí nghiệm đánh giá chất lượng tinh trùng sau khi bảo quản

Tinh dịch thu thập ở các thời điểm đầu, giữa và cuối vụ sinh sản được pha loãng với các tỷ lệ khác nhau 1:1, 1:3, 1:5 và 1:7 trong ASP (artificial seminal plasma) được bảo quản trong tủ lạnh ở 2°C (Lê Minh Hoàng và cs., 2013). Nghiệm thức đối chứng là tinh trùng không được pha loãng. Mỗi nghiệm thức được lặp lại 3 lần. Hoạt lực và vận tốc tinh trùng được đánh giá sau 3 ngày một lần, chẳng hạn như: ngày thứ 3, 6, 9... cho đến khi tinh trùng ngừng hoạt động.

Từ kết quả của thí nghiệm trên, tiến hành pha loãng tinh dịch với tỷ lệ pha loãng tối ưu trong ASP có bổ sung kháng sinh Gentamycin ở các nồng độ 100ppm, 200ppm, 300ppm và bảo quản trong tủ lạnh ở 2°C (Lê Minh Hoàng và cộng sự, 2013; Le *et al.*, 2013). Nghiệm thức đối chứng trong thí nghiệm này là không dùng kháng sinh. Mỗi nghiệm thức được lặp lại 3 lần. Hoạt lực và vận tốc tinh trùng được đánh giá sau 3 ngày một lần, chẳng hạn như: ngày thứ 3, 6, 9... cho đến khi tinh trùng ngừng hoạt động.

### 2.3. Xử lý số liệu

Số liệu được trình bày dưới dạng giá trị trung bình  $\pm$  sai số chuẩn. Xử lý số liệu bằng phần mềm Excel 2003. Ảnh hưởng của tỷ lệ pha loãng và nồng độ kháng sinh đến hoạt lực và vận tốc tinh trùng được phân tích phương sai một yếu tố (One-way ANOVA) bằng so sánh Duncan với mức ý nghĩa  $P < 0,05$  thông qua phần mềm SPSS 18.0.

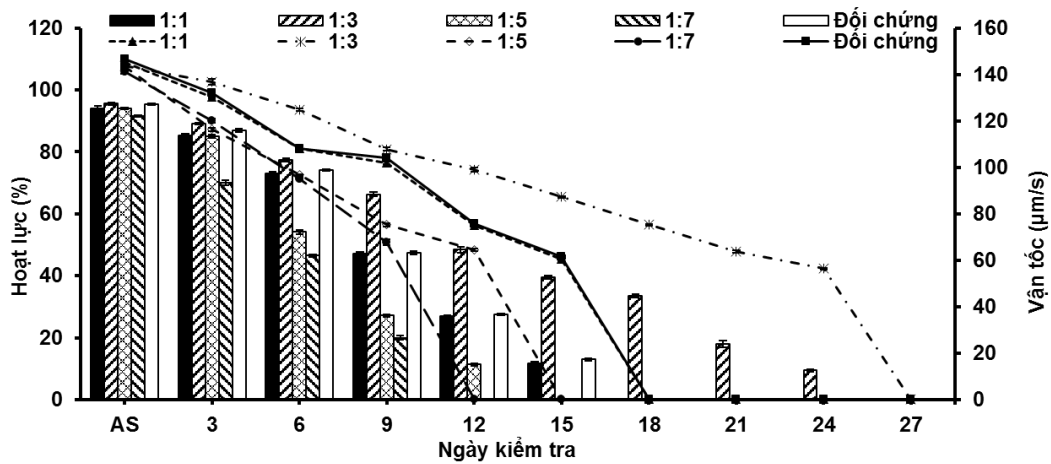
## 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 3.1. Một số thông số lý học của tinh dịch cá chêm mồm nhọn

Qua bảng 1, các thông số cho thấy tinh dịch cá chêm thu được vào đầu, giữa và cuối vụ sinh sản không có sự khác biệt nhiều và tốt nhất ở giữa vụ sinh sản với hoạt lực là 91,67%. So với các đối tượng khác, hoạt lực của tinh trùng cá chêm mồm nhọn cao hơn so với tinh trùng cá hồi nâu Capsian (59,4%) (Hajirezaee *et al.*, 2010b), cá hồi *Salmo trutta* (80,37%) (Bozkurt *et al.*, 2011), cá bơn châu Âu (86%) (Sahin *et al.*, 2012). Thông số thời gian hoạt lực tinh trùng của cá chêm cao nhất ở cuối vụ sinh sản với 234,67s nhưng thấp hơn so với tinh trùng cá bơn châu Âu (1320s) (Sahin *et al.*, 2012). Tuy nhiên so với tinh trùng cá chạch Capsian (39s) (Golpour and Hosseini, 2011), cá hồi *Salmo trutta* (81,47s) (Hajirezaee *et al.*, 2010a) thì thời gian hoạt lực của cá chêm lại cao hơn đáng kể.

**Bảng 1. Khối lượng, chiều dài và đặc tính lý học của tinh dịch cá chêm mồm nhọn được thu ở đầu, giữa và cuối vụ sinh sản**

Thông số	Đầu vụ (n=3)		Giữa vụ (n=3)		Cuối vụ (n=3)	
	Trung bình	Độ lệch chuẩn	Trung bình	Độ lệch chuẩn	Trung bình	Độ lệch chuẩn
Khối lượng (g)	523,67	116,32	529,67	53,68	518,33	27,54
Chiều dài cá (cm)	26,2	0,9	26,1	0,46	26,2	0,85
Thể tích tinh dịch (ml/cá đực)	1,43	0,06	1,43	0,06	1	0,17
Mật độ tinh trùng ( $\times 10^9$ tb/ml)	30,93	2,74	30,3	1,65	28,8	0,95
Độ quán (%)	86,67	2,89	86,67	2,89	76,67	5,77
Số lượng tinh trùng ( $\times 10^9$ tb/cá đực)	44,28	3,30	43,40	2,02	28,91	5,85
Hoạt lực tinh trùng (%)	90,33	5,51	91,67	2,89	91,33	4,51
Vận tốc tinh trùng ( $\mu\text{m/s}$ )	143	2,65	140	6,56	141,33	5,51
Thời gian hoạt lực (s)	230,33	2,31	225,67	5,51	234,67	6,66



Hình 1. Ảnh hưởng của tỷ lệ pha loãng đến hoạt lực (cột) và vận tốc (đường) tinh trùng cá chêm mồm nhọn bảo quản trong tủ lạnh đầu vụ sinh sản

### 3.2. Ảnh hưởng của tỷ lệ pha loãng lên hoạt lực và vận tốc tinh trùng cá chêm mồm nhọn bảo quản trong tủ lạnh ở đầu, giữa và cuối vụ sinh sản

#### 3.2.1. Ở đầu vụ sinh sản

Kết quả đo hoạt lực và vận tốc tinh trùng cá chêm mồm nhọn bảo quản trong tủ lạnh ở đầu vụ sinh sản được thể hiện ở hình 1.

Hoạt lực và vận tốc của tinh trùng đạt mức tốt nhất khi pha loãng ở tỷ lệ 1:3 (9,44% và 56,44 µm/s) kéo dài đến ngày thứ 24, trong khi đó tinh dịch được pha loãng ở tỷ lệ 1:7 cho kết quả thấp nhất với hoạt lực và vận tốc tinh trùng lần lượt là 20% và 67,78 µm/s chỉ kéo dài thời gian sống đến ngày thứ 9. Ở nghiệm thức đối chứng, hoạt lực và vận tốc tinh trùng đạt được khá cao tuy nhiên thời gian sống của tinh trùng chỉ kéo dài đến ngày thứ 15 (12,22% và 60,11 µm/s).

#### 3.2.2. Ở giữa vụ sinh sản

Kết quả thu được tương tự với tinh trùng được thu ở đầu vụ sinh sản, tinh dịch được pha loãng với tỷ lệ 1:3 cho kết quả tốt nhất; hoạt lực và vận tốc lần lượt là 8,89% và 55,33 µm/s với thời gian sống kéo dài đến 24 ngày (Hình 2). Sau 3 ngày bảo quản, hoạt lực tinh trùng ở các tỷ lệ pha loãng 1:3 và nghiệm thức đối chứng có sự sai khác so với các tỷ lệ còn lại. Đến ngày thứ

6 thì kết quả ở tỷ lệ pha loãng 1:3 sai khác so với tất cả các nghiệm thức còn lại ( $P < 0,05$ ). Hoạt lực và vận tốc quan sát được thấp nhất ở thí nghiệm có tỷ lệ pha loãng 1:7, chỉ kéo dài thời gian sống tinh trùng 9 ngày (19,33% và 66,44 µm/s).

#### 3.2.3. Ở cuối vụ sinh sản

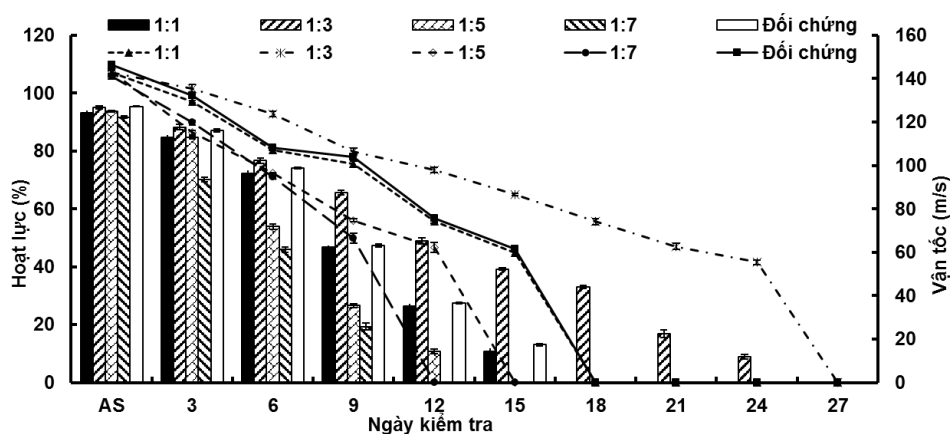
Kết quả quan sát được cho thấy hoạt lực và vận tốc của tinh trùng khi được pha loãng ở tỷ lệ 1:5 là tốt nhất (8% và 46,78 µm/s) với thời gian sống kéo dài đến ngày thứ 24 và thấp nhất ở tỷ lệ 1:7 (18,56% và 66,22 µm/s). Sau 9 ngày bảo quản, hoạt lực ở nghiệm thức 1:5 có sự sai khác với các nghiệm thức còn lại ( $P < 0,05$ ). Trong khi đó, vận tốc tinh trùng ở tỷ lệ pha loãng 1:5 sai khác với các tỷ lệ còn lại sau 12 ngày bảo quản.

Kết quả thu được cho thấy, ở thời điểm thu mẫu đầu và giữa vụ sinh sản tinh dịch được pha loãng ở tỷ lệ 1:3 cho kết quả tốt nhất, trong khi đó ở cuối vụ sinh sản thì tỷ lệ 1:5 lại cho kết quả tốt nhất. Tỷ lệ pha loãng là một yếu tố ảnh hưởng lớn đến thời gian bảo quản tinh trùng, vì khi pha loãng sẽ làm giảm mật độ tinh trùng so với lúc ban đầu. Theo nghiên cứu của Le *et al.* (2011), tinh trùng cá đù vàng (*Larimichthys polyactis*) bảo quản ở tỷ lệ 1:3 cho thời gian sống lâu nhất (14 ngày), tỷ lệ 1:1 (10 ngày) và tỷ lệ 1:5 (12 ngày). Đối với tinh trùng cá tuyết Đại Tây Dương (*Gadus morhua*), cá tuyết chấm đen

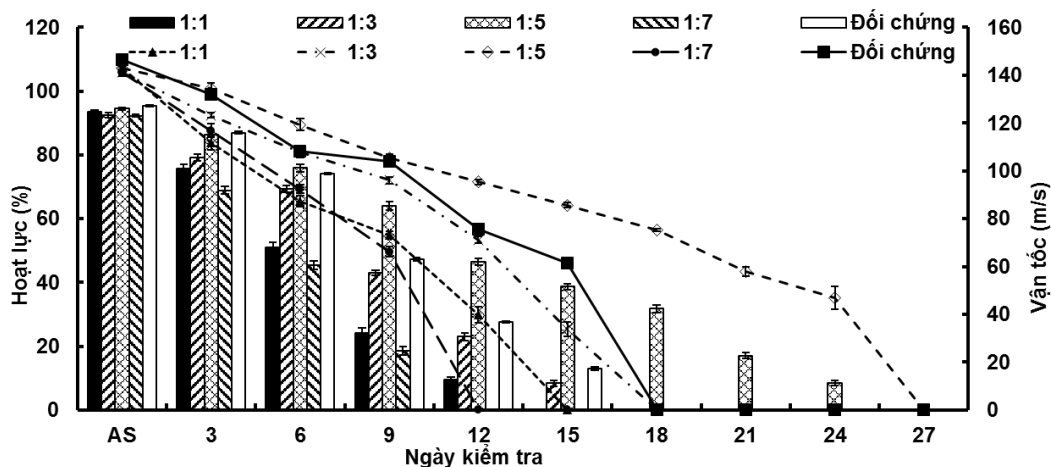
Đánh giá hoạt lực tinh trùng cá chêm mồm nhọn (*Psammoperca waigiensis*) bảo quản trong tủ lạnh thông qua mùa vụ sinh sản

(*Melanogrammus aeglefinus*) và cá mướp vân (*Osmerus mordax*), tỷ lệ pha loãng 1:3 tốt hơn so với các tỷ lệ 1:1, 1:2, 1:5 và 1:10 (DeGraaf and Berlinsky, 2004a; 2004b). Ở tinh trùng cá trê Phi (*Clarias gariepinus*) tỷ lệ pha loãng 1:5 tốt hơn so với tỷ lệ 1:3 hay 1:10 (Erdahl *et al.*, 1987). Năm 1984, Erdahl *et al.* đã công bố với tỷ lệ pha loãng lớn hơn tỷ lệ 1:3 tinh trùng cá hồi nâu *Salmo trutta fario* và cá hồi Chinook *Oncorhynchus tshawytscha* sẽ giảm chất lượng sau 48h bảo quản so với các tỷ lệ 1:1, 1:2 hoặc 1:3 (Erdahl *et al.*, 1984). Nghiên cứu bảo quản lạnh tinh trùng cá hồi vân bản địa (*Oncorhynchus mykiss nelson*) được tiến hành

bằng cách pha loãng tinh dịch với các tỷ lệ 1:3, 1:6 và 1:9 trong chất pha loãng khác nhau được bảo quản ở nhiệt độ 4°C trong vòng 9 ngày. Kết quả cho thấy tinh dịch được pha loãng ở tỷ lệ 1:9 cho phần trăm tinh trùng hoạt lực tốt nhất (>80% trong 7 ngày) (Aguilar-Juárez *et al.*, 2014). Năm 2014, đề tài nghiên cứu bảo quản tinh trùng cá mú cọp *Epinephelus fuscoguttatus* của Đặng Hoàng Trường cũng cho kết quả hoạt lực và vận tốc tinh trùng cao nhất (4,56% và 12,33  $\mu\text{m/s}$ ) với tỷ lệ pha loãng 1:3 (Đặng Hoàng Trường, 2014). Như vậy có thể thấy với mỗi loài cá và mỗi thời điểm thu mẫu sẽ có tỷ lệ pha loãng khác nhau phù hợp với từng đối tượng.



Hình 2. Hoạt lực (cột) và vận tốc (đường) tinh trùng giữa vụ sinh sản được bảo quản trong tủ lạnh với các tỷ lệ pha loãng khác nhau



Hình 3. Hoạt lực (cột) và vận tốc (đường) tinh trùng cuối vụ sinh sản được bảo quản trong tủ lạnh với các tỷ lệ khác nhau

### 3.3. Ảnh hưởng của việc bổ sung kháng sinh Gentamycin đến hoạt lực và vận tốc tinh trùng cá chêm môm nhọn bảo quản trong tủ lạnh ở đầu, giữa và cuối vụ sinh sản

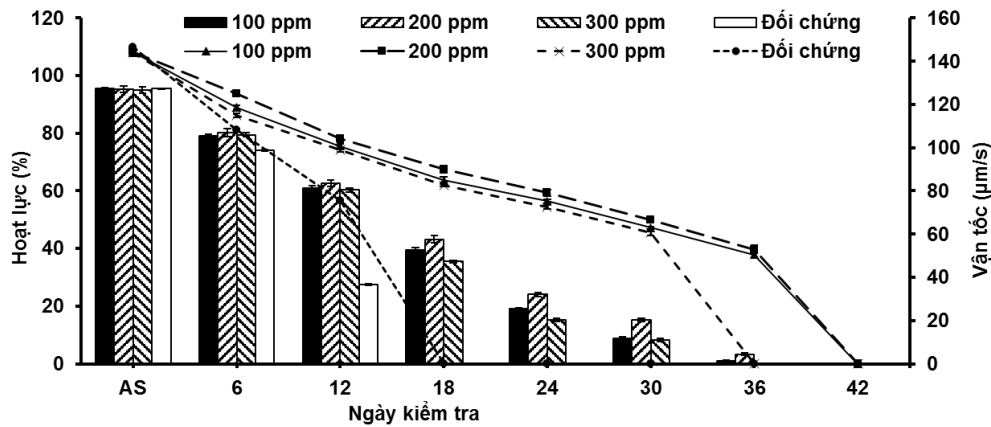
#### 3.3.1. Ở đầu vụ sinh sản

Kết quả quan sát được cho thấy sau khi bảo quản hoạt lực và vận tốc tinh trùng đạt cao nhất ở nghiệm thức bổ sung kháng sinh Gentamycin nồng độ 100ppm, tuy nhiên sau 6 ngày thì ở nghiệm thức bổ sung Gentamycin nồng độ 200ppm cho hoạt lực và vận tốc tốt nhất cho đến ngày 18 và có sự sai khác so với các nồng độ còn lại ( $P < 0,05$ ). Với nồng độ này, tinh trùng có thể kéo dài thời gian sống lên đến 36 ngày (3,33% và 52,89  $\mu\text{m/s}$ ). Kết quả thấp nhất ở nghiệm

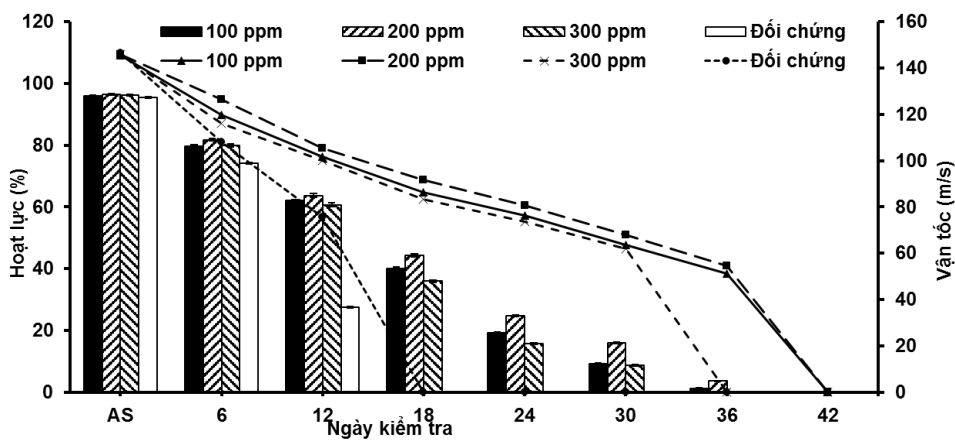
thức bổ sung 300ppm Gentamycin với thời gian sống của tinh trùng là 30 ngày, hoạt lực 8,22% và vận tốc 60,56  $\mu\text{m/s}$  (Hình 4).

#### 3.3.2. Ở giữa vụ sinh sản

Tinh trùng được bảo quản ở các điều kiện tối ưu cộng với việc bổ sung Gentamycin nồng độ 200ppm cho hoạt lực và vận tốc tinh trùng cao nhất và kéo dài tới ngày thứ 36 (3,33% và 52,89  $\mu\text{m/s}$ ). Sau 6 ngày bảo quản, kết quả ở nghiệm thức bổ sung 200ppm Gentamycin có sự sai khác có ý nghĩa với các nồng độ còn lại ( $P < 0,05$ ). Kết quả thấp nhất quan sát được khi bổ sung Gentamycin 300ppm với hoạt lực và vận tốc là 8,22% và 53,78  $\mu\text{m/s}$  với thời gian sống là 30 ngày (Hình 5).

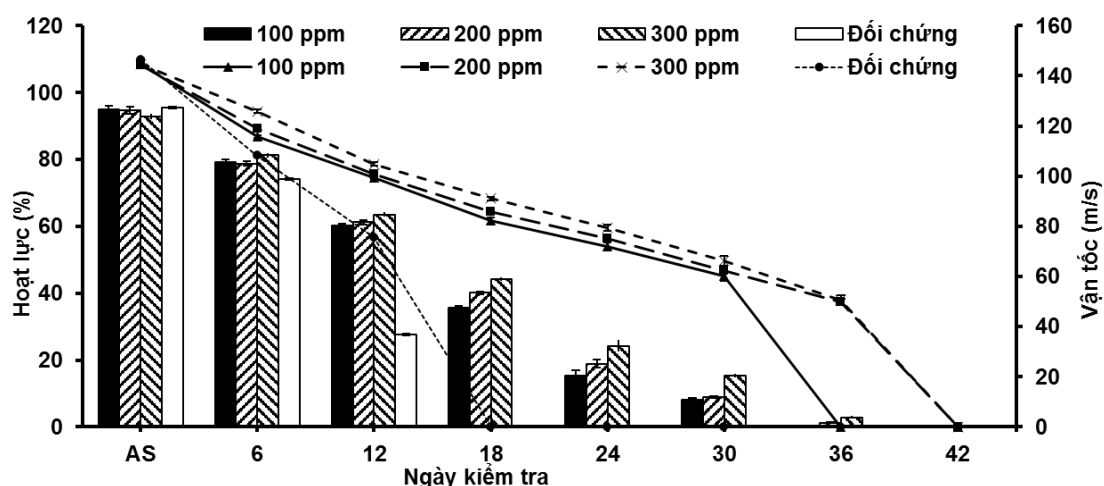


Hình 4. Hoạt lực (cột) và vận tốc (đường) tinh trùng đầu vụ sinh sản có bổ sung Gentamycin bảo quản trong tủ lạnh



Hình 5. Hoạt lực (cột) và vận tốc (đường) tinh trùng giữa vụ sinh sản có bổ sung Gentamycin bảo quản trong tủ lạnh

Đánh giá hoạt lực tinh trùng cá chêm mồm nhọn (*Psammoperca waigiensis*) bảo quản trong tủ lạnh thông qua mùa vụ sinh sản



Hình 6. Hoạt lực (cột) và vận tốc (đường) tinh trùng cuối vụ sinh sản có bổ sung Gentamycin bảo quản trong tủ lạnh

### 3.3.3. Ở cuối vụ sinh sản

Hoạt lực và vận tốc tinh trùng đạt tốt nhất khi bổ sung 300ppm Gentamycin (2,89% và 50,44 $\mu$ m/s) với thời gian sống lên đến 36 ngày. Trong khi đó ở nghiệm thức bổ sung 100ppm Gentamycin cho kết quả thấp nhất, hoạt lực 8% và vận tốc là 60,22  $\mu$ m/s, thời gian sống 30 ngày.

Kháng sinh là chất rất cần thiết để kéo dài thời gian bảo quản vì chúng có vai trò hạn chế sự phát triển của vi khuẩn tạp nhiễm trong quá trình thu thập mẫu và bảo quản lạnh (Chang *et al.*, 2002; Le *et al.*, 2011; Le *et al.*, 2013). Theo nghiên cứu của Chao *et al.* (1992), hoạt lực tinh trùng cá mú (*Epinephelus malabaricus*) có thể duy trì đến ngày thứ 8 khi chúng được bảo quản trong dung dịch Ringer dùng cho cá biển và bổ sung 500ppm Streptomycin. Việc bảo quản lạnh tinh trùng cá bơn Đại Tây Dương (*Hippoglossus hippoglossus*) trong tủ lạnh với chất bảo quản là dung dịch nước muối cân bằng của Hanks sau khi đã điều chỉnh tỉ lệ pha loãng 1:9 với Penicillin kết hợp Streptomycin ở nồng độ 200 IU/ml, tinh trùng có thể được duy trì hoạt lực cho đến ngày thứ 70 (Igor *et al.*, 2006). Đối với cá tuyết Đại Tây Dương (*Gadus morhua*) và cá Melanogrammus aeglefinus, việc bổ sung kết hợp 50 IU/ml Penicillin và 50  $\mu$ g/ml

Streptomycin vào quá trình bảo quản lạnh cho thấy khả năng thụ tinh và hoạt lực tinh trùng được gia tăng (DeGraaf and Berlinsky, 2004a). Ở cá hồi Đại Tây Dương (*Salmo salar*), bổ sung hàm lượng kháng sinh cao hơn (125 IU/ml Penicillin + 125 $\mu$ g/ml Streptomycin) không gây độc đối với tinh trùng mà còn kéo dài được thời gian bảo quản lạnh (Stoss and Refstie, 1983). Theo báo cáo của Le *et al.* (2011), tinh trùng cá đù vàng (*Larimichthys polyactis*) được bảo quản lạnh trong chất bảo quản là dịch tương nhân tạo tỉ lệ 1:3 có bổ sung 600ppm Gentamycin hoặc 200ppm Neomycin có thể gia tăng thời gian hoạt lực tinh trùng đến ngày thứ 26. Theo Le *et al.* (2013), bảo quản lạnh tinh trùng cá chêm mồm nhọn (*Psammoperca waigiensis*) trong dịch tương nhân tạo ở tỉ lệ 1:3 có bổ sung 200ppm Gentamycin có thể kéo dài thời gian hoạt lực cho đến ngày thứ 36. Đối với nghiên cứu này, tinh trùng cũng kéo dài thời gian hoạt lực cho đến ngày thứ 36 nếu bổ sung thêm 200ppm Neomycin. Ngoài ra, nghiên cứu vai trò của kháng sinh đến hoạt lực tinh trùng cá mú cộp (*Epinephelus fuscoguttatus*) sau khi bảo quản trong tủ lạnh cho kết quả hoạt lực và vận tốc tinh trùng tốt nhất khi bổ sung kháng sinh Neomycin với nồng độ 200ppm và kéo dài thời gian sống của tinh trùng lên đến 36 ngày (Lê Minh Hoàng và Đặng Hoàng Trường, 2015).

## 4. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

### 4.1. Kết luận

Hoạt lực và vận tốc tinh trùng tốt nhất khi pha loãng với tỷ lệ 1:3 và duy trì thời gian sống lên đến ngày thứ 27 đối với tinh trùng thu ở đầu và giữa vụ sinh sản. Trong khi đó, ở tỷ lệ pha loãng 1:7 tinh trùng chỉ sống đến ngày thứ 9. Đối với tinh trùng ở cuối vụ sinh sản, tỷ lệ pha loãng 1:5 cho kết quả tốt nhất với thời gian sống kéo dài đến ngày thứ 27 và thấp nhất ở tỷ lệ 1:7.

Việc bổ sung kháng sinh Gentamycin ở nồng độ 200ppm cho kết quả tốt nhất đối với tinh trùng thu ở đầu và giữa vụ sinh sản và kéo dài thời gian sống của tinh trùng lên 36 ngày; thấp nhất là 30 ngày với nồng độ 300ppm Gentamycin. Tuy nhiên, tinh trùng thu ở cuối vụ sinh sản lại cho kết quả tốt nhất khi bổ sung 300ppm Gentamycin cũng với thời gian sống là 36 ngày và thấp nhất ở nồng độ 100ppm.

### 4.2. Kiến nghị

Tỷ lệ thụ tinh là yếu tố đánh giá được chính xác chất lượng tinh trùng. Vì vậy, đối với các nghiên cứu sau này nên tiến hành thí nghiệm thụ tinh nhằm đánh giá được chất lượng tinh trùng một cách chính xác hơn.

Hiện nay, việc kích thích sinh sản bằng cách sử dụng hormone là khá phổ biến. Do đó, việc nghiên cứu ảnh hưởng của tiêm hormone lên chất lượng tinh trùng cũng là cần thiết thực hiện trong các nghiên cứu tiếp theo.

## 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-NN.02-2013.69. Chúng tôi xin chân thành cảm ơn NAFOSTED đã tài trợ kinh phí để thực hiện nghiên cứu này.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

Lê Minh Hoàng, Bông Minh Đương, Mai Như Thủy, Phạm Quốc Hùng (2013). Nghiên cứu bảo quản tinh trùng cá chêm mỡ nhọn *Psammoperca waigiensis* trong tủ lạnh. Tạp chí Khoa học - Công nghệ thủy sản, 4: 16-20.

- Lê Minh Hoàng, Đặng Hoàng Trường (2015). Vai trò của kháng sinh đến hoạt lực tinh trùng cá mú cộp *Epinephelus fuscoguttatus* sau khi bảo quản trong tủ lạnh. Tạp chí Khoa học và Phát triển, 13(4): 567-572.
- Nguyễn Trọng Nho, Lục Minh Diệp (2003). Nghiên cứu sản xuất giống nhân tạo cá Chêm Mỡ Nhọn *Psammoperca waigiensis* (Cuvier và Valenciennes, 1828). Hợp phần nghiên cứu khoa học và phát triển công nghệ giữa trường Đại học Thủy sản với Ban quản lý hợp phần SUMA, Bộ Thủy Sản.
- Đặng Hoàng Trường (2014). Nghiên cứu bảo quản tinh trùng cá mú cộp *Epinephelus fuscoguttatus* trong tủ lạnh. Luận văn thạc sĩ, Đại học Nha Trang.
- Aguilar-Juárez, M., Ruiz-Campos, G., Paniagua-Chavez, C.G. (2014). Cold storage of the sperm of the endemic trout *Oncorhynchus mykiss nelsoni*: a strategy for short-term germplasm conservation of endemic species. Revista Mexicana de Biodiversidad, 85: 294-300.
- 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.
- Chang, Y.J., Chang, Y.J., Lim, H.K., Lee, J.K., Park, Y.J. (2002). Cold storage of milt from four species of flatfish. J. Fish. Sci. Tech., 5: 64-74.
- Chao, N.H., Tsai, H.P., Liao, I.C. (1992). Short- and long-term cryopreservation of sperm and sperm suspension of the grouper *Epinephelus malabaricus*. Asian Fish. Sci., 5: 103-116.
- DeGraaf, J.D., Berlinsky, D.L. (2004a). Cryogenic and refrigerated storage of Atlantic cod (*Gadus morhua*) and haddock (*Melanogrammus aeglefinus*) spermatozoa. Aquaculture, 234: 527-540.
- DeGraaf, J.D., Berlinsky, D.L. (2004b). Cryogenic and refrigerated storage of Rainbow Smelt *Osmerus mordax* spermatozoa. J World Aquacult Soc., 35: 209-216.
- Erdahl, A.W., Cloud, J.G., Graham, E.F. (1987). Fertility of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) gametes: Gamete viability in artificial media. Aquaculture, 60: 323-332.
- Erdahl, A.W., Erdahl, D.A., Graham, E.F. (1984). Some factors affecting the preservation of salmonid spermatozoa. Aquaculture, 43: 341-350.
- Golpour, A.M.I., Hosseini, S.A. (2011). Changes in Ionic Ratios of Seminal Plasma and its Effect on Sperm Characteristics in Caspian Roach (*Rutilus rutilus caspicus*) During Spawning Migration. Fisheries and Aquaculture Journal, 17: 8-18.



- Hajirezaee, S., Bagher, M.A., Ali, R.M. (2010a). Relationships Between the Chemical Properties of Seminal Fluid and the Sperm Motility Characteristics of Caspian Brown Trout, *Salmo trutta caspius* (A Critically Endangered Salmonid Fish). Research Journal of Fisheries and Hydrobiology, 5: 27-31.
- Hajirezaee, S., Mirvaghefi, A., Sheikh, A.A. (2010b). Evaluation of semen quality of endangered Caspian brown trout (*Salmo trutta caspius*) in different times of spermiation during the spawning season. Czech J. Anim. Sci., 55: 445-455.
- Igor, B., Oddvar, O., Geir, R., Steinar, J. (2006). Chilled storage of semen from Atlantic halibut, *Hippoglossus hippoglossus* L. In: Optimizing the protocol. Theriogenology, 66: 2025-2035.
- Le, M.H., Lim, H.K., Min, B.H., Park, M.S., Chang, Y.J. (2011). Storage of Yellow croaker *Larimichthys polyactis* semen. The Israeli Journal of Aquaculture – Bamidgheh, 63: 1-6.
- Le, M.H., Nguyen, T.T.T., Pham, P.L. (2013). Role of antibiotics on chilled storage sperm motility of Waigieu seaperch *Psammoperca waigiensis*. Israeli Journal of Aquaculture- Bamidgheh, 66: 1-8.
- Nguyen, T.T.T., Le, M.H. (2013). Study on sperm chilled storage of common carp *Cyprinus carpio* in Viet Nam. Aquaculture Asia, 18: 20-23.
- 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.
- Rana, K.J., McAndrew, B.J. (1989). The viability of cryopreserved tilapia spermatozoa. Aquaculture, 76: 335-345.
- Sahin, T., Erdinc, G., Ilhan, A., Zeki, K.L. (2012). Sperm Characteristics of Wild European Flounder (*Platichthys flesus luscus*). The Israeli Journal of Aquaculture, 64: 1-6.
- Shimose, T., Tachihara, K. (2006). Age, growth, and reproductive biology of the Waigieu seaperch *Psammoperca waigiensis* Perciformes: Latidae. around Okinawa Island, Japan. The Ichthyological Society of Japan, 53: 166-171.
- Stoss, J., Refstie, T. (1983). Short-term storage and cryopreservation of milt from Atlantic salmon and sea trout. Aquaculture, 30: 229-236.