

ỨNG DỤNG CÁC GESTAGEN TRONG SINH SẢN NHÂN TẠO CÁ Ở MIỀN NAM

APPLICATION OF GESTAGENS IN SOUTHERN VIETNAM FISH INDUCED SPAWNING

Nguyễn Tường Anh

Khoa Sinh ĐH Khoa học Tự nhiên TP HCM (University of Science HCM City)

ABSTRACT

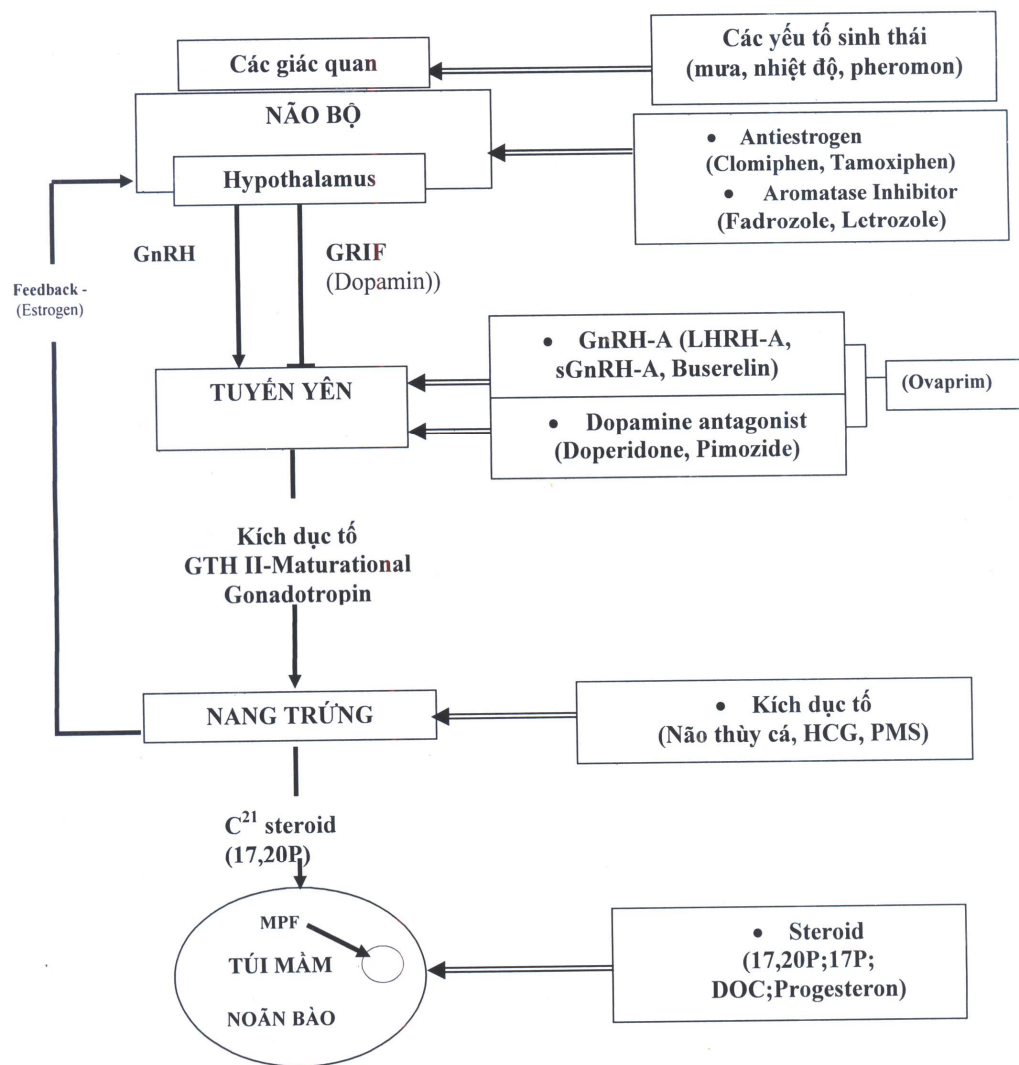
In fish artificial breeding, the gestagens C²¹ (including corticoids) are used as oocyte maturation inducing factors. The effective gestagens ever used in resolving dose injection for fish oocyte maturation in Vietnam aquaculture are progesterone (P), 17 α -hydroxy-20 β -dihydroprogesterone (17,20P) và deoxycorticosterone acetate (DOCA). Following a proper priming, the optimal doses of 17,20P – the most potent fish oocyte maturation inducing steroid in resolving injection for common carp, grass carp, silver carp, *Labeo rohita*, *Cirrhira mrigala* (Indian major carps), *Barbodes gonionotus*, *B. altus*, *Clarias macrocephalus*, *C. gariepinus* (walking catfish), *Pangasius hypophthalmus*, *P. conchophilus* và *Hemibagrus nemurus* are about 2.5 to 5mg/kg. Except 17,20P (which is active at a temperature above 13°C) gestagens are only active at temperature higher than 24°C. Almost of them are maturation inducing but not ovulation stimulating. Therefore in breeding practice they should be applied together with gonadotropins or endogenous gonadotropin releasing factors (as GnRH analog and antidopamine). As they are soluble in the organic solvent, steroid preparations should be injected peritoneally. As the steroids, all gestagens are resistant to microorganisms, can be easily stored in room temperature conditions, relatively cheap and readily available. Application of the steroid hormones in Southern Vietnam is very perspective.

Key words: steroid hormone, gestagens C²¹, induced spawning

Cơ chế hormon điều khiển sự chín noãn bào cá (H. 1) – một quá trình quan trọng đưa đến tình trạng sinh sản ngày nay được hiểu biết tương đối tốt. 17 α -hydroxy-20 β -dihydroprogesterone (17,20P) và các gestagen khác nổi lên như một nhóm hoạt chất có triển vọng được sử dụng để kích thích cá sinh sản [1].

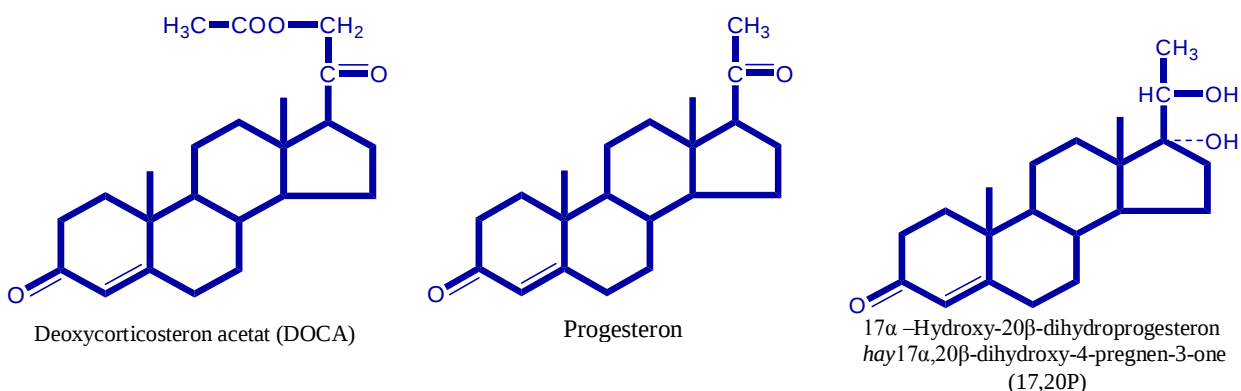
Gestagen và lịch sử những thí nghiệm gây chín noãn bào cá *in vivo*

Thuật ngữ gestagen có nguồn gốc Latinh, từ gestation là *sự mang thai* và gen nghĩa là *tạo ra*. Gestagen là nhóm hormon steroid có 21 nguyên tử carbon trên khung phân tử; chất điển hình là progesteron, còn có các tiền chất và dẫn xuất của nó. Cơ quan chính sản xuất gestagen là thể vàng trong buồng trứng. Tuy nhiên, theo danh pháp các hormon steroid thì những steroid có 21 nguyên tử C trên khung đều có tên gốc là *pregn* (từ chữ pregnancy tiếng Anh có nghĩa là *sự mang thai*). Do đó các hormon của phần vỏ tuyến trên thận, trừ các androgen có 19 nguyên tử carbon, thường được gọi theo xuất xứ là corticosteroid, về mặt hoá học cũng có thể nằm trong nhóm các gestagen. Điều thú vị là, trong khi các hormon steroid tác động chủ yếu lên gen (đơn vị di truyền) thì gen đáp ứng với progesteron và gen đáp ứng với các glucocorticosteroid lại giống nhau đến nỗi có thể coi chúng là đồng nhất về mặt chức phận [13].



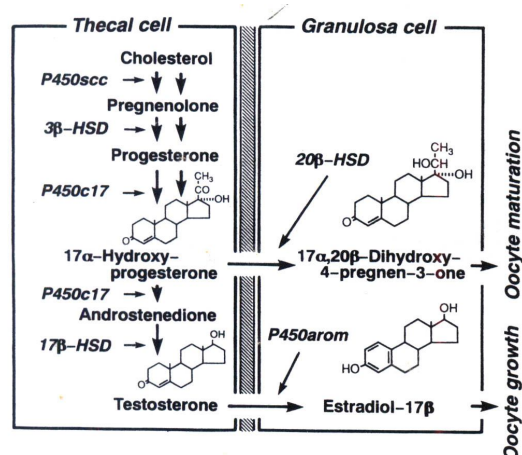
H.1 Sơ đồ cơ chế hormone điều khiển sự chín noãn bào cá trong trục Não bộ - Tuyến yên – Nang trứng, trong đó các hormone steroid – gestagen tác động trực tiếp lên noãn bào. Bên phải là những chất ngoại sinh có thể kích thích gián tiếp hoặc trực tiếp sự chín noãn bào [5].

Phần sau của bài này cho thấy các corticosteroid và dẫn xuất có tác dụng gây chín noãn bào cá tương tự các gestagen có xuất xứ từ thể vàng hoặc các dẫn xuất của progesteron (H.2).



H.2 Cấu tạo các phân tử gestagen có khả năng gây chín noãn bào cá *in vitro* và *in vivo* thường gặp [1]

Năm 1985, Nagahama và Adashi [15], lần đầu tiên, nhận dạng steroid nội sinh gây chín noãn bào ở loài cá *Oncorhynchus rhodurus*. Đó chính là 17 α -hydroxy-20 β -dihydroprogesterone (17,20P). Từ đó Nagahama (1997) đề xuất mô hình hai kiểu tế bào nang trứng tạo hormon steroid điều khiển sự chín của noãn bào cá (H.3).



H.3 Mô hình hai kiểu tế bào (tế bào vỏ - thecal cell và tế bào hạt - granulosa cell), tham gia vào quá trình tạo 17,20P [15].

Về sau 17,20P được chứng minh là một trong hai hormon steroid tự nhiên gây chín mạnh nhất cho noãn bào cá *in vitro* và *in vivo*. 17,20P cũng được sản xuất trong nang trứng của nhiều loài thuộc nhiều bộ cá xương [1].

Tuy nhiên, những thực nghiệm thành công khi dùng các gestagen *in vivo* để kích thích cá sinh sản đã có khá lâu trước khi 17,20P được phát hiện như hormon steroid tự nhiên nội sinh gây chín noãn bào cá. Trước hết là công trình của Kirshenblat (Киришенблат, 1952), [19] khi kích thích sự chín và rụng trứng *in vivo* thành công cho cá chạch *Misgurnus fossilis* bằng progesteron, corticosteron acetat (DOCA) và cả methyltestosteron. Sau đó cũng chính nhà nghiên cứu này chứng minh hoạt tính gây chín của cortison (Kirshenblat, 1958) khi dùng chung với LH để gây chín và rụng trứng cho loài cá chạch nói trên.

Những công trình điển hình dùng các gestagen khác nhau để kích thích cá sinh sản nhân tạo thành công có thể được kể là Cassifour và Chambolle (1975) với progesteron trên cá đối *Crenimugil labrosus*; Popov và Budarin (Попов, Бударин, 1976) [20] với progesteron cho cá chép; Jalabert và ctv., (1977) với 17,20P cho cá chép [14]; Burlakov và ctv., (Бурлаков и др, 1986, 1988) với cortexolon cho cá chép và cá trắm cỏ [18]; Richter và ctv., (1985) với 17 α -hydroxyprogesteron trên cá trê phi *Clarias gariepinus*. Riêng 17,20P còn được dùng để kích thích sinh sản cá trê trắng *C. batrachus* [12], cá chình châu Á *Anguilla japonicus* [16], cá chình châu Âu *A. anguilla* [17].

Những nghiên cứu về gestagen, đặc biệt là 17,20P trên cá ở miền Nam Việt Nam

Việc sử dụng các gestagen – những steroid C²¹ trong sinh sản nhân tạo cá có một số thuận lợi so với các kích dục tố là protein (như HCG hay não thủy - tuyến yên cá) hoặc GnRH-A (gonadotropin releasing hormone analog) là chất peptid. Đó là các gestagen dễ được định lượng (xác định hoạt tính thông qua trọng lượng hoạt chất), chịu được nhiệt độ cao (khoảng 100°C), không bị phân huỷ bởi vi sinh vật [2]. Riêng 17,20P còn nổi trội so với các

gestagen khác. Đó là, ngoài hoạt lực cao hơn, nó có thể phát huy tác dụng ở 13°C [14], nhiệt độ rất thấp, có thể gặp trong đầu vụ sản xuất giống cá ở miền Bắc nước ta. B.1 nêu liều quyết định có hiệu quả kích thích sinh sản của ba loại gestagen phổ biến trên một số loài cá nuôi ở miền Nam Việt Nam.

Bảng 1. Liều quyết định có hiệu quả kích thích sinh sản (tỷ lệ cá rụng trứng trên 70%) của ba loại gestagen phổ biến trên một số loài cá nuôi ở miền Nam Việt Nam.

Gestagen và loài cá	Liều, mg/kg	Ghi chú và tác giả
Progesteron		
Chép	15	Lê Văn Dân, Nguyễn Tường Anh, 2009, chưa công bố
Trê phi	15 – 25	Nguyễn Tường Anh, 1999
Rôhu	15	Lê Văn Dân và ctv., 2007
DOCA		
Rôhu	10	Nguyễn Tường Anh, 1999, Lê Văn Dân và ctv., 2009
Trê vàng	2,5 – 5	Nguyễn Tường Anh và ctv., 2002, Nguyễn Tường Anh, 2008
Mè trắng	20	Nguyễn Tường Anh, 1999
17,20P		
Chép	3	Nguyễn Thị Yến Linh và ctv., 2006
Trắm cỏ	4	Lê Văn Dân và ctv., 2007
Mè trắng	4	Nguyễn Tường Anh, 1999
Mè hoa	9	Nguyễn Tường Anh, 1999
Mrigal	9	Nguyễn Tường Anh, 1999
Rôhu	3	Lê Văn Dân và ctv., 2007
Mè vinh	1	Nguyễn Tường Anh, Phan Văn Kỳ, 2005
He vàng	2,5	Nguyễn Tường Anh, Phan Văn Kỳ, 2005
Trê vàng	2,5	Nguyễn Tường Anh, 2006
Trê phi	3	Nguyễn Tường Anh, 2006
Tra	5	Nguyễn Tường Anh, 2006
Hú	5	Nguyễn Tường Anh, 2006
Lăng vàng	5	Bùi Thanh Tuấn, Nguyễn Tường Anh, 2008

Biết rằng các gestagen như 17,20P và cortison không bao giờ gây rụng trứng *in vitro* [11], những loài cá có thể tự đẻ trong điều kiện nhân tạo, không cần tiêm hormon, như cá trê, cá chép (tất nhiên tỷ lệ cá rụng trứng trong trường hợp này là khá thấp), khi được kích thích *in vivo* bằng duy nhất một gestagen vẫn có thể cho một tỷ lệ rụng trứng đáng kể (Richter và ctv., 1985; Lê Văn Dân và Nguyễn Tường Anh, 2009).

Tuy nhiên, trong các thí nghiệm kích thích cá sinh sản, hầu hết các hormon steroid chỉ gây chín (final maturation) mà không gây rụng trứng. Vì vậy, để có được phản ứng đẻ trứng hoàn hảo, các nhà nghiên cứu đề cập việc sử dụng yếu tố có khả năng gây rụng trứng trực tiếp hoặc gián tiếp trong liều tiêm khởi động hoặc cùng lúc với gestagen gây chín trong liều quyết định gây chín và rụng trứng. Những yếu tố có khả năng gây rụng trứng như thế là các kích

dục tố (Kirshenblat, 1958; [20], [14], [12], [6], [3], là prostaglandin [11], hoặc những hoạt chất gây phóng thích kích dục tố nội sinh như GnRH-A, antidopamin [9], [7], [8], [5], [10].

Có thể nói khó khăn lớn nhất của việc đưa các gestagen – những chất chỉ gây chín noãn bào vào kỹ thuật sinh sản nhân tạo cá là phải dùng kèm với những yếu tố gây rụng trứng mà trước hết là các kích dục tố như HCG, não thủy cá. Não thủy cá là chế phẩm mang hoạt tính không ổn định. Cuối cùng là các chất phóng thích kích dục tố. Trong số đó, các GnRH-A là những peptid nên cần được bảo quản trong điều kiện nhiệt độ thấp và vô trùng. Các chất antidopamin thì dễ bảo quản trong điều kiện bình thường nhưng có hoạt tính thấp.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Tường Anh, 1999a. *Một số vấn đề về Nội tiết học sinh sản cá*. Nxb Nông nghiệp 238 tr.
2. Nguyễn Tường Anh, 1999b. Triển vọng ứng dụng một số steroid C²¹ để kích thích cá sinh sản ở quy mô sản xuất. *TC Khoa học Kỹ thuật Nông Lâm nghiệp*. 11: 33-40.
3. Nguyễn Tường Anh, 2006. 17 α -hydroxy,20 β -dihydroprogesterone in induced spawning of some fish from southern Vietnam. *Proceeding of international symposium on development of technology for modernizing fisheries sector of Vietnam in global context*. Nhatrang University. 11-17.
4. Nguyễn Tường Anh, 2008. induced spawning of some catfish species using steroid hormones, 17 α -hydroxyprogesterone (17p) and 17 α -hydroxy,20 β -dihydroprogesterone (17,20p) in final induction injection. *Symposium Catfish aquaculture in Asia: Present status and challenges for sustainable development*. Oral presentation, Can Tho University. December 2008.
5. Nguyễn Tường Anh, 2008. Mô hình hai kiểu tế bào, feedback và phản ứng thom hoá trong nội tiết học sinh sản cá cái. *Hội thảo Khoa học Công nghệ phục vụ sản xuất và đời sống*. Viện NCNTTS II, 23-24/12/2008.
6. Nguyễn Tường Anh, Phan Văn Kỳ, 2005. Dùng 17 α , 20 β -dihydroxy-4-pregnen- 3-one kích thích cá Mè Vinh và He Vàng đẻ. *Hội thảo Toàn quốc về Nghiên cứu và Ứng dụng Khoa học và Công nghệ trong Nuôi trồng Thủy sản*. Vũng Tàu 22-23/12/2004. 323-329.
7. Lê Văn Dân, Nguyễn Tường Anh, Võ Văn Phú, 2007a. Inducing oocyte maturation and ovulation of grass carp *Ctenopharyngodon idellus* by using 17 α ,20 β -dihydroxy-4-pregnen-3-one (17,20P) in the resolving dose. *Vietnam Journal of Agriculture and rural development* 1: 36 – 38
8. Lê Văn Dân, Nguyễn Tường Anh, Võ Văn Phú, 2007b. Effects of 17 α ,20 β -dihydroxy-4-pregnen-3-one (17,20P) on *in vivo* oocyte maturation and ovulation of oocyte maturation and ovulation of a Indian major carp *Labeo rohita*. *Journal of Fisheries* 4: 21-23.
9. Nguyễn Thị Yến Linh, Diệp Hồng Phước, Nguyễn Tường Anh. 2006. Thí nghiệm kích thích cá chép (*Cyprinus carpio*) sinh sản bằng Domperidon và 17 α , 20 β -dihydroxy-4-pregnen-3-one (17,20P), *Tạp Chí Khoa Học ĐH Cần Thơ*. Số đặc biệt chuyên đề Thủy sản 4/2006 tr. 201-206.
10. Bùi Thanh Tuấn, Nguyễn Tường Anh, 2008. So sánh ba phương thức dùng hormon kích thích sinh sản cá lăng vàng (*Hemibagrus nemurus* Valenciennes, 1839). *Hội nghị Khoa học trẻ toàn quốc về NTTS* tại Viện NCNTTS I, 18/12/2008.

11. Epler P, Bieniarz K, Marosz E, 1985. Effect of temperature, 17 α -hydroxy-20 β -dihydroprogesterone and prostaglandin F_{2 α} on carp oocyte maturation and ovulation *in vitro*. *Gen và Comp Endocrinol*. 58: 192-201
12. Haider S, and Rao N V, 1994. Induced spawning of maturing Indian catfish *Clarias batrachus* (L), using low doses of steroid hormones and salmon gonadotropin. *Aquaculture and Fisheries Management*. 25:401-408.
13. Harley M E và Levine J E, 2007. Endocrinology 6-th edition Pearson Prentice Hall 500 pp.
14. Jalabert B, Breton B, Brzuska E, Fostier A, and Wienawski, 1977. A new tool for induced spawning: the use of 17 α -hydroxy-20 β -dihydroprogesterone to spawn carp at low temperature. *Aquaculture* 10:353-364.
15. Nagahama Y, 1997. 17 α ,20 β -Dihydroxy-4-pregnen-3-one, a maturation – inducing hormone in fish oocytes: Mechanisms of synthesis and action. *Steroids* **62**: 190-196.
16. Ohta H, Kagawa H, Tanaka H, Okuzawa K, Hirose K, 1996. Changes in fertilization and hatching rates with time after ovulation induced by 17, 20 β -dihydroxy-4-pregnen-3-one in the Japanese eel, *Anguilla japonica*. *Aquaculture* 139:291-301.
17. Pedersen B H, 2003. Induced sexual maturation of the European eel *Anguilla anguilla* and fertilisation of the eggs. *Aquaculture* 224:323-338.
18. Бурлаков А Б, Крымов А П, Демченко Б И, Зуморин А В, Шило А И, 1988. Применение кортексолона для получения икры у белого амура. *Рыбное Хозяйство* 4: 63-64.
19. Киршенблат Я Д, 1952. Действие стероидных гормонов на самок выюна. *Докл. АН СССР* 83: 629-632.
20. Попов О П , Бударин В В, 1976. Применение прогестерона для стимулирования созревания самок карпа и сазана. *Рыбное Хозяйство* 2: 19 - 20