

ẢNH HƯỞNG CỦA PMSG VÀ HCG LÊN SỰ THAY ĐỔI ESTRADIOL VÀ PROGESTERONE CỦA CÂY VÒI HƯƠNG (*PARADOXURUS HERMAPHRODITUS*)

Nguyễn Thị Thu Hiền^{1,✉}, Nguyễn Thị Phương Thảo^{2,3}, Võ Lê Ngọc Trâm⁵, Nguyễn Thanh Bình⁴

¹Trường Đại học Thủ Dầu Một

²Viện Sinh học nhiệt đới, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

³Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

⁴Trường Đại học Y khoa Phạm Ngọc Thạch

⁵Trường THCS Xuân Diệu, thành phố Mỹ Tho, tỉnh Tiền Giang

✉Người chịu trách nhiệm liên lạc. E-mail: hienntt@tdmu.edu.vn

Ngày nhận bài: 30.9.2019

Ngày nhận đăng: 10.4.2020

TÓM TẮT

Cây Vòi hương (*Paradoxurus hermaphroditus*) thuộc họ Cây (Viverridae), bộ ăn thịt (Carnivora). Loài động vật này phân bố rộng rãi ở Nam và Đông Nam Á; hiện được nuôi khá phổ biến ở Việt Nam. Sự chậm lên giống lần đầu và chậm động dục lại làm giảm hiệu quả kinh tế trong chăn nuôi Cây Vòi hương. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm đánh giá hiệu quả các liều khác nhau của PMSG và HCG lên sự thay đổi hormone sinh dục (Estradiol-E2, Progesterone-P4), làm cơ sở cho việc sử dụng kích dục tố trong hỗ trợ sinh sản trên cây vòi hương. Tổng cộng có 54 Cây Vòi hương cái được sử dụng trong thí nghiệm này. PMSG/HCG (Gestavet-Vương quốc Anh) được tiêm bắp theo 3 công thức (CT): CT1: 20 IU PMSG + 10 IU HCG; CT2: 30 IU PMSG + 15 IU HCG và CT3: 40 IU PMSG + 20 IU HCG. Kết quả cho thấy, hàm lượng E2 trong phân của cây ở các nghiệm thức bắt đầu tăng lên ở ngày thứ 1 sau khi tiêm, tăng đạt đỉnh vào ngày thứ 2. Hàm lượng P4 ở các nhóm cây thí nghiệm bắt đầu tăng vào ngày thứ 1 và đạt đỉnh vào ngày thứ 3 hoặc thứ 4. Hàm lượng E2 và P4 trong phân của nhóm cây được tiêm ở CT3 cao hơn đáng kể so với CT1 và CT2 ($P < 0,05$). Kết quả này cung cấp giá trị tham khảo đáng tin cậy cho các nghiên cứu tiếp theo về sử dụng kích dục tố trên Cây Vòi hương để vừa khai thác, vừa bảo tồn loài động vật quý này.

Từ khóa: cây vòi hương, động dục, HCG, hormone, PMSG, sinh sản.

MỞ ĐẦU

Cây Vòi hương được xếp vào nhóm LC (Least Concern) trong Sách đỏ của Liên minh Quốc tế Bảo tồn Thiên nhiên và Tài nguyên thiên nhiên (IUCN); là loài thú thuộc nhóm IIB trong Nghị định 06/2019/NĐ-CP về quản lý động thực vật rừng quý, hiếm, nguy cấp; được ưu tiên bảo vệ và thực thi công ước về buôn bán quốc tế động, thực vật hoang dã nguy cấp. Việc săn bắt và sử dụng Cây Vòi hương với nhiều mục đích khác nhau cùng với sinh cảnh bị mất hoặc phân mảnh đang làm cạn kiệt loài này

trong tự nhiên. Để bảo tồn bền vững nguồn gen quý hiếm này, việc nghiên cứu sinh lí sinh sản làm cơ sở khoa học cho quá trình thuần hoá, hoàn thiện quy trình nhân nuôi hiệu quả, góp phần bảo tồn bền vững loài là rất cần thiết.

Trên thế giới, các hormone sinh dục có bản chất là steroid để thúc đẩy sớm chu kỳ sinh dục của thú cái và tăng số lượng trứng rụng trong mỗi chu kỳ đã được sử dụng khá phổ biến. Pregnant Mare's Serum Gonadotropin (PMSG) là một trong nhiều loại hormone được sử dụng để kích thích sự phát triển và trưởng thành của

nang noãn. Nó được sử dụng nhiều trên cừu cái, dê, bò và lợn cái (Murphy, 2012). Human chorionic gonadotropin (HCG) là một nội tiết tố glycoprotein, có vai trò ngăn chặn sự tiêu hủy thể vàng (corpus luteum) của buồng trứng và do đó duy trì tiết progesterone, quan trọng đối với bào thai (Laurence, 2010). Trên thế giới, sự kết hợp PMSG và HCG với liều lượng hợp lý đã gây bài noãn, kích thích sinh sản hiệu quả trên vật nuôi. Ở Việt Nam, có các công trình nghiên cứu ảnh hưởng của hormone đến sức sinh sản thú cái như ảnh hưởng của hormone đến quá trình thu nhận phôi trên heo (Katayama *et al.*, 2002), nghiên cứu ảnh hưởng của hormone sinh dục đến khả năng sinh sản của bò (Nguyen Van Thanh, Nguyen Thanh Binh, 2010; Nguyễn Ngọc Tấn, Bùi Ngọc Hùng, 2017). Nguyễn Thanh Bình (2015) đã đánh giá ảnh hưởng của HCG và PMSG đến kết quả sinh sản của Cây Vòi hương (*Paradoxurus hermaproditus*). Mặt khác, đánh giá chính xác tình trạng nội tiết là một trong những yếu tố quan trọng để tăng hiệu quả các chương trình hỗ trợ sinh sản. Phân tích hormone steroid của tuyến sinh dục là một điểm quan trọng đánh giá tình trạng sinh lí sinh sản của vật nuôi. Kích dục tố trong huyết thanh là sự phản ánh chính xác của hoạt động sinh dục, tuy nhiên các kỹ thuật để thu thập thông tin này qua huyết thanh có thể ảnh hưởng đến quyền lợi và sinh lý động vật (animal welfare) và khá tốn kém. Việc xác định sự thay đổi hàm lượng estradiol (E2) và progesterone (P4) trong phân cho phép đánh giá trạng thái buồng trứng của Cây Vòi hương bằng phương pháp không xâm lấn khá hiệu quả (Nguyễn Thị Thu Hiền *et al.*, 2018). Do vậy, kiểm tra ảnh hưởng của kích dục tố lên trạng thái buồng trứng gián tiếp qua P4 và E2 trong phân là giải pháp hữu ích để làm chỉ thị cho sự phát triển nang trứng sau khi dùng kích dục tố. Trong nghiên cứu này, chúng tôi đánh giá ảnh hưởng của 3 liều tiêm PMSG và HCG lên động thái hormone E2 và P4, phân tích này là chỉ báo cho việc cây có rụng trứng hay không và tác động của việc điều trị lên động thái nội tiết sinh sản của buồng trứng trong từng nhóm cây thí nghiệm. Kết quả nghiên cứu làm cơ sở cho việc sử dụng kích dục tố nhằm nâng cao thành tích sinh sản của loài

động vật quý hiếm này trong điều kiện nuôi nhốt.

NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Động vật và nguyên liệu nghiên cứu

Chuồng trại

Cây Vòi hương được nuôi tại trang trại của Trung tâm Ứng dụng Công nghệ sinh học Đồng Nai, xã Xuân Đường, huyện Cẩm Mỹ, tỉnh Đồng Nai. Trại được bao quanh bằng tường bao chắc chắn cao 2,5 m nhằm đảm bảo an toàn, tránh được gió lùa trực tiếp, hạn chế ánh sáng; nền tráng xi măng với độ dốc giúp thoát nước tiểu và nước trong quá trình dọn vệ sinh. Mỗi ô chuồng có kích thước 1 x 1 x 1,2 m. Chuồng trại được rửa sạch bằng vòi nước hằng ngày. Công tác vệ sinh sát trùng được tiến hành mỗi tháng một lần. Dung dịch sát trùng được sử dụng là BESTAQUAM-S^R.

Thức ăn và nước uống

Thức ăn cơ bản cho cây vòi hương: Bữa chính: Cháo được nấu với các thành phần khác nhau như cá, nội tạng, đầu gà. Bữa phụ: trái cây các loại, chủ yếu là chuối, đu đủ, dưa hấu. Cây được cho ăn 2 bữa/ ngày đêm, gồm 1 bữa chính (khoảng 18 h chiều) và 1 bữa phụ (khoảng 11 h – 12 h trưa). Khẩu phần hàng ngày cho mỗi cá thể cây có khối lượng 3 kg là: năng lượng trao đổi (ME): 450 Kcal, protein thô (CP): 18 gr, Lipid: 3 gr, chất khô (DM) 105 gr. Nước uống được đặt trong chuồng để cây tự uống. Chén nước được vệ sinh hằng ngày và thay nước 1 lần/ngày.

Động vật:

Tổng số 54 Cây Vòi hương cái trưởng thành (có khối lượng tương đương từ 3-4 kg), sau khi khảo sát được phân thành 3 nhóm:

- Nhóm 1: Cây tơ chậm lên giống lần đầu (sau 24 tháng tuổi chưa thấy biểu hiện động dục); n=14.
- Nhóm 2: Cây cái chậm động dục lại (sau khi sinh 12 tháng chưa thấy biểu hiện động dục lại); n=15.

- Nhóm 3: Cây sinh sản hiệu quả thấp (1 lứa/năm; số con trên lứa ít, từ 1-2 con/lứa); n=25.

Loại hormone sinh sản sử dụng

Chế phẩm Gestavet PMSG/HCG (HIPRA LTD., Vương quốc Anh). Mỗi lọ chứa 400 IU PMSG /200 IU HCG khô lạnh và 1 lọ chứa 5 ml dung môi cho dung dịch tiêm.

Phương pháp

Các công thức tiêm hormone

Lô đối chứng (ĐC): Không tiêm

Lô thí nghiệm 1 (CT1): 20 IU PMSG + 10 IU HCG

Lô thí nghiệm 2 (CT2): 30 IU PMSG + 15 IU HCG

Lô thí nghiệm 3 (CT3): 40 IU PMSG + 20 IU HCG

Quy trình tiêm

Các con cái được tiêm bắp (IM) vào lúc 8 giờ sáng, không tính đến chu kỳ động dục. Việc sử dụng kích dục tố và ghép đôi thực hiện vào khoảng tháng 2 đến tháng 4, phù hợp với mùa sinh sản của cây trong tự nhiên.

Bố trí thí nghiệm

Cây Vòi hương được bố trí vào các công thức thí nghiệm theo phương pháp bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên. Mỗi cá thể cây được ở trong một ô chuồng riêng.

Bảng 1. Sơ đồ bố trí thí nghiệm tiêm kích dục tố.

Lô thí nghiệm	thí	ĐC	CT1	CT2	CT3
Nhóm (n=14)	1	3	4	4	3
Nhóm (n=15)	2	3	4	4	4
Nhóm (n=25)	3	3	7	7	8

Chỉ tiêu khảo sát

Để điều tra sự khác biệt trong nồng độ nội

tiết giữa các nhóm Cây Vòi hương đã điều trị bằng các công thức tiêm khác nhau và không điều trị, phân tích nồng độ hormone E2 và P4 đã được lặp lại từ ngày -2 (trước khi tiêm kích dục tố 2 ngày) đến ngày 8 sau điều trị.

Phương pháp xác định sự thay đổi hormone

Phương pháp thu mẫu và chiết xuất phân: Các mẫu phân (của từng cá thể) được thu thập vào khoảng 18:00 - 20:00 giờ, từ ngày -2 đến ngày 8 sau điều trị. Mẫu phân tươi (5 g) được thu thập trong túi nhựa (kích thước 200 x 140 x 0.04 mm; Uni Pack Mark Series-G, Seisan Nippon Co., Tokyo, Japan) và được bảo quản ở -20°C cho đến khi phân tích. Sau khi rã đông, 0,2 g đã được cân và đặt vào bình thủy tinh chứa 2 ml methanol 90%. Sau khi lắc 30 phút (trên máy lắc HS 260 -IKA, Đức), mẫu được ly tâm ở 1.700 vòng trong 20 phút (trên máy EAB 20, Đức). Sau khi ly tâm, khoảng 1 ml dung dịch được chiết vào ống Eppendorf 1,5 ml và đông lạnh ở -20°C cho đến khi sử dụng. Phần còn lại được cho vào lọ thủy tinh và sấy khô để xác định trọng lượng khô của phân (Frederick *et al.*, 2010).

Xét nghiệm hormone: Lượng P4 và E2 trong phân đã được xác định với hệ thống xử lý ELISA Dynex DS2 hoàn toàn tự động (Dynex, USA). Bộ KIT ELISA Estradiol và Progesterone (DRG International, Inc., Đức).

Phân tích số liệu

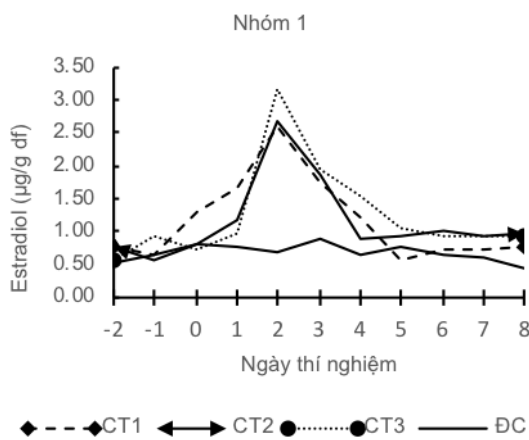
Tất cả các mức độ hormone được biểu thị bằng microgam trên gam phân khô ($\mu\text{g/g}$ df). Hàm lượng E2 và P4 cực đại (đỉnh-peak) được xác định là những giá trị lớn hơn trung bình của tất cả các giá trị còn lại từ mỗi cá thể Cây Vòi hương (Putranto, 2011). Các tham số thống kê được xử lý bằng phần mềm MS-Excel 2013.

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

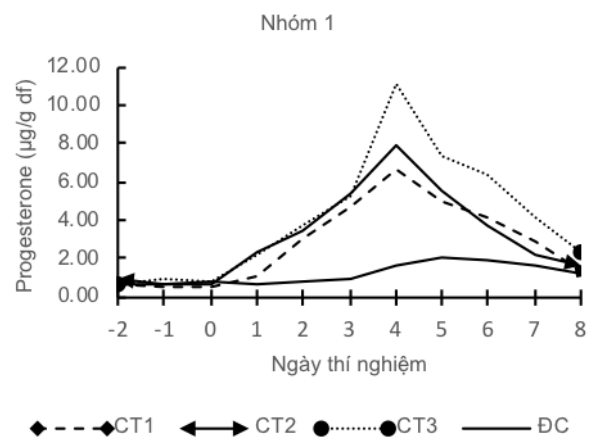
Sự thay đổi E2 và P4 của nhóm 1 (cây chậm lên giống lần đầu) được thể hiện ở hình 1 và 2. Hình 1 cho thấy, hàm lượng E2 trong phân của cây ở các nghiệm thức bắt đầu tăng lên ở ngày thứ 1 sau khi tiêm, tăng đạt đỉnh vào ngày

thứ 2 và sau đó giảm dần từ ngày thứ 3. Thời gian chậm trễ (lag time) giữa E2 trong phân và trong huyết thanh ở các loài thuộc bộ ăn thịt (Carnivora) trung bình từ 5–12 giờ (Putranto, 2011). Như vậy, sự thay đổi hàm lượng E2 trong máu đã tăng lên trước đó, chứng tỏ có sự ảnh hưởng của PMSG và HCG đến hormone sinh dục của Cây Vòi hương. Hàm lượng E2 trung bình ngày thứ 2 khi đạt đỉnh ở công thức 1 là 2,59 $\mu\text{g/g}$ df, công thức 2 là 2,69 $\mu\text{g/g}$ df và

công thức 3 là 3,16 $\mu\text{g/g}$ df; trong đó cao nhất là ở công thức 3. Như vậy, khi liều điều trị cao hơn (30IU PMSG) làm tăng lượng hormone sinh dục ở nhóm cây được điều trị ($P < 0,05$). Trong khi đó ở lô đối chứng, hàm lượng E2 trong phân có thay đổi qua các ngày, tuy nhiên sự thay đổi này không đáng kể ($P > 0,05$). Đến ngày thứ 8, hàm lượng hormone trong phân ở tất cả các nghiệm thức giảm, đạt gần với giá trị trước khi tiêm kích dục tố (ngày -2 và ngày -1).



Hình 1. Sự thay đổi hàm lượng Estradiol ở Cây Vòi hương Nhóm 1 sau khi tiêm kích dục tố

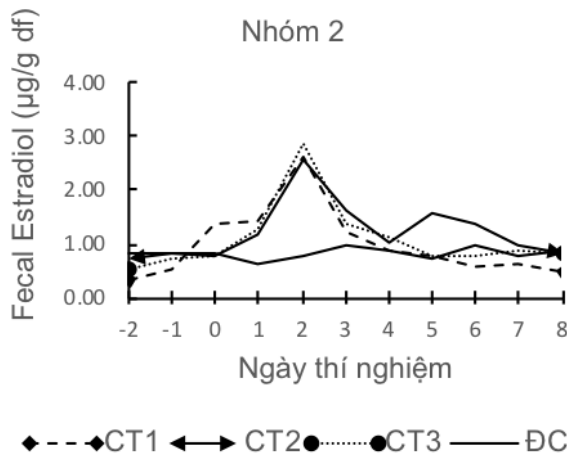


Hình 2. Sự thay đổi hàm lượng Progesterone ở Cây Vòi hương Nhóm 1 sau khi tiêm kích dục tố

Hình 1 cũng cho thấy, ở những con cây được tiêm kích dục tố, sự gia tăng E2 đã được phát hiện từ ngày 1 đến 2, và có xu hướng giảm nhanh từ ngày 3 đến ngày 5, sau ngày 5 hàm lượng E2 tiếp tục giảm chậm. Theo Cavalieri và đồng tác giả (2003), ở bò, khi kích thích trực tiếp tuyến yên bằng GnRH và điều trị bằng eCG, nồng độ E2 từ ngày 0 đến 10 sau điều trị có sự thay đổi. Nồng độ E2 tăng đáng kể giữa ngày 0 và 4, giữa các ngày 4 và 10 nồng độ E2 ít hơn ở những con bò không rụng trứng so với những con bò đã rụng trứng.

Tương tự ở nhóm 1, sự thay đổi E2 ở nhóm 2 và nhóm 3 thể hiện ở hình 3, hình 5 (Bảng 3) cũng cho thấy, hàm lượng E2 trong phân cũng đạt đỉnh ở ngày thứ 2 sau khi tiêm, sau đó giảm dần. Trong đó, ở cả nhóm cây chậm động dục

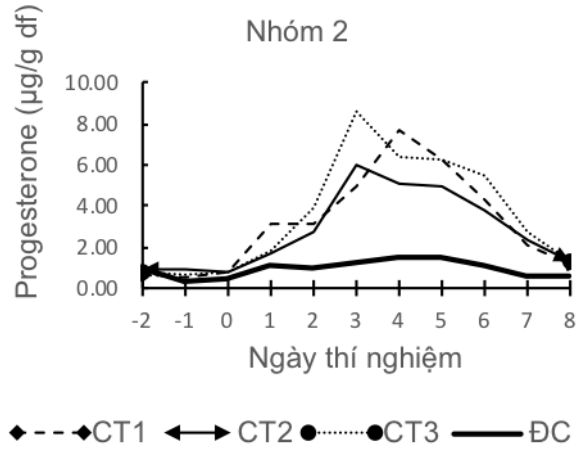
lại (nhóm 2) và nhóm cây sinh sản bình thường điều trị nhằm gây động dục hàng loạt (nhóm 3) đều có hàm lượng E2 trong phân cao nhất ở CT3. E2 trung bình của nhóm 2 ở CT3 là 2,86 $\mu\text{g/g}$ df, cao hơn so với CT1 (2,60 $\mu\text{g/g}$ df), CT2 (2,54 $\mu\text{g/g}$ df); của nhóm 3 ở CT3 là 4,86 $\mu\text{g/g}$ df, cao hơn so với CT1 (3,20 $\mu\text{g/g}$ df), CT2 (3,63 $\mu\text{g/g}$ df). Một nghiên cứu trên bò cũng cho thấy có sự tương tác ngày ($P < 0,001$) đối với nồng độ E2 giữa các ngày 0 và 4. Điều trị bằng kích dục tố làm tăng nồng độ E2 từ ngày 0,5 đến 4 ($P < 0,05$); nồng độ E2 trong huyết tương đạt đến đỉnh điểm từ 0,5 đến 1 ngày sau khi tiêm và sau đó giảm dần nhưng vẫn lớn hơn đáng kể so với bò không được điều trị vào ngày thứ 4. Nồng độ E2 lớn hơn vào ngày thứ 4 và thấp vào ngày 7 và 8 ($P < 0,05$) ở bò được điều trị (Cavalieri *et al.*, 2003).



Hình 3. Sự thay đổi hàm lượng Estradiol ở Cây Vòi hương Nhóm 2 sau khi tiêm kích dục tố.

Kết quả ở hình 2, 4, và 6 (Bảng 2) cho thấy sự thay đổi P4 ở các nhóm cây thí nghiệm bắt đầu tăng vào ngày thứ 1 và đạt đỉnh vào ngày thứ 3 hoặc thứ 4 sau khi tiêm kích dục tố, và chậm hơn sau khi đạt đỉnh của E2 từ 1 đến 2 ngày. Ở nhóm 1, hàm lượng P4 đạt đỉnh ở tất cả các công thức vào ngày thứ 4, trung bình P4 ở CT1 là 6,70 µg/g df, CT2 là 7,89 µg/g df và CT3 là 11,11 µg/g df. Hàm lượng P4 trong phân của nhóm cây được tiêm theo CT3 cao hơn đáng kể so với hai công thức còn lại ($P < 0,05$). Trong khi đó, ở nhóm 2, P4 trung bình ở các công thức ở CT1 là 7,67 µg/g df; CT2 là 6,03 µg/g df; CT3 là 8,60 µg/g df. Ở nhóm 3, CT1 có P4 đạt đỉnh vào ngày thứ 4 sau khi điều trị kích dục tố (6,23 µg/g df), còn CT2 và CT3 đạt đỉnh vào ngày thứ 4 lần lượt là 7,58 và 8,14 µg/g df. Theo Nguyễn Thị Thu Hiền và đồng tác giả (2018), ở cây vòi hương, đỉnh progesterone phân bố từ 6,03-12,32 (µg/g) với trung bình $7,26 \pm 1,11$ (µg/g).

Phân tích thống kê cho thấy, sự thay đổi P4 giữa các công thức ở các nhóm cây thí nghiệm đều có sự sai khác có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$). Ở tất cả các nhóm thí nghiệm, sự tăng hàm lượng P4 có xu hướng cao hơn ở CT3. Có thể, hàm lượng kích dục tố đưa vào cơ thể cao hơn đã làm tăng hàm lượng nội tiết sinh dục của cây thí nghiệm. Tuy nhiên, một số nghiên cứu đã chỉ ra rằng điều trị làm tăng tần suất rụng



Hình 4. Sự thay đổi hàm lượng Progesterone ở Cây Vòi hương Nhóm 2 sau khi tiêm kích dục tố.

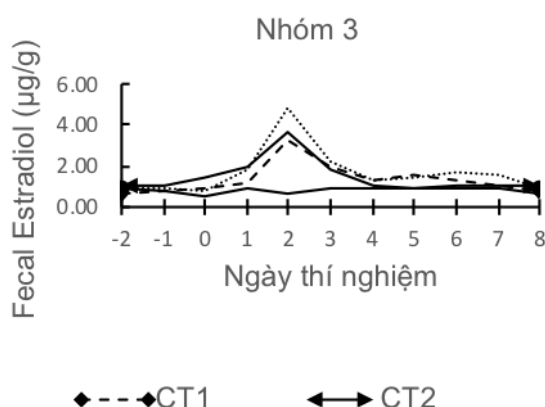
trứng nhiều và dẫn đến progesterone toàn hoàn tăng cao, nhưng tăng progesterone không tương quan với tỷ lệ mang thai tăng (Nogueira *et al.*, 2004). Kameyama và đồng tác giả (2004), tiến hành nghiên cứu trên động vật thí nghiệm (loài *Mongolian gerbil*) cho thấy ở những con cái được điều trị bằng PMSG một mình biểu hiện chậm trong đáp ứng rụng trứng khi so sánh với những con cái kết hợp được điều trị bằng PMSG và HCG. Các con cái được tiêm PMSG và HCG ở khoảng thời gian 54 giờ đã được quan sát thấy đáp ứng rụng trứng 24 giờ sau khi tiêm HCG.

Sau khi đạt đỉnh vào ngày 3 hoặc 4, ở tất cả các nhóm cây thí nghiệm có P4 trong phân duy trì ở nồng độ cao từ 3-4 ngày, sau đó giảm thấp vào ngày thứ 7, 8 sau khi tiêm. Trên bò, khi sử dụng kích dục tố để cải thiện thành tích sinh sản đã cho thấy có sự tương tác đáng kể giữa P4 và ngày sau điều trị ($P < 0,001$). Điều trị bằng P4 dẫn đến nồng độ P4 trong huyết tương cao hơn từ ngày 0,5 đến 1,5. Nồng độ P4 tương tự nhau ở các nhóm bò cho mỗi lần điều trị vào các thời điểm khác giữa các ngày 0 và 4. Có một ảnh hưởng đáng kể của ngày lên nồng độ P4 ($P < 0,001$) giữa các ngày 4 và 10. Nồng độ P4 trung bình ở tất cả các nhóm điều trị giảm từ ngày thứ 4 đến ngày 7 và sau đó giảm xuống thấp ở ngày thứ 8 ($P < 0,05$) (Cavalieri *et al.*, 2003).

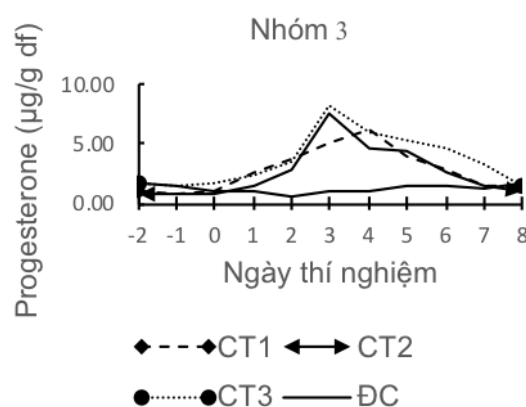
Bảng 2. Sự thay đổi hàm lượng Progesterone ở Cây Vòi hương Nhóm 1, 2 và 3 sau khi tiêm kích dục tố.

NGÀY	CT1	CT2	CT3	ĐC
NHÓM 1 ($\bar{X} \pm SD$)				
-2	0,66±0,41	0,88±0,12	0,66±0,13	0,72±0,29
-1	0,53±0,46 ^a	0,65±0,08 ^a	0,93±0,29 ^b	0,65±0,21 ^a
0	0,51±0,27	0,70±0,31	0,76±0,10	0,84±0,48
1	1,04±0,44 ^a	2,34±0,07 ^b	2,19±0,28 ^c	0,70±0,36 ^d
2	3,03±0,62 ^a	3,52±0,55 ^b	3,67±0,45 ^c	0,80±0,47 ^d
3	4,65±1,29 ^a	5,38±0,93 ^b	5,30±1,02 ^c	0,94±0,28 ^d
4	6,70±0,63 ^a	7,89±1,75 ^b	11,11±1,04 ^c	1,62±0,43 ^d
5	5,01±0,46 ^a	5,48±1,06 ^b	7,34±0,91 ^c	2,11±0,77 ^d
6	4,09±0,63 ^a	3,67±0,51 ^b	6,42±0,62 ^c	1,95±0,57 ^d
7	2,86±0,34 ^a	2,13±0,06 ^b	4,21±0,85 ^c	1,65±0,44 ^d
8	1,36±0,23 ^a	1,66±0,06 ^b	2,29±0,41 ^c	1,23±0,06 ^d
NHÓM 2 ($\bar{X} \pm SD$)				
-2	0,67±0,17 ^a	0,90±0,15 ^a	0,82±0,49 ^a	1,05±0,73 ^b
-1	0,60±0,18 ^a	0,93±0,21 ^a	0,71±0,48 ^a	0,41±0,12 ^b
0	0,83±0,26 ^a	0,85±0,25 ^a	0,80±0,29 ^a	0,51±0,07 ^b
1	3,10±0,90 ^a	1,66±0,58 ^b	1,80±0,66 ^c	1,19±0,15 ^d
2	3,17±0,51 ^a	2,80±0,43 ^b	3,98±1,07 ^c	1,00±0,11 ^d
3	5,00±0,94 ^a	6,03±1,07 ^b	8,60±1,32 ^c	1,20±0,06 ^d
4	7,67±1,19 ^a	5,08±1,26 ^b	6,40±0,60 ^c	1,56±0,32 ^d
5	6,20±1,12 ^a	4,95±0,58 ^b	6,28±0,60 ^c	1,51±0,61 ^d
6	4,35±0,62 ^a	3,76±0,49 ^b	5,42±0,85 ^c	1,16±0,53 ^d
7	2,08±0,33 ^a	2,42±0,27 ^a	2,77±0,76 ^b	0,65±0,10 ^d
8	1,20±0,46 ^a	1,34±0,43 ^a	1,27±0,26 ^a	0,64±0,17 ^b
NHÓM 3 ($\bar{X} \pm SD$)				
-2	0,92±0,18 ^a	0,76±0,36 ^a	1,65±1,27 ^b	1,80±1,53 ^b
-1	0,87±0,34 ^a	0,87±0,39 ^a	1,39±0,83 ^b	1,46±0,32 ^b
0	0,92±0,09 ^a	0,81±0,30 ^a	1,62±1,11 ^b	1,11±0,22 ^b
1	2,66±0,44 ^a	1,41±0,93 ^b	2,31±0,29 ^c	1,01±0,38 ^d
2	3,67±0,45 ^a	2,83±0,57 ^b	3,58±0,43 ^c	0,66±0,11 ^d
3	5,19±0,90 ^a	7,58±1,43 ^b	8,14±0,57 ^c	1,11±0,10 ^d
4	6,23±1,14 ^a	4,74±0,59 ^b	6,04±0,49 ^c	1,06±0,51 ^d
5	3,99±0,67 ^a	4,33±0,41 ^b	5,28±0,64 ^c	1,42±0,10 ^d
6	2,93±0,59 ^a	2,65±0,94 ^a	4,61±0,97 ^c	1,55±0,28 ^d
7	1,51±0,33 ^a	1,45±0,27 ^a	3,31±0,90 ^c	1,33±0,11 ^a
8	1,40±1,45 ^a	0,93±0,35 ^b	1,59±0,48 ^c	1,79±0,34 ^d

Ghi chú: Các số liệu mang ký tự khác nhau trong cùng một hàng (a, b, c, d) của cùng một nhóm thì sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$).



Hình 5. Sự thay đổi hàm lượng Estradiol ở Cây Vòi hương Nhóm 3 sau khi tiêm kích dục tố.



Hình 6. Sự thay đổi hàm lượng Progesterone ở Cây Vòi hương Nhóm 3 sau khi tiêm kích dục tố.

Việc sử dụng PMSG (eCG) phổ biến nhất là khai thác hoạt động FSH của nó trong việc kích thích động dục ở nhiều loài động vật khi chưa trưởng thành sinh dục (Murphy, 2012). PMSG hiển thị cả hoạt động của FSH và LH, và cả hai kích thích tố này là cần thiết cho sự trưởng thành, rụng trứng của động vật có vú. Tuy nhiên, trong một số giao thức, sự tăng tổng hợp progesterone do eCG gây ra đã dẫn đến thành công trong thai kỳ được cải thiện (Baruselli *et al.*, 2010). Do cấu trúc tương tự LH, HCG liên kết với cùng một receptor như LH. Trong liệu pháp gonadotropin, HCG được sử dụng để thúc đẩy các giai đoạn trưởng thành nang trứng và sự tiến triển của noãn bào chưa trưởng thành đang ở giai đoạn kỳ trước I (prophase I) bước vào giảm phân thông qua thúc đẩy quá trình giảm nhiễm đến kỳ giữa II (metaphase II). Ở nhiều

loài thú, quá trình giảm phân đòi hỏi khoảng 36 giờ để hoàn thành; một vài giờ sau đó, rụng trứng xảy ra (Leao, Esteves, 2014). Nồng độ HCG làm tăng sự hiện diện của các thụ thể của progesterone (progesterone receptor) và prostaglandin endoperoxide synthase-2 (PGS-2) ba giờ sau khi tiêm HCG do đó làm tăng đáng kể lượng progesterone so với trường hợp không sử dụng HCG. Progesterone làm cho các tế bào hạt cumulus tăng sinh mạnh mẽ, đồng thời tác động đến màng của nang bị vỡ và gây ra hiện tượng rụng trứng. Lượng HCG trong nang sẽ giảm dần theo thời gian từ khi tiêm vào cơ thể, vì vậy quá trình rụng trứng có thể chậm lại hoặc không xảy ra nếu sự kích thích sản xuất E2 chưa đạt đỉnh. Khi sử dụng HCG ở nồng độ phù hợp thì hàm lượng HCG trong nang được duy trì ở nồng độ tối ưu gây rụng trứng (Murphy, 2012).

Bảng 3. Sự thay đổi hàm lượng Estradiol ở Cây Vòi hương Nhóm 1, 2 và 3 sau khi tiêm kích dục tố.

NGÀY	CT1	CT2	CT3	ĐC
NHÓM 1 ($\bar{x} \pm SD$)				
-2	0,76±0,09 ^a	0,74±0,13 ^a	0,58±0,27 ^b	0,52±0,26 ^b
-1	0,66±0,17 ^a	0,58±0,03 ^a	0,93±0,49 ^b	0,64±0,28 ^a
0	1,30±0,22 ^a	0,78±0,40 ^b	0,73±0,20 ^b	0,81±0,16 ^b
1	1,65±0,81 ^a	1,15±0,32 ^b	0,96±0,24 ^b	0,78±0,24 ^d
2	2,59±0,86 ^a	2,69±0,63 ^a	3,16±0,68 ^c	0,68±0,06 ^d
3	1,74±0,91 ^a	1,85±0,14 ^a	1,94±0,28 ^c	0,89±0,27 ^d

4	1,23±0,33 ^a	0,88±0,24 ^b	1,54±0,22 ^c	0,64±0,21 ^d
5	0,57±0,32 ^a	0,93±0,61 ^b	1,07±0,15 ^c	0,78±0,11 ^d
6	0,74±0,33 ^a	0,99±0,43 ^b	0,91±0,05 ^b	0,65±0,13 ^d
7	0,73±0,48 ^a	0,94±0,20 ^b	0,91±0,31 ^b	0,61±0,18 ^d
8	0,76±0,09 ^a	0,98±0,26 ^b	0,92±0,53 ^b	0,45±0,02 ^d
NHÓM 2 ($\bar{X} \pm SD$)				
-2	0,35±0,12 ^a	0,72±0,08 ^b	0,54±0,17 ^c	0,81±0,36 ^b
-1	0,55±0,26 ^a	0,82±0,15 ^b	0,73±0,14 ^b	0,84±0,02 ^b
0	1,39±0,45 ^a	0,80±0,16 ^b	0,76±0,34 ^b	0,81±0,07 ^b
1	1,42±0,17 ^a	1,16±0,18 ^b	1,27±0,16 ^b	0,61±0,05 ^c
2	2,60±0,87 ^a	2,54±0,46 ^a	2,86±0,65 ^a	0,76±0,31 ^c
3	1,24±0,04 ^a	1,61±0,33 ^b	1,37±0,40 ^a	0,98±0,11 ^c
4	0,90±0,04 ^a	1,03±0,53 ^b	1,11±0,27 ^b	0,86±0,21 ^a
5	0,76±0,09 ^a	1,55±0,42 ^b	0,78±0,36 ^a	0,72±0,37 ^a
6	0,60±0,15 ^a	1,39±0,43 ^b	0,77±0,12 ^c	0,98±0,04 ^d
7	0,62±0,08 ^a	0,99±0,30 ^b	0,90±0,29 ^b	0,77±0,12 ^c
8	0,50±0,23 ^a	0,85±0,24 ^b	0,81±0,36 ^b	0,86±0,13 ^b
NHÓM 3 ($\bar{X} \pm SD$)				
-2	0,63±0,31 ^a	1,04±0,53 ^b	0,93±0,18 ^b	0,91±0,13 ^b
-1	0,74±0,37 ^a	1,07±0,33 ^b	0,89±0,42	0,81±0,05 ^c
0	0,92±0,65 ^a	1,38±0,42 ^b	0,77±0,14 ^c	0,45±0,12 ^d
1	1,14±0,69 ^a	1,90±0,86 ^b	1,86±0,54 ^c	0,88±0,01 ^d
2	3,20±1,29 ^a	3,63±1,41 ^b	4,86±1,50 ^c	0,62±0,10 ^d
3	1,90±0,25 ^a	1,84±0,52 ^a	2,27±0,85 ^c	0,92±0,14 ^d
4	1,28±0,69 ^a	1,07±0,46 ^b	1,33±0,38 ^c	0,88±0,01 ^d
5	1,52±0,94 ^a	0,93±0,27 ^b	1,35±0,92 ^c	0,91±0,35 ^d
6	1,27±0,58 ^a	0,96±0,51 ^b	1,69±1,08 ^c	0,88±0,17 ^d
7	1,05±0,49 ^a	1,01±0,56 ^a	1,53±0,58 ^c	0,91±0,03 ^d
8	0,72±0,24 ^a	0,97±0,47 ^b	0,91±0,23 ^b	0,62±0,26 ^d

Ghi chú: Các số liệu mang ký tự khác nhau trong cùng một hàng (a, b, c, d) của cùng một nhóm thì sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$).

KẾT LUẬN

Ở cây vòi hương, sử dụng kết hợp PMSG và HCG đã làm tăng hàm lượng estradiol và progesterone. Sự gia tăng E2 đã được phát hiện từ ngày 1, đạt đỉnh ở ngày thứ 2 sau khi tiêm. P4 ở các nhóm cây thí nghiệm bắt đầu tăng vào ngày thứ 1 và đạt đỉnh vào ngày thứ 3 hoặc thứ 4 sau khi tiêm kích dục tố. Sự gia tăng E2 và P4 có xu hướng cao hơn ở CT3 (40 IU PMSG + 20 IU HCG). Kết quả này cung cấp giá trị tham

khảo đáng tin cậy cho nghiên cứu tiếp theo về sử dụng kích dục tố trên Cây Vòi hương, đóng góp vào nỗ lực của các kỹ thuật trợ hỗ sinh sản trên động vật hoang dã trong điều kiện nuôi nhốt.

Lời cảm ơn: Chúng tôi xin chân thành cảm ơn Trung tâm Công nghệ sinh học Đồng Nai đã tạo điều kiện thuận lợi; sinh viên nhóm nghiên cứu Lớp C15SH01- Đại học Thủ Dầu Một đã giúp đỡ trong quá trình thu mẫu; sự hỗ trợ tài chính

Tạp chí Công nghệ Sinh học **19**(1): 85-94, 2021

từ Trường Đại học Thủ Dầu Một cho nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Baruselli PS, Ferreira RM, Sá Filho MF, Nasser LFT, Rodrigues CA, Bo GA (2010) Bovine embryo transfer recipient synchronisation and management in tropical environments. *Reprod Fertil Dev* 22: 67–74.

Nguyễn Thanh Bình (2015) Ảnh hưởng của kích dục tố hCG và PMSG đến kết quả sinh sản của Cây Vòi hương (*Paradoxurus hermaphroditus*) trong điều kiện nuôi nhốt. *Tạp chí KHKT Thú y* 17(8): 54–57.

Cavalieri J, Hepworth G, Parker KI, Wright PJ, Macmillan KL (2003) Effect of treatment with progesterone and oestradiol when starting treatment with an intravaginal progesterone releasing insert on ovarian follicular development and hormonal concentrations in Holstein cows. *Anim Reprod Sci* 76: 177–193.

Frederick C, Kyes R, Hunt K, Collins D, Durrant B, Wasser SK (2010) Method of estrus detection and correlates of reproductive cycle in the sun bear (*Helarctos malayanus*). *Theriogenology* 74: 1121–1135.

Kameyama Y, Arai K, Ishijima Y (2004) Interval between PMSG Priming and hCG Injection in Superovulation of the Mongolian Gerbil. *J Mamm Ova Res* 21: 105–109.

Laurence C (2010) Biological functions of hCG and hCG-related molecules. *Reprod Biol Endocrinol* 8:

102.

Leao RB, Esteves SC (2014) Gonadotropin therapy in assisted reproduction: an evolutionary perspective from biologics to biotech. *Clinics* 69 (4): 279 – 293.

Murphy B (2012) Equine chorionic gonadotropin: an enigmatic but essential tool. *Anim Reprod* 9 (3): 223–230.

Nogueira MF, Melo DS, Carvalho LM, Fuck EJ, Trinca LA, Barros CM (2004) Do high progesterone concentrations decrease pregnancy rates in embryo recipients synchronized with PGF2alpha and eCG?. *Theriogenology* 61: 1283–1290.

Nguyen Thi Thu Hien, Nguyen Thi Phuong Thao, Nguyen Thanh Binh (2018) A non-invasive technique to monitor reproductive hormone levels in common palm civets, *Paradoxurus hermaphroditus* Pallas, 1777. *Academia Journal of Biology* 40(3): 74–81.

Nguyễn Ngọc Tấn, Bùi Ngọc Hùng (2017) Ứng dụng hormone xử lý bò chậm gieo tinh khu vực thành phố Hồ Chí Minh và Bình Dương. *Tạp chí Khoa học kỹ thuật chăn nuôi* 216: 67–72.

Nguyen Van Thanh, Nguyen Thanh Binh (2009) Effects of hormone therapeutics on ability of treatment of reproductive confusion in failure reproduction dairy cows at Binh Duong province, Viet Nam. *Asian Reprod Biotech Society* 62.

Putranto HD (2011) A non-invasive identification of hormone metabolites, gonadal event and reproductive status of captive female tigers. *Biodiversitas* 12 (3): 131–135.

EFFECTS OF PMSG AND HCG ON ESTRADIOL AND PROGESTERONE LEVEL FROM COMMON PALM CIVETS (*PARADOXURUS HERMAPHRODITUS*)

Nguyen Thi Thu Hien^{1,3}, Nguyen Thi Phuong Thao^{2,3}, Vo Le Ngoc Tram⁵, Nguyen Thanh Binh⁴

¹Thu Dau Mot University

²Institute of Tropical Biology, Vietnam Academy of Science and Technology

³Graduate University of Science and Technology, Vietnam Academy of Science and Technology

⁴Pham Ngoc Thach University of Medicine

⁵Xuan Dieu Secondary School, My Tho City, Tien Giang Province

SUMMARY

The common palm civets (*Paradoxurus hermaphroditus*) belong to the civets family (Viverridae), the carnivores order (Carnivora). This animal is widely distributed in South and Southeast Asia.

Currently, the civets are raised quite popular in Vietnam. The delay in breeding for the first time and slow in the rut has reduced economic efficiency in civet farming. This study was carried out to evaluate the effectiveness of different doses of hormones (PMSG, HCG) on sex hormonal changes in the civets. A total of 54 female civets were used in this experiment. PMSG/HCG intramuscularly in 3 formulations (CT): CT1: 20 IU PMSG + 10 IU HCG; CT2: 30 IU PMSG + 15 IU HCG; CT3: 40 IU PMSG + 20 IU HCG. The results showed that E2 level in the feces of the civets in the treatments began to increase at the first day after injection and peaked on the second day. P4 concentration in the experimental civet groups began to increase in the first day and peaked on the 3rd or 4th day. The amounts of E2 and P4 in the feces of the civet group injected with CT3 was significantly higher than that of CT1 and CT2 groups ($P < 0.05$). This result provides reliable references for subsequent studies on the use of gonadotropin on the common palm civets to both exploit and preserve the ex-situ conservation of this rare wildlife.

Keywords: *civets, estrus, HCG, hormone, PMSG, reproduction*