

HOẠT LỰC TINH TRÙNG CÁ HỒNG BẠC *Lutjanus argentimaculatus* (Forsk., 1775): ẢNH HƯỞNG CỦA TỶ LỆ PHA LOÃNG, pH, ÁP SUẤT THẨM THẤU VÀ CÁC CATIONS

SPERMATOZOA MOTILITY IN SILVER RED SNAPPER Lutjanus argentimaculatus (Forsk., 1775): EFFECTS OF DILUTION RATIO, pH, OSMOLALITY AND CATIONS

Võ Thị Trúc Linh*, Lê Minh Hoàng, Nguyễn Địch Thanh

Lớp 51NTTS – Khoa Nuôi trồng thủy sản – Đại học Nha Trang

*Email: votruclinh.qn@gmail.com

ABSTRACT

The aims of this study were to assess the effects of environment factors including dilution ratios, pH, osmolality and cations on sperm motility parameters of *Lutjanus argentimaculatus* (Forsk., 1775). The first, the maximum percentage of motile sperm and total duration of sperm motility were observed in artificial seawater (ASW) with different dilution ratios of 1:50, 1:100 and 1:200 (semen:ASW). The best dilution ratio was used for later assessments. Then, effect of pH 6, 7, 8 and 9; osmolalities 200, 300, 400 and 500 mOsm.kg⁻¹ and cations Ca²⁺, K⁺, Na⁺ with concentration of 0,2, 0,4, 0,6 and 0,8 M were observed. Optimal sperm motility parameters were obtained when semen was diluted in ASW at adilution ratio of 1:100, pH of 8 and osmolality of 500 mOsm.kg⁻¹. The optimal concentrations of ions for sperm motility were 0.4 mol NaCl, 0.4 mol KCl, 0.4 mol CaCl₂.

ĐẶT VẤN ĐỀ

Cá hồng bạc (*Lutjanus argentimaculatus*, Forsskal, 1775) là loài rộng muối, phân bố khắp trên thế giới. Ở Việt Nam, cá hồng bạc phân bố rải rác dọc theo bờ biển các tỉnh Quảng Ninh, Hải Phòng, Thừa Thiên – Huế, Bà Rịa – Vũng Tàu, vùng biển Tây Nam Bộ, nhưng tập trung nhiều nhất ở vùng biển Nam Trung Bộ (Nguyễn Hữu Phụng và ctv., 2001). Cá hồng bạc có tốc độ tăng trưởng nhanh, thịt thơm ngon và có giá trị dinh dưỡng cao, giá bán từ 100.000-170.000 đ/kg. Ở Việt Nam, cá hồng bạc có thị trường xuất khẩu rộng và khá hấp dẫn như Trung Quốc, Đài Loan, Nhật Bản, Mỹ, EU... (Nguyễn Quang Thiệu, 2012). Cùng với các đối tượng cá biển như cá chẽm (*Lateolabrax chinensis*), cá chẽm mõm nhọn (*Psammoperca waigiensis*), cá mú (*Epinephelus* spp), cá giò (*Rachycentron canadum*), cá măng (*Chanos chanos*), cá hồng bạc (*Lutjanus argentimaculatus*) là loài cá có giá trị kinh tế cao và đang được nuôi thương phẩm ở nước ta, nhiều nhất ở các tỉnh Nam Trung Bộ. Tuy nhiên cho đến nay, giống cá hồng bạc vẫn còn phụ thuộc phần lớn vào tự nhiên, gây ảnh hưởng nghiêm trọng đến nguồn lợi của vùng biển nước ta (Nguyễn Quang Thiệu, 2012). Nguyễn Địch Thanh (2012) đã nghiên cứu sản xuất giống nhân tạo cá hồng bạc thành công và đang tiếp tục nghiên cứu hoàn thiện quy trình. Điều này bước đầu mở ra hướng giải quyết khó khăn đối với nguồn giống hiện nay.

Chất lượng sản phẩm sinh dục của cá bố mẹ là cơ sở quan trọng trong việc nâng cao chất lượng thụ tinh. Bên cạnh những nghiên cứu về trứng, đánh giá chất lượng tinh trùng và sự ảnh hưởng của các yếu tố môi trường đến hoạt lực của tinh trùng là vấn đề cần thiết (Cabrita, 2009).

Tinh trùng của hầu hết các loài cá biển thì không hoạt lực trong buồng sẹ và dịch tương. Hoạt lực của chúng xảy ra sau khi phóng thích ra ngoài môi trường nước chúng đang sống trong quá trình sinh sản tự nhiên hoặc môi trường thích hợp trong quá trình sinh sản nhân tạo (Alavi và ctv., 2004; Cosson và ctv., 2008). Hoạt lực của tinh trùng là yếu tố quan trọng nhất quyết định đến chất lượng của tinh và khả năng thụ tinh của tinh dịch (Lê Minh Hoàng và ctv., 2011). Tuy nhiên, khi được phóng ra ngoài hoạt lực của tinh trùng lại phụ thuộc rất nhiều vào điều kiện môi trường lúc thụ tinh. Các yếu tố môi trường ảnh hưởng đến hoạt lực của tinh trùng bao gồm tỷ lệ pha loãng, áp suất thẩm thấu, pH, nhiệt độ, nồng độ các ion (Ca²⁺, Mg²⁺, K⁺, Na⁺...) (Lê Minh Hoàng, 2011; Alavi và ctv., 2004). Điều này đã được chứng minh qua

các nghiên cứu ở một số đối tượng như: cá tầm Ba Tư (*Acipenser persicus*) (Alavi và ctv., 2004), cá rô Châu Âu (*Perca fluviatilis*) (Alavi và ctv., 2007), cá đù vàng (*Larimichthys polyactis*) (Lê Minh Hoàng và ctv., 2011), cá bơn Đại Tây Dương (*Hippoglossus hippoglossus*) (Harald và ctv., 2001), cá chép (*Cyprinus carpio*) (Hoàng Hà Giang, 2012), cá chêm môn nhọn (*Psammoperca waigiensis*) (Nguyễn Thị Hồng Nhung, 2013)... Tuy nhiên chưa có công trình nghiên cứu nào về lĩnh vực này được công bố trên đối tượng cá hồng bạc (*Lutjanus argentimaculatus*). Vì vậy, nghiên cứu ảnh hưởng của tỉ lệ pha loãng, pH, áp suất thẩm thấu và các ion lên hoạt lực tinh trùng cá hồng bạc *Lutjanus argentimaculatus* (Forskal, 1775) được thực hiện. Mục tiêu của đề tài nhằm xác định các yếu tố môi trường gồm tỷ lệ pha loãng, áp suất thẩm thấu, pH và nồng độ các ion (Ca^{2+} , K^+ , Na^+) tối ưu cho hoạt lực của tinh trùng cá hồng bạc. Kết quả của nghiên cứu sẽ là cơ sở cho việc nâng cao chất lượng thụ tinh trong sản xuất giống loài cá này.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Cá đực và phương pháp thu tinh

Đối tượng nghiên cứu: cá hồng bạc *Lutjanus argentimaculatus* (Forskal, 1775).

Cá đực được thu gom từ tự nhiên, mang về nuôi vỗ một thời gian tại Vũng Ngán – Nha Trang – Khánh Hòa. Các con cá đực này được cho ăn bằng cá tạp (khẩu phần ăn là 5% khối lượng cơ thể) có bổ sung vitamin và các khoáng chất cần thiết, đồng thời chăm sóc để cá thành thực tốt nhất. Sau 2 – 3 tuần tiến hành kiểm tra. Khi cá đạt chất lượng tinh tốt vượt tinh để tiến hành các thí nghiệm liên quan.

Cá đực được thu tinh có khối lượng trung bình là 2400 ± 400 gram và chiều dài cơ thể khoảng $44,5 \pm 5,5$ cm.

Tiến hành thu mẫu 3 lần vào lúc sáng sớm. Dùng khăn bông thấm sạch nước ở xung quanh lỗ sinh dục của cá. Dùng tay vuốt dọc bên hông và bụng cá, dùng enpendoff tube 1,5 ml hứng tinh dịch chảy ra. Trong khi vuốt tránh không để nước, phân hay nước tiểu lẫn vào tinh dịch. Sau đó đậy chặt nắp vào cho vào thùng xốp đựng đá bảo vận chuyển ngay về phòng thí nghiệm để tiến hành các đánh giá.

Chuẩn bị dụng cụ: bể giữ cá, cân, thuốc gây mê, cốc thủy tinh, enpendoff tube, khăn thấm nước, thùng xốp, lam, lamén, kính hiển vi, micropipet, buồng đếm hồng cầu, đồng hồ bấm giờ. Các hóa chất: NaCl; KCl; $CaCl_2$; $MgCl_2$; NaH_2PO_4 ; $NaHCO_3$; HCl 0,01N; NaOH 0,01N; nước cất.

Các thí nghiệm được thực hiện tại Phòng thí nghiệm – Bộ môn Sinh học nghề cá – Khoa Nuôi trồng thủy sản – Trường Đại học Nha Trang.

Xác định đặc tính lý học của tinh dịch

- Màu sắc của tinh dịch được quan sát bằng mắt thường.
- Thể tích của tinh dịch đo bằng enpendoff tube có thể tích xác định.
- Mật độ của tinh trùng được đếm bằng buồng đếm hồng cầu Haematocymeter theo phương pháp của Phan Thị Thảo (2005). Tinh dịch được pha loãng với nước cất trong enpendoff tube theo tỉ lệ 1:1000 (tinh dịch:dung dịch), sau đó lắc đều và nhỏ 1 giọt vào buồng đếm đậy lamén lên và đưa vào quan sát dưới kính hiển vi độ phóng đại 400 lần để đếm. Cách đếm: đếm 4 ô ở 4 góc và 1 ô ở giữa sau đó lấy trung bình của 5 ô; đếm tinh trùng trong ô, đếm cạnh trên cùng và cạnh phía bên phải của mỗi ô.

Công thức tính mật độ tinh trùng/ml tinh dịch:

$$M = \frac{A \times 4000 \times R \times 1000}{80}$$

Trong đó:

M: mật độ tinh trùng trong 1 ml tinh dịch (tế bào/ml)

A: tổng số tinh trùng trong 80 ô đếm

R: hệ số pha loãng tinh dịch

4000: nghịch đảo thể tích của 1 ô nhỏ

80: số ô vuông nhỏ để đếm

Ảnh hưởng của tỷ lệ pha loãng lên hoạt lực của tinh trùng

Trong thí nghiệm này, nước biển nhân tạo được sử dụng để đánh giá hoạt lực tinh trùng. Thành phần nước biển nhân tạo bao gồm: 27g NaCl, 0,5g KCl, 1,2 g CaCl₂, 4,6g MgCl₂ và 0,5 g NaHCO₃ được pha trong 1 lít nước cất. Tiến hành kiểm tra với các tỉ lệ như sau: 1:50, 1:100 và 1:200 (tinh dịch:nước biển nhân tạo).

Tinh dịch được pha loãng theo các tỉ lệ trên trong endpoff tube, dùng micropipet hút 1 μ l đưa lên lam kính quan sát dưới kính hiển vi với độ phóng đại 400 lần. Sau đó, kiểm tra hoạt lực của tinh trùng bao gồm các thông số: phần trăm tinh trùng hoạt động và tổng thời gian hoạt động. Phần trăm hoạt lực được xác định bằng số tinh trùng hoạt lực so với tổng số tinh trùng quan sát được (trước tính bằng mắt thường). Thời gian hoạt lực được tính từ lúc pha loãng cho đến 100% tinh trùng bất hoạt (đơn vị tính: giây).

Sau khi xác định được tỉ lệ pha loãng tốt nhất ta dùng tỷ lệ pha loãng đó để tiến hành các quan sát tiếp theo.

Ảnh hưởng của áp suất thẩm thấu lên hoạt lực của tinh trùng

Để xác định ảnh hưởng của áp suất thẩm thấu lên hoạt lực tinh trùng thì sử dụng dung dịch NaCl ở các mức áp suất thẩm thấu: 200, 300, 400 và 500 mOsm/kg. Các dung dịch được pha loãng với tỉ lệ tối ưu được xác định. Kiểm tra hoạt lực tinh trùng tương tự như được trình bày ở trên. Sau đó phân tích chọn ra mức áp suất thẩm thấu tối ưu cho hoạt lực tinh trùng cá hồng bạc.

Ảnh hưởng của pH lên hoạt lực của tinh trùng

Ảnh hưởng của pH được đánh giá bằng cách sử dụng nước biển nhân tạo ở các giá trị pH khác nhau là 6,0, 7,0, 8,0 và 9,0 ở tỷ lệ pha loãng thích hợp. Kiểm tra hoạt lực của tinh trùng và chọn ra giá trị pH thích hợp nhất.

Ảnh hưởng của các ion (Ca²⁺, K⁺, Na⁺) lên hoạt lực của tinh trùng

Để xác định ảnh hưởng của nồng độ ion lên hoạt lực của tinh trùng thì sử dụng các ion ở các nồng độ khác nhau. Ion K⁺ trong dung dịch KCl, ion Na⁺ trong dung dịch NaCl, ion Ca²⁺ trong dung dịch CaCl₂ ở các nồng độ 0,2, 0,4, 0,6 và 0,8 M. Các dung dịch được pha loãng với tỉ lệ thích hợp nhất. Kiểm tra hoạt lực tinh trùng và chọn ra các nồng độ ion tốt nhất.

Mỗi quan sát được tiến hành quan sát 3 lần. Trung bình của mỗi quan sát là kết quả cho mỗi thí nghiệm. Số liệu về ảnh hưởng của tỉ lệ pha loãng, pH, áp suất thẩm thấu và nồng độ các ion lên hoạt lực của tinh trùng được phân tích bằng SPSS 16.0 ở mức P < 0,05. Số liệu được trình bày dưới dạng: giá trị trung bình \pm sai số chuẩn (SE).

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

Một số đặc tính lý học của tinh trùng cá hồng bạc

Bảng 1. Một số đặc tính lý học của tinh trùng cá hồng bạc

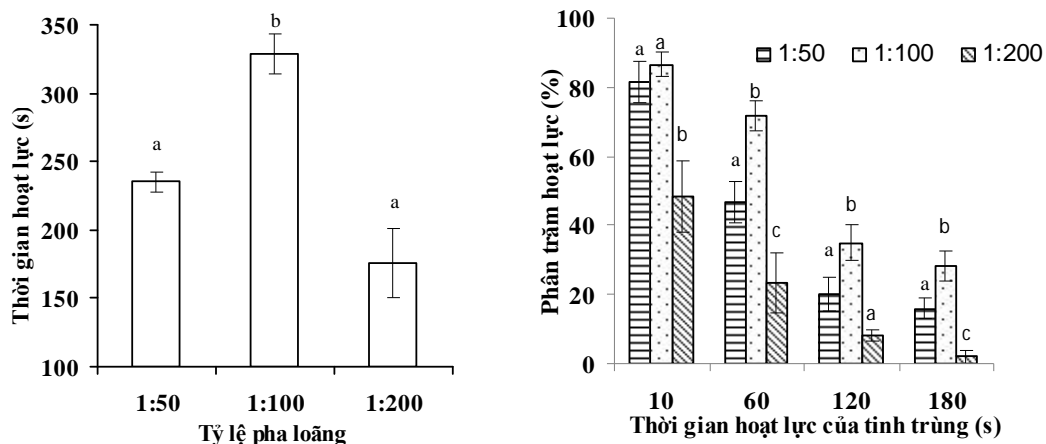
TN	Dung lượng tinh dịch (ml)	Mật độ tb/ml ($\times 10^9$)	Mật độ tb/cá thể ($\times 10^9$)
1	1,3 \pm 0,21	16,75 \pm 0,72	21,69 \pm 4,39
2	1,07, \pm 0,1	18,25 \pm 0,8	18,35 \pm 1,7
3	1,13 \pm 0,23	19,5 \pm 0,58	20,93 \pm 4,23

Dung lượng tinh dịch ở các lần thu mẫu là khác nhau và dao động từ 1,07 \pm 0,1 đến 1,3 \pm 0,21 ml (Bảng 1). Đa số mẫu cá đực được thu vào khoảng thời gian thành thực của cá trong tự nhiên nên cá thành thực tốt, tinh dịch cá thu được chủ yếu là màu trắng sữa. Mật độ của tinh trùng cá hồng bạc dao động từ đến 16,75 \pm 0,72 $\times 10^9$ đến 19,5 \pm 0,58 $\times 10^9$ tế bào/ml (Bảng 1).

Ảnh hưởng của tỷ lệ pha loãng lên hoạt lực của tinh trùng

Pha loãng cho phép tất cả các tinh trùng được kích hoạt cùng một lúc và tránh sai sót trong trường hợp quan sát với mật độ tinh trùng cao. Điều này đặc biệt quan trọng trong các loài có mật độ tinh trùng cao và tinh trùng chuyển động nhanh chóng (Yao và *ctv.*, 1999). Pha loãng tinh trùng là yếu tố quan trọng để kích thích sự hoạt động và duy trì khả năng thụ tinh của tinh trùng. Do đó tỉ lệ pha loãng tối ưu là một yếu tố quan trọng để tinh trùng hoạt lực tốt (Cosson và *ctv.*, 2008; Yao và *ctv.*, 1999).

Ảnh hưởng của tỷ lệ pha loãng lên hoạt lực của tinh trùng cá hồng bạc được thể hiện qua Hình 1.



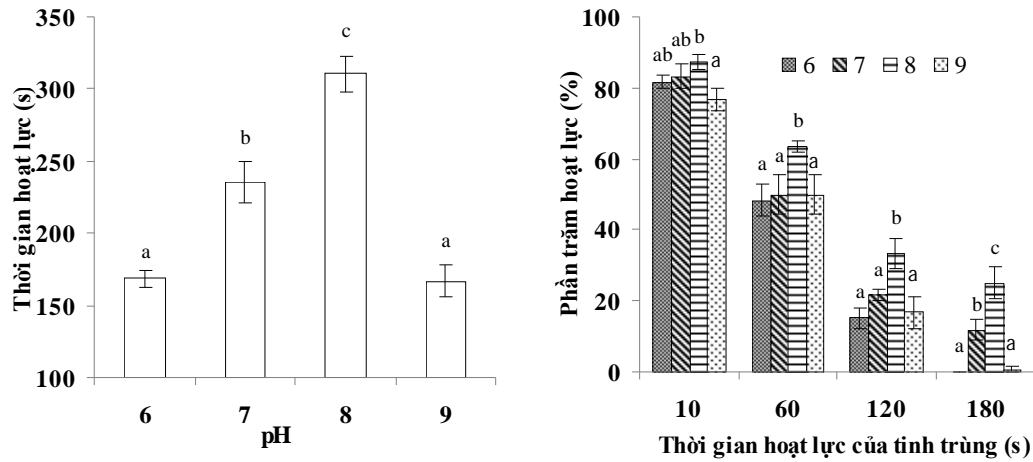
Hình 1. Ảnh hưởng của tỷ lệ pha loãng lên hoạt lực của tinh trùng cá hồng bạc.

Kết quả quan sát cho thấy có sự sai khác giữa các tỷ lệ pha loãng 1:100 với các tỷ lệ 1:200 và 1:50. Tỷ lệ pha loãng 1:100 có thời gian hoạt lực của tinh trùng cao nhất ($328,67 \pm 14,85$ s), tiếp đó là tỷ lệ 1:50 ($235,33 \pm 7,42$ s), thấp nhất là ở tỷ lệ 1:200 ($176 \pm 25,38$ s). Phần trăm tinh trùng hoạt động cũng có sự sai khác giữa các tỷ lệ pha loãng. Ở các mốc thời gian quan sát, phần trăm hoạt lực cao nhất là ở tỷ lệ 1:100. Đến 180 s, phần trăm tinh trùng hoạt lực ở tỷ lệ 1:100 là $28,33 \pm 4,4\%$, ở 1:50 là $16 \pm 3\%$, ở 1:200 tinh trùng hoạt lực rất thấp (khoảng 2%). Tóm lại, tỷ lệ pha loãng tốt nhất cho tinh trùng cá hồng bạc hoạt lực là 1:100 với thời gian hoạt lực trung bình là $328,67 \pm 14,85$ s và phần trăm hoạt lực đạt $86,67 \pm 3,3\%$ ở 10 s. So sánh với các kết quả khác cho thấy: tỷ lệ pha loãng tốt nhất ở cá đù vàng là 1:100 (Lê Minh Hoàng, 2011), ở cá da trơn châu Á (*Clarias macrocephalus*) là 1:100 (Fermin và *ctv.*, 1999), ở cá tầm Ba Tư (*Acipenser persicus*) là 1:50 (Alavi và *ctv.*, 2004), ở cá rô Châu Âu (*Perca fluviatilis*) là 1:50 (Alavi và *ctv.*, 2007). Kết quả nghiên cứu chỉ ra rằng đối với mỗi loài cá khác nhau thì tỉ lệ pha loãng tốt nhất là khác nhau và phụ thuộc vào điều kiện làm thí nghiệm cũng như đặc điểm sinh lý của cá ở từng vùng phân bố khác nhau.

Tỷ lệ pha loãng 1:100 được sử dụng cho các quan sát tiếp theo.

Ảnh hưởng của pH lên hoạt lực của tinh trùng

Kết quả cho thấy có sự sai khác giữa các giá trị pH khác nhau, tinh trùng hoạt lực tốt nhất ở pH= 8 với tổng thời gian hoạt lực là $310,67 \pm 12,41$ s. Khi quan sát ở 10 s, phần trăm hoạt lực không có sự sai khác giữa các giá trị pH= 6, pH= 7, pH= 8 và pH= 9. Ở các mốc thời gian tiếp theo, có sự sai khác giữa phần trăm hoạt lực ở pH= 8 so với các giá trị còn lại. Đến 180 s, ở pH= 8 tinh trùng hoạt lực $25 \pm 4,4\%$, trong khi đó ở pH=6 và pH= 9 tinh trùng hầu như không hoạt lực.

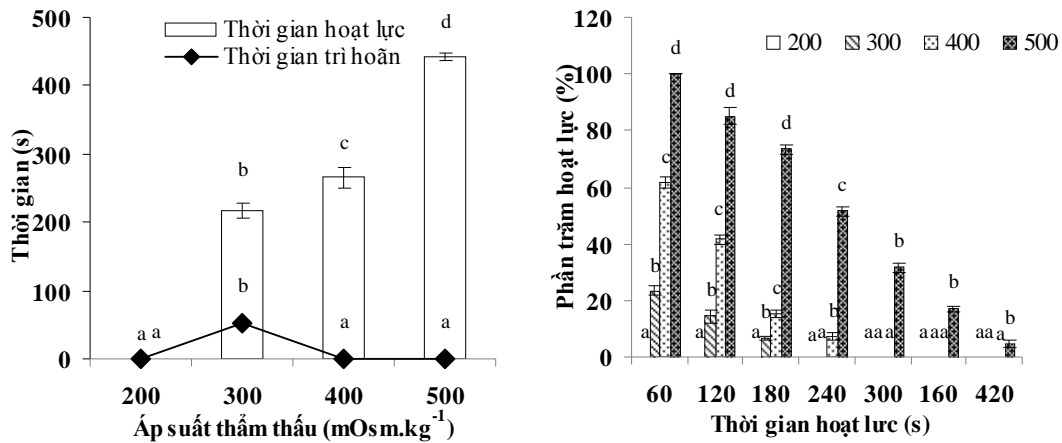


Hình 2. Ảnh hưởng của pH lên hoạt lực của tinh trùng cá hồng bạc

Kết quả này tương tự với kết quả ở ở một số loài cá như cá đù vàng (Lê Minh Hoàng, 2011), cá tầm Ba Tư (*Acipenser persicus*) (Alavi và ctv., 2004), cá chêm mõm nhọn (Nguyễn thị Hồng Nhung, 2012); cao hơn của cá trê vàng (*Clarias macrocephalus*) (Fermin và ctv., 1999) (pH=7,8) nhưng lại thấp hơn ở cá chêm (*Dicentrarchus labrax*), tinh trùng loài cá này có thể hoạt động trong dung dịch có môi trường đệm từ pH=5 đến pH=10 và chúng hoạt động tốt nhất xung quanh giá trị pH=9 và cũng tương tự đối với cá bơn (*Hippoglossus hippoglossus*) (Cosson, 2004).

Ảnh hưởng của áp suất thẩm thấu lên hoạt lực của tinh trùng

Áp suất thẩm thấu có vai trò quan trọng trong việc kích hoạt, duy trì khả năng hoạt động của tinh trùng trong khi vào môi trường nước và hơn nữa là nâng cao khả năng thụ tinh của tinh trùng (Nguyễn Thị Hồng Nhung, 2012). Trong các loài cá nước ngọt, sự kích hoạt xảy ra khi tinh trùng tiếp xúc với môi trường nhược trương và ở các loài cá biển là môi trường ưu trương (Cabrita và ctv., 2009). Trong một số loài, chẳng hạn như cá trác (*Sparus aurata*), *Solea senegalensis*, cá nóc (*Takifugu niphobles*) khả năng vận động đã được kích hoạt bằng cách sử dụng môi trường từ các loại đường hoặc các hợp chất khác không chứa ion, điều này chứng minh rằng các nhân tố chính gây ra sự vận động của tinh trùng là áp suất thẩm thấu. Thay đổi trong áp suất thẩm thấu (0 - 300 mOsm/l) có thể bắt đầu tính di động của tinh trùng trong hầu hết các cá loài (Cabrita và ctv., 2009).



Hình 3. Ảnh hưởng của áp suất thẩm thấu lên hoạt lực của tinh trùng cá hồng bạc.

Theo kết quả quan sát ta thấy: giá trị ở 500 mOsm/kg sai khác có ý nghĩa so với các giá trị áp suất thẩm thấu còn lại. Tinh trùng hoạt lực lâu nhất ở áp suất thẩm thấu 500 mOsm/kg

(443,33±5,23 s) và ở 200 mOsm/kg tinh trùng cá hồng bạc không hoạt động. Ở 300 mOsm/kg tinh trùng phải mất 51,67 s để cân bằng áp suất thẩm thấu trước khi hoạt động, trong khi đó ở các giá trị 400 mOsm/kg hay 500 mOsm/kg tinh trùng hoạt lực ngay, không có thời gian trì hoãn. Phần trăm hoạt lực đạt tốt nhất tại 500 mOsm/kg (100% ở 60 s). Đến khoảng 300 s, tinh trùng ở các giá trị 300 mOsm/kg và 400 mOsm/kg không còn hoạt lực, trong khi đó đến 420 s tinh trùng ở 500 mOsm/kg vẫn còn hoạt lực. Do đó, ở dung dịch có áp suất thẩm thấu 500 mOsm/kg tinh trùng cá hồng bạc hoạt lực tốt nhất.

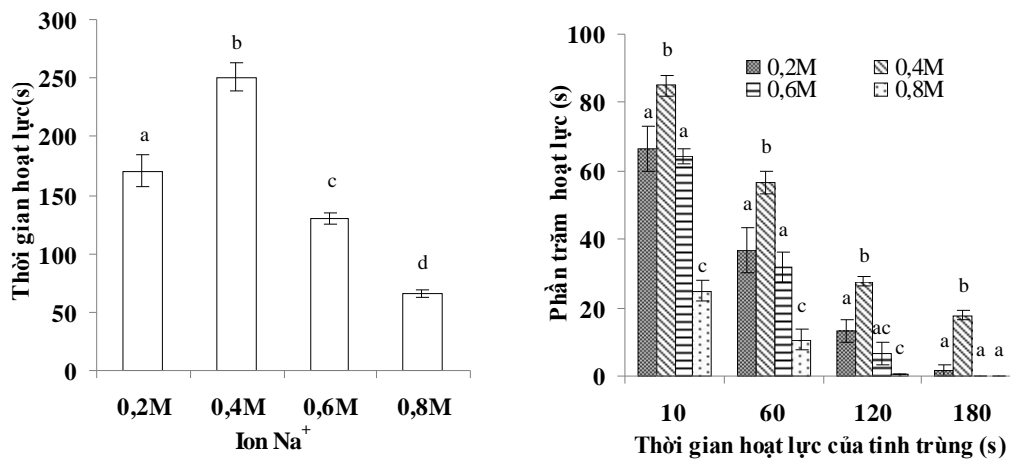
Có sự khác nhau về giá trị áp suất thẩm thấu đối với các loài cá biển và cá nước ngọt. Tinh trùng cá nước ngọt thích hợp với môi trường có ASTT thấp hơn so với các loài cá biển. Một số kết quả đã được công bố về áp suất thẩm thấu tốt nhất như: cá chép là 100 mOsm/kg (Hàng Hà Giang, 2012), cá cá chẽm *Sparus auratus* là 365 mOsm/kg, cá bơn *Solea senegalensis* là 300 mOsm/kg và cá tuyết *Gadus morhua* là 400 – 417 mOsm/kg (Cosson và ctv., 2008).

Tóm lại, áp suất thẩm thấu của môi trường tương đương với áp suất thẩm thấu trong tinh dịch là tốt nhất cho tinh trùng hoạt lực và thụ tinh (Cabrita và ctv., 2009).

Ảnh hưởng của các ion lên hoạt lực của tinh trùng

Ảnh hưởng của sự thay đổi ion và áp suất thẩm thấu ở môi trường bên ngoài lên hoạt lực tinh trùng cá đã được ghi nhận bởi (Morisawa, 1994) và nó được cho là hai yếu tố chi phối hoạt lực của tinh trùng. Alavi và Cosson (trích bởi Cabrita và ctv., 2009) mô tả tương tác và ảnh hưởng của Ca^{2+} và K^+ , hai ion lớn hiện diện trong huyết tương tinh dịch được coi là các ion chìa khóa để kích hoạt hoạt lực của tinh trùng và thời gian hoạt lực trong tinh trùng cá biển cũng như trong cá hồi và họ cá tầm. Ion Na^+ được biết là có vai trò thứ yếu trong việc kích hoạt và điều tiết khả năng vận động tinh trùng cá và động vật không xương sống (Cabrita và ctv., 2009).

Ảnh hưởng của các ion lên hoạt lực của tinh trùng cá hồng bạc được thể hiện qua các hình sau:

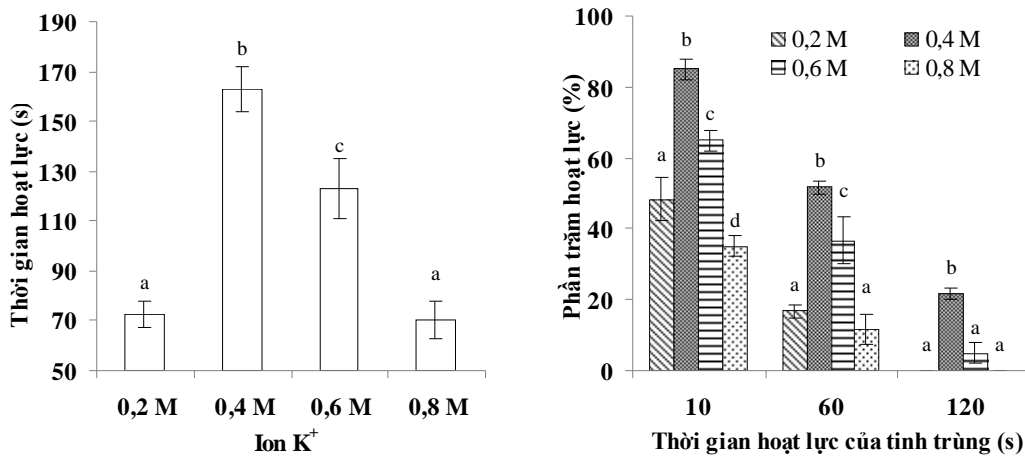


Hình 4. Ảnh hưởng của ion Na^+ lên hoạt lực của tinh trùng cá hồng bạc.

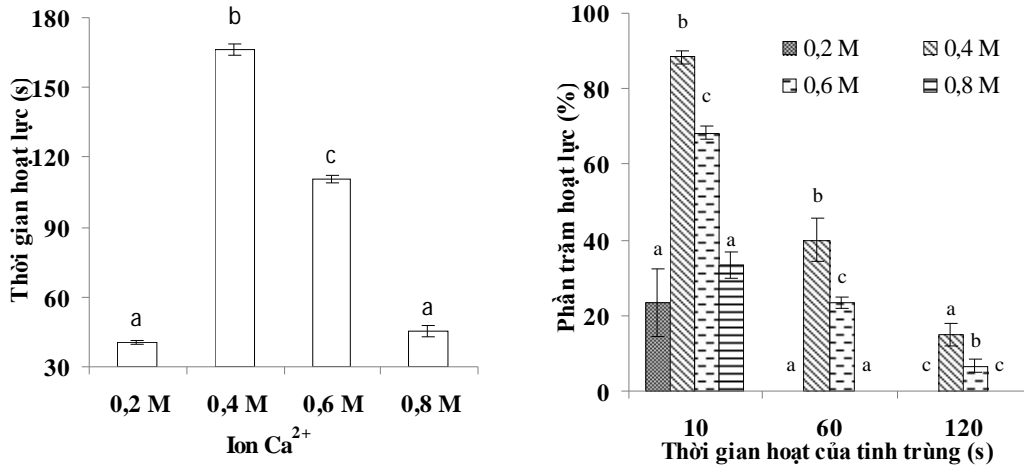
Đối với ion Na^+ , theo Hình 4 ta thấy có sự sai khác có ý nghĩa ở nồng độ 0,4 M so với các nồng độ còn lại. Kết quả quan sát được cho thấy ở 0,4 M tinh trùng hoạt lực tốt nhất (251±12,42 s và phần trăm hoạt lực ở 10 s là 85±2,89%); thấp nhất là ở 0,8 M. Đến 180 s, tinh trùng hoạt lực ở 0,4 M còn 17,67±1,45% trong khi đó ở các tỷ lệ còn lại thì hầu như tinh trùng bất hoạt.

Quan sát cho kết quả tương tự ở ion K^+ . Theo Hình 5 tinh trùng hoạt lực tốt nhất ở 0,4 M K^+ ($123,33 \pm 12,02$ s và $85 \pm 2,89\%$). Ở nồng độ 0,6 M, thời gian hoạt lực có sự sai khác so với 2 nồng độ 0,2 M và 0,8 M. Sau 120 s, tinh trùng ở 0,2 M và 0,8 M bất hoạt.

Đối với hoạt lực của tinh trùng ở các nồng độ Ca^{2+} , quan sát cho thấy có sự sai khác giữa thời gian và phần trăm hoạt lực của tinh trùng ở 0,4 M so với các nồng độ 0,2 M, 0,6 M và 0,8 M. Ở 0,4 M tinh trùng có thời gian hoạt lực lâu nhất ($166,33 \pm 2,73$ s) và phần trăm tinh trùng hoạt lực đạt $88,33 \pm 1,67\%$ (ở 10 s). Ở 0,2 M và 0,8 M tinh trùng hoạt lực rất thấp cả về thời gian và phần trăm hoạt lực.



Hình 5. Ảnh hưởng của ion K^+ lên hoạt lực của tinh trùng cá hồng bạc.



Hình 6. Ảnh hưởng của ion Ca^{2+} lên hoạt lực của tinh trùng cá hồng bạc.

Tóm lại, kết quả quan sát cho thấy tinh trùng cá hồng bạc hoạt lực tốt nhất ở môi trường có 0,4 M Na^+ ; 0,4 M K^+ và 0,4 M Ca^{2+} . Kết quả nghiên cứu trên một số đối tượng khác như trên cá đu vàng (Lê Minh Hoàng, 2011) là 0,4 M Na^+ , 0,4 M K^+ và 0,2 M Ca^{2+} ; trên cá tầm Ba Tư là 0,25M Na^+ , 0,002M K^+ , 0,03M Ca^{2+} (Alavi và *ctv.*, 2004). Vì vậy, các loài cá khác nhau thì tinh trùng được kích hoạt tốt nhất ở dung dịch có các nồng độ ion khác nhau.

KẾT LUẬN VÀ ĐỀ XUẤT Ý KIẾN

Kết luận

Một số đặc tính lý học của tinh trùng cá hồng bạc

Tinh dịch thu được có màu trắng sữa, có dung lượng tinh dịch trung bình là $1,17 \pm 0,2$ ml; mật độ tế bào đạt $18,17 \pm 0,6 \times 10^9$ tb/ml.

Ảnh hưởng của tỷ lệ pha loãng lên hoạt lực của tinh trùng cá hồng bạc

Tỷ lệ pha loãng tối ưu cho hoạt lực của tinh trùng là 1:100 (tinh dịch:nước biển nhân tạo) với thời gian hoạt lực là $328,67 \pm 14,85$ s và phần trăm tinh trùng hoạt lực là $86,67 \pm 3,33$ %.

Ảnh hưởng của áp suất thẩm thấu lên hoạt lực tinh trùng cá hồng bạc

Áp suất thẩm thấu tối ưu nhất cho hoạt lực tinh trùng cá hồng bạc là 500 mOsm/l với thời gian vận động và phần trăm hoạt lực lần lượt là $443,33 \pm 5,23$ s và 100%.

Ảnh hưởng của pH lên hoạt lực tinh trùng cá hồng bạc

Tinh trùng cá hồng bạc hoạt lực tối ưu ở môi trường có pH= 8 với thời gian hoạt lực là $310,67 \pm 12,41$ s và $87,33 \pm 2,33$ % tinh trùng hoạt lực.

Ảnh hưởng của nồng độ ion (K^+ , Na^+ và Ca^{2+}) lên hoạt lực tinh trùng cá hồng bạc

Ion K^+ : nồng độ tối ưu cho hoạt lực tinh trùng là 0,4 M với thời gian hoạt lực và phần trăm tinh trùng hoạt lực lần lượt là $123,33 \pm 12,02$ s và $85 \pm 2,89$ %.

Ion Na^+ : nồng độ tối ưu cho hoạt lực tinh trùng là 0,4 M với thời gian hoạt lực và phần trăm tinh trùng hoạt lực lần lượt là $251 \pm 12,42$ s và $85 \pm 2,89$ %.

Ion Ca^{2+} : nồng độ tối ưu cho hoạt lực của tinh trùng là 0,4 M với thời gian hoạt lực là $166,33 \pm 2,73$ s và phần trăm tinh trùng hoạt lực đạt $88,33 \pm 1,67$ %.

Đề xuất ý kiến

Nghiên cứu này sử dụng thời gian và phần trăm tinh trùng hoạt lực để đánh giá chất lượng tinh trùng cá hồng bạc. Một yếu tố đánh giá chất lượng tinh trùng tốt hơn là thí nghiệm về tỷ lệ thụ tinh. Tuy nhiên, điều kiện của nghiên cứu còn hạn chế nên chưa thực hiện được. Vì vậy, cần bổ sung các thí nghiệm thụ tinh và kết quả ương nuôi ấu trùng để đánh giá chính xác hơn chất lượng tinh trùng.

Đối với ảnh hưởng của pH nên làm thí nghiệm với mức chênh lệch nhỏ hơn ở các nghiên cứu sau, để xác định được chính xác giá trị pH ảnh hưởng đến hoạt lực của tinh trùng cá hồng bạc. Các giá trị phần trăm tinh trùng hoạt lực được đánh giá bằng mắt thường có thể ảnh hưởng theo cảm quan của người quan sát nên kết quả còn chưa chính xác, các thí nghiệm sau cần có phương pháp nghiên cứu chính xác hơn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Tài liệu tiếng Việt

Hoàng Hà Giang, 2012. Nghiên cứu ảnh hưởng của tỷ lệ pha loãng, chất pha loãng, áp suất thẩm thấu và nồng độ ion (K^+ , Ca^{2+}) lên hoạt lực tinh trùng cá chép *Cyprinus carpio* (Linnaeus, 1758). *Luận văn tốt nghiệp. Trường Đại học Nha Trang.*

Nguyễn Thị Hồng Nhung, 2013. Nghiên cứu đánh giá chất lượng tinh trùng và ảnh hưởng của một số yếu tố lên hoạt lực tinh trùng cá chêm mõm nhọn *Psammoperca waigiensis* (Cuvier & Valenciennes, 1828). *Luận văn thạc sĩ. Đại học Nha Trang.*

Nguyễn Hữu Phụng, Nguyễn Văn Long, and Trần Thị Hồng Hoa, 2001. Nguồn lợi cá rạn san hô ở vịnh Nha Trang. *Tạp chí khoa học công nghệ biển. Nhà xuất bản Hà Nội* tập 2:16-26.

Nguyễn Địch Thanh, 2012. Nghiên cứu một số đặc điểm sinh học sinh sản của cá hồng bạc *Lutjanus argentimaculatus* (Forsskal, 1775) và ảnh hưởng của thức ăn đến sinh trưởng, tỷ lệ sống ở giai đoạn cá bột, tại Nha Trang, Khánh Hòa. *Luận văn tiến sĩ. Đại học Nha Trang.*

Phan Thị Thảo, 2005. Nghiên cứu bảo quản tinh trùng cá chép (*Cyprinus carpio*) trong nitơ lỏng tại Trung tâm quốc gia giống thủy sản nước ngọt miền Bắc, Gia Lộc - Hải Dương. *Luận văn tốt nghiệp. Đại học Nha Trang*:19-20.

Nguyễn Quang Thiệu, 2012. Tìm hiểu quy trình ương nuôi ấu trùng cá Hồng bạc (*Lutjanus argentimaculatus*, Forsskal, 1775) tại Lương Sơn - Nha Trang. *Luận văn tốt nghiệp. Trường Đại học Nha Trang.*

Tài liệu tiếng Anh

- Alavi, S.M.H., Cosson, J., Karami, M., Amiri, B.M., and Akhoundzadeh, M.A., 2004. Spermatozoa motility in the Persian sturgeon (*Acipenser persicus*): effects of pH, dilution rate, ions and osmolality. *Reproduction* 128: 819–828.
- Alavi, S.M.H., Rodina, M., Policar, T., Kozak, P., Psenicka, M., and Linhart, O., 2007. Semen of *Perca fluviatilis*: sperm volume and density, seminal plasma indices and effects of dilution ratio, ions and osmolality on sperm motility. *Theriogenology* 68 (2): 276-283.
- Cabrita, E., Robles, V., and Herráez, P., 2009. Methods in Reproductive Aquaculture Marine and Freshwater Species. *CRC Press Taylor & Francis Group*: 93-149.
- Cosson, J. (2004). The Ionic and Osmotic Factors Controlling Motility of Fish Spermatozoa. *Aquaculture International* 12: 69-85.
- Cosson, J., Groison, L.A., Suquet, M., Fauvel, C., Dreanno, C., and Billard, R., 2008. Marine fish spermatozoa: racing ephemeral swimmers. *Reproduction* 136 (3): 277-294.
- Fermin, J.D., Miura, T., Adachi, S., and Yamauchi, K., 1999. Seminal plasma composition, sperm motility, and milt dilution in the Asian catfish *Clarias macrocephalus*. *Aquaculture* 171 (3-4): 323-338.
- Harald, B.T., Benfey, J.T., Martin-Robichaud, D.J., and Power, J., 2001. The relationship between sperm density, spermatocrit, sperm motility and fertilization success in Atlantic halibut, *Hippoglossus hippoglossus*. *Aquaculture* 194 (1-2): 191-200.
- Le, M.H., Lim, H.K., Min, B.H., Park, M.S., Son, M.H., Lee, J.U., and Chang, Y.J., 2011. Effects of varying dilutions, pH, temperature and cations on spermatozoa motility in fish *Larimichthys polyactis*. *Environmental Biology* 32: 271-276.
- Morisawa, M., 1994. Cell signaling mechanism for sperm motility. *Zool Sci* 1: 647-662.
- Yao, Z., Richardson, G.F, and Crim, L.W., 1999. A diluent for prolonged motility of ocean pout (*Macrozoarces americanus*) sperm. *Aquaculture* 174 (1-2): 183-193.