

Effects of water pH on physiological parameters and color changes of Asian Bumblebee Catfish (*Pseudomystus siamensis* Regan, 1913)

Tuan V. Vo*, Truc T. N. Thanh, Binh T. T. Vo, & Duyen T. H. Nguyen

Faculty of Fisheries, Nong Lam University, Ho Chi Minh City, Vietnam

ARTICLE INFO

Research Paper

Received: April 11, 2018

Revised: November 29, 2018

Accepted: December 08, 2018

Keywords

Blood cells

Color

pH threshold

Pseudomystus siamensis

*Corresponding author

Vo Van Tuan

Email: vovantuan@hcmuaf.edu.vn

ABSTRACT

Effects of water pH on blood physiological parameters and color change of Asian bumblebee catfish (*Pseudomystus siamensis*) (4 - 6 g/fish) were carried out in laboratory condition. The experiment was set up in 8 weeks at different pH water levels (pH = 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11). The results have shown that the cumulative mortality ratio of Asian bumblebee catfish at the end of 24 h challenge was 100% at pH = 11, 70.83% at pH = 10, and 62.5% at pH = 3. No mortality of fish was observed at pH = 4, 5, 6, 7, 8, 9 after 24 h of the challenge. The lowest and highest pH threshold that killed 50% of fish after 24 h of the challenge were 3.04 and 9.95, respectively. After 24 h of the challenge, total number of red and white blood cells of fish increased at pH = 3, 9, 10, and get the highest level at pH = 3 (1.87×10^6 cells/mm³ và 1.59×10^5 cells/mm³, respectively). At the end of the challenge, highest number of red and white blood cells were observed at pH = 8 ($2 \pm 0.23 \times 10^6$ cells/mm³ và $1.27 \pm 0.26 \times 10^5$ cells/mm³, respectively). Fish were in bright and beautiful color when cultured in high pH water levels.

Cited as: Vo, T. V., Nguyen, T. T. T., Vo, B. T. T., & Nguyen, D. T. H. (2019). Effects of water pH on physiological parameters and color changes of Asian Bumblebee Catfish (*Pseudomystus siamensis* Regan, 1913). *The Journal of Agriculture and Development* 18(2), 78-87.

Ảnh hưởng của pH nước lên sinh lý máu và màu sắc của cá Chốt Bông (*Pseudomystus siamensis* Regan, 1913)

Võ Văn Tuấn*, Nguyễn Thị Thanh Trúc, Võ Thị Thanh Bình & Nguyễn Thị Hồng Duyên

Khoa Thủy Sản, Trường Đại Học Nông Lâm TP. Hồ Chí Minh, TP. Hồ Chí Minh

THÔNG TIN BÀI BÁO

Bài báo khoa học

Ngày nhận: 11/04/2018

Ngày chỉnh sửa: 29/11/2018

Ngày chấp nhận: 08/12/2018

Từ khóa

Màu sắc

Ngưỡng pH

Pseudomystus siamensis

Tế bào máu

*Tác giả liên hệ

Võ Văn Tuấn

Email: vovantuan@hcmuaf.edu.vn

TÓM TẮT

Nghiên cứu ảnh hưởng của pH nước lên sinh lý máu và màu sắc của cá chốt bông (*Pseudomystus siamensis*) với trọng lượng từ 4 - 6 g/con được tiến hành trong điều kiện thực nghiệm. Thí nghiệm được thực hiện trong 8 tuần với các giá trị pH khác nhau (pH = 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11). Kết quả thí nghiệm cho thấy, tỷ lệ chết tích lũy của cá chốt bông sau 24 giờ cao nhất tại pH = 11 (100%), kế đến là pH = 10 (70,83%) và pH = 3 (62,5%). Ở các giá trị pH = 4, 5, 6, 7, 8, 9 không có hiện tượng cá chết sau 24 giờ. Ngưỡng pH thấp nhất và cao nhất gây chết 50% cá chốt bông trong 24 giờ là 3,04 và 9,95. Sau 24 giờ tiếp xúc, số lượng hồng cầu và bạch cầu tổng của cá tăng cao tại nghiệm thức pH = 3, 9 và 10, đạt cao nhất tại nghiệm thức pH = 3 ($1,87 \times 10^6$ tb/mm³ và $1,59 \times 10^5$ tb/mm³). Sau 8 tuần nuôi thì số lượng hồng cầu và bạch cầu tổng tăng cao nhất tại pH = 8 ($2 \pm 0,23 \times 10^6$ tb/mm³ và $1,27 \pm 0,26 \times 10^5$ tb/mm³). Trong môi trường pH càng cao thì màu sắc cá càng sáng.

1. Đặt Vấn Đề

Cá chốt bông (*Pseudomystus siamensis*) là một loài cá trong họ *Bagridae*. Loài này thường phân bố ở lưu vực các sông Mekong và Chao Phraya, và bán đảo Thái Lan. Ở Việt Nam, cá phân bố chủ yếu ở Đồng Bằng Sông Cửu Long và được khai thác để làm thực phẩm. Những năm gần đây, cá chốt bông được khai thác phục vụ cho thị trường cá cảnh nhờ những nét đặc biệt, mới lạ về ngoại hình và khả năng thích nghi cao với nhiều điều kiện môi trường khác nhau. Cá chốt bông có tên trong danh sách cá cảnh xuất khẩu với tên tiếng anh là Bumble bee catfish (Ng, 2012). Do cá chốt bông được khai thác chủ yếu từ môi trường tự nhiên nên số lượng không đủ để đáp ứng nhu cầu tiêu thụ của nguồn cá này. Hiện nay, có rất ít nghiên cứu về cá chốt bông, ngoài những nghiên cứu về phân loại và đặc điểm sinh học (Vo & ctv., 2017) thì chưa có nghiên cứu nào cụ thể về ảnh

hưởng của môi trường nước, đặc biệt là chỉ tiêu pH lên cá chốt bông.

pH nước là một trong những chỉ tiêu quan trọng đối với đời sống của động vật thủy sản. Mỗi loài cá sẽ thích ứng với một ngưỡng pH phù hợp. Theo Nguyen (2012) sự biến động pH nước sẽ làm thay đổi số lượng hồng cầu của máu cá. Cá sống trong môi trường pH thấp thì số lượng hồng cầu trong máu cao hơn ở môi trường pH cao. Số lượng hồng cầu, bạch cầu còn biến động theo trạng thái sinh lý của cá cũng như sự biến động của các yếu tố môi trường (Do & Nguyen, 2010; Dang & Nguyen, 2013). Bên cạnh đó, sự biến động của pH nước còn tác động rất lớn đến tăng trưởng và tỷ lệ sống của động vật thủy sản (Alabaster & Lloyd, 1980). Với những lý do trên, chúng tôi tiến hành nghiên cứu nhằm xác định ngưỡng chịu đựng pH của cá chốt bông, cũng như khả năng ảnh hưởng của pH nước lên sự thay đổi sinh lý máu và màu sắc của cá chốt bông.

2. Vật Liệu và Phương Pháp Nghiên Cứu

2.1. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện từ tháng 2 năm 2017 đến tháng 8 năm 2017 tại Trại thực nghiệm và Phòng thí nghiệm Khoa Thủy Sản, Trường Đại học Nông Lâm TP.HCM.

2.2. Đối tượng nghiên cứu

Cá chột bông (*Pseudomystus siamensis*) được mua từ trại cá giống khu vực TP.HCM và Tây Ninh. Sau đó, cá được chuyển về Trại thực nghiệm Khoa Thủy sản trường Đại học Nông Lâm. Cá được nuôi dưỡng trong bể xi măng 2 m³. Trong quá trình nuôi, cá được sục khí liên tục và được cho ăn bằng trùn chỉ trong hai tuần nhằm giúp cho cá quen với điều kiện môi trường bể nuôi trước khi tiến hành thí nghiệm. Cá dùng cho bố trí thí nghiệm có kích cỡ đồng đều, khoẻ mạnh và trọng lượng trung bình 5 – 6 g/con.

2.3. Ảnh hưởng của pH nước lên tỷ lệ chết tích lũy của cá chột bông

Thí nghiệm được bố trí trong các bể kính 40 x 40 x 30 cm chứa 30 lít nước và được ngăn thành 3 ngăn bằng nhau, mỗi ngăn chứa 10 lít nước và được bố trí 8 cá/ngăn với trọng lượng trung bình từ 4 – 6 g/con, sục khí liên tục và được lập lại 3 lần (Hình 1).

Sử dụng dung dịch HCl 0,1N (hoặc NaOH 0,1N) (Xilong Scientific Co., Ltd, China) để giảm (hoặc tăng) pH. pH tại mỗi bể kính sẽ được hiệu chỉnh về các giá trị pH = 3; 4; 5; . . . và 11 dựa vào nghiên cứu của Zahangir & ctv. (2015). Sau khi hiệu chỉnh pH về các giá trị trên thì tiến hành thả cá vào bể kính. Theo dõi các hoạt động của cá và ghi nhận số cá chết ở các thời điểm 3; 6; 9; 12; 15; 18; 21; 24 giờ sau bố trí và vớt số cá chết ra để tránh ảnh hưởng đến cá thể sống khác. Qua đó xác định ngưỡng pH thấp và cao gây chết 50% cá sau 24 giờ dựa theo phương pháp probit analysis.

2.4. Ảnh hưởng của pH nước lên sinh lý máu và màu sắc của cá chột bông

Thí nghiệm được thực hiện trong 8 tuần với 8 nghiệm thức ở các giá trị pH khác nhau (pH = 3; 4; 5; ... 10). Mỗi nghiệm thức bố trí 50 cá với trọng lượng trung bình khoảng 4 – 6 g/con vào

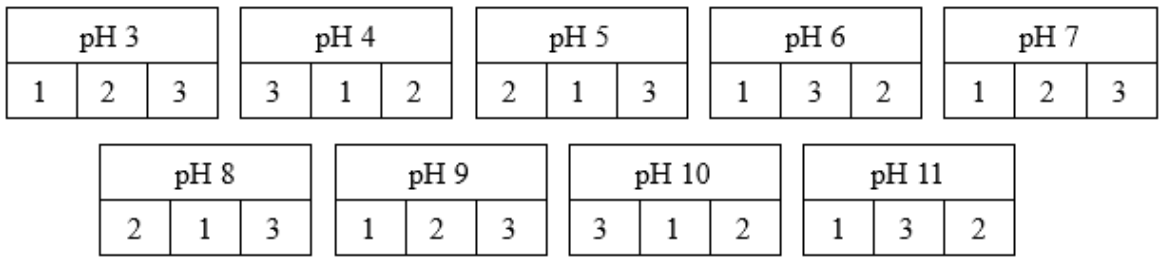
trong bể kính (60 cm x 45 cm x 50 cm) chứa 50 lít nước. Mỗi bể bố trí một cây nâng nhiệt, 3 ống nước PVC (phi 16 dài 15 cm) và được sục khí liên tục. Nước được thay mỗi ngày (khoảng 20 - 30% lượng nước trong bể). Lượng nước bổ sung được điều chỉnh về các giá trị pH tương ứng cho từng nghiệm thức trước khi cấp. Thức ăn cho cá là trùn chỉ sống được mua từ tiệm cá cảnh tại chợ Thủ Đức, TP.HCM, cho cá ăn tự do.

Các thông số môi trường được ghi nhận trong suốt quá trình thí nghiệm. Giá trị pH được kiểm tra 2 lần/ngày (7 giờ sáng và 17 giờ chiều) bằng máy HP 3040 (Trans Instruments, Singapore). pH ở mỗi bể sẽ được hiệu chỉnh bằng HCl 0,1N (hoặc NaOH 0,1N) nhằm đảm bảo đạt giá trị pH như thiết kế của nghiệm thức. Nhiệt độ nước và oxy hòa tan được đo 2 lần/ngày (7 giờ sáng và 17 giờ chiều) bằng máy HANNA Hi 9146 (Rumanian). NH₃ được xác định dựa vào bảng tỷ lệ % NH₃/TAN theo nhiệt độ và pH (Boyd, 1990). TAN phân tích bằng phương pháp Indolphénol Blue (APHA & ctv., 1995). NO₂⁻ xác định bằng phương pháp phương pháp Diazonium (APHA & ctv., 1995). Chỉ tiêu NO₂⁻ và NH₃ được đo định kỳ 1 tuần/lần.

Phương pháp lấy máu cá: máu cá được lấy dựa theo phương pháp của Houston (1990). Cá được gây mê với Ethylen glycol monophenyl ether (100 ppm), sau đó dùng kim tiêm đã tráng chất kháng đông lấy máu ở động mạch cuống đuôi của cá cho vào dụng cụ chứa máu đã chuẩn bị sẵn để đem phân tích chỉ tiêu hồng cầu và bạch cầu.

Định loại tế bào máu: qui trình thực hiện tiêu bản, nhuộm và định loại tế bào được thực hiện theo phương pháp của Houston (1990), Chinabut & ctv. (1991) và Stefani & ctv. (2010). Cá sẽ được thu ngẫu nhiên, ở mỗi thời điểm sẽ thu 1 con tương ứng với 1 giá trị pH và được lập lại 3 lần.

Số lượng hồng cầu: sử dụng buồng đếm Neubauer và Pipette hồng cầu (Red pipette). Hút máu cá đến vạch 0,5 của pipette hồng cầu, sau đó hút dung dịch pha loãng đến vạch 101 (máu được pha loãng 200 lần). Xoay pipette theo hình số 8 trong 2 phút nhằm giúp tế bào hồng cầu phân bố đều. Loại bỏ 2 - 3 giọt dung dịch pha loãng ở đầu pipette. Đặt 1 lamelle lên buồng đếm hồng cầu rồi đặt đầu pipette chạm nhẹ vào cạnh của lamelle (tránh bọt khí trong vùng buồng đếm cũng như tránh lamelle bị đội lên khỏi cạnh buồng đếm). Để yên 2 - 3 phút cho hồng cầu lắng xuống. Đếm số lượng hồng cầu dưới kính hiển vi quang học (40X). Đầu tiên xem ở vật kính 10X để định vị 5



Hình 1. Sơ đồ bố trí thí nghiệm.

vùng đếm (ô vuông nhỏ màu đỏ), sau đó đưa vào giữa thị trường rồi chuyển sang vật kính 40X để đếm (Blaxhall & Daisley, 1973). Số lượng hồng cầu được tính theo công thức:

$$\text{Số lượng hồng cầu (TB/mm}^3\text{)} = A \times 5 \times 10 \times 200 = 10.000A.$$

A: số hồng cầu đếm được.

Số lượng bạch cầu: mẫu máu được phết trên lame để khô tự nhiên. Sau đó, hơ nhẹ qua ngọn lửa đèn cồn. Cố định mẫu trong dung dịch methanol 100% trong 3 - 5 phút. Tiếp theo, mẫu sẽ được ngâm trong dung dịch Giemsa trong 20 - 30 phút. Rửa 2 lần bằng dung dịch đệm (mỗi lần 1 phút). Đếm số lượng bạch cầu dưới kính hiển vi quang học (100X) (Chinabut & ctv., 1991; Hrubec & ctv., 2000).

Bạch cầu tổng (tb/mm³) = (số bạch cầu x mật độ hồng cầu trên buồng đếm)/số hồng cầu trên mẫu.

Tỷ lệ từng loại bạch cầu (%) = (số lượng mỗi loại bạch cầu x 100)/200.

Hàm lượng glucose: hàm lượng glucose trong máu cá được đo bằng máy đo đường huyết On-Call Advanced được sản xuất bởi tập đoàn ACON Laboratories Inc USA dựa trên công nghệ cảm biến sinh học, que thử sử dụng men GDH-PQQ. Giá trị được thể hiện bằng đơn vị mmol/L (Stefani & ctv., 2010).

Màu sắc cá: Màu sắc cá được xác định vào cuối thí nghiệm bằng phương pháp sử dụng máy đo màu CR-400 của hãng Konica Minolta, đo trực tiếp trên cá tại vị trí sọc giữa thân (sọc này thường lớn hơn sọc vạt ngang cuốn đuôi và ngang đầu) để đảm bảo tiết diện tiếp xúc với đầu đo của máy. Sau đó, màu sắc cá sẽ được chuyển đổi dựa vào mô hình CIE L*a*b* (L*: độ tương phản, a*: kênh màu trên trục màu xanh lá cây tới màu đỏ, b*: kênh màu trên trục màu xanh dương tới vàng).

2.5. Phương pháp xử lý số liệu

Tất cả số liệu được phân tích ANOVA một yếu tố (One-way ANOVA) và phép thử DUNCAN bằng phần mềm SPSS 16.0 với mức ý nghĩa $\alpha = 0,05$.

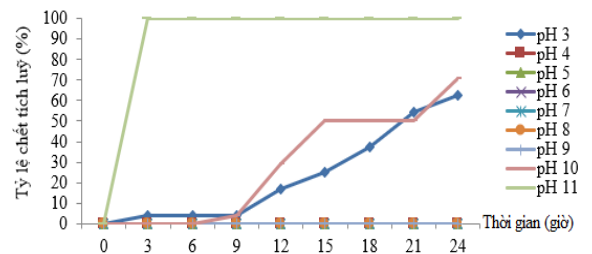
3. Kết Quả và Thảo Luận

3.1. Ảnh hưởng của pH nước lên tỷ lệ chất tích lũy của cá chốt bông

Trong suốt thời gian thí nghiệm, các yếu tố môi trường nước tương đối ổn định và ít biến động do hệ thống thí nghiệm được kiểm soát chặt chẽ. Nhiệt độ trung bình giữa các nghiệm thức dao động từ $27,9 \pm 0,16^{\circ}\text{C}$ đến $29,6 \pm 0,23^{\circ}\text{C}$, dao động nhiệt độ giữa sáng và chiều ở các nghiệm thức không quá 1°C (Bảng 1). Hàm lượng oxy vào buổi sáng là $5,6 \pm 0,15 \text{ mg/L}$ và vào buổi chiều là $6,4 \pm 0,28 \text{ mg/L}$. Theo Boyd (1998) thì khoảng nhiệt độ thích hợp cho sự phát triển của các loài cá nhiệt đới là từ $26 - 32^{\circ}\text{C}$ và hàm lượng oxy hòa tan trong ao thích hợp cho động vật thủy sản nói chung là trên 5mg/L . Hàm lượng nitrite (NO_2^-) trong thí nghiệm dao động từ $0,16 \pm 0,01 \text{ mg/L}$ đến $0,27 \pm 0,02 \text{ mg/L}$. Theo Truong (2006), hàm lượng NO_2^- trong nuôi thủy sản tốt nhất nằm trong khoảng từ $0 - 0,5 \text{ mg/L}$. Hàm lượng NH_3 ở các nghiệm thức nói chung là rất thấp, ở các nghiệm thức pH = 3, 4, 5, 6 thì hàm lượng NH_3 gần như không có (không phát hiện) nhưng NH_3 tăng dần từ $0,06 \pm 0,01 \text{ mg/L}$ (pH = 7) đến $0,18 \pm 0,01 \text{ mg/L}$ (pH = 8). Theo Boyd (1990), hàm lượng NH_3 gây độc đối với thủy sinh vật là từ $0,6 - 2,0 \text{ ppm}$. Nhìn chung, các chỉ tiêu môi trường trong suốt quá trình thí nghiệm tương đối ổn định và nằm trong giới hạn thích hợp cho sự sinh trưởng và phát triển bình thường của cá.

3.2. Khả năng chịu đựng pH nước của cá chốt bông

Khả năng chịu đựng sự biến đổi pH nước của cá chốt bông được thể hiện qua Hình 2. Kết quả nghiên cứu cho thấy, khi giá trị pH trong bể thí nghiệm tăng lên 11 thì cá có các triệu chứng như bơi nhanh, liên tục bơi lên mặt nước; cơ thể mất cân bằng; da, mang và toàn thân cá được bao phủ bởi rất nhiều chất nhầy; mắt cá bị đục; cơ thể bị lộn ngược và chết trong vòng 3 giờ sau khi tiếp xúc. Hiện tượng này có thể là do sự thay đổi đột ngột giá trị pH làm tăng quá trình tiết chất nhầy. Chất nhầy bám trên bề mặt mang làm ngăn cản quá trình trao đổi khí giữa máu và nước, dẫn đến cá khó hô hấp và chết. Ở giá trị pH = 10, lúc đầu cá cũng bơi nhanh sau đó giảm hoạt động bơi, cá lơ lờ, mắt cá đục, nằm im sát mặt đáy, một số cá trôi theo dòng nước do sự tích tụ khí tạo ra, cá bắt đầu chết dần đến 50% sau 21 giờ bố trí và 70,8% sau 24 giờ. Ở các giá trị pH = 4, 5, 6, 7, 8, 9 không có hiện tượng cá chết sau 24 giờ thí nghiệm. Tuy nhiên, ở giá trị pH = 8, 9 lúc bắt đầu thí nghiệm thì cá bơi nhanh, càng về sau cá chuyển động càng ít, nằm im sát mặt đáy, da tái nhợt. Ở giá trị pH = 3, cá tiết chất nhầy (nhưng ít hơn so với giá trị pH = 11), lúc đầu cá bơi nhanh, sau đó giảm dần hoạt động và nằm im bất động sát mặt đáy, mắt cá đục dần, trên da cá có dấu hiệu bị lở loét và cá chết dần đến 54,2% sau 21 giờ và 62,5% sau 24 giờ.



Hình 2. Tỷ lệ chết tích lũy của cá chốt bông trong 24 giờ.

Từ kết quả tỷ lệ chết của cá chốt bông ở các giá trị pH khác nhau trong 24 giờ, qua phân tích probit cho thấy ngưỡng pH thấp và cao gây chết 50% cá chốt bông trong 24 giờ là 3,04 và 9,95. Kết quả thí nghiệm cho thấy, cá chốt bông có khả năng chịu đựng được sự biến động của pH trong phạm vi rộng và nghiêng về môi trường acid.

So với các loài động vật thủy sinh khác thì cá chốt bông có khả năng chịu đựng pH thấp

Bảng 1. Các chỉ tiêu môi trường trong thí nghiệm¹

Thí nghiệm thứ	Nhiệt độ (°C)		Oxy (mg/L)		NO ₂ ⁻ (mg/L)	NH ₃ (mg/L)
	Sáng	Chiều	Sáng	Chiều		
pH = 3	28,5 ± 0,16 ^a	29,4 ± 0,00 ^a	5,6 ± 0,21 ^a	6,5 ± 0,10 ^a	-	-
pH = 4	28,6 ± 0,23 ^a	29,5 ± 0,31 ^a	5,6 ± 0,28 ^a	6,7 ± 0,15 ^{ab}	0,18 ± 0,01 ^a	0,00
pH = 5	28,7 ± 0,19 ^a	29,5 ± 0,22 ^a	5,7 ± 0,17 ^a	6,8 ± 0,20 ^{ab}	0,25 ± 0,02 ^b	0,00
pH = 6	27,9 ± 0,16 ^b	29,3 ± 0,17 ^a	5,8 ± 0,22 ^{ab}	6,9 ± 0,20 ^{bc}	0,27 ± 0,02 ^b	0,00
pH = 7	28,7 ± 0,20 ^a	29,5 ± 0,16 ^a	5,6 ± 0,15 ^a	6,4 ± 0,25 ^a	0,27 ± 0,02 ^b	0,06 ± 0,01 ^a
pH = 8	28,7 ± 0,16 ^a	29,6 ± 0,23 ^a	5,8 ± 0,20 ^{ab}	6,7 ± 0,21 ^{ab}	0,25 ± 0,02 ^b	0,18 ± 0,01 ^b
pH = 9	28,7 ± 0,17 ^a	29,3 ± 0,22 ^a	5,9 ± 0,22 ^{ab}	6,8 ± 0,22 ^{ab}	-	-
pH = 10	27,6 ± 0,16 ^b	28,7 ± 0,28 ^b	6,1 ± 0,18 ^b	6,8 ± 0,18 ^{bc}	-	-

¹Các giá trị thể hiện trên bảng là số trung bình ± độ lệch chuẩn (n = 3). ^{a-c}Các giá trị trên cùng một cột có chữ cái khác nhau thì sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (Duncan test, P < 0,05). Ở giá trị pH = 3; 9; 10 cá chết 100% sau 05 ngày thí nghiệm.

tương đối tốt hơn. Zaniboni-Filho & ctv. (2002) nhận thấy giới hạn chịu đựng giá trị pH thấp của cá *Prochilodus lineatus* là khoảng 3,6 – 3,7. Theo Nguyen (2004) thì giới hạn chịu đựng pH thấp của cá chép là 3,5 – 4,6. Đối với cá nược vằn thì giới hạn chịu đựng pH thấp là 3,9 (Zahangir & ctv., 2015), cá thác lác còn là 3,5 – 4,5 (La, 2012). Theo Boyd (1998), ở môi trường pH = 9 – 11 thì sinh trưởng và sinh sản của cá giảm, pH = 4 – 5 cá sẽ không sinh sản. Giá trị pH = 4 và pH = 11 được xem là điểm chết acid và bazơ.

3.3. Ảnh hưởng của pH nước lên một số chỉ tiêu sinh lý máu của cá chột bông

3.3.1. Biến động số lượng hồng cầu

Sự biến động số lượng hồng cầu của cá qua các đợt thu mẫu thể hiện qua Bảng 2.

Số lượng hồng cầu của cá trước khi bố trí thí nghiệm ở tất cả các nghiệm thức dao động trung bình là $1,21 \times 10^6$ tb/mm³. Số lượng hồng cầu của cá khác biệt không đáng kể qua các đợt lấy mẫu, dao động từ $0,79 \times 10^6$ đến $3,13 \times 10^6$ tb/mm³. Từ kết quả này, chúng tôi nhận thấy rằng, sự biến động số lượng hồng cầu của cá chột bông cũng phù hợp với kết quả nghiên cứu của Glomski & Pica (2006) (Do & Nguyen, 2010) khi theo dõi sự biến động số lượng hồng cầu ở cá nước ngọt ($1 - 3,5 \times 10^6$ tb/mm³).

Sau 6 giờ, số lượng hồng cầu đạt cao nhất tại nghiệm thức pH = 8 ($1,77 \times 10^6$ tb/mm³), khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các nghiệm thức pH = 5, 9 và 10 ($P < 0,05$). Cũng tại pH = 5, 9 và 10, số lượng hồng cầu có giảm so với thời điểm trước khi bố trí thí nghiệm. Tại thời điểm 1 ngày sau thí nghiệm, mật độ hồng cầu tăng nhanh tại các nghiệm thức pH = 3, 9 và 10, đạt cao nhất tại nghiệm thức pH = 3 ($1,87 \times 10^6$ tb/mm³), khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$) so với các nghiệm thức pH = 4, 5, 6, 7 và 8, không khác biệt so với nghiệm thức pH = 9 và 10. Sự gia tăng về số lượng hồng cầu của cá có thể do hoạt động hô hấp gặp khó khăn dẫn đến tình trạng thiếu oxy nên cá phải đáp ứng bằng cách tăng số lượng hồng cầu để duy trì hoạt động hô hấp nhằm cung cấp oxy cho cơ thể.

Qua đợt thu mẫu lần thứ 3, số lượng hồng cầu ở hầu hết các nghiệm thức đều giảm, thấp nhất tại pH = 10 ($0,96 \times 10^6$ tb/mm³). Tuy nhiên, qua phân tích thống kê thì không có sự khác biệt so với các nghiệm thức còn lại ($P < 0,05$). Qua

Bảng 2. Số lượng hồng cầu qua các đợt thu mẫu (10^6 tb/mm³)¹

NT	6 giờ	1 ngày	3 ngày	1 tuần	2 tuần	4 tuần	6 tuần	8 tuần
pH=3	1,39 ± 0,37 ^{bc}	1,87 ± 0,50 ^c	-	-	-	-	-	-
pH=4	1,55 ± 0,20 ^c	1,23 ± 0,60 ^{ab}	1,04 ± 0,17 ^a	1,31 ± 0,12 ^a	1,18 ± 0,54 ^a	1,76 ± 0,51 ^{ab}	2,28 ± 1,30 ^{ab}	1,64 ± 0,65 ^a
pH=5	1,1 ± 0,11 ^{ab}	1,10 ± 0,46 ^{ab}	1,06 ± 0,16 ^a	1,26 ± 0,19 ^a	1,00 ± 0,39 ^a	2,05 ± 0,93 ^b	3,13 ± 1,93 ^b	1,36 ± 0,43 ^a
pH=6	1,36 ± 0,27 ^{bc}	1,04 ± 0,24 ^a	1,14 ± 0,36 ^a	1,25 ± 0,24 ^a	1,69 ± 0,17 ^b	1,70 ± 0,26 ^{ab}	1,68 ± 0,5 ^{ab}	1,55 ± 0,24 ^a
pH=7	1,43 ± 0,54 ^{bc}	1,00 ± 0,37 ^a	1,18 ± 0,47 ^a	1,20 ± 0,11 ^a	1,06 ± 0,48 ^a	1,28 ± 0,55 ^a	1,49 ± 0,78 ^a	1,65 ± 0,71 ^a
pH=8	1,77 ± 0,42 ^c	1,21 ± 0,12 ^{ab}	0,98 ± 0,31 ^a	1,27 ± 0,13 ^a	1,37 ± 0,26 ^{ab}	1,68 ± 0,40 ^{ab}	1,78 ± 0,30 ^{ab}	2,00 ± 0,23 ^a
pH=9	0,79 ± 0,26 ^a	1,56 ± 0,38 ^{abc}	1,14 ± 0,46 ^a	-	-	-	-	-
pH=10	1,03 ± 0,33 ^{ab}	1,70 ± 0,81 ^{bc}	0,96 ± 0,31 ^a	-	-	-	-	-

¹ Các giá trị thể hiện trên bảng là số trung bình ± độ lệch chuẩn (n = 3). ^{a-c} Các giá trị trên cùng một cột có chữ cái khác nhau thì sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (Duncan test, $P < 0,05$).

các đợt thu mẫu lần thứ 4, 5, 6, 7 và 8 số lượng hồng cầu có tăng hoặc giảm nhẹ nhưng khác biệt không có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức ($P < 0,05$). Số lượng hồng cầu biến động theo trạng thái sinh lý của cá, theo giới tính, theo tuổi cũng như sự biến động của các yếu tố môi trường (Do & Nguyen, 2010).

3.3.2. Biến động số lượng bạch cầu

Số lượng bạch cầu tại các nghiệm thức qua các đợt thu mẫu được thể hiện qua Bảng 3.

Số lượng bạch cầu ở cá trước khi bố trí thí nghiệm là $0,40 \times 10^5$ tb/mm³. Qua các đợt lấy mẫu, số lượng bạch cầu của cá ở các nghiệm thức dao động từ $0,41 \times 10^5$ đến $2,36 \times 10^5$ tb/mm³. Số lượng bạch cầu tổng ở các nghiệm thức tăng dần qua các đợt lấy mẫu, tăng cao nhất tại tuần thứ 4 và thứ 6 sau thí nghiệm.

Tại thời điểm lấy mẫu sau 6 giờ và sau 1 ngày thì số lượng bạch cầu tại nghiệm thức pH = 3 là cao nhất và khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$) so với các nghiệm thức còn lại.

Ở nghiệm thức pH = 4, số lượng bạch cầu tăng cao nhất tại tuần thứ 6 ($1,84 \times 10^5$ tb/mm³), và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các lần lấy mẫu tại thời điểm 6 giờ, 1 ngày, 3 ngày, 1 tuần, 2 tuần và 8 tuần. Tương tự, tại pH = 5, số lượng bạch cầu tăng cao nhất tại tuần thứ 6 ($2,36 \times 10^5$ tb/mm³), và khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$) so với các đợt lấy mẫu còn lại. Tại pH = 6, số lượng bạch cầu tăng cao nhất tại tuần thứ 4 ($1,43 \times 10^5$ tb/mm³), khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$) so với các đợt lấy mẫu còn lại. Còn tại pH = 7, số lượng bạch cầu tăng cao nhất tại tuần thứ 8 ($1,18 \times 10^5$ tb/mm³), tuy nhiên khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($P > 0,05$) so với thời điểm 4 tuần và 6 tuần. Số lượng bạch cầu tại pH = 8 tăng cao nhất ở tuần thứ 6 ($1,34 \times 10^5$ tb/mm³) nhưng khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($P > 0,05$) so với thời điểm 2 tuần, 4 tuần và 8 tuần. Tại pH = 9 và 10, tổng bạch cầu tăng nhanh sau 1 ngày bố trí thí nghiệm, sau đó giảm mạnh tại thời điểm sau 3 ngày.

Bạch cầu có liên quan đến quá trình điều hòa chức năng miễn dịch, khi sinh vật sống trong môi trường chịu ảnh hưởng của mầm bệnh hay các yếu tố stress thì cơ thể phản ứng lại bằng cách gia tăng số lượng bạch cầu để đáp ứng với stress (Dang & Nguyen, 2013). Sự gia tăng số lượng bạch cầu có thể tương quan với sự gia tăng sản xuất kháng nguyên giúp cá sống sót và phục hồi

Bảng 3. Số lượng bạch cầu qua các đợt thu mẫu (10^5 tb/mm³)¹

NT	6 giờ	1 ngày	3 ngày	1 tuần	2 tuần	4 tuần	6 tuần	8 tuần
pH=3	1,15 ± 0,4 ^b	1,59 ± 0,54 ^b	-	-	-	-	-	-
pH=4	0,68 ± 0,23 ^a	0,84 ± 0,48 ^a	0,90 ± 0,26 ^{abc}	0,91 ± 0,09 ^b	0,57 ± 0,20 ^a	1,23 ± 0,58 ^a	1,84 ± 1,21 ^a	1,04 ± 0,44 ^a
pH=5	0,41 ± 0,11 ^a	0,73 ± 0,27 ^a	0,72 ± 0,18 ^{abc}	0,74 ± 0,21 ^{ab}	0,42 ± 0,18 ^a	1,22 ± 0,83 ^a	2,36 ± 1,53 ^b	0,89 ± 0,3 ^a
pH=6	0,55 ± 0,13 ^a	0,75 ± 0,17 ^a	1,05 ± 0,33 ^c	0,60 ± 0,16 ^a	0,84 ± 0,14 ^b	1,43 ± 0,25 ^a	1,09 ± 0,43 ^a	0,97 ± 0,11 ^a
pH=7	0,47 ± 0,21 ^a	0,62 ± 0,22 ^a	0,99 ± 0,16 ^{bc}	0,60 ± 0,06 ^a	0,57 ± 0,26 ^a	0,94 ± 0,44 ^a	1,11 ± 0,41 ^a	1,18 ± 0,47 ^a
pH=8	0,65 ± 0,22 ^a	0,73 ± 0,11 ^a	0,67 ± 0,26 ^{ab}	0,76 ± 0,20 ^{ab}	1,18 ± 0,24 ^c	1,12 ± 0,34 ^a	1,34 ± 0,31 ^a	1,27 ± 0,26 ^a
pH=9	0,50 ± 0,14 ^a	1,05 ± 0,21 ^a	0,72 ± 0,34 ^{abc}	-	-	-	-	-
pH=10	0,67 ± 0,16 ^a	1,06 ± 0,63 ^a	0,58 ± 0,20 ^a	-	-	-	-	-

¹ Các giá trị thể hiện trên bảng là số trung bình ± độ lệch chuẩn (n = 3). ^{a-c} Các giá trị trên cùng một cột có chữ cái khác nhau thì sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (Duncan test, $P < 0,05$).

khi bị nhiễm độc (Joshi, 2002). Tuy nhiên, nếu không thích nghi được với điều kiện sống mới, nhân tố gây stress kéo dài sẽ làm suy giảm hệ thống miễn dịch dẫn đến giảm số lượng bạch cầu.

Sự có mặt của các loại tế bào bạch cầu có ý nghĩa vô cùng quan trọng trong quá trình đáp ứng miễn dịch của cơ thể. Ở một số loài cá có thể thiếu 1 hoặc 2 loại tế bào bạch cầu (chủ yếu là bạch cầu ưa acid và bạch cầu ưa base). Qua phân tích các chỉ tiêu sinh lý máu, chúng tôi ghi nhận được tất cả các loại tế bào bạch cầu ở cá chốt bông. Mặc dù có sự biến động qua các đợt thu mẫu, tuy nhiên kết quả phân tích thống kê không thấy sự khác biệt về tỷ lệ các loại bạch cầu giữa các nghiệm thức.

3.4. Ảnh hưởng của pH nước lên màu sắc của cá chốt bông

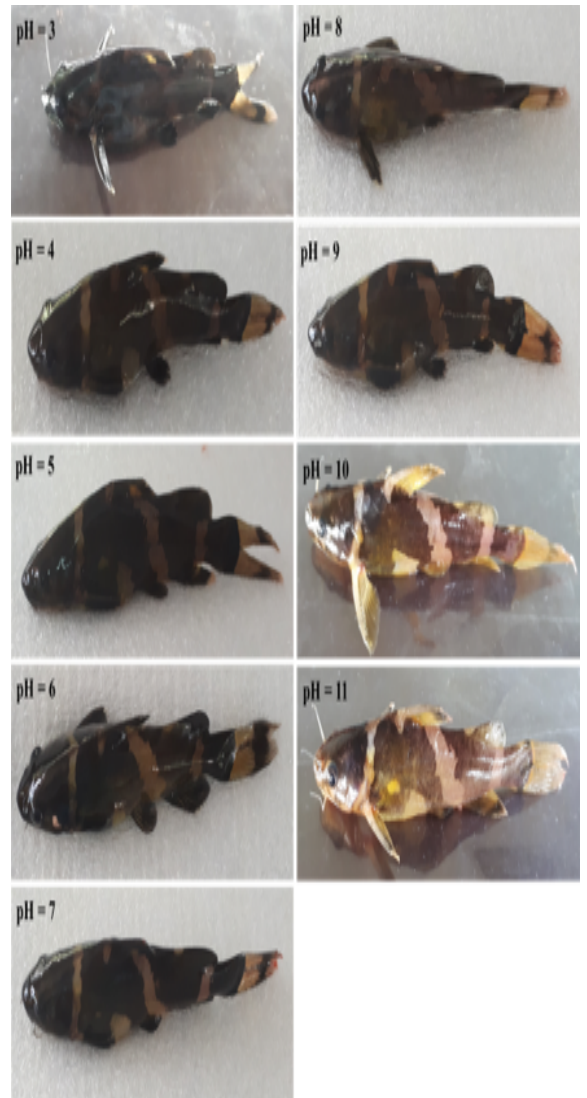
Màu sắc cá chốt bông được xác định sau 8 tuần nuôi tại các nghiệm thức có giá trị pH khác nhau bằng phương pháp sử dụng máy đo màu CR-400, đo trực tiếp trên cá tại vị trí sọc giữa thân của cá. Kết quả so màu sau 8 tuần nuôi được thể hiện qua Bảng 4 và Hình 3.

Kết quả thí nghiệm cho thấy giá trị L^* tăng dần từ nghiệm thức pH = 4 đến pH = 8 và đạt giá trị cao nhất tại nghiệm thức pH = 8 (41,67). Kết quả phân tích thống kê cho thấy có sự khác biệt có ý nghĩa ($P < 0,05$) so với các nghiệm thức khác, tuy nhiên không khác biệt so với nghiệm thức pH = 7.

Giá trị a^* giảm từ nghiệm thức có pH = 4 đến pH = 8. Giá trị a^* thấp nhất tại nghiệm thức pH = 6 (-1,72) và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức pH = 4 ($P < 0,05$). Giá trị a^* cao nhất tại nghiệm thức pH = 4 (-0,57), khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các nghiệm thức pH = 6, 7, 8. Điều đó chứng tỏ khi pH càng cao (môi trường kiềm) thì giá trị chỉ tiêu a^* nghiêng về trục màu xanh lá.

Giá trị b^* tăng dần từ nghiệm thức pH = 4 đến pH = 8. Tất cả các giá trị tại các nghiệm thức đều khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$). Từ kết quả trên có thể nhận thấy pH càng cao (môi trường kiềm) thì chỉ tiêu b^* có giá trị nghiêng về trục màu vàng.

Kết quả so màu cho thấy giá trị của các chỉ tiêu $L^*a^*b^*$ tại các nghiệm thức khác biệt có ý nghĩa thống kê. Tuy nhiên, đánh giá cảm quan bằng mắt thường chỉ nhận thấy được sự khác nhau tại các nghiệm thức ở 2 cận pH thấp (môi trường



Hình 3. Màu sắc cá chốt bông ở các giá trị pH khác nhau.

acid) và cao (môi trường base) mà ở đó cá không thể sống được. Mặt khác, tại các giá trị pH thấp thì toàn thân cá thường chỉ có 1 màu, đen hoặc nâu đen, các sọc trên thân cá thường không thấy hoặc thấy rất nhạt. Tại giá trị pH cao, các sọc trên thân cá được thể hiện khá rõ ràng, quan sát thấy các sọc màu vàng trên thân cá và rõ nhất là tại các vây, có lẽ tại các vị trí này ít bị ảnh hưởng phần cơ thịt của cá nên dưới phản chiếu của ánh sáng trong môi trường nước ta thấy tại các vây cá ánh lên màu vàng. Tuy nhiên, tại giá trị pH = 10 và 11, cá không thích nghi được với môi trường nên chết hoàn toàn trước khi kết thúc thí nghiệm.

Bảng 4. Chỉ tiêu màu sắc L*, a* và b* của cá chốt bông¹

Nghiệm thức	L*	a*	b*
pH=4	23,18 ± 1,40 ^a	-0,57 ± 0,34 ^b	2,27 ± 0,41 ^a
pH=5	33,05 ± 3,75 ^b	-1,20 ± 0,49 ^{ab}	3,89 ± 0,11 ^b
pH=6	37,64 ± 3,27 ^c	-1,72 ± 0,63 ^a	4,53 ± 0,53 ^c
pH=7	40,06 ± 1,32 ^{cd}	-1,35 ± 1,03 ^a	5,54 ± 0,43 ^d
pH=8	41,67 ± 1,00 ^d	-1,52 ± 0,40 ^a	6,42 ± 0,86 ^e

¹Các giá trị thể hiện trên bảng là số trung bình ± độ lệch chuẩn (n = 3). ^{a-e}Các giá trị trên cùng một cột có chữ cái khác nhau thì sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (Duncan test, P < 0,05).

4. Kết Luận

Giá trị pH thấp nhất và cao nhất gây chết 50% cá chốt bông trong 24 giờ là 3,04 và 9,95.

Sau 24 giờ thí nghiệm, mật độ hồng cầu và bạch cầu tăng nhanh tại các nghiệm thức pH = 3, 9 và 10, đạt cao nhất tại nghiệm thức pH = 3 ($1,87 \times 10^6$ tb/mm³ và $1,59 \times 10^5$ tb/mm³), và khác biệt có ý nghĩa thống kê (P < 0,05) so với các nghiệm thức pH = 4, 5, 6, 7 và 8. Sau 8 tuần nuôi thì số lượng hồng cầu và bạch cầu tổng tăng cao nhất tại nghiệm thức pH = 8. Tỷ lệ sống của cá ở nghiệm thức pH = 6 đạt cao nhất sau khi kết thúc thí nghiệm. Trong môi trường pH càng cao thì màu sắc cá càng sáng và nghiêng về trục vàng.

Tài Liệu Tham Khảo (References)

- Alabaster, J. S., & Lloyd, R. (1980). *Water quality criteria for freshwater fish*. London, England: Butterworth-Heinemann.
- APHA, AWWA, WEF. (1995). *Standard method for the examination of water and wastewater* (19th ed.). Washington DC, USA: American Public Health Association.
- Blaxhall, P. C., & Daisley, K. W. (1973). Routine haematological methods for use with fish blood. *Journal of Fish Biology* 5(6), 771-781.
- Boyd, C. E. (1998). *Water quality for pond aquaculture. Research and development series*. Alabama, USA: International Center for Aquaculture and Aquatic Environments.
- Boyd, C. E. (1990). *Water Quality in Ponds for Aquaculture*. Alabama, USA: Alabama Agricultural Experiment Station, Auburn University.
- Chinabut, S., Limsuwan, C., & Kitsawat, P. (1991). *Histology of the walking catfish (Clarias batrachus)*. Ottawa, Canada: International Development Research Centre.
- Dang, O. T. H., & Nguyen, K. T. (2013). Immune responses in red tilapia (*Oreochromis* sp.) vaccinated

with Aquavac Strep sa. *Can Tho University Journal of Science* 25, 11-18.

- Do, H. T. T., & Nguyen, T. V. (2010). *The issues on physiology of fish and crustacean*. Ho Chi Minh City, Vietnam: Agricultural Publishing House.
- Houston, H. A. (1990). Blood and circulation. In Schreck, C. B., & Moyle, P.B. (Eds.) *Method for fish biology* (273-322). Maryland, USA: American Fish Society Bethesda.
- Hrubec, C. T., Cardinale J. L., & Smith, S. A. (2000). Hematology and plasma chemistry reference intervals for cultured tilapia (*Oreochromis hybrid*). *Veterinary Clinical Pathology* 29(1), 7-12.
- Joshi, P. K., Harish, D., & Bose, M. (2002). Effect of lindane and malathion exposure to certain blood parameters in a fresh water teleost fish *Clarius batrachus*. *Pollution Research* 21(1), 55-57.
- La, N. A. (2012). Study some biological characteristics of knife fish (*Chitala chitala*). *Can Tho University Journal of Science* 21b, 62-67.
- Ng, H. H. (2012). *Pseudomystus siamensis*. The IUCN Red List of threatened Species 2012: e.T180973A1683895. Retrieved January 2, 2018, from <http://dx.doi.org/10.2305/T180973A1683895.en>.
- Nguyen, K. V. (2004). *The morphological, ecological and genetic characteristics of common carp (yellow carp, white carp and Hung carp) in the Mekong Delta* (Unpublished master's thesis). Can Tho University, Can Tho, Vietnam.
- Nguyen, T. V. (2012). *Aquatic Animal Physiology (Lecture)*. Retrieved February 1, 2018 from <http://www2.hcmuaf.edu.vn/contents.php?ids=7584&ur=nvantu>.
- Stefani, C. E., Louis, H. P., Victoria, E. P., & Mary, D. K. (2010). Blood sugar measurement in zebrafish reveals dynamics of glucose homeostasis. *Zebrafish* 7(2), 205-213.
- Truong, P. Q. (2006). *Water quality management in aquaculture (Textbook)*. Can Tho, Vietnam: Can Tho University.
- Vo, B. T. T., Nguyen, M. T., Nguyen, T. T. T., & Nguyen, T. V. (2017). Redescription and biological characteristics of asian bumblebee catfish (*Pseudomystus siamensis* regan, 1913). *Journal of Agricultural Science and Technology* 4, 28-37.

- Zahangir, M. M., Haque, F., Mostakim, G. M., & Islam, M. S. (2015). Secondary stress responses of zebrafish to different pH: Evaluation in a seasonal manner. *Aquaculture Reports* 2, 91-96.
- Zaniboni-Filho, E., Samira, M., Jaqueline, I. G., Lenise, V. F. S., & Bernado, B. (2002). Survival of *Prochilodus lineatus* (Valenciennes) fingerlings exposed to acute pH changes. *Acta Scientiarum* 24(4), 917-920.