

**ỦY BAN NHÂN DÂN TỈNH ĐỒNG THÁP
TRƯỜNG CAO ĐẲNG CỘNG ĐỒNG ĐỒNG THÁP**



GIÁO TRÌNH

**MÔN HỌC: SINH LÝ ĐỘNG VẬT THỦY SINH
NGÀNH, NGHỀ: NUÔI TRỒNG THỦY SẢN
TRÌNH ĐỘ: TRUNG CẤP**

(Ban hành kèm theo Quyết định Số 185/QĐ-CD-ĐT ngày 22 tháng 8 năm 2017 của Hiệu trưởng Trường Cao đẳng Cộng đồng Đồng Tháp)

Đồng Tháp, năm 2017

TUYÊN BỐ BẢN QUYỀN

Tài liệu này thuộc loại sách giáo trình nên các nguồn thông tin có thể được phép dùng nguyên bản hoặc trích dùng cho các mục đích về đào tạo và tham khảo.

Mọi mục đích khác mang tính lệch lạc hoặc sử dụng với mục đích kinh doanh thiếu lành mạnh sẽ bị nghiêm cấm.

TaiLieu.vn

LỜI GIỚI THIỆU

Giáo trình Sinh lý động vật thủy sinh được viết cho sinh viên trung cấp ngành thủy sản của trường Cao đẳng cộng đồng Đồng Tháp. Sinh lý động vật thủy sinh là môn học không thể thiếu trong chương trình học Nuôi trồng thủy sản. Động vật thủy sản bao gồm rất nhiều đối tượng trong đó hai đối tượng được chú ý nhiều là cá và giáp xác với những giá trị kinh tế nhất định mà nó mang lại. Do đó, trong giáo trình chú trọng đến sinh lý cá và giáp xác. Những kiến thức về sinh lý là nền tảng rất quan trọng cho việc sản xuất giống, kỹ thuật nuôi hay cả vấn đề về bệnh, độc tố học... trong thủy sản.

Môn học cung cấp cho sinh viên những kiến thức cơ bản về về chức năng sinh lý của các cơ quan trong cơ thể cá và giáp xác, hiểu các hoạt động sinh lý của chúng trong mối liên hệ với môi trường xung quanh, những kiến thức lý luận cơ sở trong nuôi thủy sản. Từ đó có những vận dụng vào những học phần chuyên sâu hơn hay có thể vận dụng vào thực tế sau này. Trong quá trình giảng dạy, giáo trình được cập nhật, điều chỉnh để phù hợp hơn với thực tế sản xuất và sự phát triển của nghề nuôi trồng thủy sản.

Mặc dù đã rất cố gắng để hoàn thiện giáo trình nhưng chắc chắn cũng không tránh khỏi những thiếu sót. Rất mong sự đóng góp ý kiến của quý Thầy Cô, các bạn đồng nghiệp để giáo trình được hoàn chỉnh hơn.

Đồng Tháp, ngày.....tháng ... năm 2017

Chủ biên

Lê Thị Mai Anh

MỤC LỤC

LỜI GIỚI THIỆU	ii
MỤC LỤC	iii
CHƯƠNG TRÌNH MÔN HỌC	iv
CHƯƠNG 1.....	1
SINH LÝ MÁU CÁ VÀ GIÁP XÁC.....	1
1. Đại cương về máu	1
2. Thành phần của máu	2
3. Đặc tính lý và hóa học của máu	6
4. Các loại tế bào máu	7
5. Thực hành.....	12
CHƯƠNG 2.....	16
SINH LÝ HÔ HẤP CÁ VÀ GIÁP XÁC	16
1. Một số khái niệm liên quan đến sự hô hấp.....	16
2. Cơ chế hô hấp.....	18
3. Các yếu tố ảnh hưởng đến hô hấp.....	22
4. Cơ quan hô hấp phụ của cá	25
5. Thực hành.....	27
5.1. Xác định tiêu hao oxy, ngưỡng oxy của cá tôm.....	27
5.2. Xác định khả năng chịu đựng nhiệt độ của cá tôm.	29
5.3. Xác định giá trị LC ₅₀ của một loại hoá chất lên cá tôm.	30
CHƯƠNG 3.....	32
SINH LÝ TIÊU HÓA CÁ VÀ GIÁP XÁC	32
1. Sự tiêu hóa và hấp thu của cá.....	33
2. Sự tiêu hóa và hấp thu của giáp xác	36
3. Các yếu tố ảnh hưởng đến sự tiêu hóa	38
4. Thực hành.....	39
CHƯƠNG 4.....	41
SỰ ĐIỀU HÒA ÁP SUẤT THẨM THẤU CỦA CÁ VÀ GIÁP XÁC	41
1. Cấu trúc của mang và thận	42
2. Điều hòa áp suất thẩm thấu ở lớp cá xương.....	43
3. Điều hòa áp suất thẩm thấu ở giáp xác	47
5. Thực hành.....	49
TÀI LIỆU THAM KHẢO	52

CHƯƠNG TRÌNH MÔN HỌC

Tên môn học: Sinh lý động vật thủy sinh

Mã số môn học: CNN204

Vị trí, tính chất của môn học:

- Vị trí của môn học: là môn học cơ sở bắt buộc trong chương trình Nuôi trồng thủy sản. Môn học là cơ sở cho một số môn học khác như Kỹ thuật nuôi cá nước ngọt, Kỹ thuật nuôi giáp xác, Quản lý dịch bệnh thủy sản...
- Tính chất của môn học: những kiến thức về sinh lý là nền tảng rất quan trọng cho việc sản xuất giống, kỹ thuật nuôi và cả vấn đề về bệnh học trong nuôi thủy sản.

Mục tiêu môn học:

Sau khi học xong môn học này sinh viên được trang bị:

- Về kiến thức: những kiến thức cơ bản về về chức năng sinh lý của các cơ quan trong cơ thể cá và giáp xác, hiểu các hoạt động sinh lý của các cơ quan trong mối liên hệ với môi trường xung quanh.
- Về kỹ năng: xác định nhu cầu oxy, ngưỡng oxy, ngưỡng độ mặn, ngưỡng nhiệt độ của tôm cá. Thực hiện được các phương pháp phân tích số lượng các tế bào máu tôm cá.
- Về năng lực tự chủ và trách nhiệm: có năng lực tự làm việc độc lập và chịu trách nhiệm với công việc liên quan đến nội dung sinh lý động vật thủy sinh.

III. Nội dung môn học :

1. Nội dung tổng quát và phân bổ thời gian:

Số TT	Tên chương mục	Thời gian			
		Tổng số	Lý thuyết	Thực hành Bài tập	Kiểm tra* (LT hoặc TH)
1	Chương 1: Sinh lý máu cá và giáp xác 1. Đại cương về máu 2. Thành phần của máu 3. Đặc tính lý và hóa học của máu 4. Các loại tế bào máu	16	4	12	
2	Chương 2: Sinh lý hô hấp	18	4	13	1TH

	cá và giáp xác 1. Một số khái niệm liên quan đến sự hô hấp 2. Cơ chế hô hấp 3. Các yếu tố ảnh hưởng đến hô hấp 4. Cơ quan hô hấp phụ				
3	Chương 3: Sinh lý tiêu hóa cá và giáp xác 1. Sự tiêu hóa 2. Sự hấp thu 3. Các yếu tố ảnh hưởng đến sự tiêu hóa	3	3		
4	Chương 4: Sự điều hòa áp suất thẩm thấu của cá và giáp xác 1. Cấu trúc của mang và thận 2. Điều hòa áp suất thẩm thấu ở lớp cá xương 3. Điều hòa áp suất thẩm thấu ở giáp xác	8	3	4	1LT
	Cộng	45	14	29	2

CHƯƠNG 1

SINH LÝ MÁU CÁ VÀ GIÁP XÁC

MH12-01

Giới thiệu:

Máu cá và giáp xác giữ nhiều chức năng sinh lý quan trọng cho cơ thể. Bài 2 trình bày các đặc điểm, chức năng, các yếu tố ảnh hưởng đến máu cũng như các nghiên cứu liên quan đến sinh lý máu cá và giáp xác.

Mục tiêu:

- Kiến thức: trình bày được vai trò, cấu tạo, chức năng của máu trong cơ thể cá tôm.

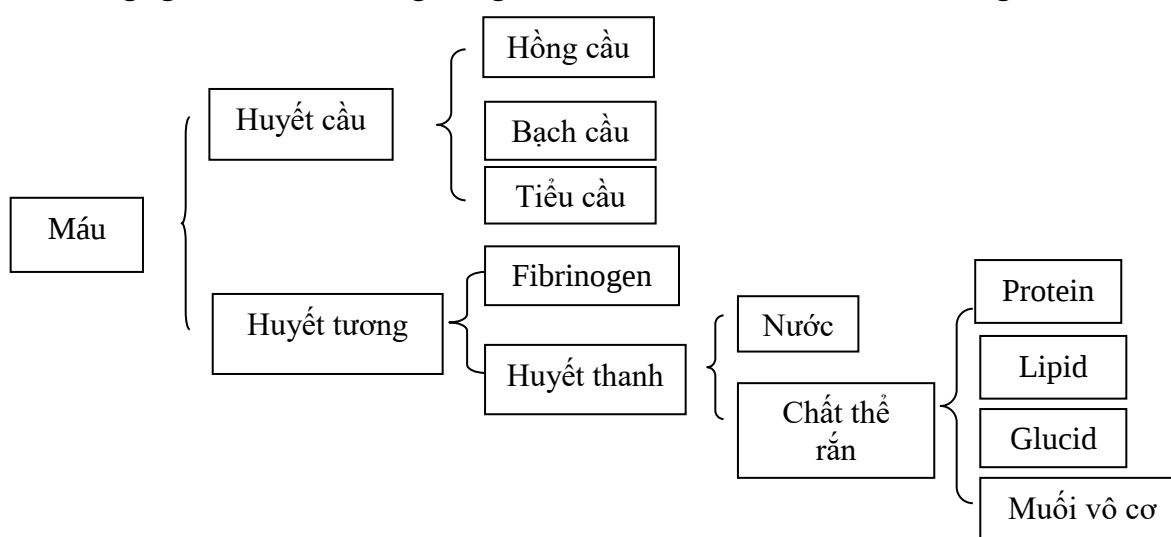
- Kỹ năng: nhận dạng được các tế bào máu, phân tích đúng số lượng tế bào máu cá tôm, vận dụng vào việc chẩn đoán một số bệnh, nghiên cứu về hệ miễn dịch của tôm cá.

- Năng lực tự chủ và trách nhiệm: có năng lực tự làm việc độc lập và làm việc nhóm.

1. Đại cương về máu

1.1. Cấu tạo máu cá

Máu là chất dịch nằm ngoài tế bào lưu thông trong mạch quản. Ở cá, máu là một tổ chức lỏng, màu đỏ, vận chuyển trong hệ thống huyết quản. Máu là thành phần quan trọng nhất của môi trường bên trong cơ thể và đảm nhận nhiều chức năng sinh lý khác nhau, góp phần điều tiết một cách chính xác nội môi trường, giữ cho hoạt động sống của cơ thể luôn luôn bình thường.



Hình 2.1: Sơ đồ cấu tạo máu cá (Hương và Tư, 2010)

Số lượng máu trong cơ thể cá ít hơn so với máu ở động vật bậc cao vì năng lượng tiêu hao cho quá trình trao đổi chất của cá ít hơn so với động vật bậc cao.

Lượng máu trong cơ thể một phân tuần hoàn trong tim và mao quản, phần còn lại được dự trữ trong các kho chứa máu. Lượng máu tuần hoàn chiếm khoảng 50% song tỉ lệ này luôn luôn thay đổi tùy thuộc vào trạng thái sinh lý của cơ thể: lúc bình thường máu tích trữ tăng để giảm bớt gánh nặng cho tim, khi vận động thì máu tích trữ đi vào hệ thống tuần hoàn để đảm bảo nhu cầu năng lượng cho cơ thể. Ở động vật hữu nhũ số lượng máu là 7,8% so với trọng lượng cơ thể, chim: 7,7%, ếch: 6,4-8,2%, thỏ: 5,45%, lợn: 4,6%.

Tỉ lệ máu cá thay đổi theo loài, trung bình khoảng 2,7%, cá nước ngọt biến động trong khoảng 1,8-4,1%, cá biển lượng máu dao động từ 1,9-7,3% trọng lượng cơ thể. Có nhiều yếu tố ảnh hưởng đến số lượng máu trong cơ thể cá như phương thức sống và trạng thái sinh lý của cá: cá hoạt động nhanh nhẹn có số lượng máu nhiều hơn cá ít hoạt động. Thể tích máu gia tăng theo tuổi và giai đoạn thành thực sinh dục. Thể tích máu cá đực thường cao hơn cá cái. Điều kiện sống cũng ảnh hưởng đến lượng máu của cá: cá tầm *Acipenser ruthenus* sống ở sông hoặc hồ có điều kiện sống tốt (dinh dưỡng tốt) thì lượng máu nhiều hơn so với những cá thể cùng loài sống ở ao hồ có điều kiện sống kém (dinh dưỡng kém).

1.2. Cấu tạo máu giáp xác

Theo Hương và Tư (2010), máu của giáp xác có nhiều đặc điểm khác biệt so với máu cá. Máu của giáp xác không có chất dịch trung gian, máu sẽ đi vào trong tiếp xúc trực tiếp với mô. Chức năng của máu là liên kết chức năng của chất dịch trong và chất dịch tuần hoàn gọi là dịch máu. Dịch máu là thành phần chất lỏng trong hệ thống tuần hoàn của giáp xác và của cả nhuyễn thể, thành phần bao gồm nước, chất đạm, mỡ, đường, hormon và các ion. Một đặc điểm khác biệt nữa ở máu giáp xác so với máu cá là trong cấu tạo nhân hồng cầu của giáp xác là chất hemocyanin (thay vì hemoglobin như ở cá). Do vậy, máu giáp xác không phải có màu đỏ mà là màu xanh nhạt.

Ở giáp xác, thể tích dịch máu cũng khác nhau theo loài. Thể tích tương đối của dịch máu gia tăng cùng với sự gia tăng kích thước cơ thể. Thể tích dịch máu cũng thay đổi trong một chu kỳ lột xác, thể tích máu sẽ có giá trị cực đại sau thời điểm lột xác và giảm dần ở các giai đoạn sau. Lượng máu của giáp xác ổn định ở giai đoạn gian lột xác.

2. Thành phần của máu

2.1. Thành phần hóa học của máu

Thành phần hóa học của máu bao gồm nước, protein, glucid, lipid, các muối vô cơ và các chất bài tiết từ quá trình trao đổi chất.

a. Nước

Nước là thành phần có tỉ lệ lớn nhất trong máu chiếm tới 80%, trong huyết tương nước chiếm tới 90-92%. Nước đảm bảo cho máu lưu thông trong mạch quản, khi bị mất nước nhiều sẽ làm máu đặc quánh lại, quá trình trao đổi chất sẽ ngưng trệ.

b. Protein

Protein là thành phần chủ yếu trong chất khô của huyết tương. Các nghiên cứu cho thấy rằng protein trong máu cá biến động rất lớn theo loài hay cả một cá thể. Trong thành phần protein của máu có 3 nhóm chính: albumin, globulin và fibrinogen.

+ Fibrinogen: là một protein được tổng hợp tại gan, tham gia vào quá trình đông máu. Fibrinogen bị phân giải bởi enzyme thrombin thành fibrin trong quá trình đông máu.

+ Albumin: là loại protein huyết tương phổ biến nhất và là yếu tố chính gây ra áp suất thẩm thấu của máu. Các chất chỉ hòa tan một phần hoặc không hòa tan trong nước (lipid, hormon) được vận chuyển trong huyết tương bằng cách liên kết với albumin.

+ Globulin: là một dạng protein hình cầu, có khối lượng phân tử và độ hòa tan trong nước cao hơn so với albumin. Một phần globulin được tạo ra trong gan, một phần tạo ra từ hệ miễn dịch.

Số lượng protein trong huyết thanh của cá thay đổi từ 2,5-7mg% trong khi ở máu người thành phần protein thay đổi từ 7,5-8,5mg% cho thấy lượng protein trong huyết thanh trong máu cá thấp hơn ở người. Một vài nghiên cứu cho thấy lượng protein trong huyết thanh thay đổi phụ thuộc vào điều kiện dinh dưỡng của cá. Ví dụ: cá chép được nuôi trong ao có thức ăn tự nhiên phong phú thì lượng protein trong máu là cao hơn cá chép được nuôi một phần bằng thức ăn tự nhiên và nhân tạo.

Hàm lượng protein trong máu cá còn thay đổi theo mùa vụ. Ví dụ: cá chép 1 tuổi sống ở vùng ôn đới qua mùa đông protein huyết thanh giảm từ 3,8% còn 2,7%, albumin hầu như mất hết. Qua một thời gian bắt mỗi bình thường hàm lượng protein huyết thanh dần dần được khôi phục.

Protein trong máu có các vai trò sau đây:

- duy trì áp suất thẩm thấu cho máu, còn gọi là áp suất thể keo.

- tham gia vào hệ đệm của máu (Hb).
- đóng vai trò quan trọng trong quá trình đông máu (fibrinogen),
- là nơi tạo ra những kháng thể bảo vệ cơ thể: globulin, kháng thể chống lại sự xâm nhập của vi trùng, virus.

Protein huyết tương trong cơ thể luôn luôn bị phân giải và không ngừng được tổng hợp và trực tiếp tham gia vào quá trình trao đổi chất của cơ thể.

c. Nitơ phi protein

Đó là những sản phẩm trung gian và sản phẩm cuối cùng của quá trình trao đổi chất protein.

- Ammonia (NH_3): là một vật chất độc, có nồng độ thấp trong máu phần lớn động vật. Nồng độ ammonia trong máu cá cao hơn động vật hữu nhũ nhưng nhỏ hơn 0,1 mg/100mL. Phần lớn cá xương nước ngọt có sản phẩm bài tiết là NH_3 nên được gọi là động vật ammonoteric.

- Urea ($\text{CO}(\text{NH}_2)_2$): là một chất ít độc, nó được tạo thành từ NH_3 và hòa tan trong nước nhiều hơn NH_3 . Cá sụn có sản phẩm bài tiết là urea nên được gọi là động vật ureotetic. Một số cá xương cũng bài tiết lượng lớn urea. Các loài cá biển có nồng độ urea máu 2–2,5%, cao hơn các loài cá nước ngọt 1%. Sỡ dĩ các loài cá sụn biển có nồng độ urea máu cao là để duy trì áp suất thẩm thấu của máu cao hơn môi trường của chúng.

- TMAO (Trimethylamine oxide): là một chất hòa tan không độc. Ở một số cá biển nó được bài tiết chiếm lên 1/3 lượng nitơ của chúng. TMAO ở cá biển cao hơn cá nước ngọt. .

d. Glucid

Đường trong huyết tương chủ yếu ở dạng glucose. Glucose là carbohydrat giữ vai trò quan trọng trong quy trình cung cấp năng lượng sinh học cho động vật. Hàm lượng glucose của cá có giá trị thường thấp hơn so với nhóm động vật có xương sống bậc cao, trung bình 3,55 mM và rất khác biệt giữa các loài cá với nhau. Hàm lượng đường trong máu cá thay đổi tùy theo trạng thái sinh lý của cá như cá tăng vận động thì lượng đường trong máu tăng lên. Điều kiện môi trường ngoài không thuận lợi như thiếu oxy, chấn thương do hoạt động cơ học, nuôi với mật độ cao... cũng làm tăng lượng đường trong máu. Một số nghiên cứu cho thấy hàm lượng đường trong máu cá phụ thuộc vào giới tính (cá đực cao hơn cá cái) và sự thành thực sinh dục của cá. Ở các loài tôm cá hàm lượng đường trong máu sau khi ăn thức ăn giàu tinh bột hay giàu glucose thì hàm lượng đường tăng lên rất cao và kéo dài rất lâu mới trở về trạng thái bình thường.

e. Cholesterol

Hàm lượng cholesterol cao nhất không vượt quá 200 mg%. Khi lưu giữ cá trong điều kiện nhân tạo ở các bể xi măng và khi quan sát thấy tuyến sinh dục của cá đang trong giai đoạn thoái hóa thì đồng thời lượng cholesterol trong máu cá gia tăng đáng kể. Trong quá trình chín của tuyến sinh dục hàm lượng cholesterol trong máu giảm thấp rất nhiều. Theo sự thoái hóa của tuyến sinh dục, lipid sẽ tham gia vào quá trình trao đổi chất của các mô, nên lượng cholesterol trong máu tăng lên. Điều này khẳng định khi hàm lượng cholesterol trong máu ở các cá thể trưởng thành gia tăng đó chính là dấu hiệu của sự thoái hóa tuyến sinh dục.

f. Các chất vô cơ

Trong máu cá gồm có một số cation chủ yếu như Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} và thường hay kết hợp với một số anion như Cl^- , CO_3^{2-} , PO_4^{3-} trong đó muối NaCl chiếm đến 86–95%. Muối trong máu cá là thành phần tạo nên nồng độ thẩm thấu của máu. Các ion Na^+ , K^+ cần cho sự hưng phấn của hệ thần kinh, co bóp cơ, nhất là cơ tim; Ca^{2+} cần cho việc tạo xương cũng như trong quá trình đông máu. Số lượng các muối vô cơ tổng cộng thay đổi từ 1,3–1,8%. Hàm lượng và tỉ lệ muối trong máu khác nhau tùy theo loài, giữa cá đực và cá cái của cùng một loài cũng không giống nhau và thay đổi theo chu kỳ đời sống và trạng thái sinh lí cơ thể.

2.2. Chức năng của máu

Vai trò sinh lí của máu được thể hiện qua các chức năng sau:

a. Chức năng vận chuyển: vận chuyển chất dinh dưỡng, chất thải, O_2 , CO_2 , sản phẩm của tuyến nội tiết.

- Vận chuyển chất dinh dưỡng cung cấp cho tế bào và tổ chức mô. Các chất dinh dưỡng sau khi được hấp thụ từ con đường tiêu hóa sẽ được máu dẫn đến các tổ chức trong cơ thể cung cấp cho tế bào.

- Vận chuyển sản phẩm trao đổi chất từ tế bào và tổ chức đến cơ quan bài tiết. Trong quá trình trao đổi chất sẽ sinh ra sản phẩm thừa, có hại cho cơ thể, những sản phẩm này được máu chuyển đến cơ quan bài tiết thải ra ngoài cơ thể.

- Vận chuyển O_2 và CO_2 : O_2 vào máu thông qua cơ quan hô hấp, theo máu tỏa đi khắp nơi trên cơ thể cung cấp cho hoạt động tế bào. CO_2 do tế bào thải ra theo máu đến mang rồi đến cơ quan bài tiết thải ra ngoài.

- Vận chuyển hormon: sản phẩm của tuyến nội tiết là hormon sẽ được đưa trực tiếp vào máu, theo con đường tuần hoàn máu đi đến cơ quan cần tác dụng.

b. Chức năng điều hòa thể dịch: máu dẫn truyền các hormon do tuyến nội tiết sản xuất đến các cơ quan chịu tác dụng, tác động lên cơ quan đồng thời làm thay đổi sự hoạt động của chúng, góp phần thực hiện quá trình điều tiết thần kinh - thể dịch đối với chức năng cơ thể.

c. Chức năng bảo vệ cơ thể: bạch cầu của máu có khả năng thực bào các vi khuẩn và vật lạ khác xâm nhập vào cơ thể. Ngoài ra trong máu còn có các kháng thể chống lại độc tố do vi khuẩn sinh ra.

d. Chức năng duy trì môi trường trong: máu có đặc tính lí hóa học tương đối ổn định như pH, áp suất thẩm thấu, nhiệt độ, nồng độ các ion tự do ... bảo đảm điều kiện lí hóa thích hợp cho hoạt động sống của cơ thể.

3. Đặc tính lý và hóa học của máu

a. Tỉ trọng của máu cá

Tỉ trọng của máu cá thay đổi theo số lượng tế bào của nó, chủ yếu là hồng cầu. Số lượng hồng cầu càng nhiều thì tỉ trọng của máu càng lớn. Tỉ trọng của cá được ước tính khoảng 1,035 biến động từ 1,032-1,051, ở máu cá biển là 1,022-1,029.

b. Độ quán tính (tính nội ma sát)

Độ quán tính do các vật chất thể keo trong máu tạo nên. Độ quán tính biểu thị lực ma sát giữa các phân tử khi máu lưu động. Độ quán tính của máu cá dao động từ 1,49-1,83 và được quyết định bởi hai yếu tố: số lượng hồng cầu và hàm lượng protein của huyết tương. Trong đó, nhân tố hồng cầu có vai trò quan trọng hơn, khi hồng cầu tăng tính nội ma sát cũng tăng.

c. pH và các hệ đệm

Độ pH của máu cá cũng là một chỉ tiêu sinh lý quan trọng phản ánh trạng thái sinh lý của cơ thể và sự biến động của môi trường sống của cá. pH của máu lệ thuộc vào tỷ lệ ion H^+ và OH^- trong máu. pH máu cá trong khoảng 7.25 - 7.6.

Độ pH của máu cá biến đổi phụ thuộc vào nhiều yếu tố bên trong cơ thể và điều kiện môi trường sống, tuy nhiên sự biến đổi này rất ít. Yếu tố đảm bảo cho sự ổn định của pH máu là các hệ đệm của máu. Hệ đệm gồm có một acid yếu và muối kim loại kiềm mạnh của acid đó. Trong máu cá có thể tìm thấy các hệ đệm như protein, phosphate, bicarbonate.

Ngoài ra, sự ổn định của pH trong máu còn được duy trì bởi tác dụng của hệ thống thần kinh trung ương, cơ quan hô hấp và bài tiết của thận.

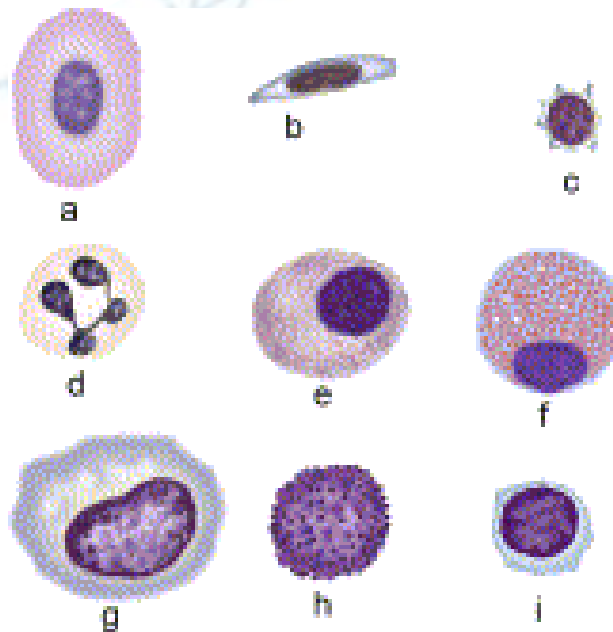
d. Áp suất thẩm thấu

Áp suất thẩm thấu của máu do các muối trong máu tạo nên, nhưng chủ yếu là muối NaCl. Nồng độ dung dịch càng cao thì áp suất thẩm thấu càng lớn. Các loại cá khác nhau có áp suất thẩm thấu không giống nhau. Nhìn chung, cá sụn có áp suất thẩm thấu của máu cao hơn cá xương, cá biển có áp suất thẩm thấu của máu cao hơn cá nước ngọt.

Áp suất thẩm thấu của máu ổn định sẽ đảm bảo cho quá trình trao đổi nước của tế bào và các thành phần hữu hình của máu duy trì hình dạng của tế bào máu.

Áp suất thẩm thấu của máu tương đối ổn định. Tuy nhiên trong phạm vi không nguy hại đến cơ thể, nó cũng thay đổi theo áp suất thẩm thấu của môi trường. Khi áp suất thẩm thấu của môi trường tăng lên thì áp suất thẩm thấu của máu cũng tăng lên và ngược lại.

4. Các loại tế bào máu



Hình 2.2: Các tế bào máu cá (Nguồn: Claver và Quaglia, 2009)

(a): hồng cầu, (b): tiểu cầu, (c): hồng cầu bị nhiễm xạ

(d,e,f,g,h,i): bạch cầu

4.1. Hồng cầu

a. Hình thái

Hồng cầu là loại huyết cầu có số lượng nhiều nhất trong các tế bào máu. Hồng cầu ở cá trưởng thành phần lớn hình bầu dục. Hồng cầu của cá có nhân, hai mặt lõm ra (tương tự hồng cầu của chim, bò sát và lưỡng cư nhưng khác hồng cầu của động vật hữu nhũ hình tròn đẹp, không nhân và có 2 mặt lõm vào). Do

có nhân nên hồng cầu của cá có mức độ trao đổi chất cao, tiêu hao lượng oxy lớn.

b. Kích thước

Kích thước hồng cầu có chiều dài trong khoảng 10 – 14 μm và chiều ngang khoảng 8 – 9 μm . Tùy từng giống loài khác nhau mà kích thước hồng cầu khác nhau. Kích thước hồng cầu cũng thay đổi theo tuổi cá. Động vật tiến hóa càng cao thì kích thước hồng cầu càng nhỏ.

c. Số lượng

Số lượng hồng cầu của cá trung bình là 1 - 4 triệu tb/mm^3 máu. Ở cá nước ngọt dao động từ 1 – 3.5 triệu tb/mm^3 máu, cá biển từ 1 – 4 triệu tb/mm^3 máu. Trong điều kiện bình thường, số lượng hồng cầu của mỗi loài cá là ổn định, nó phản ánh tập tính sống, tính ăn của cá. Một số nhân tố ảnh hưởng đến sự biến động về số lượng hồng cầu:

- + hoạt động của cá (cá bơi lội nhanh, hoạt động mạnh số lượng hồng cầu cao).
- + tuổi cá (gia tăng theo tuổi).
- + giới tính (ở con đực số lượng hồng cầu thường cao hơn con cái).
- + thời kì thành thực tuyến sinh dục (số lượng hồng cầu gia tăng) và khi sinh sản số lượng hồng cầu giảm thấp.
- + tuyến sinh dục bị thoái hóa, số lượng hồng cầu trong máu giảm thấp.
- + thay đổi theo mùa trong năm.
- + thức ăn.
- + các yếu tố trong môi trường nước.
- + tình trạng sức khỏe của cơ thể cá.

d. Chức năng

Chức năng chủ yếu của hồng cầu là vận chuyển O_2 từ mang tới các cơ quan và góp phần vận chuyển CO_2 từ các cơ quan đến mang (chức năng hô hấp). Ngoài ra, hồng cầu còn tham gia duy trì thành phần các ion của máu và điều hòa pH máu. Màng hồng cầu có tính đàn hồi do đó dễ thay đổi hình dạng, đặc tính này giúp hồng cầu theo máu qua được những mao mạch có kích thước nhỏ hơn kích thước hồng cầu.

e. Hemoglobin (Hb)

Trong hồng cầu có huyết cầu tố Hb, chiếm 90% vật chất khô có khả năng vận chuyển khí O_2 và CO_2 . Tuy nhiên chỉ khi Hb tồn tại bên trong hồng cầu thì mới có tác dụng, khi hồng cầu vỡ ra, Hb đi vào huyết tương sẽ bị phân giải hóa học nhanh chóng.

Hb chiếm 90% trọng lượng chất khô của hồng cầu và làm cho hồng cầu có màu đỏ. Hb là một protein phức tạp gồm một phân tử globin (96%) kết hợp với 4 phân tử Heme (4%). Globin có bản chất là một protein nên mang bản chất đặc trưng cho từng loài.

Hàm lượng Hb thường được biểu thị bằng % hay số gr Hb có trong 100mL máu (g%). Hàm lượng Hb của các loài cá xương trong khoảng 4–14,7 g%. Hàm lượng Hb của cá xương biển có liên quan đến tập tính vận động của cá: những cá hoạt động nhiều có hàm lượng Hb cao, những loài cá ít hoạt động sống ở đáy có hàm lượng Hb thấp. Quan hệ giữa hàm lượng Hb và tính hoạt động của cá nước ngọt không rõ ràng. Tuy nhiên hàm lượng Hb của cá nước ngọt biểu hiện sự khác nhau rõ rệt theo phái tính: cá đực luôn luôn có hàm lượng Hb cao hơn cá cái. Cá trưởng thành có hàm lượng Hb cao hơn cá nhỏ. Cá sống ở vùng nước thiếu oxy thì có lượng Hb cao hơn cá sống ở vùng giàu oxy, cá có cơ quan hô hấp phụ thở bằng khí trời có hàm lượng Hb cao hơn cá thở bằng oxy trong nước. Ngoài ra hàm lượng Hb còn liên quan tới độ thành thực của tuyến sinh dục, tức là hàm lượng Hb sẽ tăng theo sự thành thực của tuyến sinh dục.

4.2. Bạch cầu

a Các loại bạch cầu

Bạch cầu được phân biệt bằng các tiêu chuẩn về kích thước, hình dáng, cấu trúc của nhân và các hạt bắt màu thuốc nhuộm trong tế bào chất.

+ Bạch cầu không hạt: nhân không chia thành múi, trong nguyên sinh chất không có hạt bắt màu. Bao gồm hai loại là một nhân (monocyte) và nhiều nhân (lymphocyte).

+ Bạch cầu có hạt: nguyên sinh chất có nhiều hạt bắt màu, nhân chia thành nhiều thùy. Ở nhóm này có thể chia ra các tế bào như sau:

- Bạch cầu có hạt ưa acid
- Bạch cầu trung tính
- Bạch cầu có hạt ưa base

Đối với cá, có cả hai loại bạch cầu không hạt và bạch cầu có hạt. Bạch cầu có hạt thường rất hiếm, trong đó bạch cầu ưa acid thường thấy nhất, còn bạch cầu ưa base và trung tính rất ít.

b. Số lượng bạch cầu

Bạch cầu trong máu cá có số lượng ít hơn hồng cầu khoảng từ 10–100 lần. Số lượng bạch cầu ở mỗi loài cá thì rất khác nhau từ 10.000 - 90.000 bạch cầu/mm³ máu. Số lượng bạch cầu biến đổi phụ thuộc vào các yếu tố như tuổi, tình trạng dinh dưỡng, nhiệt độ nước, độ thành thục của tuyến sinh dục, bệnh lý....

c. Chức năng của bạch cầu

Chức năng chính của bạch cầu là bảo vệ cơ thể. Bạch cầu có khả năng chống lại sự xâm nhập của vi khuẩn vào máu, thực bào các chất ngoại lai và các tế bào chết trong cơ thể. Bạch cầu trung tính có khả năng thực bào các vật có kích thước nhỏ như vi khuẩn và có khả năng di chuyển xuyên qua các mao mạch, có chuyển động định hướng đến những nơi bị viêm nhiễm. Những chỗ bị viêm nhiễm bạch cầu tập trung nhiều nhất. Khi gặp vi khuẩn, bạch cầu mọc ra những giả túc bao lấy vật lạ rồi tiết ra các men tiêu hủy chúng, gọi là hiện tượng thực bào. Thực bào là quá trình thủy phân do tác dụng của men hydroxylaza có trong bạch cầu. Hiện tượng thực bào cũng giúp cho cơ thể hấp thu được một phần dinh dưỡng. Bạch cầu ưa acid có khả năng làm mất độc tố của vi khuẩn và các protein lạ, khả năng thực bào yếu. Bạch cầu ưa base hiện diện với một tỉ lệ thấp trong máu, không có khả năng vận động và thực bào. Bạch cầu không hạt một nhân có khả năng thực bào, các bạch cầu không hạt đa nhân có khả năng miễn dịch. Các bạch cầu không hạt sản xuất ra các kháng thể globulin, đây là một kháng thể chống vi trùng rất mạnh (Tiến, 2010).

Chức năng thứ hai cũng khá quan trọng của bạch cầu là tạo ra hệ miễn dịch cho cơ thể. Sản xuất ra kháng thể là quá trình xảy ra trong lymphocyte để đáp ứng đối với việc xâm nhập của các vi khuẩn vào cơ thể. Ở cá, thể bổ sung được sản xuất từ các protein globulin trong máu và không chuyên biệt. Việc sản xuất kháng thể xảy ra phần lớn ở tỳ tạng và phần đầu của thận, tuy nhiên về nguyên tắc kháng thể có thể được sản xuất ở bất cứ nơi nào có sự tập trung lymphocyte. Hiện nay việc tiêm vaccin ở cá đã được thử nghiệm với những thành công nhất định. Tiêm vaccin vào xoang thân, dưới da và trong cơ cho hiệu quả kém hơn so với tiêm vào không gian các cơ trên trục và các gai thần kinh cột sống ở giữa lưng.

Ngoài tác dụng bảo vệ cơ thể và miễn dịch, bạch cầu ở cá còn tham gia vào quá trình rụng trứng và tiêu hóa thức ăn. Khi trứng thành thục thì số lượng bạch cầu tăng lên rõ rệt, tập trung nhiều ở các mạch máu phân bố trên buồng trứng. Bạch cầu có thể chui vào màng follicul của tế bào trứng, làm cho tế bào xộp hơn, sau đó bạch cầu phân tiết ra các men phân giải protein làm cho các

protein ở kẽ tế bào follicul bị lỏng lẻo, cùng với các cơ chế khác sẽ làm cho tế bào trứng thoát khỏi màng follicul và rụng. Bên cạnh đó khi cá ăn no, tại các mạch máu ở ruột tập trung nhiều bạch cầu, chúng tiết ra men phân giải protein, glucid, lipid thành những chất đơn giản mà cơ thể hấp thu được.

Đối với giáp xác: không có đáp ứng miễn dịch đặc hiệu mà chỉ có đáp ứng để bảo vệ cơ thể tồn tại được trong tự nhiên. Đáp ứng được thực hiện chủ yếu bởi các phương pháp: các tế bào máu chuyên hoá (đại thực bào), sản sinh các chất kháng hay diệt khuẩn, khả năng hình thành khối u, khả năng phong tỏa, hệ thống Phenoloxydase (ProPO) làm cho tôm có nhiều đốm đen trên vỏ.

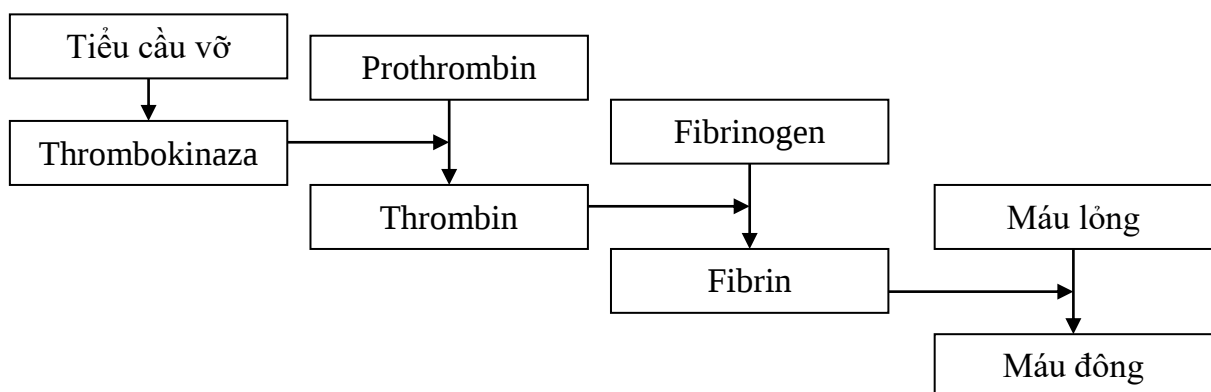
Bảng 2.1: Các dạng bạch cầu ở giáp xác (Nguồn: Oanh, 2011)

Bạch cầu	Chức năng			
	Thực bào	Phong tỏa	Độc tế bào	Hoạt hóa ProPO
Không hạt	Có	Không	Chưa biết	Không
Bán hạt	Hạn chế	Có	Có	Có
Có hạt	Không	Rất hạn chế	Có	Có

4.3. Tiểu cầu

- Là những tế bào nhỏ, nhân chiếm chủ yếu thể tích tế bào, kích thước chỉ bằng nhân của hồng cầu.

- Chức năng chính của tiểu cầu là giải phóng chất thromboplastin (thrombokinaza) để gây đông máu. Tiểu cầu còn có đặc tính kết dính nhờ vậy mà góp phần đóng miệng các vết thương lại.



Hình 2.3: Sơ đồ đông máu (Nguồn: Hương và Tư, 2010)

5. Thực hành

5.1. Pha hóa chất chuẩn bị xác định số lượng hồng cầu, bạch cầu.

a. Hóa chất phân tích hồng cầu:

Chuẩn bị hóa chất như sau:

- NaCl: 3.88g
- NaSO₄: 2.5 g
- Na₂HPO₄. 12H₂O: 2.91 g
- KH₂PO₄: 0.25 g
- Formol 37%: 7.5 ml
- Methyl violet: 0.1 g

Hòa tan các chất trên trong nước cất, định mức trong 1000 ml nước cất, bảo quản trong tủ mát. Trước khi sử dụng lọc qua giấy lọc.

b. Hóa chất phân tích bạch cầu:

•Thuốc nhuộm Wright stain

- Wright: 0.5 g + Methyl alcohol: 300 ml (Methanol)

•Thuốc nhuộm Giensa (dạng nước, pha loãng 2 lần để sử dụng)

•Dung dịch pH 6.2 – 6.8

- NaH₂PO₄.2H₂O: 35.9 g + H₂O định mức 1000 ml (a)
- Na₂HPO₄.12H₂O: 71.6 g + H₂O định mức 1000 ml (b)

Pha a và b theo tỉ lệ 68 : 32 tạo dung dịch pH 6.2 – 6.8 (408 ml + 192 ml = 600 ml)

•Dung dịch pH 6.2

- acid citric 0.1M: 19.212 g + H₂O: định mức 1000 ml (c)
- NaHPO₄.2H₂O: 35.6 g + H₂O: định mức 1000 ml (d)

Pha c và d theo tỉ lệ 6.78 : 13.22 tạo dung dịch pH 6.2 (203.4 ml + 396.6 ml = 600 ml)

Yêu cầu: cân và pha đúng hóa chất, chú ý an toàn trong quá trình pha hóa chất (*mang khẩu trang, bao tay, không để hóa chất tiếp xúc với cơ thể*).

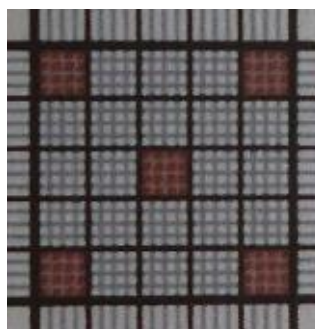
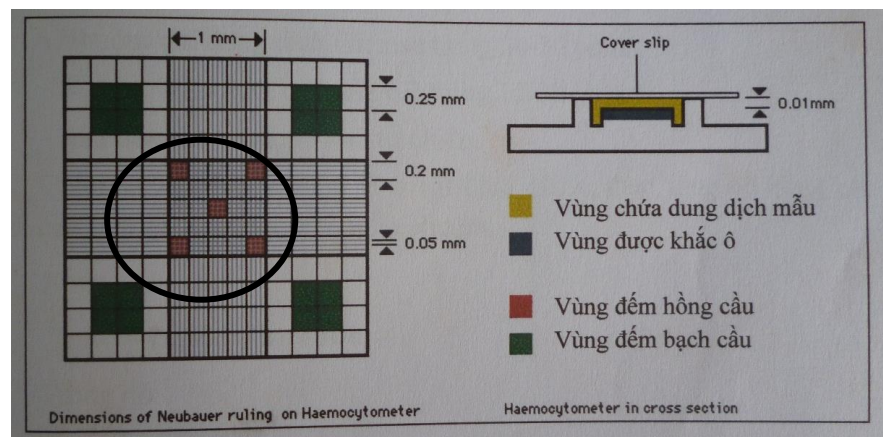
Lấy máu, xác định, định lượng tế bào hồng cầu.

Dùng kim tiêm lấy máu cá trực tiếp từ động mạch đuôi (phía dưới đường bên). Dùng pipet lấy 5 µL máu cho vào 995 µL dung dịch Natt – Herrick đã chuẩn bị sẵn. Lắc nhẹ cho đều ống enpedoff khoảng 5-10 giây, để tránh hiện tượng máu bị đông lại.

Hồng cầu được định lượng theo phương pháp thông thường bằng buồng đếm hồng cầu Neubauer. Mẫu máu cá được pha loãng 200 lần trong dung dịch Natt – Herrick (cho 5 μL máu vào 955 μL dung dịch Natt – Herrick).

Dùng pipet lấy 200 μL mẫu cho vào buồng đếm hồng cầu (trước khi lấy mẫu, lắc đều ống enpedoff cho các tế bào máu phân bố đều trong dung dịch). Sau đó, để yên 5 phút cho các tế bào máu lắng xuống buồng đếm.

Mật độ hồng cầu sẽ được xác định thông qua kính hiển vi. Định vị 5 vùng đếm (mỗi vùng đếm có 16 ô vuông nhỏ) ở vật kính 10X, đưa vào giữ thị trường, chuyển sang vật kính 40X để đếm số lượng hồng cầu, đếm 2 lần lặp lại.



Hình 2.4: Vị trí đếm hồng cầu cá (Nguồn: Hương và Tư, 2010)

Cách tính mật độ hồng cầu:

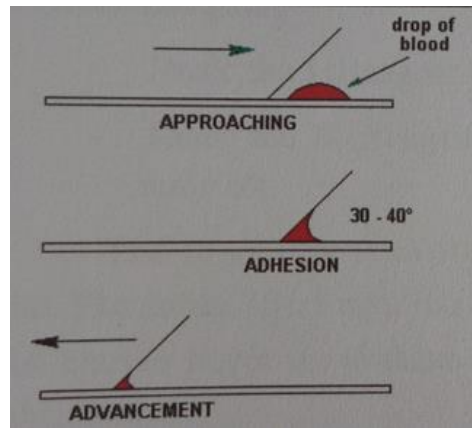
$$HC = C \times 10 \times 5 \times 200 \text{ (tế bào/mm}^3\text{)}$$

Trong đó C là tổng số hồng cầu trên 5 vùng đếm (lấy trung bình 2 lần đếm)

Yêu cầu: lấy máu không bị đông, đếm chính xác số lượng hồng cầu cá.

5.3 Lấy máu, xác định, định lượng tế bào bạch cầu.

- Nhỏ một giọt máu lên một góc lame và dùng lamelle đặt trước giọt máu; cho lamelle chạm vào giọt máu và đẩy lamelle ngược về phía trước, để khô ở nhiệt độ phòng.



Hình 2.5: Phương pháp làm tiêu bản bạch cầu máu (Nguồn: Hương và Tư, 2010)

Nhuộm mẫu bạch cầu

- Cố định mẫu bằng cách ngâm mẫu trong methanol 1 phút, để khô.
- Nhuộm với dung dịch Wright trong 3-5 phút
- Ngâm trong dung dịch có pH 6,2-6,8 trong 5-6 phút
- Nhuộm với dung dịch Giemsa trong 20-30 phút
- Ngâm trong dung dịch pH trong 15-30 phút
- Rửa sạch lại bằng nước cất, để mẫu khô tự nhiên và đọc mẫu

Xác định số lượng bạch cầu

Bạch cầu được định lượng theo phương pháp Hurbec *et. al*, 2000.

Quan sát mẫu dưới kính hiển vi ở vật kính 40 - 100X.

Chụp hình mẫu theo hình Z-Z, mỗi mẫu chụp khoảng 5 – 10 hình (tùy số lượng tế bào máu trong hình).

Số lượng tổng bạch cầu được xác định bằng cách đếm số hồng cầu ở mẫu tươi và bạch cầu trên khoảng X tế bào hồng cầu trên lame nhuộm:

$$W = H \times h / (X - h)$$

W: bạch cầu tổng (tế bào/mm³)

H: mật độ hồng cầu trên mẫu máu tươi

h: số bạch cầu có trong X tế bào hồng cầu mẫu khô

X trong khoảng 1400 – 1600 (trung bình 1500) tế bào.

Yêu cầu: lấy máu không bị đông, đếm chính xác số lượng bạch cầu cá.