

ẢNH HƯỞNG CỦA NHIỆT ĐỘ LÊN GIỚI TÍNH VÀ SỰ PHÁT TRIỂN TỤYẾN SINH DỤC CỦA CÁ XƯƠNG

TEMPERATURE INFLUENCES ON TELEOST SEX AND GONADOGENESIS

Phan Khắc Vĩnh, Nguyễn Tường Anh^(*)

DH Khoa học Tự nhiên

* Email: tuonganh5183@gmail.com

ABSTRACT

Most of teleost species have the sex chromosomes and genetic sex determination (GSD). Their sex determining gene may be *Dmy/dmrt1*, which for the first time was discovered in medaka, *Oryzias latipes*. Sex of more than 60 different teleost species is in under influence of environmental factors. Approximately 75% of experimental cases indicates that fish sex formation depends on only the extreme temperature fluctuations outside their optimal limits of normal ontogenesis. High temperature during embryogenesis (corresponding to GSD) and juvenile period of life (corresponding temperature-depending sex differentiation TSD) is able to masculinize Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. This phenomenon may be involved in aromatization, where the testosterone is converted to the estradiol – the crucial reaction in sex differentiation. High temperature may also activate some so-called unlinked “sex reversal genes” located even on somatic chromosomes. These genes could drive the gonads toward both directions: genetic females to phenotypic males and *vice versa* (though in lower levels). Consequently it's impossible to reach 100% of males by high temperature treatment and selection for the trait of a surplus of males in temperature treatment was recommended.

Like almost of biological process, the rate of fish gonadogenesis (vitellogenesis and maturation) is correlated with water temperature on principle of temperature coefficient Q_{10} :

$$Q_{10} = (K_1/K_2)^{10/(t_1 - t_2)} = 2$$

Which means the temperature increase in 10°C (K) evokes the double increase in reaction rate. The sum of heat during conditioning equal average temperature multiplied the number of days of conditioning broodstock of a fish species is stable. The latency, the time duration from resolving injection until total maturation and ovulation of a female fish is temperature inversely proportional and express's in following equation:

$$T (t_i - t_0) = Q (\text{const})$$

T is the latency, t_i - water temperature in the study and t_0 - biological zero – the temperature where the latency is equal infinity.

Key words: sex determination, differentiation, masculinization, aromatization, latency.

TÓM TẮT

Đa số các loài cá xương có nhiễm sắc thể giới tính và sự định đoạt giới tính bởi di truyền GSD (genetic sex determination). Gen định đoạt giới tính của chúng có thể là *Dmy/Dmrt1*, lần đầu được phát hiện trên cá Sóc *Oryzias latipes*. Trên 60 loài cá xương có giới tính chịu ảnh hưởng của các yếu tố môi trường. Khoảng 75% trường hợp thí nghiệm chứng tỏ giới tính cá phụ thuộc nhiệt độ TSD (temperature-dependent sex determination); trong điều kiện thực nghiệm thì nhiệt độ là những con số cực trị ngoài phạm vi nhiệt độ tối ưu

cho sự phát triển cá thể bình thường của chúng. Nhiệt độ cao trong quá trình phát triển phôi (ứng với sự định đoạt giới tính) và cá non (ứng với sự biệt hoá giới tính) có khả năng đực hoá cá rô phi *Oreochromis niloticus*. Điều này có thể liên quan đến phản ứng thơm hoá, nơi testosterone chuyển hoá thành estradiol – phản ứng then chốt trong quá trình biệt hoá giới tính. Nhiệt độ cao còn kích hoạt một số gen “đổi giới tính” không liên kết, thậm chí trên nhiễm sắc thể soma, đưa tuyến sinh dục phát triển theo cả 2 hướng: cái thành đực và đực thành cái (ở mức thấp hơn). Vì thế không thể đạt được tỷ lệ 100% đực khi đực hoá bằng xử lý nhiệt. Có thể chọn giống cá rô phi theo tính trạng nhạy cảm với nhiệt để biệt hoá thành đực.

Giống như đa số các quá trình sinh học, sự phát triển tuyến sinh dục (tạo noãn hoàng và thành thực) có tương quan với nhiệt độ nước theo nguyên lý Hệ số nhiệt độ Q_{10} :

$$Q_{10} = (K_1/K_2)^{10/(t_1 - t_2)} = 2$$

Sự tăng 10°C (hoặc K) làm tốc độ phản ứng tăng gấp đôi. Tổng nhiệt nuôi vỗ cá bố mẹ bằng tích số nhiệt độ trung bình nước và số ngày nuôi vỗ là một đại lượng ổn định. Thời gian hiệu ứng sau khi kích thích sinh sản tương quan nghịch với nhiệt độ nước theo công thức:

$$T(t_i - t_0) = Q (\text{const.})$$

Trong đó T là thời gian hiệu ứng, t_i là nhiệt độ nước trong thực nghiệm, t_0 – độ không sinh học.

Từ khoá: định đoạt giới tính, biệt hoá giới tính, đực hoá, thơm hoá, thời gian hiệu ứng

Bài tổng quan nhỏ này chỉ hạn chế ở ảnh hưởng của nhiệt độ lên (1) sự hình thành tuyến sinh dục, tập trung ở sự định đoạt – biệt hoá giới tính và (2) thời gian nuôi vỗ thành thực và thời gian hiệu ứng của các chất kích thích chín và rụng trứng.

ẢNH HƯỞNG CỦA NHIỆT ĐỘ LÊN SỰ ĐỊNH ĐOẠT VÀ BIỆT HÓA GIỚI TÍNH CÁ

Sơ lược về gen định đoạt giới tính ở động vật có xương sống

Định đoạt giới tính ở động vật là giai đoạn đầu tiên của quá trình phát triển tuyến sinh dục, trong đó các yếu tố di truyền (chẳng hạn các nhiễm sắc thể giới tính Y, X, Z, W với các gen đặc hiệu như SRY – TDF, DMRT, WPKCI) hay các yếu tố môi trường (như nhiệt độ, pH, yếu tố xã hội như kích thước tương đối và tỷ lệ đực cái trong một bầy Baroiller, D'Cotta, 2001) có vai trò then chốt đối với sự hình thành những tế bào soma đầu tiên có chức năng gây biệt hoá trong tuyến sinh dục phôi thai. Những tế bào soma đầu tiên trong tuyến sinh dục sản xuất và tiết ra các hormon tương ứng (như ở con đực động vật có vú tế bào Leydig tiết ra testosterone, tế bào Sertoli tiết ra hormon ức chế sự phát triển và biệt hoá ống Muller (MIH)) cần thiết cho sự biệt hoá tuyến sinh dục và hệ sinh dục. Như vậy biệt hoá tuyến sinh dục là giai đoạn tiếp nối sự định đoạt giới tính.

Nếu ở động vật có vú, điều kiện xác lập chắc chắn rằng gen TDF – SRY (Testis Determining Factor – Sex Region of Y chromosome) nằm trên nhiễm sắc thể Y quyết định sự hình thành giới tính đực ở lớp động vật này thì ở các động vật có xương sống khác không phải động vật có vú sự định đoạt và biệt hoá giới tính là khá đa dạng, trong đó có vai trò của di truyền và một số yếu tố môi trường mà trước hết là nhiệt độ.

Gen định đoạt giới tính *dmy* và *dmrt1*

Dmy (DM – domain gene on the Y chromosome) là gen định đoạt giới tính ở cá lần đầu tiên được nhận dạng trên cá Sóc, *Oryzias latipes* và *O. curvinotus* bởi 2 nhóm tác giả độc lập (Matsuda *et al.*, 2002 ; Nanda *et al.*, 2002). *Dmy* cũng chính là *Dmrt1* (doublesex and mab – 3 related transcription factor 1). Gen DM domain liên quan với sự định đoạt giới tính ở 3 lớp động vật là cá, lưỡng cư và chim. Herpin *et al.* (2007) đã chứng minh được rằng các nhiễm sắc thể X và Y ở cá Sóc chỉ khác nhau ở gen *Dmy* và *Dmy* là đủ cho cá Sóc phát triển theo hướng đực. Chữ D ứng với doublesex liên quan với gen của ruồi giấm *Drosophila melanogaster*. Còn M ứng với male abnormal – 3 ở tuyến trùng *Caenorhabditis elegans*. Vì thế có thể coi *Dmy* là gen rất cổ được bảo tồn trong quá trình tiến hoá (Paul – Prasanth *et al.*, 2011) Gen *Dmy* chỉ có trên nhiễm sắc thể Y, còn gen *dmrt1* (hoặc *MRTID*) có ở những nhiễm sắc thể khác, kể cả nhiễm sắc thể soma. *Dmy* là gen định đoạt giới tính thứ 2 ở động vật có xương sống được tìm thấy sau gen tương tự *SRY/Sry* (Sinclair *et al.*, 1990) khoảng một thập kỷ.

Dmy/dmrt1 và *SRY/Sry* có chức phận tương tự nhưng không giống nhau về cấu trúc – *SRY/Sry* là gen duy nhất chỉ có ở động vật có vú. Còn các gen có tên là DM – domain genes (cùng một gốc DM) còn được biết là khá phổ biến (được bảo tồn ở mức cao): DM –W (trên nhiễm sắc thể giới tính W) được phát hiện ở loài ếch (lưỡng cư) *Xenopus laevis* với chức năng định đoạt noãn bào (Yashimoto *et al.*, 2008). Gen *dmrt1* đồng hợp tử trên cả hai nhiễm sắc thể giới tính (ZZ) ở gà thì định đoạt giới tính trống (Smith *et al.*, 2009).

DMRT1 (gen ở người tương đương *dmrt1* ở động vật) được tìm thấy trên cánh ngắn của nhiễm sắc thể số 9 ở người và được cho rằng nó là yếu tố gây đổi giới tính ở những phụ nữ XY bị mất một đoạn ở mút xa nhiễm sắc thể số 9 p (Calvari *et al.*, 2000) *DMRT1 / Dmrt1* được phát hiện và lập bản đồ ở đại diện của tất cả 5 lớp động vật có xương sống là cá, lưỡng cư, rùa và cá sấu (bò sát), chim và động vật có vú (Ferguson – Smith , 2007)

Ảnh hưởng của nhiệt độ lên sự định đoạt và biệt hoá giới tính cá

Cá Hồng bạc Đại tây dương *Menidia menidia* và *M. peninsulae* là hai loài duy nhất cho đến nay trong điều kiện tự nhiên có biểu hiện *sự định đoạt giới tính phụ thuộc nhiệt độ* TSD (Temperature – dependent Sex determination ; xin đừng hiểu TSD ở đây là “tuyển sinh dục”!) (Conover & Kynard, 1981 ; Ospina – Alvarez & Piferrer, 2008). Những loài khác được thử TSD trong phòng thí nghiệm. Đó là các loài thuộc họ Rô phi Cichlidae, họ Atherinidae, cá vược biển *Dicentrarchus labrax*, và nhiều loài cá xương khác (Ospina – Alvarez & Piferrer, 2008).

Số công trình thực nghiệm chứng minh ảnh hưởng của nhiệt độ lên sự định đoạt giới tính cá là không nhiều. Có lẽ nguyên nhân ở đây là phải xử lý bằng nhiệt ở giai đoạn phát triển phôi, điều có thể dẫn đến tỷ lệ nở thấp, tỷ lệ dị hình cao và số cá thu được không đáng kể. Trên cá Hồi *Oncorhynchus nerka*, nhiệt độ trong thời gian phát triển phôi, hẳn là trong giai đoạn định đoạt giới tính đã ảnh hưởng đến tỷ lệ đực cái (Craig *et al.*, 1996). Nhiệt độ cao (32°C) trong thời gian ấp các phôi mang nhiễm sắc thể XX của cá Sóc đã đực hoá đến 24 và 50% (Sato *et al.*, 2005). Bằng cách ấp phôi cá Rôphi XX ở nhiệt độ 34, 35, 36°C Rougeot *et al.*, (2008) đã thu được tỷ lệ cá đực 3 tháng tuổi sau đó trong khoảng 6 – 26,7%. Trên cá *Odontesthes bonariensis* (Fernandino *et al.*, 2008) và cá Nóc *Takifugu rubripes* (Lee *et al.*, 2009), sự tăng biểu hiện của gen *dmrt1* tương quan với nhiệt độ tạo đực.

Trong khi đó có đến hơn 60 loài cá mà sự biệt hoá giới tính chịu ảnh hưởng các yếu tố môi trường, trước hết là nhiệt độ (Baroiller *et al.*, 2009). Ảnh hưởng của nhiệt độ được nghiên

cứu nhiều hơn ở giai đoạn sau, giai đoạn biệt hoá giới tính (Sex Differentiation) của cá, kể cả những loài có “sự định đoạt giới tính bởi di truyền” GSD (Genetic Sex Determination) (Koshimizu *et al.*,2010). Cá rô phi (tổng quan Nagahama *et al.*,2004 ; Baroiller *et al.*,2009) và cá Sóc (Hattori *et al.*,2007) là hai loài được chứng minh là có cơ chế GSD thì cũng mắc cảm với nhiệt độ ở thời kỳ khủng hoảng (critical period) của phát triển cá thể. Có thời gian, người ta chia phân ứng thể hiện ở tỷ lệ giới tính đối với nhiệt độ thành ba kiểu. Đó là (1).xu hướng nhiều đực hơn ở nhiệt độ cao, (2). xu hướng nhiều cái hơn ở nhiệt độ thấp và (3). Cả nhiệt độ thấp và nhiệt độ cao đều làm cho cá đực nhiều hơn, trong khi nhiệt độ trung gian tạo ra đực và cái với tỷ lệ tương đương (Devlin & Nagahama, 2002 ; Munch & Conover, 2004).

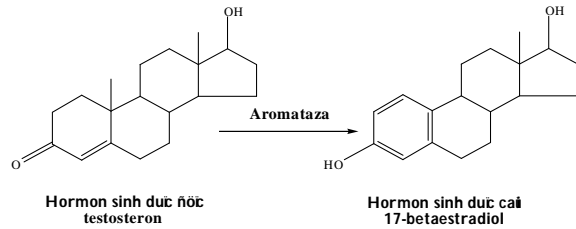
Việc chứng minh TSD ở những loài có cơ chế GSD đặt ra câu hỏi phải chăng cá có TSD như bò sát. Thì ra TSD ở cá không phổ biến đến mức người ta vẫn tưởng (Ospina – Alvarez & Piferrer,2008). Cá chỉ biểu hiện TSD chủ yếu ở nhiệt độ cực trị, nằm ngoài khoảng nhiệt độ tối ưu mà chúng đã thích nghi!

Ảnh hưởng của nhiệt độ bên cạnh các yếu tố di truyền lên sự biệt hoá giới tính được nghiên cứu tương đối tốt trên cá rô phi *Oreochromis niloticus*. Baroiller *et al.*, (1995) đã chứng minh có thể thu được 33 – 82% cá rô phi đực kiểu hình (phenotypic) từ đàn cá bột 100% mang bộ nhiễm sắc thể giới tính XX (cái di truyền) bằng cách ương trong nước 36°C trong ít nhất 10 ngày kể từ ngày thứ 13 sau thụ tinh. Karayiucel *et al.*, (2004) đã chứng minh, ở cá rô phi *O. niloticus* ít nhất có 2 locus không liên kết có chức năng “đổi giới tính” (sex reversal loci) , trong đó ít nhất một trong chúng nằm trên nhiễm sắc thể soma. Nhiệt độ cao (36°C) gây đổi giới tính theo cả 2 hướng: cái XX thành đực; và đực XY và siêu đực YY thành cái (ở mức thấp hơn). Tessema *et al.*, (2006) cho biết, độ nhạy về thay đổi tỷ lệ giới tính đối với nhiệt độ xử lý khi ương cá rô phi *O. niloticus* là tính trạng di truyền và việc đưa nhiệt độ xử lý lên bằng 38°C đã không làm tăng tỷ lệ cá đực so với nhiệt độ 36°C. Những nghiên cứu trên đây cho thấy, đối với cá rô phi được ương ở nhiệt độ cao, tỷ lệ đực có thể cao hơn bình thường nhưng rất khó để đạt được con số tuyệt đối 100%. Người ta có thể chọn giống cá rô phi theo tính trạng độ nhạy cảm với nhiệt độ cao để biệt hoá thành nhiều cá đực hơn. Trong công trình của Wessels & Horstgen – Schwark (2007), sau 2 thế hệ chọn giống cá rô phi *O. niloticus* từ một hồ ở Ai cập theo tính trạng này, có dòng đã cho tỷ lệ đực sau xử lý nhiệt (36°C trong 10 ngày kể từ lúc được 10 ngày sau thụ tinh và ấp ở 28°C) đến 90%, nhưng có dòng chỉ cho 54% cá đực.

Yếu tố và phản ứng then chốt trong biệt hoá giới tính cá

Nếu như ở lớp bò sát – nhóm động vật có sự định đoạt và biệt hoá giới tính phụ thuộc nhiệt độ ấp (TSD), đa số các yếu tố liên quan trong trình tự định đoạt và biệt hoá giới tính là giống như ở động vật có vú (Georges *et al.*, 2010) thì thông tin về các yếu tố di truyền liên quan sự định đoạt giới tính phụ thuộc nhiệt độ ở cá là rất hạn chế. Yếu tố chính từng được đề cập là có liên quan trong TSD của cá là gen mã hoá P450_{aro} (*cyp 19a 1a*). Ở nhiệt độ tạo đực thì các sản phẩm phiên mã (transcripts) của *cyp19a1a* giảm, làm tuyến sinh dục biệt hoá thành tinh sào. Nhiệt độ tạo cái làm tăng sự biểu hiện của *cyp19a1a*, kết quả là sự biệt hoá thành buồng trứng. *Cyp 19a1a* là gen mã hoá P450_{aro} hay enzym aromataz (aromatase), chất xúc tác phản ứng thơm hoá, biến Testosterone thành Estradiol.

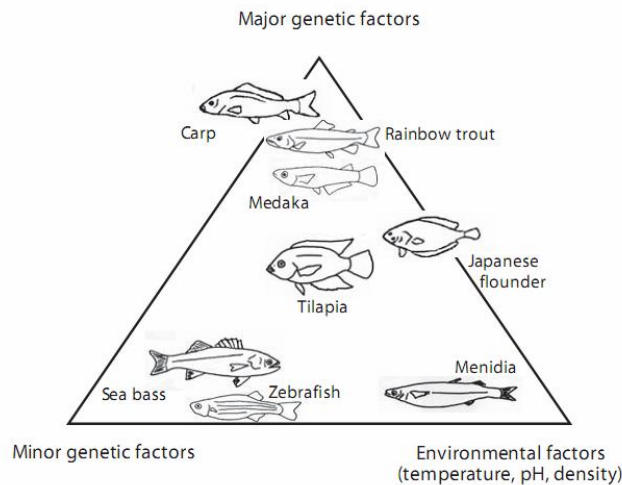
Phản ứng thơm hoá cũng là cơ sở để giải thích hiện tượng cái hoá nghịch lý (paradoxal feminization) khi đực hoá cá rô phi bằng những androgen có khả năng thơm hoá (aromatizable) (Afonso & Leboute, 2003).



H1: Phản ứng thơm hoá của hormon sinh dục. Testosteron chuyển hoá thành 17β-estradiol nhờ enzym aromataza

Ở cá Bơn Nhật *Paralichthys olivaceus* thì nhiệt độ nước cao làm cho những cá cái di truyền biến thành cá đực kiểu hình đồng thời ức chế sự biểu hiện của gen *cyp 19a 1a*. Ngoài ra, tín hiệu FSH (Follicle Stimulating Hormone) và gen *Foxl 2* can dự vào sự điều tiết sự phiên mã *cyp 19a 1a* trong thời gian định đoạt giới tính phụ thuộc nhiệt độ ở loài cá Bơn này (Yamaguchi *et al.*, 2007). Ở cá *Odontesthes bonariensis* thuộc họ Atherinidae, được biết là có TSD, thì sự biểu hiện của *cyp 19a 1a* tương quan chặt chẽ với sự hình thành buồng trứng ở cá đực ương ở nhiệt độ cái hoá (Fernandino *et al.*, 2008). Ngược lại, nhiệt độ đực hoá làm giảm mức biểu hiện của gen này, trong khi nhiệt độ tạo giới tính hỗn hợp cho thấy cả hai mô hình biểu hiện, điều nói lên rằng sự liên quan của *cyp 19a 1a* trong cơ chế sự định đoạt giới tính phụ thuộc nhiệt độ của loài này (Karube *et al.*, 2007). Sự tiếp xúc với nhiệt độ cao khi tuyến sinh dục cá Nóc *Tahifugu rubripes* còn ở giai đoạn sớm của sự phát triển thì gây thoái hoá tế bào mầm và tiếp sau đó là sự đực hoá các tế bào soma (Lee *et al.*, 2009). Cần có thêm những nghiên cứu về cơ chế ảnh hưởng của nhiệt độ lên sự định đoạt giới tính và biệt hoá tuyến sinh dục ở cá.

Sự hình thành giới tính ở cá chịu ảnh hưởng tổng hợp của di truyền và môi trường



H2. Sơ đồ tam giác gồm 3 loại yếu tố ảnh hưởng lên giới tính cá: (1) Yếu tố di truyền chính yếu là các nhiễm sắc thể giới tính (trên cùng), (2) Các yếu tố môi trường mà trước hết là nhiệt độ (bên phải) và (3) Các yếu tố di truyền thứ yếu. Trong tam giác là một số loài cá tại các vị trí giả thiết hiện có (Baroiller, D’Cotta & Saillant, 2009).

Trong khi đại đa số các loài được nghiên cứu thuộc các bộ cá phổ biến như Salmoniformes, Cypriniformes, Perciformes, Siluriformes có sự định đoạt giới tính bởi di truyền, bởi các nhiễm sắc thể giới tính kiểu XY hay ZW, các nhà nghiên cứu đã chứng minh được ảnh hưởng của nhiệt độ lên tỷ lệ giới tính của thế hệ con (Baroiller, D’Cotta & Saillant,

2009). Chính nhóm Baroiller nói trên đã tổng hợp các yếu tố ảnh hưởng lên sự hình thành giới tính ở cá.

ẢNH HƯỞNG CỦA NHIỆT ĐỘ LÊN THỜI GIAN NUÔI VỠ VÀ THỜI GIAN HIỆU ỨNG KHI KÍCH THÍCH CÁ CHÍN VÀ RỤNG TRỨNG

Cơ sở lý thuyết: Sự thích nghi của Protein với nhiệt độ

Tại sao tốc độ của các phản ứng có sự xúc tác của enzym (mở rộng ra là những phản ứng sinh lý) lại phụ thuộc nhiều vào nhiệt độ? Và sự phụ thuộc này thể hiện như thế nào về mặt định lượng? Theo Hochachka & Somers (2002), hiệu ứng của sự thay đổi nhiệt độ ở mức 10°C (10K) lên tốc độ phản ứng sinh học thể hiện qua hệ số nhiệt độ (Temperaturer Coefficient) Q_{10} của quá trình:

$$Q_{10} = (K_1 / K_2)^{10 / (t_1 - t_2)}$$

K_1 và K_2 là hằng số tốc độ được xác định ở nhiệt độ cao và thấp tương ứng là t_1 và t_2 . Đối với nhiều quá trình như hô hấp, phản ứng enzym Q_{10} có giá trị gần bằng 2 hoặc cao hơn một ít khi nghiên cứu phạm vi thân nhiệt (mức sinh lý) của một loài. Ngoài phạm vi này Q_{10} có độ lệch lớn so với giá trị gần 2.

Như vậy, nếu

$$\begin{aligned} Q_{10} &= 2 \\ \text{thì } 2 &= (k_1 / k_2)^{10 / (t_1 - t_2)} \\ \text{và } t_1 - t_2 &= 10 \\ 2 &= (k_1 / k_2)^1 \\ k_1 &= 2 k_2 \end{aligned}$$

Từ đó có thể suy ra, trong điều kiện sinh lý bình thường, sự tăng 10°C (hay 10 K) làm tốc độ phản ứng tăng gấp đôi hay thời gian phản ứng còn một nửa. Tất nhiên điều này chỉ tương đối đúng trong phạm vi nhiệt độ tối ưu mà một cơ thể đã thích nghi.

Áp dụng cho khái niệm “tổng nhiệt thành thực” hay “tổng nhiệt nuôi vỗ cá bố mẹ” và “tổng nhiệt hiệu ứng”

Trong phạm vi nhiệt độ thích hợp thì nhiệt độ càng cao càng rút ngắn thời gian nuôi vỗ cá bố mẹ. Ở miền Bắc nước ta, một mùa đông có nhiều ngày âm áp có thể làm cho các loài cá sinh sản trong vụ xuân hè như mè, trắm thành thực sớm. Ngược lại, nếu mùa rét kéo dài, cá bố mẹ được nuôi vỗ sẽ thành thực trễ và được cho đẻ trễ. Trước đây các nhà nghiên cứu về nuôi cá nước ta đưa ra khái niệm *tổng nhiệt nuôi vỗ*. Đại lượng này ổn định đối với từng loài cá và bằng tích số của nhiệt độ trung bình trong thời gian nuôi vỗ và số ngày nuôi vỗ. Đơn vị của nó là “°C ngày” (độ ngày). Đối với cá mè trắng ở miền Bắc, *tổng nhiệt nuôi vỗ* khoảng 900 – 1200 ° ngày (Nguyễn Khoa Diệu Thu et al., 1975); ở Bàu Cá (Đồng Nai) khoảng 1230° ngày (Nguyễn Tường Anh, 1979). Con số tương tự của các tác giả trên đối với cá trắm cỏ lần lượt bằng 1700-2400 và 1740-2518° ngày. Tổng nhiệt nuôi vỗ chỉ ổn định trong một biên độ nhiệt độ thích hợp và nhiệt độ trung bình trong thời gian nuôi vỗ là một con số tương đối.

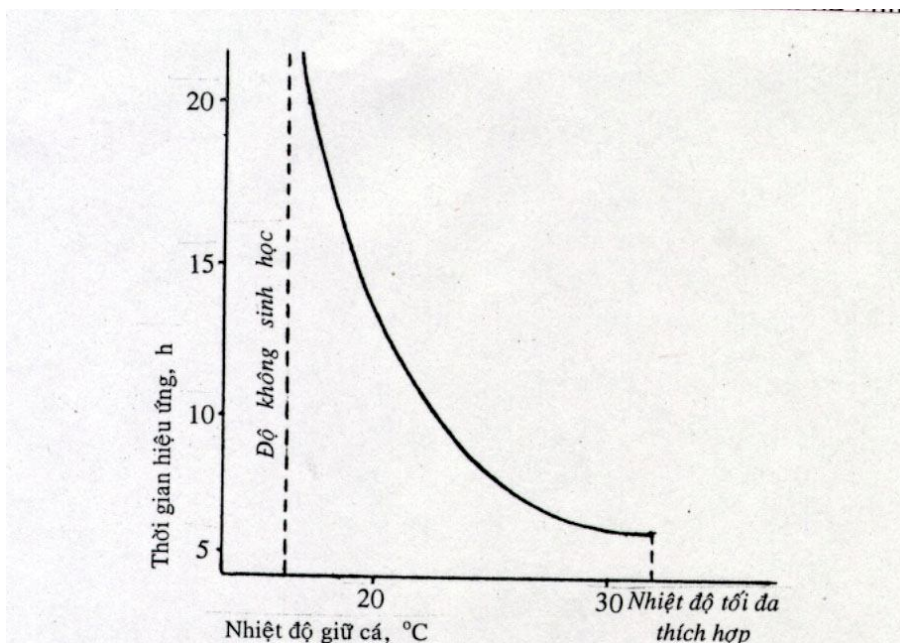
Trong sinh sản nhân tạo, nhất là khi gieo tinh nhân tạo người ta lưu ý tới *tổng nhiệt hiệu ứng*. Ban đầu, đối với một loài cá nhất định, khi dùng chất kích thích sinh sản với liều ổn định thì *tổng nhiệt hiệu ứng* được hiểu là tích số của nhiệt độ nước trung bình khi giữ cá và *thời gian hiệu ứng* tính bằng giờ. Đơn vị tương ứng là “° giờ” (độ giờ). Do tổng nhiệt hiệu

ứng của mỗi loài cá đối với mỗi loại chất kích thích rụng trứng là ổn định mà người có thể tính được thời gian hiệu ứng, thời điểm gieo tinh khi dự đoán được nhiệt độ giữ cá trong giới hạn biến thiên nhỏ. *Thời gian hiệu ứng* là thời khoảng từ khi tiêm liều quyết định để gây chín và rụng trứng đến khi cá bắt đầu rụng trứng hàng loạt. Tuy nhiên, cách tính này có sai số lớn khi nhiệt độ giữ cá biến động nhiều và nhất là nếu biết rằng có nhiệt độ giữ cá lớn hơn 0°C mà thời gian hiệu ứng trở nên dài vô hạn. Để khắc phục sự lệch lạc này, dựa trên nguyên tắc tỉ lệ nghịch giữa nhiệt độ và thời gian phản ứng, theo chúng tôi có thể biểu diễn mối tương quan trong tổng nhiệt hiệu ứng bằng công thức và đồ thị sau (Nguyễn Tường Anh, 1999):

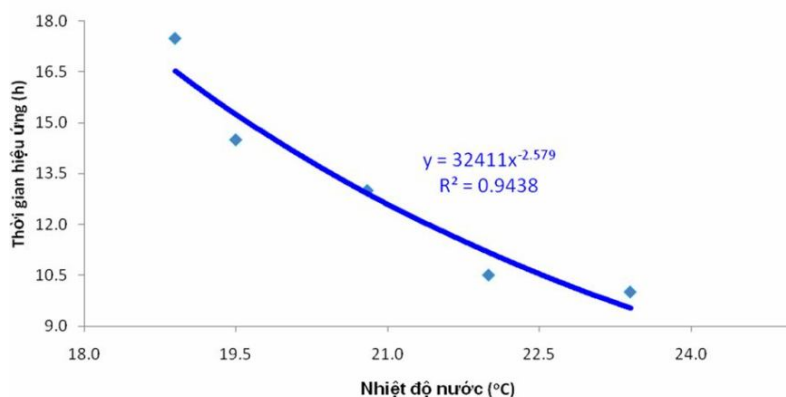
$$T(t_i - t_0) = Q (\text{const.})$$

Trong đó, T là thời gian hiệu ứng, t_i là nhiệt độ giữ cá sau khi tiêm liều quyết định, t_0 là *độ không sinh học*.

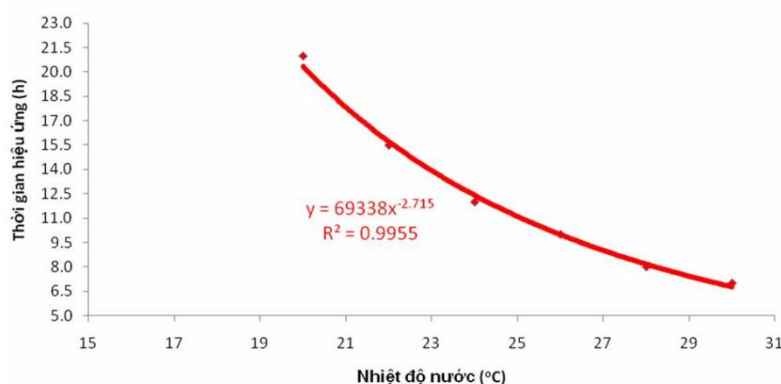
Độ không sinh học t_0 được đưa vào đây để giải thích những trường hợp cá không chín và rụng trứng chỉ vì nhiệt độ quá thấp trong khi cá đã thành thực tốt và chất kích thích sinh sản là thích hợp và được dùng đủ liều. *Độ không sinh học* được định nghĩa là một giá trị nhiệt độ bằng 0°C lớn hơn 0 mà ở đó thời gian hiệu ứng trở nên dài vô hạn hay nói cách khác là nhiệt độ mà ở đó không xảy ra sự chín và rụng trứng ở một loài cá nhất định khi dùng một liều thuốc có hiệu quả ổn định, nhưng trong những điều kiện như thế, chỉ cần tăng nhiệt độ giữ cá cao hơn *độ không sinh học* một vài độ là phản ứng chín và rụng trứng lại xảy ra bình thường. Việc xác định *tổng nhiệt hiệu ứng* và *độ không sinh học* chỉ có thể thực hiện bằng phương pháp kinh nghiệm cho từng loài cá với từng loại thuốc kích thích sinh sản. Dựa vào những số liệu của Savin & Savina (1972) khi dùng dịch chiết não thùy cá chép kích thích cá mè trắng rụng trứng chúng tôi đã tính được *tổng nhiệt hiệu ứng* và *độ không sinh học* của trường hợp này là 110–128° giờ và 11–12°C (Nguyễn Tường Anh, 1999). Từ số liệu của Savin & Savina (1972) trên cá Mè trắng và Hogendoorn & Wismans (1980) trên cá Trê phi, có thể có đường cong tương quan của thời gian hiệu ứng với nhiệt độ.



H3. Đường cong lý thuyết tương quan nhiệt độ giữ cá và thời gian hiệu ứng khi kích thích cá chín và rụng trứng



H4. Tương quan của thời gian hiệu ứng với nhiệt độ nước khi gây rụng trứng cá Mè trắng bằng dịch chiết não thủy cá Chép (liều 4mg/kg; Savin & Savina, 1972)



H5. Tương quan của thời gian hiệu ứng với nhiệt độ nước khi gây rụng trứng cá Trê phi bằng dịch chiết não thủy cá Chép (liều 4mg/kg; Hogendoorn & Wismans, 1980)

Những thí nghiệm với cortexolon trên cá Chép và Trám cỏ của Burlakov *et al.*, (1986, 1988) ở liều 8-9 mg/kg cho thấy độ không sinh học theo định nghĩa của chúng tôi trong trường hợp này là rất gần với 23,5°C. Những thí nghiệm với progesteron, DOC và DOCA của chúng tôi (1981 – 1987, chưa công bố) trên cá Trê phi và Trê vàng cho thấy độ không sinh học tương ứng là khoảng 23 – 24 °C.

Ngoài ra, cần lưu ý rằng, trên cùng một loài cá được kích thích sinh sản, ở cùng điều kiện nhiệt độ thì những hoạt chất khác nhau cho thời gian hiệu ứng khác nhau. Chẳng hạn trên cá Trê phi cái ở cùng nhiệt độ 25°C, HCG ở liều 4000 IU/kg cho thời gian hiệu ứng là 16 giờ còn dịch chiết não thủy cá Chép, ở liều 4mg/kg cho thời gian hiệu ứng là 11 giờ (Richter *et al.*, 1985, 1987). Chế phẩm kích dục từ động vật có máu nóng (đẳng nhiệt thường có thời gian hiệu ứng dài hơn chế phẩm từ động vật có máu lạnh (biến nhiệt).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Tài liệu tiếng Việt

Nguyễn Tường Anh, 1979. Khả năng sinh sản nhân tạo cá Mè, cá Trám 73 miền Nam. Tập san Khoa học Kỹ thuật Nông nghiệp. **1**: 53-57

Nguyễn Tường Anh, 1999. Một số vấn đề về Nội tiết học sinh sản cá. NXB Nông nghiệp. 238tr.

Nguyễn Khoa Diệu Thu *et al.*, 1975. Đặc điểm của noãn bào cá Mè trắng Trung quốc trong quá trình nuôi vỗ và cho đẻ nhiều lần trong năm. *Đặc san Sinh lý học số 1*.

Tài liệu tiếng nước ngoài

Baroiller J F , Chourrout D , Fostier A , Jalabert B. 1995 . Temperature and sex chromosomes govern sex ratio on the mouthbrooding cichlid fish *Oreochromis niloticus*. *J. Exp. Zool.* **273**: 216 – 223 .

Baroiller J F, D’Cotta H & Saillant E., 2009. Environmental effects on fish sex determination and differentiation. *Sex. Dev.*, **3**:118 – 135.

Burlakov A B, , Demchenko B I, Krumov A P, Zumorin A B, Shilo A I , 1986. Dùng Cortexolon để thu trứng cá Chép. *Nghề Cá* **8**: 40-42. (tiếng Nga, xem nguyên văn ngay dưới).

Бурлаков А Б, , Демченко Б И, Крымов А П, Зуморин А В, Шилов А И, 1986. Применение кортексолона для получения икры у карпа. *Рыбное Хозяйство* **8**: 40-42.

Burlakov A B, Krumov A P, Demchenko B I, Zumorin A B, Shilo A I , 1988. Dùng Cortexolon để thu trứng cá Trắm cỏ. *Nghề Cá* **4**: 63-64.(tiếng Nga, xem nguyên văn ngay dưới).

Бурлаков А Б, Крымов А П, Демченко Б И, Зуморин А В, Шилов А И, 1988. Применение кортексолона для получения икры у белого амура. *Рыбное Хозяйство* **4**: 63-64.

Calvari V, Bertini V, DeGrandi A. Peverali G. Zuffardi O *et al.*, 2000. A new submicroscopic deletion that refines the 9p region for sex reversal. *Genomics* **65**: 203 -212.

Conover D O & Kynard B E., 1981. Environmental sex determination: interaction of temperature and genotype in a fish. *Science*. **213**:577-579.

Craig J K , Foote C J & Wood C C. 1996. Evidence for temperature – dependent sex determination in sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*). *Can. J. Fish Aqua. Sci.* **53**: 141 – 147

Devlin R H & Nagahama Y, 2002. Sex determination and sex differentiation in fish. *Aquaculture* **208**:191-336

Ferguson – Smith M, 2007. The Evolution of Sex Chromosomes and Sex determination in Vertebrates and the Key Role of DMRT1. *Sexual Development* **1**: 2 - 11

Fernandino J I, Hattori R S, Shinoda T, Kimura H, Strobl-Mazzulla P H, Strussman C A *et al.*, 2008. Dimorphic expression of Dmrt 1 and cyp19a1 (ovarian aromatase) during early gonadal development in pejerrey, *Odontesthes bonariensis* *Sex Dev.* **2**: 316-324

George A, Eraz T, Quin A E & Sarre S D, 2010. Are reptiles predisposed to temperature-dependent sex determination. *Sex Dev.* **4**: 7-15.

Hochachka P W , Somero G N. 2002. Biochemical Adaptation – Mechanism & Process in Physiological Evolution. Oxford University Press:295

Hattori R S, Guold R J, Fujioka T , Saito T, Kurita J, Strussman C A *et al.*, 2007. Temperature-dependent sex determination in Hd-rR medaka *Oryzias latipes*: gender sensitivity, thermal threshold, critical period, and DMRT1 expression profile. *Sex Dev.* **1**: 138-146.

Herpin A, Schindler D, Kraiss A, Hornung U, Winkler C & Scharl M, 2007. Inhibition of primordial germ cell proliferation by the medaka male determining gene *dmrt1bY*. *BMC. Sex Dev.* **1**: 99.

Karayiucel I , Ezaz T , karaygiicel S . McAndrew B J , Penman D J, 2004. Evidence for two unlinked “sex reversal” loci in the Nile tilapia *Oreochromis niloticus*, and for linkage of one of these to the red body colour gene. *Aquaculture* **234**: 51 – 63 .

Karube M, Fernandino J I, Strobl-Mazzulla P, Strussman C A, Yoshizaki G, Somoza G M, *et al.*, 2007. Characterization and expression profile of the ovarian cytochrome P-450 aromatase (cyp19a1) gene during thermolabile sex determination in pejerrey, *Odontesthes bonariensis*. *J Exp. Zool. A Ecol. Genet. Physiol.*, **307**:625-636.

- Lee K H, Yamaguchi A, Rashid H, Kadomura K, Yasumoto S & Matsuyama M 2009. Germ cell degeneration in high-temperature treated pufferfish, *Takifugu rubripes*. *Sex Dev.***3**: 225-232.
- Matsuda M, Nagahama Y, Shinomiya A, Sato T, Matsuda C, Kobayashi T *et al.*, 2002. DMY is a Y-specific DM-domain gene required for male development in the medaka fish. *Nature* **417**:559-563.
- Munch S B, & Conover D O, 2004. Nonlinear growth cost in *Menidia menidia*: theory and empirical evidence. *Evolution* **58**: 661-664.
- Nagahama Y, Nakamura M, Kitano T & Tokumoto T, 2004. Sexual plasticity in fish: a possible target of endocrine disruptor action. *Environ. Sci.* **11**: 73-82.
- Nanda I, Kondo M, Hornung U, Asakawa S, Winkler C, Shimizu A, *et al.*, 2002. A duplicated copy of FMRT1 in the sex determining region of the Y chromosome of the medaka, *Oryzias latipes*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **99**:11778-11783.
- Ospina-Alvarez N & Piferrer F 2008. Temperature-dependent sex determination in fish revisited: prevalence a single sex ratio response pattern, and possible effects of climate change. *PLoS. One***3**, e2837.
- Paul-Prasanth B , Matsuda M, Lau E L, Suzuki A, Sakai F, Kobayashi T *et al.*,2006. Knock-down of DMY initiates female pathway in the genetic male medaka, *Oryzias latipes*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.***351**: 815-81
- Paul – Prasanth B, Nakamura M, Nagahama Y. 2011. Sex Determination in Fishes. In Norris D O & Lopez K.H (Eds) *Hormones and Reproduction of Vertebrates*. Vol 1: Fishes Academic Press. Elsevier 1 – 14.
- Richter C J J , Eding E H & Roem A J . 1985. 17 α – Hydroxyprogesterone – induced breeding of the African catfish. *Clarias gariepinus* (Burchell) without priming with gonadotropin. *Aquaculture* **44**: 285 – 293 .
- Richter C J J , Eding E H, Goos H J Th, De Leeuw R, Scott A P & Vandordt P G W J. 1987 The effects of pimozide –LHRHa and 17 α – Hydroxyprogesterone on plasma steroid levels and ovulation in the African catfish *Clarias gariepinus* *Aquaculture* **63**: 57-68.
- Rougeot C , Prignon C , Kengne C V N , Mélard , 2008. Effect of high temperature during embryogenesis on the sex differentiation process in the Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture* **276**: 205 – 208 .
- Sato T, Endo T, Yamahira K, Hamaguchi S & Sakaizami M.2005. Induction of Female – to – Male Sex Reversal by High Temperature Treatment in Medaka, *Oryzias latipes*. *Zoological Science* **22**: 985 – 988 .
- Sinclair A H, Berta P, Spencer J A, Palmer M S, Hawkins J R, Griffiths B L *et al.*, 1990. A gene from the human sex determining region encodes a protein with homology to a conserved DNA-binding motif. *Nature* **346**: 240-244.
- Smith C A, Roeszler K N, Ohnesorg T, Cummins D M, Farli P G, Doran T J *et al.*,2009. The avian Z-linked DMRT1 is required for male sex determination in the chicken. *Nature* **461**: 267-271.
- Tessema M , Muller – Belecke A , Horstgen – Schwark G , 2006. Effect of rearing temperatures on the sex ratio of *Oreochromis niloticus* populations *Aquaculture* **258**: 270 – 277 .
- Wessels S , Horstgen – Schwark G. 2007 Selection experiments to increase the proportion of males in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) by means of temperature treatment . *Aquaculture* **272**: S80 – S87.
- Yoshimoto S, Okada E, Umemoto H, Tamura K, Uno Y, Nishida-Umehara C *et al.*, 2008. A W-linked DM-domain gene, DM-W, participates in primary ovary development in *Xenopus laevis*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **105**: 2469-2474.