

# THÍ NGHIỆM KÍCH THÍCH CÁ CHÉP (*Cyprinus carpio*) SINH SẢN BẰNG DOMPERIDON VÀ 17 $\alpha$ , 20P-DIHYDROXY-4 -PREGNEN-3-ONE (17-20P)

Nguyễn Thị Yến Linh<sup>1</sup>, Diệp Hồng Phước<sup>2</sup> và Nguyễn Tường Anh<sup>2</sup>

## ABSTRACT

*Effects of domperidone and 17-20P on final maturation and ovulation on common carp (*Cyprinus carpio*) were investigated. The results showed that the application of domperidone in the preliminary dose of 5 mg/kg female and of 17-20P at levels of 3–4 mg/kg female in the decisive dose gave the ovulation rates from 73.3 to 91.1%. Also, the use of preliminary dose by domperidone at 10 mg/kg of female and the decisive dosage by 17-20P at lower levels of 2–2.5 mg/kg gave the ovulation rates from 93.3-100%. A combination of 5 mg of domperidone and 3–4 mg of 17-20P or 10 mg of domperidone and 2.5 mg of 17-20P for 1 kg of fish using a single injection obtained acceptable results. Thus, the application of domperidone and 17-20P in carp breeding will be convenience for fish breeding farmers that they can avoid the storage of protein or peptide hormones in restricted conditions (low temperature) such as gonadotropins and gonadotropin releasing hormones.*

**Keywords:** *domperidon, 17-20P, gonadotropins, Cyprinus carpio*

**Title:** *Study on the induced breeding of common carp (*Cyprinus carpio*) by domperidone & resolving dosage by domperidon and 17 $\alpha$ , 20P-dihydroxy-4 -pregnen-3-one (17, 20P)*

## TÓM TẮT

*Thí nghiệm nghiên cứu hiệu quả gây chín và rụng trứng của domperidon và 17-20P trên cá Chép (*Cyprinus carpio*) cho thấy trong lần tiêm sơ bộ domperidon ở liều 5 mg/kg và trong lần tiêm quyết định 17-20P ở liều 3–4 mg/kg cho tỉ lệ rụng trứng dao động từ 73,3-91,1%. Khi dùng liều sơ bộ là domperidon 10 mg/kg có thể giảm liều quyết định bằng 17-20P còn 2-2,5 mg/kg và tỷ lệ rụng trứng tương ứng là 93,3-100%. Hỗn hợp gồm 5 mg domperidon với 3–4 mg 17-20P hoặc hỗn hợp gồm 10 mg domperidon với 2,5 mg 17-20P và tiêm duy nhất 1 lần cho kết quả tốt. Như vậy việc ứng dụng domperidon và 17-20P trong sinh sản nhân tạo cá Chép có thể thuận lợi cho các nhà sản xuất cá giống khỏi việc bảo quản những hormon là protein hay peptid dễ bị phân hủy bởi nhiệt độ cao như kích dục tố và GnRH-A.*

**Từ khóa:** *domperidon, 17-20P, kích dục tố, cá Chép*

## 1 ĐẶT VẤN ĐỀ

Sử dụng hormone 17-20P (17 $\alpha$ , 20P-Dihydroxy-4-pregnen-3-one) để tiêm liều quyết định đã được kết luận là có tác dụng trong kích thích sinh sản cho cá Chép (*Cyprinus carpio*) (Jalabert *et al.*, 1977), cá hồi (*Salmo gairdneri*) (Jalabert *et al.*, 1978), cá Trê trắng (*Clarias batrachus*) (Haider & Rao, 1994), cá chình Nhật (Ohta *et al.*, 1996) và cá chình châu Âu (Pedersen, 2003). Riêng ở nước ta 17-20P

<sup>1</sup> Trường Cao Đẳng Công Đồng Trà Vinh

<sup>2</sup> Trường ĐH Khoa học Tự nhiên thành phố Hồ Chí Minh

(có lẫn 17P-17 $\alpha$ -hydroxyprogesteron) đã thử nghiệm có hiệu quả gây chín trứng cá Chép trong điều kiện thực nghiệm (Nguyễn Dương Dũng và Nguyễn Tường Anh, 2003), cá Trê vàng (*Clarias macrocephalus*) (Nguyễn Tường Anh *et al.*, 2000), cá Mè vinh (*Barbodes gonionotus*) và cá he vàng (*Barbodes altus*) (Nguyễn Tường Anh & Phan Văn Kỳ, 2004), cá Tra (*Pangasius hypophthalmus*) và cá Hú (*P. conchophilus*) (Nguyễn Tường Anh *et al.*, 2005), cá Cóc (*Cyclocheilichthys enoplos*), cá Chài (*Leptobarbus hoeveni*), cá ét mọi (*Morulius chrysophekadion*) (Nguyễn Tường Anh, tài liệu chưa công bố). Tuy nhiên, trong tất cả các công trình đã công bố, mặc dù có vai trò kích thích sinh sản chủ yếu, nhưng 17- 20 P luôn được coi là yếu tố gây chín trứng và vì thế 17-20 P được dùng trong liều quyết định. 17-20 P cần được nghiên cứu sử dụng cùng lúc với các yếu tố gây rụng trứng (ovulation). Trong sản xuất giống thì yếu tố hỗ trợ cho gây rụng trứng trong kích thích sinh sản thường được đưa vào cơ thể cá trong liều sơ bộ dưới dạng các hormon có nguồn gốc protein (kích dục tố) hay peptid (GnRH-A). Tuy nhiên, những hormon này cần đòi hỏi điều kiện bảo quản ở nhiệt độ thấp trong khi 17-20P hay nhiều steroid khác chịu được nhiệt độ khá cao và có thể bảo quản trong điều kiện bình thường.

Anti-dopamin là chất cạnh tranh thụ thể của dopamin. Dopamin tiết ra từ não bộ ở giai đoạn cuối của sự thành thực có tác dụng ức chế sự tiết kích dục tố. Trong khi đó, anti-dopamin ngoại sinh sẽ giúp tuyến yên tiết kích dục tố tự phát, không nhiều nhưng có thể đủ cho sự thành thực hoàn toàn và góp phần quan trọng gây rụng trứng.

Nghiên cứu này sử dụng domperidon, một antidopamin thông dụng tiêm vào cơ thể cá ở liều sơ bộ. Kết quả của nghiên cứu giúp việc sử dụng một hormon mà điều kiện bảo quản thuận lợi hơn so với các hoạt chất kích thích sinh sản cá có bản chất là protein-peptid mà điều kiện bảo quản khó hơn và như thế có thể đưa vào ứng dụng rộng rãi.

## 2 VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Nghiên cứu được thực hiện trong hai mùa sinh sản của cá từ tháng 3/2004 và từ tháng 5/2005 tại Trung tâm Giống Nông Nghiệp Cần Thơ.

### 2.1 Cá bố mẹ

Cá Chép bố mẹ thành thực (12 tháng tuổi và kích cỡ 0,3-0,6 kg) được chọn lựa từ các ao nuôi vỗ của Trung Tâm Giống Nông Nghiệp Cần Thơ được chọn cho sinh sản. Cá chọn lựa đạt những tiêu chuẩn thành thực ngoại hình thông thường dùng trong sinh sản nhân tạo cá Chép.

### 2.2 Kích thích sinh sản

*Thí nghiệm thăm dò:* cá Chép cái chọn sinh sản được tiêm 2 lần gồm liều sơ bộ là domperidon (Motilium–M, Janssen, Thái Lan) với hai mức liều là 5 mg/kg cá cái (lô B) và 10 mg/kg cá cái (lô A). Đối chứng là tiêm liều sơ bộ là não thùy cá Chép 0,5 mg/kg cá cái (lô C).

*Liều quyết định:* tiêm cho cá 17-20P ở các mức 2; 2,5; 3 và 4 mg/kg cá cái. 17-20P được chế từ 17P (17 $\alpha$ -hydroxyprogesteron – Sigma) theo Norymberky & Woods (1955) bằng phản ứng khử bởi NaBH<sub>4</sub>. Sau phản ứng thu được 5 đơn vị khối lượng

của 17-20P thì còn 4 đơn vị khối lượng 17P chưa được khử. Khi dùng, thì giữ nguyên hỗn hợp hai steroid trên mà không tách riêng vì 17P có thể có tác dụng gây chín trứng (Richter *et al.*, 1985 và Nguyễn Tường Anh, 1999). Liều của 17-20P dùng trong thí nghiệm này gồm 17P với tỷ lệ 17-20P/17P là 5/4. Khi hòa tan trong cồn 95% thì hormon steroid hòa tan một phần và ở dạng huyền phù. Hormon được tiêm vào xoang thân và thể tích dung dịch tiêm tương ứng với mỗi kg cá là 1 ml.

Sau thí nghiệm thăm dò cá được kích thích sinh sản chỉ một liều tiêm gồm domperidon + 17-20 P (lô A' và B' và não thùy + 17-20P (lô C')).

### 2.3 Phương pháp thu và phân tích số liệu

- *Rụng trứng róc*: được ghi nhận trong trường hợp khi vuốt cá rụng trứng thì hầu hết trứng chảy ra dễ dàng.
- *Năng suất trứng*: là tỷ số khối lượng trứng đã rụng trên khối lượng cá cái (g/kg).
- Sử dụng phương pháp trắc nghiệm  $T_{diff} = (M_1 - M_2) \cdot (m_1^2 + m_2^2)^{-1/2}$  và Bảng Student để đánh giá độ tin cậy của sự khác biệt của các nghiệm thức (Plokhinsky, 1961).
- Thống kê sự khác biệt giữa các kết quả thí nghiệm được so sánh ở mức  $\alpha = 5\%$

## 3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Nhìn chung, chất lượng cá từ các ao nuôi chọn làm thí nghiệm có chất lượng thành thực tương đối tốt. Cá chỉ tiêm liều sơ bộ bằng domperidon 10mg/kg (nghiệm thức Ao) hoặc não thùy cá Chép 0,5mg/kg (nghiệm thức Co) đều rụng trứng róc dù với tỷ lệ thấp, 1–2 con trên tổng số 15 (Bảng 1). Mặt khác, thời gian hiệu ứng của cá trong các nghiệm thức cũng rất khác nhau. Nguyên nhân của hiện tượng trên là do cá Chép có thể rụng trứng tự phát trong điều kiện nuôi nhốt.

Khi liều sơ bộ bằng domperidon là 10mg/kg (Lô A) thì tất cả các liều quyết định bằng 17-20P từ 2 mg/kg trở lên đều cho tỷ lệ cá rụng trứng cao, từ 14–15 cá rụng trứng trên tổng số 15. Thông thường nếu không tiêm liều quyết định bằng 17-20P thì khi tiêm liều sơ bộ đơn độc không thể cho tỉ lệ rụng trứng cao như kết quả của thí nghiệm này.

Khi tiêm liều sơ bộ là domperidon 5 mg/kg thì các liều tiêm quyết định cao như 3-4 mg 17-20P/kg cá cái cho tỉ lệ rụng trứng cao từ 73,3–80%. Tuy nhiên, với những liều tiêm 17-20P thấp hơn thì tỉ lệ cá rụng trứng giảm.

Tương tự, khi tiêm liều sơ bộ là não thùy cá Chép 0,5 mg/kg kết hợp tiêm 17-20P liều thấp (3–4 mg/kg trở lên) trong liều tiêm quyết định cho kết quả tỉ lệ cá rụng trứng khá cao (86,7%). Tuy nhiên, có thể chất lượng não thùy cá Chép trong thí nghiệm này kém vì theo Jalabert *et al.*, (1977) thì khi dùng liều sơ bộ là não thùy cá Chép (0,6 mg/kg) trước liều quyết định bằng là 17-20P (2 mg/kg) ở nhiệt độ khá thấp (<15 °C) cá có tỷ lệ cá rụng trứng là 7/10 cá thể. Trong thí nghiệm này việc dùng 17-20P được sản xuất theo qui trình của Norymbersky & Wood (1955) được xem là đạt chất lượng và không có ảnh hưởng xấu đến kết quả.

**Bảng 1: Kết quả kích thích cá Chép sinh sản bằng 17-20P trong liều quyết định sau liều sơ bộ bằng domperidon hoặc não thùy cá Chép**

Nghiem thức	Tong khối lượng cá 17-20P mg/kg	Nhiệt độ nước	Thời gian hiệu ứng (h)	Ti lệ cá rụng trứng		Năng suất trứng (g/kg cá cái)	Ti lệ thụ tinh (%)	Ti lệ nở (%)		
				Ti lệ đẻ róc (%)	Ti lệ đẻ cục bộ (%)					
A1	6,49	4	27	2:00-6:40	93,3 <sup>a</sup> ± 6,44	6,67 <sup>b</sup> ± 6,44	193,1	88,8	93,8	
A2	4,06	3		2:00-5:32	93,3 <sup>a</sup> ± 6,44	6,67 <sup>b</sup> ± 6,44	93,6	81,1	89,3	
A3	5,06	2,5		2:00-5:30		100	0	107	77,3	83,2
A4	4,63	2		2:00-5:00	93,3 <sup>a</sup> ± 6,44	6,67 <sup>b</sup> ± 6,44	115	70,3	82,0	
A0	4,56	0		2:00-4:00	13,3 <sup>b</sup> ± 8,77	70 <sup>a</sup> ± 11,8	17,1	46,3	57,8	
B1	4,6	4	29,5	5:35-11:45	80 <sup>a</sup> ± 10,3	20 <sup>b</sup> ± 10,3	115	78,5	88,7	
B2	5,65	3		5:30-12:00	73,3 <sup>a</sup> ± 11,4	13,3 <sup>b</sup> ± 8,77	126	73,9	79,4	
B3	5	2,5		10:30-12:00	6,67 <sup>b</sup> ± 6,44	93,3 <sup>a</sup> ± 6,44	93,8	63,8	17,8	
B4	4,98	2		9:45-12:00		0 46,7 <sup>b</sup> ± 12,88	0	0	0	
B0	4,6	0		10:30-12:00		0 6,67 <sup>b</sup> ± 6,44	0	0	0	
C1	6,22	4	29,5	5:00-7:00	86,7 <sup>a</sup> ± 8,77	13,3 <sup>b</sup> ± 8,77	184	82	91	
C2	7,78	3		4:00-8:00	86,7 <sup>a</sup> ± 8,77	13,3 <sup>b</sup> ± 8,77	216	75,2	82,3	
C3	7,67	2,5		6:45-11:00	33,3 <sup>b</sup> ± 12,17	13,3 <sup>b</sup> ± 8,77	161	48,3	75,4	
C4	5,99	2		10:00-12:00	6,67 <sup>b</sup> ± 6,44	20 <sup>b</sup> ± 10,32	179	22,7	17,7	
C0	8,13	0		12:00	6,67 <sup>b</sup> ± 6,44		0	212	17,7	16,0

Ghi chú: mỗi nghiệm thức có 15 cá cái. Ở lô A cá được tiêm liều sơ bộ bằng domperidon 10mg/kg. Lô B tiêm liều sơ bộ là domperidon 5mg/kg. Lô C liều sơ bộ là não thùy cá Chép 0,5 mg/kg. Khoảng thời gian giữa liều sơ bộ và quyết định là 6 giờ. Những chữ cái ( a, b) chỉ sự giống hoặc khác nhau có ý nghĩa thống kê ở mức p<0,05.

Kết quả Bảng 2 cho thấy khi tiêm các hỗn hợp domperidon 10mg/kg + 17-20P (2; 2,5; 3; và 4 mg/kg cá – lô A’); domperidon (5mg/kg) + 17-20P (3 và 4 mg/kg cá – lô B’) và não cá Chép (0,5 mg/kg) + 17-20P (2,5; 3; 4 mg/kg – lô C’) đã cho tỉ lệ cá rụng trứng rất cao và đạt yêu cầu sản xuất ở tất cả các liều 17-20P là 3 và 4 mg/kg, đặc biệt khi dùng cùng với domperidon. Khi dùng liều domperidon là 10 mg/kg thì 17-20P ở liều 2,5 mg cũng có hiệu quả khá cao (77,3%, nghiệm thức A’3). Tuy nhiên, nếu so sánh tỷ lệ cá rụng trứng ở Bảng 1 và Bảng 2 khi dùng cùng chủng loại và cùng liều các hoạt chất (nghiệm thức A3, A4 với A’3, A’4 và C1, C2 với C’1, C’2) thì tiêm 2 lần gồm liều sơ bộ và liều quyết định, đặc biệt là khi 17-20P được dùng ở liều thấp (nghiệm thức A3 và A4) cho hiệu quả cao hơn so với trường hợp gộp tất cả các hoạt chất để tiêm chỉ một lần.

**Bảng 2: Kết quả kích thích cá Chép sinh sản bằng một liều tiêm duy nhất gồm 17-20P và domperidon hoặc não thùy cá Chép**

Nghiem thức	Tong lượng cá n kg	17-20P mg/kg	Nhiệt độ nước °C	Thời gian hiệu ứng (giờ)	Ti lệ cá rụng trứng (%)	Năng suất trứng (g/kg cá cái)	Ti lệ thụ tinh (%)	Ti lệ nở (%)	
A’1	45	14,80	4,0	26 - 30	6.30 -10.00	93,3± 3,72 <sup>a</sup>	139	88,1	93,5
A’2	45	12,35	3,0			86,7± 5,07 <sup>a</sup>	153	85,6	85,8
A’3	45	13,35	2,5			73,3± 6,59 <sup>ab</sup>	99,6	72,5	71,4
A’4	30	10,65	2,0			36,6± 8,43 <sup>b</sup>	55,9	60,7	55,9
B’1	45	13,50	4,0	27 - 29,5	6.50 - 9.45	91,1± 4,24 <sup>a</sup>	101	74,9	77,4
B’2	45	12,55	3,0			73,3± 6,59 <sup>ab</sup>	98,2	67,6	68,8
C’1	45	10,45	4,0	27 - 31	8.30 -11.30	77,8± 6,20 <sup>a</sup>	101,3	86,3	81,8
C’2	45	11,10	3,0			64,4± 7,14 <sup>ab</sup>	68,6	75,6	76,0
C’3	45	11,25	2,5			46,7± 7,44 <sup>b</sup>	65,7	51,6	50,3

Ghi chú : Mỗi nghiệm thức có n = 45 cá cái (trên thực tế là mỗi nghiệm thức được lặp lại 3 lần), riêng trường hợp nghiệm thức A’4 chỉ thực hiện được 2 lần x 15 cá cái. Những chữ cái (a,b) được sử dụng như trong B1.

Trong trường hợp chỉ tiêm một lần thì thời gian hiệu ứng dài hơn trường hợp tiêm 2 lần nhưng nhưng tổng thời gian kích thích sinh sản giảm, điều này giúp giảm thời gian nhốt giữ cá mà có thể gây stress ảnh hưởng đến sức khỏe.

## 4 KẾT LUẬN VÀ ĐỀ XUẤT

### 4.1 Kết luận

Có thể không dùng các hormon là protein hay peptid trong sinh sản cá Chép. Kích thích cá Chép sinh sản với liều sơ bộ là domperidon 5 hay 10 mg/kg cá và liều quyết định là 17-20P với nồng độ là 3 hay 4 mg/kg. Khi dùng domperidon ở liều sơ bộ là 10 mg/kg thì dùng 17-20P ở liều quyết định 2,5 mg/kg cá cái và có thể chỉ tiêm cho cá một lần với hỗn hợp của 2 hoạt chất này

### 4.2 Đề xuất

Domperidon là chất gây tiết kích dục tố nội sinh tự phát, tuyến yên cá sinh sản có thể bị ảnh hưởng và sự tái thành thực của chúng có thể kéo dài nhưng cần có những thí nghiệm theo dõi tiếp theo về vấn đề này.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- 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.
- Jalabert B, Breton B, Fostier A, 1978. Precocious induction of oocyte maturation and ovulation in rainbow trout (*Salmo gairdneri*): problems when using 17 $\alpha$ -hydroxy-20 $\beta$ -dihydroprogesterone *Ann. Biol. Biochim. Biophys.* 18: 977-984
- Jalabert B., B. Breton, E. Brzuska, A. Fostier, 1977. A new tool for induced spawning : The use of 17 $\alpha$ -hydroxy-20 $\beta$ -dihydroprogesterone to spawn carp at low temperature. *Aquaculture.* **10** : 353 – 364.
- Nguyễn Dương Dũng và Nguyễn Tường Anh (2003). Kích thích cá Chép sinh sản bằng 17 $\alpha$ -hydroxy-20 $\beta$ - dihydroprogesteron sau liều sơ bộ bằng LHRH-A. Tuyển tập báo cáo khoa học về nuôi trồng thủy sản tại Hội nghị Khoa học về nuôi trồng thủy sản *toàn quốc lần thứ 2: 24-25/11/2003*. Nhà xuất bản Nông nghiệp: 262-265.
- Nguyễn Tường Anh (1999). Một số vấn đề về nội tiết học sinh sản cá. Nhà xuất bản Nông nghiệp. 238tr.
- Nguyễn Tường Anh (2003). Sử dụng tổ hợp 17,20P; 17P với kích dục tố kích thích cá Trê vàng sinh sản chỉ trong một lần tiêm. *Tuyển tập Nghề cá Sông Cửu long.* 225-229
- Nguyễn Tường Anh, Nguyễn Thị Ngọc Duyên, Nguyễn Hà Thanh Phong (2005). Kích thích cá tra và cá hú đẻ: dùng 17 $\alpha$ , 20 $\beta$ -dihydroxy-4-pregnen- 3-one trong liều quyết định. Tạp chí Thủy sản.. 12/2005.
- Nguyễn Tường Anh, Phan Văn Kỳ (2004). Dùng 17 $\alpha$ , 20 $\beta$ -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.
- Nguyễn Tường Anh, Trần Chí Học và Trịnh Quốc Trọng (2000). Tác dụng của DOCA, 17-20P và LHRH-A trên cá Trê vàng: so sánh hiệu quả gây chín và rụng trứng và một số chỉ tiêu sinh sản khác. *Hội nghị Khoa học lần thứ 2, Trường ĐHKHTN Tp HCM. Báo cáo Khoa học Sinh học.* 108-113.
- Norymberski J K, and Woods G F, 1955. Partial reduction of steroid hormones and related substances. *J. Chem. Soc.* 3426-3430.

- 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 $\beta$ -dihydroxy-4-pregnen-3-one in the Japanese eel, *Anguilla japonica*. *Aquaculture* **139**: 291-301.
- Pederson B H, 2003. Induced sexual maturation of the European eel *Anguilla anguilla* and fertilisation of the eggs. *Aquaculture* 224:323-338
- Richter , C. J. J., Eding, E. H., and Roem, A. J., 1985. 17 $\alpha$ -hydroxy-20 $\beta$ -dihydroprogesterone – induced breeding of the African catfish, *Clarias lazera* (Burchell), without priming with gonadotropin. *Aquaculture* **44**: 285 – 293.