

Bài báo nghiên cứu

ẢNH HƯỞNG CỦA ION ĐỒNG (Cu^{2+}) LÊN TỈ LỆ SỐNG, SỰ TĂNG TRƯỞNG VÀ SỐ LƯỢNG HỒNG CẦU CÁ NGỰA VẦN TRƯỞNG THÀNH

Trần Thị Phương Dung^{1*}, Lưu Tăng Phúc Khang¹, Trần La Giang², Nguyễn Võ Thuận Thành¹

¹Trường Đại học Sư phạm Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam

²Trường Cao đẳng Du lịch Nha Trang, Việt Nam

*Tác giả liên hệ: Trần Thị Phương Dung – Email: dungttp@hcmue.edu.vn

Ngày nhận bài: 01-9-2020; ngày nhận bài sửa: 21-9-2020; ngày duyệt đăng: 28-12-2020

TÓM TẮT

Ion đồng là một trong những cation tác động lên sức sống, khả năng tăng trưởng, số lượng tế bào máu trong quá trình sống của thủy sản, Nghiên cứu được tiến hành nhằm đánh giá tác động của ion đồng (Cu^{2+}) ở các nồng độ 0 $\mu\text{g/L}$; 500 $\mu\text{g/L}$; 1000 $\mu\text{g/L}$; 2000 $\mu\text{g/L}$ lên quá trình phát triển và chỉ số máu cá Ngựa vằn giai đoạn trưởng thành. Kết quả cho thấy: (i) ở các nồng độ Cu^{2+} được kiểm tra khác nhau, nồng độ tối thiểu Cu^{2+} ảnh hưởng đến tỉ lệ sống của cá Ngựa vằn là 500 $\mu\text{g/L}$; (ii) ở mọi nồng độ được kiểm tra Cu^{2+} , tỉ lệ sống của cá bị ảnh hưởng đáng kể vào ngày thứ 6 và ảnh hưởng nhiều nhất tại nồng độ 2000 $\mu\text{g/L}$. Dựa vào kết quả thu được, chúng tôi thiết lập một phương trình để dự đoán tỉ lệ sống của ấu trùng cá và tìm được nồng độ gây chết 50% cá (LD_{50}) Cu^{2+} gây chết cá sau 11 ngày cảm nhiễm là 1515 $\mu\text{g/L}$ và thời gian gây chết 50% cá (LT_{50}) của Cu^{2+} ở nồng độ 500 -2000 $\mu\text{g/L}$ là từ 8,42-24,61 ngày, Kết quả nghiên cứu cho thấy, nồng độ Cu^{2+} càng cao làm giảm tỉ lệ sống và khả năng tăng trưởng của cá, làm giảm số lượng tế bào hồng cầu của cá đặc biệt tại nồng độ 2000 $\mu\text{g/L}$.

Từ khóa: ion đồng; chỉ số máu; nhiễm độc kim loại nặng; cá Ngựa vằn

1. Mở đầu

Ngày nay, sự phát triển của kinh tế xã hội dẫn đến thực trạng ô nhiễm môi trường nước ngày càng gia tăng dẫn đến ảnh hưởng gián tiếp đến sức khỏe của con người. Một trong những nhân tố gây hại nhất đối với môi trường nước đó là kim loại nặng. Các kim loại do hoạt động của con người tạo và thải ra như As, Cd, Cu, Ni và Zn, ước tính là nhiều hơn so với nguồn kim loại có trong tự nhiên (Kabata, & Adriano, 1995). Một số kim loại nặng gây ô nhiễm phổ biến nhất được liệt kê trong báo cáo của cơ quan bảo vệ môi trường (EPA) là As, Cd, Cr, Cu, Hg, Ni, Pb và Zn. Kim loại nặng không độc khi ở dạng nguyên tố tự do nhưng nguy hiểm đối với sinh vật sống khi ở dạng cation do khả năng gắn kết các chuỗi

Cite this article as: Tran Thi Phuong Dung, Luu Tang Phuc Khang, Tran La Giang, & Nguyen Vo Thuan Thanh (2020). The effects of copper ion on the survival, growth, and red blood cells of adult zebrafish from 1 to 10 days old. *Ho Chi Minh City University of Education Journal of Science*, 17(12), 2210-2218.

cacbon ngăn dẫn đến sự tích tụ trong cơ thể sinh vật sau nhiều năm (Shahidul, & Tanaka, 2004). Do đó, các thử nghiệm độc tính được đề nghị để đánh giá nồng độ độc chất tối đa có thể chấp nhận được và cung cấp dữ liệu cho việc thiết lập tiêu chuẩn chất lượng nước (Le, 2008). Tại Việt Nam, ảnh hưởng của Cu^{2+} được đánh giá chủ yếu bởi các phương pháp hóa học hoặc vật lý, không có đánh giá chính xác về sự tăng trưởng của thủy sản động vật, đặc biệt là trên động vật có xương sống. Vì vậy, bên cạnh việc quan trắc ô nhiễm kim loại nặng trực tiếp bằng các phương pháp lý hóa, việc sử dụng các thủy sinh vật chỉ thị, cụ thể là sử dụng các loài cá đang được ứng dụng rộng rãi. Việc đánh giá các đặc điểm huyết học ở cá đã trở thành một các phương tiện quan trọng để hiểu rõ về các quá trình sinh lý và bệnh lý, các tác động của các chất độc hại (Sudova et al., 2009). Cá Ngựa vằn là một loài cá nước ngọt khá phổ biến trong nghiên cứu khoa học vì cơ thể có kích thước nhỏ, vòng đời ngắn dễ theo dõi và mang lại nhiều ý nghĩa cho thực tiễn. Sự tích lũy kim loại nặng trong cơ thể ấu trùng cá ảnh hưởng đến sự tăng trưởng của cá. Nghiên cứu này cơ bản đánh giá được sự gây hại của ion đồng (Cu^{2+}) lên sức sống, khả năng tăng trưởng và tế bào máu của cá giai đoạn trưởng thành.

2. Phương pháp nghiên cứu

2.1. Phương pháp theo dõi tỉ lệ sống và đánh giá khả năng tăng trưởng (Theo Pham, & Nguyen, 2014)

Cá Ngựa vằn giai đoạn trưởng thành được nuôi trong bể kính 29cm x 18cm x 18cm, dung tích 3 lít, mật độ 1 con/0,2L, có chứa ion Pb^{2+} , tương ứng các nồng độ khác nhau trong môi trường chuẩn là môi trường Hank (gồm các loại muối NaCl , KCl , Na_2HPO_4 , KH_2PO_4 , CaCl_2 , MgSO_4 , NaHCO_3) sau khi pha được đựng trong chai Duran sạch (Westerfield, 1995). Các cá thể sống tốt sau khi kiểm tra sẽ bố trí vào bể thí nghiệm với 4 nồng độ Cu^{2+} tương ứng 0 $\mu\text{g/L}$; 500 $\mu\text{g/L}$; 1000 $\mu\text{g/L}$; 2000 $\mu\text{g/L}$.

Mỗi nồng độ Cu^{2+} quan sát tỉ lệ sống/chết 15 cá, thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Chỉ tiêu tăng trưởng khối lượng của cá trong suốt thời gian thí nghiệm = khối lượng cá tại thời điểm cuối thí nghiệm – khối lượng cá ban đầu)). Môi trường nước trong suốt thí nghiệm đồng nhất về pH= 7-7,5, nhiệt độ duy trì ở mức nhiệt độ phòng tương ứng nhiệt độ nước 27-28°C. Cho cá ăn thức ăn công nghiệp 2 lần/ngày vào lúc 7h sáng và 16h chiều.

2.2. Phương pháp đếm máu cá (Theo phương pháp Natt, & Herrick, 1952)

Lấy máu tại đuôi sau đó cho máu vào ống eppendorf đã cho sẵn heparin. Sử dụng pipet đếm hồng cầu hút dịch trong eppendorf cho đến vạch 101 trong pipet sau đó lắc nhẹ. Máu sau khi đã pha loãng và trộn đều sẽ tiến hành quan sát và đếm số lượng tế bào hồng cầu bằng cách đưa lên buồng đếm hồng cầu. Cho hỗn hợp dung dịch lan tỏa vào đầy buồng đếm, để yên trong 2 phút. Đếm hồng cầu 4 ô lớn (1 ô lớn có 16 ô nhỏ) ở 4 góc của buồng đếm và 1 ô ở trung tâm buồng đếm. Công thức tính mật độ hồng cầu: $N1 = A \times (4000:80) \times 200 = A \times 10000$ (số hồng cầu đếm được trong 5 ô lớn (80 ô nhỏ) là A). Lấy máu tổng 180 con. Mỗi nghiệm thức lấy 15 con và lặp lại mỗi nghiệm thức 3 lần.



Hình 1. Cá Ngựa vằn trưởng thành dưới kính hiển vi soi nổi (X20)

2.3. Phương pháp xử lý số liệu thống kê

Tất cả số liệu của đề tài được xử lý theo các thuật toán xác suất thống kê bằng phần mềm SPSS 22. Phân tích số liệu tỉ lệ sống chúng tôi chuyển đổi số liệu ở dạng $X_i = \log(N_i)/N$, Các số liệu trung bình được trình bày ở dạng $TB \pm SD$. Mức ý nghĩa được sử dụng để kiểm định sai khác có ý nghĩa giữa các nghiệm thức là 0,05 ($p < 0,05$ thì sự sai khác có ý nghĩa thống kê) thông qua phân tích phương sai một yếu tố (ONEWAY ANOVA). Sử dụng kiểm định so sánh đôi chiều Duncan. Trong nghiên cứu sử dụng mô hình hồi quy tuyến tính bội để ước tính các tham số.

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Ảnh hưởng của ion chì lên tỉ lệ sống giai đoạn cá trưởng thành

Tỉ lệ sống là một chỉ số đáng tin cậy trong việc đánh giá khả năng đề kháng của cá. Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã ghi nhận sự thay đổi tỉ lệ sống của cá Ngựa vằn trưởng thành ở các nồng độ gây nhiễm Cu^{2+} khác nhau qua 11 ngày cảm nhiễm, khảo sát được trình bày cụ thể ở Bảng 1.

Bảng 1. Tỉ lệ sống của cá ở giai đoạn cá trưởng thành (1-11 ngày nuôi) tại các nồng độ Cu^{2+} khảo sát

Nồng độ Thời gian	0 μ g/L	500 μ g/L	1000 μ g/L	2000 μ g/L
Ngày 1	100,00 $\pm$ 0,00 ^{ax}	100,00 $\pm$ 0,00 ^{ax}	100,00 $\pm$ 0,00 ^{ax}	97,78 $\pm$ 3,85 ^{ax}
Ngày 2	100,00 $\pm$ 0,01 ^{ax}	100,00 $\pm$ 0,01 ^{ax}	100,00 $\pm$ 0,01 ^{ax}	95,56 $\pm$ 3,85 ^{ay}
Ngày 3	100,00 $\pm$ 0,02 ^{ax}	100,00 $\pm$ 0,02 ^{ax}	100,00 $\pm$ 0,02 ^{ax}	93,33 $\pm$ 6,67 ^{ax}
Ngày 4	100,00 $\pm$ 0,03 ^{ax}	100,00 $\pm$ 0,03 ^{ax}	97,78 $\pm$ 3,85 ^{ax}	88,89 $\pm$ 7,70 ^{aby}
Ngày 5	100,00 $\pm$ 0,04 ^{ax}	97,78 $\pm$ 3,85 ^{ax}	95,56 $\pm$ 3,85 ^{ax}	84,44 $\pm$ 3,85 ^{aby}
Ngày 6	100,00 $\pm$ 0,05 ^{ax}	95,56 $\pm$ 3,85 ^{ax}	95,56 $\pm$ 3,85 ^{ax}	75,56 $\pm$ 10,18 ^{bcy}
Ngày 7	100,00 $\pm$ 0,06 ^{ax}	93,33 $\pm$ 6,67 ^{abxy}	88,89 $\pm$ 7,70 ^{aby} 82,22 $\pm$ 3,85 ^b	64,44 $\pm$ 3,85 ^{cdz}
Ngày 8	100,00 $\pm$ 0,07 ^{ax}	91,11 $\pm$ 10,18 ^{abcxy}	cy	53,33 $\pm$ 11,55 ^{dez}
Ngày 9	100,00 $\pm$ 0,08 ^{ax}	84,44 $\pm$ 7,70 ^{bcdxy}	75,55 $\pm$ 10,18 ^{cdy}	37,78 $\pm$ 13,88 ^{efz}
Ngày 10	97,78 $\pm$ 3,85 ^{abx}	82,22 $\pm$ 3,85 ^{cdxy}	68,89 $\pm$ 10,18 ^{dey}	33,33 $\pm$ 17,64 ^{fz}
Ngày 11	95,56 $\pm$ 3,85 ^{bx}	77,78 $\pm$ 7,70 ^{dy}	60,00 $\pm$ 6,67 ^{ez}	28,89 $\pm$ 10,18 ^{fw}
Trung bình	99,39 $\pm$ 1,44 ^x	92,93 $\pm$ 8,06 ^{xy}	87,68 $\pm$ 14,07 ^y	68,48 $\pm$ 8,47 ^z

a, b, c, d, e, f: chỉ sự khác biệt có ý nghĩa thống kê theo cột ($p < 0,05$)

x, y, z, w: chỉ sự khác biệt có ý nghĩa thống kê theo hàng ($p < 0,05$)

Trong Bảng 1, tỉ lệ sống của cá Ngựa vằn trong nhóm đối chứng đã thay đổi trong những ngày nuôi. Cụ thể, từ ngày 1-9, số lượng cá ở nhóm đối chứng không có sự thay đổi số lượng ($p < 0,05$). Đến ngày thứ 10-11 tỉ lệ sống trung bình giảm tuyến tính theo ngày. Cụ thể, tỉ lệ sống của cá đã giảm từ 100% vào ngày thứ 9 xuống 95,56% vào ngày thứ 11. Sự sống của cá nhóm đối chứng tương đối ổn định qua các ngày nuôi, tuy nhiên trong một số ngày nuôi vẫn có cá chết ngẫu nhiên nhưng số lượng không đáng kể. Dựa trên kết quả của Bảng 1, chúng tôi đã đánh giá biến động tỉ lệ sống của cá ngựa vằn bằng cách ngày nuôi cấy trong môi trường với nồng độ Cu^{2+} được kiểm tra. Các kết quả được hiển thị trong Bảng 1.

Trong các nghiệm thức khảo sát với các nồng độ Cu^{2+} khác nhau, thời gian bắt đầu cá mất cảm và sau đó chết càng sớm ở nồng độ Cu^{2+} càng cao. Cụ thể, nồng độ 500 $\mu\text{g/L}$ là ngày thứ 5 ($97,78 \pm 3,85\%$), nồng độ 1000 $\mu\text{g/L}$ là ngày thứ 4 ($97,78 \pm 3,85\%$), nồng độ 2000 $\mu\text{g/L}$ là ngày 1 ($97,78 \pm 3,85\%$). Trong các nghiệm thức khảo sát với các nồng độ Cu^{2+} thì thấy thời gian cá chết bắt đầu chết cao nhất ở nồng độ 500 $\mu\text{g/L}$ là ngày thứ 9 ($84,44 \pm 7,70\%$), nồng độ 1000 $\mu\text{g/L}$ là ngày thứ 7 ($88,89 \pm 7,70\%$), nồng độ 2000 $\mu\text{g/L}$ là ngày 5 ($88,89 \pm 7,70\%$), sự giảm có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Vậy tại nồng độ ion đồng càng cao thì cá bắt đầu mất cảm, và chết đỉnh điểm tại thời gian sớm hơn. Kết quả thí nghiệm phù hợp với nghiên cứu của Gharedaashi, Nekoubin, Imanpoor, và Taghizadeh, (2013) là: sau khi nhiễm ion đồng sẽ làm giảm tỉ lệ sống và khả năng tăng trưởng của cá Caspian Sea kutum (*Rutilus frisii kutum*).

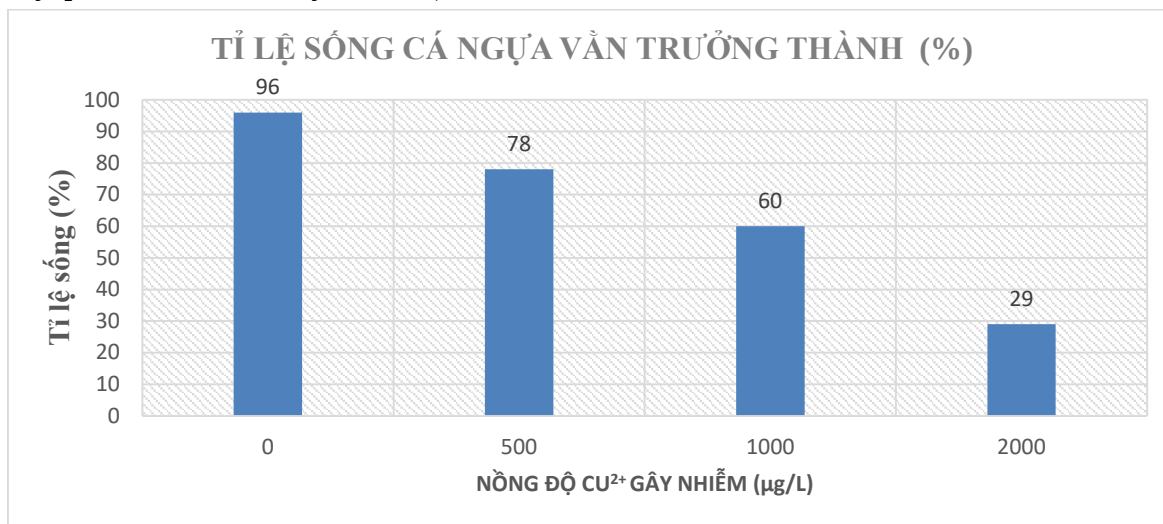
Dựa vào kết quả Bảng 1 ước tính sự biến động thời gian gây chết 50% cá Ngựa vằn trong các nồng độ gây nhiễm khác nhau (LT_{50}) (Bảng 2)

Bảng 2. Thời gian ước tính gây chết 50% cá thí nghiệm (LT_{50}) (ngày)

Nồng độ	Hệ số ước tính	Thời gian ước tính gây chết 50% cá thí nghiệm (LT_{50}) (ngày)
0 $\mu\text{g/L}$	$a = -0,003$ ($p = 0,000$) $b = 1,011$ ($p = 0,029$) $R^2 = 0,43$	170,33
500 $\mu\text{g/L}$	$a = -0,023$ ($p = 0,000$) $b = 1,066$ ($p = 0,000$) $R^2 = 0,82$	24,61
1000 $\mu\text{g/L}$	$a = -0,04$ ($p = 0,000$) $b = 1,114$ ($p = 0,000$) $R^2 = 0,87$	15,35
2000 $\mu\text{g/L}$	$a = -0,077$ ($p = 0,000$) $b = 1,149$ ($p = 0,000$) $R^2 = 0,95$	8,42

Nếu cá Ngựa vằn trải qua các giai đoạn sống trong môi trường có nhiễm ion đồng thì ở chúng sẽ xuất hiện sự căng thẳng mãn tính. Phản ứng căng thẳng có thể mất đi giá trị thích nghi của nó và trở thành rối loạn chức năng, có thể dẫn đến sự ức chế tăng trưởng, giảm sinh sản, và giảm sức đề kháng với tác nhân gây bệnh (Thangam, Jayaprakash, & Perumayee, 2014). Đồng được cá hấp thụ qua mang và đường tiêu hóa, chủ yếu được tích lũy trong các mô hoạt động chuyển hóa như gan và thận. Nồng độ lớn của Cu^{2+} gây hại biểu mô mang, các mô tạo máu, thận, lá lách và gan của cá (Nussey, Van-Vuren, & Du Preez, 1995a, b; Mazon, Monteiro, Pinheiro, & Fernandes, 2002).

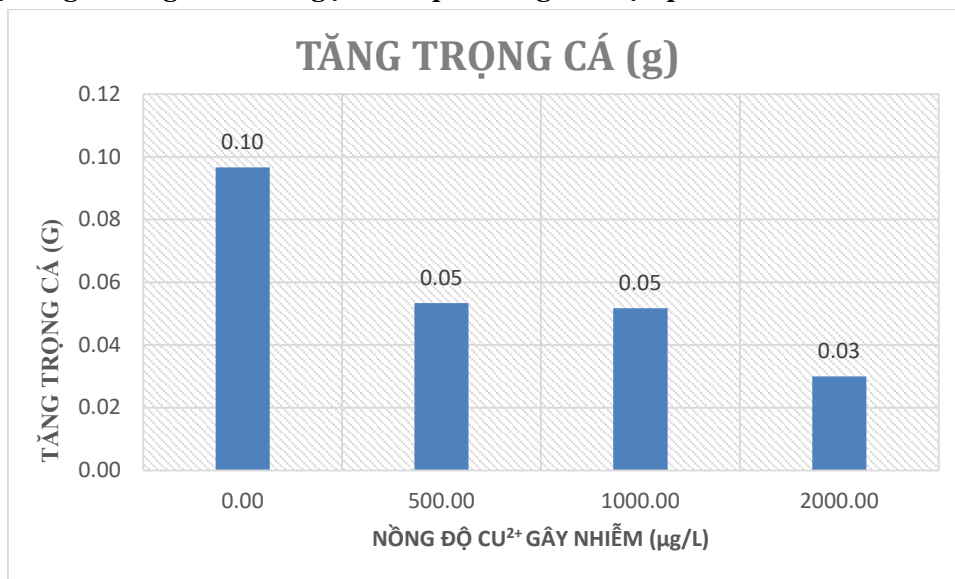
Qua Bảng 1 cho thấy, từ ngày 8 đến ngày 9 thì sự gia tăng nồng độ ion đồng làm biến động tỉ lệ sống mạnh, nồng độ đồng gây nhiễm càng cao thì tỉ lệ sống của cá Ngựa vằn càng giảm. Sau 11 ngày, tỉ lệ sống của cá trưởng thành ở nghiệm thức 500 $\mu\text{g/L}$ còn $77,78 \pm 7,70\%$ còn tại nghiệm thức 1000 $\mu\text{g/L}$ tỉ lệ sống còn $60,00 \pm 6,67\%$, nghiệm thức 2000 $\mu\text{g/L}$ tỉ lệ sống còn $28,89 \pm 10,18\%$, sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Kết quả phù hợp với một số nghiên cứu cho rằng tiếp xúc với kim loại nặng cũng làm giảm nồng độ hồng cầu, Hemoglobin do khả năng hấp thu sắt của ruột bị suy giảm và gây thiếu máu. Thiếu máu là biểu hiện ban đầu của nhiễm độc nặng cấp tính và sau đó là mãn tính khi nhiễm kim loại nặng. Vì nguyên nhân thiếu máu do các cơ quan tạo máu bị hủy hoại dẫn đến giảm tiêu thụ oxy ở cá dẫn đến chết do ô nhiễm kim loại nặng. Ngoài ra, nồng độ Cu^{2+} cao cũng gây ra ức chế miễn dịch nghiêm trọng ở cá, có thể làm cho sinh vật dễ mắc bệnh và chết (Thangam, Jayaprakash, & Perumayee, 2014).



Hình 2. Tỉ lệ sống (%) của cá Ngựa vằn trưởng thành sau 11 ngày tại các nghiệm thức nhiễm ion Cu^{2+}

Dựa vào phương trình hồi quy tỉ lệ sống cá ấu trùng qua 11 ngày cho thấy, liều LD_{50} có thể tính được $Y = 94,670 - 0,033X$ ($R = 0,99$). Vậy kết thúc thời gian thí nghiệm vào ngày thứ 11 thì nồng độ để làm chết 50% cá trưởng thành tính ra theo phương trình là $\text{LD}_{50} = 1515 \mu\text{g/L}$.

3.2. Sự tăng trưởng của Cá Ngựa vằn qua các giai đoạn phát triển

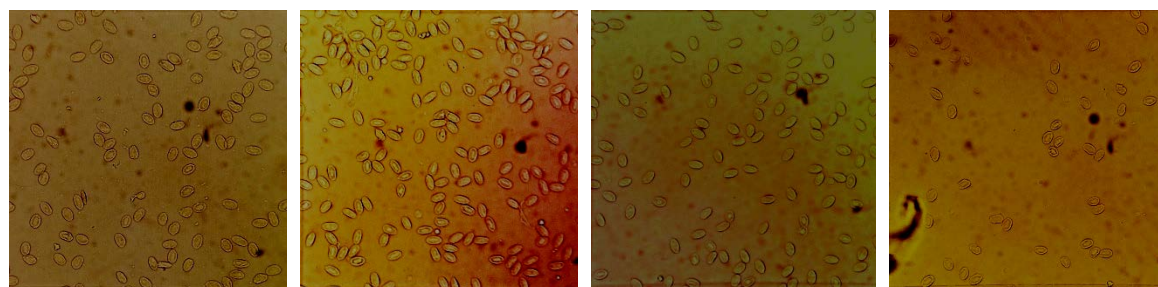


Hình 3. Sự tăng trọng của cá Ngựa vằn tại các nghiệm thức nhiễm ion Cu^{2+}

Kích thước ban đầu của tại các nghiệm thức không có sự khác biệt. Cụ thể, tại nghiệm thức đối chứng là $0,29 \pm 0,04\text{g}$ so với nghiệm thức $500\mu\text{g/L}$ là $0,29 \pm 0,02\text{g}$, nghiệm thức $1000\mu\text{g/L}$ là $0,27 \pm 0,03\text{g}$ và nghiệm thức $2000\mu\text{g/L}$ là $0,28 \pm 0,04\text{g}$ không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Tuy nhiên, sau 11 ngày cảm nhiễm với ion đồng, sự tăng trưởng khối lượng của cá trong các nghiệm thức khảo sát khác nhau. Cụ thể, sự tăng trưởng khối lượng ở nghiệm thức đối chứng là $0,1\text{g}$ so với nồng độ 500, 1000 là $0,05\text{g}$ và nồng độ 2000 là $0,03\text{g}$. Kết quả thí nghiệm của chúng tôi hoàn toàn phù hợp với nghiên cứu của Gharedaashi, Nekoubin, Imanpoor, và Taghizadeh (2013) cho thấy rằng, sau khi nhiễm ion đồng làm giảm tỉ lệ sống và giảm khả năng tăng trưởng của cá Caspian Sea kutum (*Rutilus frisii kutum*). Ion đồng là một trong những ion kim loại làm giảm sự tăng trưởng khối lượng ở cá Ngựa vằn.

3.3. Ảnh hưởng của ion đồng lên tế bào hồng cầu của cá trưởng thành

Ở cá, ion Cu^{2+} là một kim loại vi lượng cần thiết cho các chức năng trao đổi chất. Đồng là một thành phần nhiều enzyme metallo trong cơ thể sinh vật. Hai loại enzym như Ceruloplasmin và ALA Synthase chứa đồng có chức năng trong quá trình tạo thành phân tử heme, cấu trúc nên thành phần hemoglobin là thành phần chức năng chính của hồng cầu. Tuy nhiên, ion Cu^{2+} gây độc cho cá khi nồng độ vượt quá sự giải độc sinh lí bên trong của cơ thể (Thangam, Jayaprakash, & Perumayee, 2014). Cá tiếp xúc với các chất ô nhiễm có nhiều phản ứng sinh lí khác nhau, bao gồm rối loạn sinh lí máu (Booth, McDonald, Simons, & Wood, 1988). Thí nghiệm khảo sát ảnh hưởng của ion đồng lên hồng cầu của cá ngựa vằn đã cho thấy kết quả được trình bày ở Hình 4, 5.



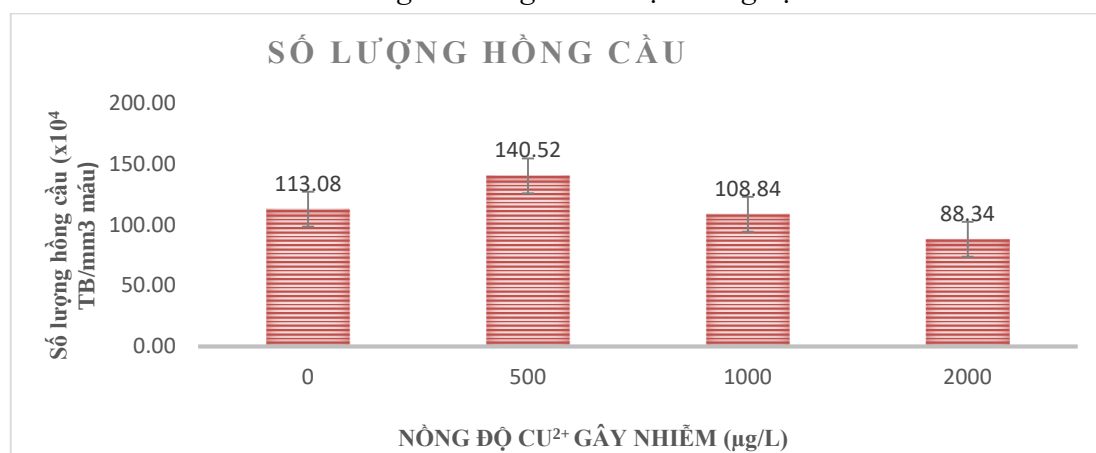
A. 0 µg/L

B. 500 µg/L

C. 1000 µg/L

D. 2000 µg/L

Hình 4. Hình ảnh tế bào hồng cầu trong máu cá tại các nghiệm thức nhiễm ion Cu^{2+}



Hình 5. Đồ thị số lượng hồng cầu cá tại các nghiệm thức nhiễm ion Cu^{2+}

Theo kết quả tại Hình 4 cho thấy, ở cá Ngựa vằn sau khi gây nhiễm ion đồng ở các nồng độ từ 500-2000 µg/L không ghi nhận sự biến dạng tế bào hồng cầu. Tuy nhiên, số lượng tế bào hồng cầu ở cá Ngựa vằn ở nồng độ từ 500-2000 µg/L tại Hình 5 có sự thay đổi rõ rệt. Tại nghiệm thức đối chứng, số lượng hồng cầu là $(113,08 \pm 4,55) \times 10^4 \text{ TB/mm}^3$ và có xu hướng tăng tại nồng độ 500 µg/L là $(140,52 \pm 7,34) \times 10^4 \text{ TB/mm}^3$ tăng $27,44 \times 10^4 \text{ TB/mm}^3$ ($p < 0,05$). Nguyên nhân do chức năng của đồng tham gia tổng hợp thành phần hemoglobin của hồng cầu khi vào trong cơ thể cá, hàm lượng đồng tăng lên sẽ kéo theo hàm lượng hồng cầu tăng lên. Tuy nhiên, tại nồng độ 1000 µg/L và 2000 µg/L số lượng hồng cầu của cá có xu hướng giảm lần lượt là $4,24 \times 10^4 \text{ TB/mm}^3$ và $24,74 \times 10^4 \text{ TB/mm}^3$ ($P < 0,05$). Sự giảm số lượng tế bào hồng cầu trong cơ thể cá biến thiên theo sự tăng dần của nồng độ ion đồng gây nhiễm từ nồng độ 500 µg/L. Thực tế này được giải thích, bởi vì, cơ quan sản xuất máu của cá dưới tác động ion đồng bị tổn thương và hủy hoại (Singh, Nath, Trivedi, & Sharma, 2008). Mặc dù, đồng là một nguyên tố cần thiết để cá phát triển nhưng khi nồng độ đồng vượt quá mức độ dung nạp, cá có thể bị ảnh hưởng cấp tính hoặc mãn tính. Độc tính Cu^{2+} cũng có thể thay đổi đáng kể giữa các loài cá do các yếu tố khác như kích thước cá, liều lượng và thời gian tiếp xúc, các cơ chế của loài đối với sự trao đổi chất của ion đồng (De Boeck, Meeus, De Coen, & Blust, 2004). Kết quả nghiên cứu phù hợp với nghiên cứu của Thangam, Jayaprakash, & Perumayee, 2014, nghiên cứu chỉ số huyết học trên cá

Cyprinus carpio cho thấy khi nhiễm Cu^{2+} sẽ làm giảm hồng cầu và hemoglobin so với nhóm đối chứng. Kết quả tương tự là tìm thấy ở *C. macropomum*, người ta quan sát thấy số lượng hồng cầu giảm sau khi nhiễm Cu^{2+} (Griffin, Davis, & Schlenk, 1999).

4. Kết luận

Kết quả nghiên cứu cho thấy, nồng độ ion Cu^{2+} càng cao thì sẽ làm giảm tỉ lệ sống và giảm khả năng tăng trưởng về khối lượng của cá. Ngoài ra, nồng độ ion Cu^{2+} cao tuy không làm biến dạng hồng cầu nhưng lại làm giảm số lượng tế bào hồng cầu của cá đặc biệt tại nồng độ $2000\mu\text{g/L}$.

❖ **Tuyên bố về quyền lợi:** Các tác giả xác nhận hoàn toàn không có xung đột về quyền lợi.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Booth, C. E., McDonald, D. G., Simons, B. P., & Wood, M. (1988). Effects of aluminum and low pH on net ion fluxes and ion balance in the brook trout, *salvelinus fontinalis*. *Fisheries and Aquatic Science*, 45, 1563-1574
- De Boeck, G., Meeus, W., De Coen, W., & Blust, R. (2004). Tissue specific Cu bioaccumulation patterns and differences in sensitivity to waterborne Cu in three freshwater fish: rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, common carp, *Cyprinus carpio*, *Aquatic Toxicology*, New York, 70, 179-188.
- Gharedaashi, E., Nekoubin, H., Imanpoor, R. M., & Taghizadeh, V. (2013). Effect of copper sulfate on the survival and growth performance of Caspian Sea kutum. *Rutilus frisii kutum*, *SpringerPlus*, 2, 498.
- Griffin, R. B., Davis, B. K., & Schlenk, D. (1999). Effect of simulated copper Sulphate therapy stress indicators in channel catfish. *Journal of Aquatic Animal Health*, 11, 231-236.
- Kabata, P. A., & Adriano, D. H. (1995). *Trace elements in Soils and Plants*, third ed. CRC Press LLC, Boca Raton.
- Le, H. B. (2008). *Doc học môi trường [Ecotoxicology]*. Ho Chi Minh City: Vietnam Education Publishing House. Chapter 1: 07 - 30, Chapter 3: 135 - 137, Chapter 5: 261-275.
- Mazon, A. F., Monteiro, E. A. S., Pinheiro, G.H. D., & Fernandes, M. N. (2002). Hematological and physiological changes induced by Short-term exposure to copper in the freshwater fish, *Prochilodus scrofa*. *Brazilian Journal of Biology*, São Carlos, 62, 621-631.
- Natt, M. P., & Herrick, C. A. (1952). A new blood diluent for counting erythrocytes and leukocytes of the chicken. *Poult Sci.*, 31, 735-738.
- Nussey, G., Van-Vuren, J. H. J., Du, & Preez, H. H., (1995a). Effect of copper on blood Osmoregulation of the Mozambique tilapia, *Oreochromis mossambicus* (Cichlidae), *Comparative Biochemistry and Physiology*, New York, 111C, 369-380.
- Nussey, G., Van-Vuren, J. H. J., & Du Preez, H. H. (1995b). Effect of copper on blood coagulation of *Oreochromis mossambicus* (Cichlidae), *Comparative Biochemistry and Physiology*, 111C, 359-367.

- Pham, T. T. H., & Nguyen, T. P. (2014). Ung dung phuong phap cho an gian doan trong nuoi ca tra (*Pangasianodon hypophthalmus*) thương phẩm [Applying mixed feeding schedule for striped catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*) grow-out]. *Can Tho University Journal of Science*, 33, 139-147.
- Shahidul, I., & Tanaka, M. (2004). Impacts of pollution on coastal and marine ecosystems including coastal and marine fisheries and approach for management: a review and synthesis. *Marine Pollution Bulletin*, 48, 624-649.
- Singh, D., Nath, K., Trivedi, S.P., & Sharma, Y. K., (2008). Impact of copper on haematological profile of freshwater fish. *Channa punctatus*, *The Journal of Environmental Biology*, 29, 253-257.
- Sudova, E., Piackova, V., Kroupova, H., Pijacek, M., & Svobodova, Z., (2009). The effect of praziquantel applied per os on selected haematological and biochemical indices in common carp, *Cyprinus carpio*. *Fish Physiology and Biochemistry*, 35, 599-605.
- Thangam, Y., Jayaprakash, S., & Perumayee, M., (2014). Effect of Copper Toxicity on Hematological Parameters to Fresh Water Fish *Cyprinus Carpio* (Common Carp). *IOSR Journal of Environmental Science, Toxicology and Food Technology*, 8, 50-60.
- Westerfield, M. (1995). *The zebrafish book*. 5th edition; A guide for the laboratory use of zebrafish (*Danio rerio*). Eugene, University of Oregon Press. Paperback.

**THE EFFECTS OF COPPER ION ON THE SURVIVAL, GROWTH,
AND RED BLOOD CELLS OF ADULT ZEBRAFISH**

Tran Thi Phuong Dung^{1*}, Luu Tang Phuc Khang¹, Tran La Giang², Nguyen Vo Thuan Thanh¹

¹Ho Chi Minh City University of Education, Vietnam

²Nha Trang Tourism College, Vietnam

*Corresponding author: Tran Thi Phuong Dung – Email: dungttp@hcmue.edu.vn

Received: September 01, 2020; Revised: September 21, 2020; Accepted: December 28, 2020

ABSTRACT

Copper ion is one of the cations that affect the vitality, growth ability, and the number of blood cells in fish development. This study was conducted to evaluate the effects of copper ion (Cu^{2+}) on the development process and hematological parameters of adult zebrafish at different concentrations: 0 $\mu\text{g/L}$; 500 $\mu\text{g/L}$; 1000 $\mu\text{g/L}$; and 2000 $\mu\text{g/L}$. The results revealed that, (i) the minimum Cu^{2+} concentration affecting the rice fish survival rate is 500 $\mu\text{g/L}$; (ii) the Cu^{2+} concentration significantly affecting the survival rate was on the 6th day, the most effect happened at the 2000 $\mu\text{g/L}$ concentration. Based on the observed results, we offered an equation to predict the survival rate of fish larvae and discovered the lethal LD_{50} concentration of Cu^{2+} after 11 days culturing is 1515 $\mu\text{g/L}$, and LT_{50} of Cu^{2+} at the concentration of 500-2000 $\mu\text{g/L}$ is 8,42-24,61 days. In conclusion, the higher the concentration of Cu^{2+} is, the lower the survival rate and growth ability of the fish is. The high concentration of Cu^{2+} decreases the number of red blood cells of the fish, and the most effective concentration is at 2000 $\mu\text{g/L}$.

Keywords: Ion copper (Cu^{2+}); hematological parameter; poisoned by heavy metal; Zebrafish