

ẢNH HƯỞNG CỦA TIA TỬ NGOẠI (UVA) LÊN SỰ SINH SẢN CỦA TÔM CÀNG NƯỚC NGỌT *MACROBRACHIUM NIPPONENSE* DE HAAN VÀ TÔM RẢO *METAPENAEUS ENSIS* DE HAAN

ĐOÀN VIỆT BÌNH, NGUYỄN THỊ VĨNH, NGUYỄN THỊ KIM DUNG

Viện Công nghệ sinh học

NGUYỄN VĂN QUYỀN

Viện nghiên cứu nuôi trồng Thủy sản I

Trong nghề nuôi tôm ở nước ta hiện nay, việc sản xuất tôm giống chủ yếu dựa vào việc đánh bắt tôm bố mẹ từ bờ biển. Số lượng tôm con thu được cơ bản phụ thuộc vào khả năng sinh sản của tôm bố mẹ. Trên thực tế, số lượng tôm bố mẹ đánh bắt được ngày càng trở nên khan hiếm, có nguy cơ bị khai thác cạn kiệt và chất lượng tôm cũng rất khác biệt. Vì vậy, yêu cầu đặt ra là phải nghiên cứu tìm ra được những biện pháp nâng cao khả năng sinh sản của tôm giống bố mẹ như: rút ngắn thời gian thành thực, nâng cao tỷ lệ đẻ, tỷ lệ nở, tỷ lệ sống.

Có rất nhiều công trình nghiên cứu công bố những phương pháp khác nhau cho phép có thể điều khiển sự thành thực sinh dục và đẻ trứng của tôm. Tuy nhiên, chưa có phương pháp nào tỏ ra là có ưu điểm nổi bật, có thể dễ dàng ứng dụng trong thực tế. Bởi vậy, cho đến nay, người ta vẫn sử dụng phương pháp cắt cuống mắt là phương pháp duy nhất để kích thích sự thành thực ở tôm cái. Phương pháp này có nhược điểm là ảnh hưởng đến hầu hết các khía cạnh sinh lý và khả năng sinh sản của tôm [1]. Vì vậy, các nhà khoa học vẫn đang nghiên cứu tìm tòi các phương pháp khác có thể thay thế phương pháp này.

Đã từ lâu, tia cực tím (tia UV) đã được biết là có nhiều tác động tích cực lên sức khỏe của các loài động vật. Chiếu tia UV cho động vật nuôi có tác dụng tăng cường sức đề kháng của

chúng, kích thích các quá trình trao đổi chất, tăng sản xuất hóc-môn, chống bệnh còi xương [4, 8]. Tùy theo các bước sóng khác nhau mà người ta phân biệt ra các loại tia UVA, UVB và UVC. Tia UVA là tia có bước sóng nằm trong khoảng 320-400 nm. Volz D. C. và cs. (2002) đã chứng minh rằng việc chiếu tia UVA có thể rút ngắn thời gian thành thực của tôm cỏ *Palaemonetes pugio*, trong điều kiện nuôi nhân tạo khép kín vòng đời mà không phải cắt cuống mắt của tôm [10].

Trong bài báo này, chúng tôi trình bày các kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của việc chiếu tia UVA lên sự sinh sản của tôm càng nước ngọt *Macrobrachium nipponense* de Haan trong điều kiện nuôi trong phòng thí nghiệm và tôm rảo *Metapenaeus ensis* de Haan nuôi ở trại tôm giống.

I. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Nguyên liệu

Tôm càng nước ngọt: thí nghiệm được tiến hành trên tổng số 44 cá thể tôm có trọng lượng từ 1,1-2,5 g, chiều dài từ 4-6 cm. Chỉ những tôm có biểu hiện hoàn toàn khỏe mạnh, buồng trứng đang ở giai đoạn phát triển từ 0 - I mới được đưa vào làm thí nghiệm.

Tôm rảo: tổng số 90 cá thể tôm có chiều dài trung bình 13-14 cm, trọng lượng 24 g được sử dụng làm thí nghiệm.

2. Phương pháp

Tôm càng được nuôi trong bể kính có dung tích 80 l nước, kích thước 55 cm × 55 cm × 28 cm, có máy sục khí liên tục 24/24 giờ. Mỗi bể nuôi 4 tôm cái + 1 đến 2 tôm đực. Tôm được cho ăn bằng tép riu; mỗi ngày ăn khoảng 2% trọng lượng cơ thể. Bể kính nuôi tôm được chiếu sáng bằng đèn nông thông thường trong phòng thí nghiệm và ánh sáng qua cửa sổ. Riêng lô thí nghiệm được chiếu tia UVA bằng đèn LT 18W/073 của hãng Narva (CHLB Đức) có liều chiếu là 0,5 w/m², thời gian chiếu từ 1-6 giờ/ngày tùy theo lô thí nghiệm. Nước trong bể nuôi được thay liên tục mỗi ngày từ 1/3-1/2 tổng lượng nước, tùy theo yêu cầu. Trong suốt quá trình thí nghiệm, nước trong bể nuôi tôm được thường xuyên kiểm tra và duy trì ổn định như sau: pH (7-7,5), nồng độ oxy hòa tan (3-5 mg/l), độ kiềm (80 mg/l); nồng độ NH₄⁺ (1 mg/l), NO₂⁻ (0,1 mg/l) và NH₃ (0,1 mg/l).

Tôm rảo: 90 cá thể tôm cái được chia thành 3 lô thí nghiệm và nuôi trong bể xi măng có dung tích 3 m³. Tôm của hai lô 1 và 2 không bị cát mất và được chiếu tia UVA với cùng loại đèn dùng chiếu cho tôm càng. Tôm của lô 1 được chiếu 3 giờ/ngày, chia làm 3 lần trong ngày. Tôm của lô 2 được chiếu 2 giờ/ngày, chia làm 2 lần. Tôm của lô 3 bị cát cứng mất và không được chiếu tia UVA. Nước trong bể nuôi tôm cũng được thường xuyên kiểm tra và duy trì ổn định các chỉ số về pH, nồng độ oxy hòa tan, độ kiềm; nồng độ NH₄⁺, NO₂⁻ và NH₃ như nuôi tôm càng.

Đo nồng độ oxy hòa tan trong nước bằng

máy DOT-0204 do Viện Khoa học Vật liệu (Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam) sản xuất.

Đo pH của bể nước bằng giấy đo pH neutralit của hãng Merck.

Kiểm tra độ kiềm; nồng độ NH₄⁺, NO₂⁻, NH₃ bằng EVT-Kit của Trung tâm Môi trường thuộc Viện Địa chất.

Buồng trứng của tôm được lấy ra và cố định trong dung dịch phóc môn trung tính; được đúc paraffin, cắt lát và nhuộm tiêu bản bằng hematoxylin - eosin của hãng Thermo Shandon (USA) để nghiên cứu về cấu trúc.

Mẫu siêu cấu trúc của buồng trứng của tôm được chế tạo theo phương pháp của Nguyễn Tài Lương và cs. [7], được nghiên cứu trên kính hiển vi điện tử JEM 1010.

Hàm lượng progesteron và estradiol trong buồng trứng của tôm được xác định theo phương pháp miễn dịch enzym (ELISA).

Phân loại các giai đoạn phát triển của buồng trứng của tôm theo phương pháp của Ayub và cs. [2].

II. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

1. Ảnh hưởng của các thời gian chiếu tia UVA khác nhau đến sự sinh sản của tôm càng nước ngọt

Tôm thí nghiệm được chiếu tia UVA với các thời gian chiếu khác nhau, từ 1 đến 6 giờ/ngày. Kết quả thí nghiệm được trình bày ở bảng 1.

Bảng 1

Tỷ lệ tôm càng đẻ trứng và đẻ con sau khi được chiếu tia UVA liên tục trong 30 ngày với các thời gian khác nhau

| STT | Thời gian chiếu UVA (giờ/ngày) | n | Số tôm đẻ trứng | | | | Số tôm đẻ con | | | |
|-----|--------------------------------|----|-----------------|----|------------|------|---------------|------|------------|------|
| | | | Đối chứng | | Thí nghiệm | | Đối chứng | | Thí nghiệm | |
| | | | n | % | n | % | n | % | n | % |
| 1 | 1 | 8 | 2 | 25 | 2 | 25 | 1 | 12,5 | 1 | 12,5 |
| 2 | 2 | 8 | 2 | 25 | 5 | 62,5 | 2 | 25 | 5 | 62,5 |
| 3 | 6 | 10 | 3 | 30 | 8 | 80 | 2 | 20 | 6 | 60 |

Ghi chú: n. là số cá thể tôm.

Bảng 1 cho thấy, với thời gian chiếu tia UVA thấp nhất là 1 giờ trong 1 ngày, liên tục trong 30 ngày, thì không có sự khác biệt giữa lô

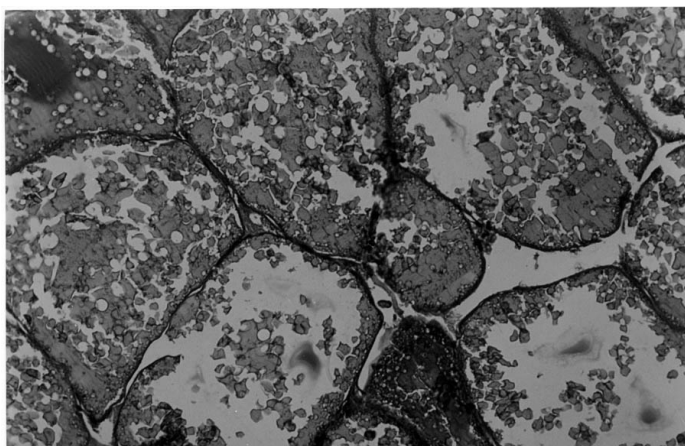
đối chứng và hai lô thí nghiệm. Điều đó chứng tỏ, với thời gian chiếu này, tia UVA hầu như chưa có tác động đến sự sinh sản của tôm. Tuy

nhiên, khi được chiếu với thời gian nhiều hơn là 2 và 6 giờ/ngày, tỷ lệ tôm đẻ trứng và ấp nở thành ấu trùng của lô thí nghiệm cao hơn hẳn lô đối chứng. Tôm được chiếu 6 giờ/ngày có tỷ lệ đẻ trứng cao nhất (80%), nhưng tôm được chiếu 2 giờ/ngày lại có tỷ lệ ấp nở thành ấu trùng (tỷ lệ đẻ tôm con) cao nhất (62,5%), trong khi tỷ lệ đẻ trứng của các lô đối chứng chỉ đạt từ 25-30%. Điều đó chứng tỏ thời gian chiếu tia UVA 2 giờ/ngày đem lại tác động tối ưu nhất lên sự sinh sản của tôm.

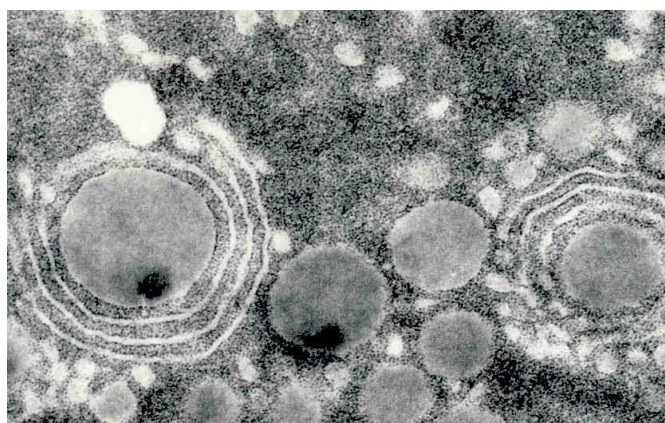
2. Cấu trúc của buồng trứng của tôm càng

Kết quả nghiên cứu cấu trúc của buồng

trứng của tôm càng cho thấy buồng trứng của tôm càng phát triển qua 4 giai đoạn chính: giai đoạn chưa phát triển, giai đoạn đang phát triển, giai đoạn trứng gần chín và giai đoạn trứng chín chuẩn bị đẻ. Về mặt hình thái, không có sự khác biệt đáng kể nào giữa tế bào trứng của tôm càng được chiếu và tôm càng không được chiếu tia UVA. Ở giai đoạn trứng gần chín, tế bào trứng của tôm càng được chiếu tia UVA có đường kính là 346,5 μm , lớn hơn một chút so với trứng của tôm càng đối chứng (334,2 μm); ở giai đoạn này, trong tế bào trứng có rất nhiều các hạt nhân hình tròn, bắt màu hồng eosin và phân bố đều trong nguyên sinh chất (hình 1).



Hình 1. Tế bào trứng của tôm càng được chiếu tia UVA ở giai đoạn gần chín (độ phóng đại 100 lần)



Hình 2. Siêu cấu trúc của tế bào trứng của tôm càng được chiếu tia UVA ở giai đoạn gần chín (độ phóng đại 20.000 lần)

3. Siêu cấu trúc của buồng trứng của tôm càng

Kết quả nghiên cứu siêu cấu trúc của buồng trứng của tôm càng cho thấy: ở giai đoạn trứng

gần chín, trong tế bào trứng của tôm càng được chiếu tia UVA có sự phát triển mạnh mẽ của hệ lưới nội bào có hạt. Trên bề mặt của chúng, có rất nhiều hạt ribôôm. Hệ lưới nội bào có hạt

phát triển cùng nhiều hạt ribôôm chính là hình ảnh cấu trúc của một tế bào mà trong đó đang có sự tăng sinh tổng hợp protein [5]. Một điều rất lý thú là ở một số mẫu của buồng trứng của tôm càng được chiếu tia UVA, chúng tôi quan sát thấy rõ ràng hệ lưới nội bào có hạt được tập trung thành nhiều lớp bao quanh các hạt noãn hoàng (hình 2). Hình ảnh này chúng tôi không quan sát thấy ở buồng trứng của tôm càng không được chiếu tia UVA. Như vậy, rõ ràng có sự khác biệt trong sự tổng hợp protein ở buồng trứng của tôm càng được chiếu tia và không được chiếu tia UVA ở giai đoạn trứng gần chín. Kết quả quan sát này cũng phù hợp với kết quả thu được khi phân tích hàm lượng các hóc-môn

estradiol và progesteron ở buồng trứng của tôm càng được trình bày ở phần dưới đây.

4. Hàm lượng estradiol và progesteron trong buồng trứng của tôm càng

Theo kết quả của nhiều công trình nghiên cứu đã được công bố [6, 9], các hóc-môn steroid có vai trò rất quan trọng đối với sự phát triển của buồng trứng của tôm càng. Estradiol và progesteron có tác dụng thúc đẩy quá trình tạo noãn hoàng của trứng tôm càng. Để đi sâu tìm hiểu cơ chế tác động của việc chiếu tia UVA lên sự sinh sản của tôm càng, chúng tôi đã tiến hành phân tích hàm lượng các hóc-môn trên trong buồng trứng của tôm càng ở các giai đoạn phát triển khác nhau. Kết quả được trình bày ở bảng 2.

Bảng 2

Hàm lượng estradiol và progesteron trong buồng trứng của tôm càng ở các giai đoạn phát triển khác nhau

| STT | Giai đoạn phát triển của buồng trứng của tôm càng | Estradiol (pg/g) | | Progesteron (ng/g) | |
|-----|---|------------------|------------|--------------------|------------|
| | | Đối chứng | Thí nghiệm | Đối chứng | Thí nghiệm |
| 1 | Chưa phát triển | - | - | - | - |
| 2 | Đang phát triển | 120 | 137,75 | 0,92 | 1,58 |
| 3 | Trứng gần chín | 738,5 | 2161 | 3,9 | 4,6 |
| 4 | Sắp đẻ | 244 | 250 | 0,5 | 0,8 |

Kết quả ở bảng 2 cho thấy buồng trứng của tôm càng ở giai đoạn chưa phát triển có hàm lượng estradiol và progesteron nằm dưới ngưỡng phát hiện. Hàm lượng estradiol và progesteron bắt đầu tăng ở giai đoạn buồng trứng đang phát triển và đạt giá trị cao nhất ở giai đoạn trứng gần chín. Sau giai đoạn này, quá trình tạo noãn hoàng gần như đã hoàn tất và vì thế hàm lượng các hóc-môn trên lại giảm xuống. Kết quả cũng cho thấy, hàm lượng các hóc-môn trong buồng

trứng của tôm càng ở lô được chiếu tia UVA cao hơn của lô đối chứng. Đặc biệt, hàm lượng estradiol của lô thí nghiệm ở giai đoạn trứng gần chín (2161 pg/g) cao hơn gấp 2,9 lần so với lô đối chứng (738,5 pg/g). Điều đó chứng tỏ việc chiếu tia UVA đã có tác động tích cực đến quá trình tạo thành các hóc-môn trên ở tôm càng.

5. Ảnh hưởng của các thời gian chiếu tia UVA khác nhau đến sự sinh sản của tôm rảo

Bảng 3

Sự phát triển của buồng trứng của tôm rảo trong các lô thí nghiệm sau 20 ngày chiếu tia UVA

| Lô thí nghiệm | 1 | 2 | 3 |
|---|------|------|-----|
| Buồng trứng giai đoạn I | 9 | 7 | 1 |
| Buồng trứng giai đoạn II | 3 | 3 | 1 |
| Buồng trứng giai đoạn III | 2 | 1 | |
| Buồng trứng giai đoạn IV | 2 | 2 | |
| Số tôm cái đẻ | 1 | 2 | |
| Tổng số tôm có buồng trứng phát triển | 17 | 15 | 2 |
| Số tôm còn sống sau 20 ngày | 22 | 24 | 24 |
| Tỷ lệ tôm có buồng trứng phát triển so với số cá thể trong lô (%) | 77,2 | 62,5 | 8,3 |

Bảng 3 cho thấy rõ sự khác biệt trong quá trình phát triển của buồng trứng của tôm rảo ở lô được chiếu tia UVA và lô không được chiếu. Sau 20 ngày chiếu tia UVA, đã có 77,2% số tôm rảo ở lô 1 và 62,5% số tôm rảo ở lô 2 có buồng trứng phát triển ở các giai đoạn khác nhau. Lô 1 có 16 tôm rảo có buồng trứng phát triển từ giai đoạn I-IV và có 1 tôm rảo đã đẻ. Lô 2 có 13 tôm rảo có buồng trứng phát triển và 2 tôm rảo đã đẻ. Trong khi đó, ở lô đối chứng (lô 3) không được chiếu tia UVA thì chỉ có 2 tôm rảo có buồng trứng phát triển ở giai đoạn I và II. Tuy nhiên, lô 2 và lô 3 có số tôm rảo sống sót sau 20 ngày là 24 con, nhiều hơn số tôm rảo sống sót ở lô 1 (22 con). Trong quá trình thí nghiệm, cũng quan sát thấy tôm rảo ở lô 1 có các biểu hiện vô mề, bị rộp lên, nhàn nheo, không cứng và nhẵn như tôm rảo ở các lô 2 và lô 3. Do đó, có thể nhận xét rằng thời gian chiếu tia UVA như ở lô 2 (2 giờ/ngày, chia làm 2 lần chiếu) đã cho kết quả kích thích sự sinh sản của tôm rảo tối ưu nhất. Việc nghiên cứu tìm ra thời gian chiếu có tác dụng tối ưu nhất có vai trò rất quan trọng trong việc đánh giá khả năng ứng dụng vào thực tiễn của việc chiếu tia UVA. Bởi vì, với thời gian chiếu quá cao và trong thời gian dài, tia UVA có khả năng gây đột biến và thậm chí gây chết phôi (3).

Như vậy, kết quả thí nghiệm thu được trên tôm rảo cũng giống như kết quả trên tôm càng nước ngọt cho thấy rõ thời gian chiếu tia UVA có vai trò quan trọng trong việc sử dụng chiếu tia để tăng cường khả năng sinh sản của tôm. Kết quả thu được này có ý nghĩa rất quan trọng trong những nghiên cứu tiếp theo, tiếp tục thử nghiệm việc chiếu tia UVA lên các giống tôm có giá trị kinh tế khác, để tăng cường khả năng sinh sản của tôm mà không phải sử dụng phương pháp cắt cụt mắt của tôm.

III. KẾT LUẬN

Kết quả thí nghiệm chiếu tia UVA với các thời gian chiếu khác nhau trên tôm càng nước ngọt và tôm rảo cho thấy:

1. Tia UVA với thời gian chiếu thích hợp đã có tác dụng tốt đến khả năng sinh sản của tôm. Thời gian chiếu tối ưu nhất ở cả hai loài tôm là 2 giờ/ngày.

2. Tôm càng nước ngọt được chiếu tia UVA trong 2 giờ/ngày, có tỷ lệ đẻ trứng 62,5%, tỷ lệ đẻ con 62,5%, trong khi tôm càng ở lô không được chiếu tia có tỷ lệ đẻ trứng và đẻ con chỉ là 25%.

3. Tôm rảo được chiếu tia UVA trong 2 giờ/ngày, có tỷ lệ buồng trứng phát triển 54,2%, tỷ lệ đẻ 8,3% cao hơn so với lô đối chứng không được chiếu tia, có tỷ lệ buồng trứng phát triển là 8,3% và tỷ lệ đẻ là 0%.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Nguyễn Tường Anh**, 2003: Vấn đề khép kín vòng đời tôm sú trong điều kiện nhân tạo: khía cạnh môi trường và nội tiết học: 89-100. Tuyển tập báo cáo khoa học về nuôi trồng thủy sản tại Hội nghị Khoa học toàn quốc lần thứ 2. Nxb. Nông nghiệp, Hà Nội.
2. **Ayub Z., Ahmed M.**, 2002: Aquaculture Research, 33: 767-776.
3. **Bass E. L. et al.**, 1997: Bull. Environ. Contam. Toxicol., 59: 537-542.
4. **Brainard G. C. et al.**, 2001: The Journal of experimental Biology, 204: 2535-2541.
5. **Nguyễn Xuân Hoạt, Phạm Đức Lộ**, 1980: Tổ chức học, Phôi thai học: 62-69. Nxb. Đại học và Trung học chuyên nghiệp, Hà Nội.
6. **Kulkarni G. K. et al.**, 1979: Ind. J. Exp. Biol., 17: 986-987.
7. **N. T. Luong et al.**, 2004: Ultrastructure of brain and liver of rats fed with Rabiton and Hasaton capsules, Proceedings of the 4th Asean Microscopy conference and the 3rd Vietnam Conference on Electron Microscopy: 90-94. Hanoi-Vietnam.
8. **Mehlhorn G.**, 1974: Kuenstliche UV-Strahlung in der Tierproduktion: 51-69. VEB Gustav Fischer Verlag Jena.
9. **Rodriguez E. M. et al.**, 2001: J. Exp. Zool., 292: 82-87.
10. **D. C. Volz. et al.**, 2002: Comparative Biochemistry and Physiology, Part C133: 419-434.

**EFFECTS OF THE UV-A IRRADIATION ON THE FRESHWATER PRAWN
(*MACROBRACHIUM NIPPONENSE* DE HAAN) AND THE GREASY BACK
SHRIMP (*METAPENAEUS ENSIS* DE HAAN) REPRODUCTIONS**

**DOAN VIET BINH, NGUYEN THI VINH,
NGUYEN THI KIM DUNG, NGUYEN VAN QUYEN**

SUMMARY

This article describes our research on effects of the UVA irradiation on prawn reproduction in order to find a method to stimulate the ovarian maturation and enhance the reproductive output of the prawn.

In this study, the freshwater prawns *Macrobrachium nipponense* de Haan, were irradiated with UV-A light in 1 h, 2 h or 6 h/day continuously for 30 days. The greasy back shrimps *Metapenaeus ensis* de Haan, were irradiated also with UVA light in 2 or 3 h/day continuously for 20 days. The results indicated that the UVA irradiation had a pronounced effect on the prawn reproduction. The freshwater prawns exposed to UVA light in 2 h per day have increased the gravid percent, the clutch size, the hatching success and the estradiol and progesterone concentrations in their ovary. The irradiated greasy back shrimps with the same dose (2 h/day) have also increased the gravid percent and the hatching success in comparison with the not irradiated shrimps. These results should be further investigated to determine the ability of the UVA-irradiation application in the shrimp culture.

Ngày nhận bài: 20-3-2006