

CÔNG THỨC BẠCH CẦU CỦA MÁU NGOẠI VI CÙNG CÁC CƠ QUAN TẠO MÁU Ở LOÀI CÁ LÓC ĐỒNG *Channa striata* (Bloch, 1793) VÀ LƯƠN *Monopterus albus* (Zuiew, 1793) THU TỪ VƯỜN QUỐC GIA CÁT TIỀN (VIỆT NAM)

GORDEEV Y.Y.^(1, 2), MIKRYAKOV D.V.⁽³⁾, SUVOROVA T.A.⁽³⁾

1. LỜI NÓI ĐẦU

Hiện nay có một số lượng đáng kể các công bố được dành cho nghiên cứu về bạch cầu cá, hầu hết trong số đó mô tả các tế bào bạch cầu của các loài cá có xương [1÷8]. Các tế bào bạch cầu với sự đa dạng, phong phú về chủng loại đều là các thành phần miễn dịch tế bào cơ bản. Tế bào bạch cầu trưởng thành bao gồm 5 loại chính: tế bào lympho, bạch cầu đơn nhân, bạch cầu trung tính, bạch cầu ái toan bạch cầu ái kiềm. Tùy thuộc vào khả năng bắt màu của các hạt chất tế bào mà chúng được chia thành bạch cầu không hạt (chưa trưởng thành) - gồm tế bào lympho và bạch cầu đơn nhân và bạch cầu hạt - gồm bạch cầu trung tính, bạch cầu ái toan và bạch cầu ái kiềm. Ngoài ra, trong công thức bạch cầu của những tiêu bản máu, đặc biệt là tiêu bản các cơ quan có cả các dạng nguyên bào hay tế bào non (tế bào chưa trưởng thành).

Như chúng ta đã biết, công thức bạch cầu khá khác nhau ở những loài cá khác nhau sống trong cùng một thủy vực [9, 10], cũng như trong giới hạn của cùng một loài [11]. Mặc dù có những thông tin, dữ liệu về thành phần bạch cầu của các loài cá khác nhau nhưng lại không có nhiều tài liệu được công bố về các loài sống ở khu vực Đông Nam Á [12÷17]. Nghiên cứu về những loài cá này rất quan trọng cho sự phát triển nuôi trồng thủy sản ở khu vực này. Để có thể thành công trong việc nuôi cá, cần phải có nghiên cứu toàn diện về cơ thể cá, trong đó bao gồm các tế bào bạch cầu và các cơ quan tạo máu. Một nghiên cứu cần thiết như vậy sẽ giúp cho việc nắm bắt hướng sắp xếp lại hình thái thành phần tế bào bạch cầu trong quá trình thích nghi của cá với các điều kiện sống khác nhau. Việc tích lũy dữ liệu cho phép thực hiện nghiên cứu so sánh về thành phần định lượng và định tính bạch cầu ở cá sống trong các điều kiện môi trường khác nhau.

Những dữ liệu đã công bố về thành phần bạch cầu của các loài cá rất ít và mâu thuẫn với nhau bởi việc nghiên cứu được tiến hành trên các cá thể cá trong môi trường sống khác nhau và không có dữ liệu về thành phần bạch cầu của các cơ quan tạo máu. Mục đích nghiên cứu này là khảo sát thành phần bạch cầu máu và các cơ quan tạo máu của cá lóc đồng *Channa striata* và lươn *Monopterus albus* thu từ Vườn Quốc gia Cát Tiên (Việt Nam).

Cá lóc đồng *Channa striata* (Bloch, 1793) (Perciformes: Channidae) - một trong 38 loài thuộc giống *Channa* Scopoli, 1777 [13]. Đây là loài cá nước ngọt phổ biến ở phần lớn khu vực Đông Nam Á, từ Pakistan đến Thái Lan và phía Nam Trung Quốc. Cá lóc đồng sinh sống ở những thủy vực nước đứng và nước chảy, yêu thích nơi nước đọng, nước đục ở sông hồ đồng bằng [14]. Điểm đặc biệt của loài cá này là khả năng hô hấp trong không khí vào mùa khô nhờ cơ quan trên mang [18]. *Channa striata* ăn cá, ếch nhái, rắn, côn trùng, giun đất, nòng nọc và giáp xác [19, 20]. Người dân ở các nước Đông Nam Á sử dụng cá lóc đồng làm thức ăn và nuôi thương phẩm khá nhiều.

Lươn đồng *Monopterus albus* (Zuiew, 1793) (Synbranchiformes: Synbranchidae) - một trong 14 loài thuộc giống *Monopterus* Lacépède, 1800, phân bố rộng rãi ở Đông Nam Á, ngoài ra còn gặp ở Nhật Bản, quần đảo Hawaii và Malaysia [13]. Loài lươn này sống dưới đáy và các thủy vực có nguồn nước tự nhiên (sông suối vừa và lớn hay cửa sông), các vùng đất ngập nước trồng cây nông nghiệp [24]. Lươn đồng ăn các loài cá có kích thước nhỏ, giun và động vật giáp xác [15]. Thịt lươn có vị thơm, ngon nên chúng là loài có giá trị thương mại.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Mẫu cá lóc đồng (*Channa striata*) được thu thập vào cuối tháng 11 - đầu tháng 12 năm 2017 ở các thủy vực trong và xung quanh Vườn Quốc gia Cát Tiên. Mẫu nghiên cứu được thu từ 8 cá thể cá lóc đồng với khối lượng trung bình $635,79 \pm 33,83$ g và 2 cá thể lươn đồng (*Monopterus albus*) có khối lượng trung bình $47,75 \pm 0,25$ g.

Máu được lấy từ tĩnh mạch đuôi ngay sau khi bắt. Làm tiêu bản máu trên lam kính. Đối với cá lóc đồng, tiến hành làm tiêu bản cắt lát với các cơ quan như thận, lá lách và gan. Sau đó, các tiêu bản được để khô và cố định bằng dung dịch etanol 96% trong 30 phút. Tiến hành nhuộm tiêu bản trong điều kiện thí nghiệm bằng thuốc nhuộm Romanowsky-Giemsa. Soi dưới kính hiển vi quang học “Biomed-6PR1-FK” ($\times 360$), mỗi tiêu bản phân tích 200 tế bào bạch cầu. Định loại bạch cầu và đếm số lượng tương đối của tế bào lympho, bạch cầu trung tính, bạch cầu ái toan, bạch cầu đơn nhân và các dạng tế bào nguyên phát căn cứ vào phân loại của tác giả Ivanova [2]. Xử lý thống kê kết quả nghiên cứu theo tiêu chuẩn Wilcoxon-Mann-Whitney ($p = 0,05$). Giá trị trung bình và sai số chuẩn được tính theo những phương pháp chuẩn [21] cùng chương trình “Statistica 10.0”.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Kết quả nghiên cứu cho thấy trong máu của cá lóc đồng và lươn đồng có tế bào lympho, bạch cầu đơn nhân, bạch cầu trung tính, bạch cầu ái toan và các dạng tế bào nguyên phát (bảng 1).

Bảng 1. Công thức bạch cầu của cá lóc đồng và lươn đồng

Tế bào lympho	Bạch cầu đơn nhân / Đại thực bào	Bạch cầu trung tính	Bạch cầu ái toan	Tế bào nguyên phát
<i>Channa striata</i>				
Máu ngoại vi, %				
86 ± 2,5	5 ± 1,2	0,5 ± 0,2	0,5 ± 0,2	8 ± 1,5
Thận, %				
82 ± 3,2	4,5 ± 0,9	1 ± 0,3	0,5 ± 0,2	12 ± 2,2
Lá lách, %				
92 ± 1,7	3 ± 0,6	0,5 ± 0,2	0	4,5 ± 1,6
Gan, %				
96 ± 0,9	2 ± 0,7	0	0	2 ± 0,7
<i>Monopterus albus</i>				
Máu ngoại vi, %				
92 ± 4	2,5 ± 1,8	1 ± 0,1	0	4,5 ± 2,5

Trong máu của *Channa striata* và *Monopterus albus*, cũng như ở phần lớn các loài cá khác, lympho là dòng tế bào chiếm ưu thế trong số các tế bào bạch cầu. Trên các tiêu bản máu thành phần tế bào lympho của cá lóc đồng và lươn đồng chiếm tới 82-96% số tế bào bạch cầu. Căn cứ vào những quan niệm hiện có, tế bào lympho là các tế bào quan trọng của hệ miễn dịch: chúng đảm bảo việc nhận biết các vật thể, các hạt “của cơ thể” và “của lạ”, sự xâm nhập của các vật thể lạ, tổng hợp kháng thể, điều hòa sự hình thành miễn dịch thích nghi... [8, 22, 23].

Trong máu ngoại vi của các loài được nghiên cứu, số lượng bạch cầu không hạt - bạch cầu đơn nhân - thấp hơn vài lần so với tế bào lympho nhưng lại nhiều hơn bạch cầu hạt. Với cá lóc đồng, số lượng những tế bào này cao hơn hai lần so với lươn đồng, tuy nhiên, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê.

Bạch cầu đơn nhân - tế bào thực bào chủ động của máu. Chúng tiêu thụ sản phẩm phân hủy của tế bào và mô, tham gia vào sự điều hòa miễn dịch và tạo bạch cầu hạt, ảnh hưởng đến đặc điểm di chuyển của bạch cầu trung tính [24, 25]. Ở các cơ quan, dạng trưởng thành của các tế bào này chính là đại thực bào [26]. Trên những tiêu bản lát cắt, hàm lượng bạch cầu đơn nhân nhiều nhất gặp ở tiêu bản thận bởi thận là nơi chủ yếu hình thành bạch cầu đơn nhân [6], còn gan là nơi sản sinh ít nhất.

Số lượng tương đối của bạch cầu hạt - bạch cầu trung tính và bạch cầu ái toan ở cả hai loài đều rất thấp, không quá 1%. Bạch cầu hạt tham gia vào quá trình thực bào vi sinh vật, tổng hợp các chất môi giới cho phản ứng miễn dịch, các yếu tố miễn dịch không đặc hiệu [16]. Trong máu ngoại vi và các cơ quan tạo máu của cá lóc đồng đã phát hiện hai loại bạch cầu hạt, trong máu của lươn đồng chỉ phát hiện bạch cầu trung tính, điều này có thể là do số lượng mẫu thu được không nhiều. Bạch cầu hạt có tính kháng ký sinh trùng, tính kháng sinh, tính thực bào, và kiểm soát các phản ứng viêm [25]. Hàm lượng bạch cầu ái toan và bạch cầu ái kiềm ở trong máu lươn ít hoặc không có cũng được các tác giả khác xác nhận [16, 27].

Số lượng tế bào nguyên phát ở các loài cá nước ngọt có thể lên tới 10% và tỷ lệ của chúng trong công thức bạch cầu phụ thuộc vào đặc điểm loài và đặc điểm sinh thái của cá [1, 2]. Trong công thức bạch cầu máu ngoại vi cá lóc đồng, số lượng tế bào nguyên phát cao hơn gần hai lần so với lươn. Trong số các cơ quan miễn dịch, số lượng tế bào nguyên phát lớn nhất được ghi nhận trong cơ quan tạo máu chính của các loài cá có xương, đó là thận. Ở lá lách, nơi diễn ra quá trình hình thành tế bào lympho hạt [2, 6, 12, 28], những tế bào này được ghi nhận với số lượng ít hơn ba lần, còn ở gan - số lượng của chúng không vượt quá 2%.

Phân tích các số liệu thu được cho thấy, *Channa striata* và *Monopterus albus* khác với những loài cá nước ngọt khác bởi hàm lượng bạch cầu hạt thấp. Ở cả hai loài nghiên cứu đều không bắt gặp tế bào bạch cầu ái kiềm, còn ở lươn không bắt gặp cả bạch cầu ái toan. Những khác biệt này phản ánh đặc điểm loài của chúng. Rõ ràng những loại bạch cầu này không được sử dụng trong các phản ứng miễn dịch. Sự hiện diện tương tự của ba loại bạch cầu ghi nhận trong máu của cá hồi vân *Parasalmo mykiss* [29], cá bơn *Pleuronectes platessa* [7] và mô tạo máu của cá xanh lam *Pomatomus saltatrix* (L.) [30].

4. KẾT LUẬN

- Các tế bào bạch cầu của *Channa striata* và *Monopterus albus* không đồng nhất về đặc điểm hình thái, chức năng và được đại diện bởi các tế bào có cấu trúc khác nhau.

- Tế bào lympho là tế bào chiếm ưu thế trong thành phần bạch cầu máu ngoại vi cũng tương tự như phần lớn các loài cá nước ngọt khác.

- Hàm lượng tế bào bạch cầu hạt ở *Channa striata* và *Monopterus albus* chiếm ít hơn 1%.

Lời cảm ơn: Bài báo được thực hiện trong khuôn khổ Nhiệm vụ cấp Quốc gia (Đề tài số N_đ AAAA-A18-118012690123-4). Tác giả trân trọng cảm ơn TSKH Tyunov A.V. (IPEE RAS) đã tổ chức chuyến khảo sát, cùng các cán bộ Chi nhánh phía Nam của Trung tâm Nhiệt đới Việt - Nga, TS Trynov V.L., TS Vasileva A.B., TS Palko Y.V và TS Semeniuk Y.Y đã giúp đỡ thu thập mẫu vật.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Головина Н.А., Тромбицкий И.Д., *Гематология прудовых рыб*. Кишинев: Штиинца, 1989, С.156.
2. Иванова Н.Т., *Атлас клеток крови рыб*, М.: Легкая и пищевая промышленность, 1983, 184 с.
3. Изергина, Е.Е., Изергин И.Л., Изергин Л.И., *Атлас клеток крови лососевых рыб материкового побережья северной части Охотского моря*, Магадан: Кордис, 2014, 127 с.
4. Назарова Е.А., Заботкина Е.А., *Особенности лейкоцитарного состава почек у некоторых видов пресноводных и морских костистых рыб*, Биология внутренних вод, 2010, **2**:92-97.
5. Ellis A.E., *The leucocytes of fish: a review*, J. Fish. Biol, 1977, **11**(5):453-491.
6. Fänge R., *The formation of eosinophilic granulocytes in the eosinophilic lymphomyeloid tissue in the elasmobranchs*, Acta Zool. Stockh, 1968, **49**:155-161.
7. Flerova E.A., Balabanova L.V., *Ultrastructure of Granulocytes of Teleost Fish (Salmoniformes, Cypriniformes, Perciformes)*, Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology, 2013, **49**(2):223-233.
8. Gordeev I.I., Mikryakov D.V., Balabanova L.V., Mikryakov V.R., *Composition of Leucocytes in Peripheral Blood of Antarctic Toothfish Dissostichus mawsoni (Nototheniidae)*, Journal of Ichthyology, 2014, **54**(6):422-425.
9. Заботкина Е.А., Лапирова Т.Б., Середняков В.Е., Нестерова Т.А., *Экологическая пластичность гематологических показателей пресноводных костистых рыб*, Труды Института биологии внутренних вод., 2015. вып. **72**(75):16-29.
10. Яхненко В.М., Клименков И.В., *Особенности состава и структуры клеток крови рыб пелагиали и прибрежья озера Байкал*, Известия РАН, 2009, Серия биологическая, **1**:46-54.
11. Минеев А.К., Калинин Е.А., *Особенности лейкоцитарной формулы у плотвы (Rutilus rutilus Linnaeus, 1758) из водоёмов разного типа (на примере Саратовского водохранилища и малых рек Республики Удмуртия)*, Известия Самарского НЦ РАН, 2012, **1**:213-217.
12. Argungu L.A., Amin S.M.N., Bakhari A.N.B., Ara R., Rahman M.A., Arshad A., Aliyu-Paiko M., *Biochemical and haematological profile of Malaysian snakehead, Channa striatus (Bloch)*, Journal of Food, Agriculture and Environment, 2015, **13**(1):12-17.
13. George K.R., Malini N.A., Rajasree D., *Effects of acclimation on the haematological indices of different groups of fresh water teleosts*, Journal of Applied and Natural Science, 2015, **7**(1):5-9.

14. Hien T.T.T., Duc P.M., Tran-Tu L.C., Phu T.M., Thy D.T.M., Bengtson D.A., *Growth performance and immune response of snakehead, Channa striata* (Bloch 1793) fed soy diets with supplementation of Mannan Oligosaccharides, *Asian Fisheries Science*, 2016, **29**:67-81.
15. Munir M.B., Hashim R., Azizah S., Nor M., Marsh T.L., *Effect of dietary prebiotics and probiotics on snakehead (Channa striata) health: Haematology and disease resistance parameters against Aeromonas hydrophila*, *Fish and Shellfish Immunology*, 2018.
16. Ponsen S., Narkkong N.-A., Pamok S., Aengwanich W., *Comparative Hematological Values, Morphometric and Morphological Observation of the Blood Cell in Capture and Culture Asian Eel, Monopterus albus* (Zuiew), *American Journal of Animal and Veterinary Sciences*, 2009, **4**(2):32-36.
17. Wang Y., Mao Z., Li L., *Study on blood physiology of ricefield eel (Monopterus albus)*, *Amino Acids and Biotic Resources*, 2002, **24**(1):7-8.
18. Davidson A., *Fish and fish dishes of Laos*, Imprimerie Nationale Vientiane, 1975, 202 p.
19. Allen G.R., *Field guide to the freshwater fishes of New Guinea*, Publication, Christensen Research Institute, Madang, Papua New Guinea, 1991, No.9, 268p.
20. Menon A.G.K., *Check list - fresh water fishes of India*, *Rec. Zool. Surv. India*, Misc. Publ., Occas. Pap., 1999, No.175, 366 p.
21. Лакин Г.Ф., *Биометрия*, Учебное пособие для биол. спец, вузов, 4-е изд., перераб. и доп., М.: Высшая школа, 1990, 352 с.
22. Кондратьева И.А., Киташова А.А., *Функционирование и регуляция иммунной системы рыб*, *Иммунология*, 2002, **2**:97-101.
23. Микряков В.Р., *Закономерности формирования приобретенного иммунитета у рыб*, Рыбинск: ИБВВ РАН, 1991, 153 с.
24. Житенева Л.Д., Полтавцева Т.Г., Рудницкая О.А., *Атлас нормальных и патологически измененных клеток крови рыб*. Справочник. Ростов-на-Дону: Ростовское книжное издательство, 1989, 112 с.
25. Ройт А., Бростофф Дж., Мейл Д., *Иммунология*. М.: Мир, 2000, 592 с.
26. Флёрова Е.А., *Клеточная организация почек костистых рыб (на примере отрядов Cypriniformes и Perciformes)*, Ярославль: Ярославская ГСХА, 2012, 140 с.
27. Yamamoto M.N, Tagawa A.W., *Hawai'i's native and exotic freshwater animals*, Mutual Publishing, Honolulu, Hawaii, 2000, 200 p.
28. Rahman A.K.A., *Freshwater fishes of Bangladesh*, Zoological Society of Bangladesh, Department of Zoology, University of Dhaka, 1989, 364 p.

29. Пустовит Н.С., Пустовит О.П., *Некоторые гематологические показатели молоди камчатской микижи *Parasalmo mykiss**, Вопросы ихтиологии, 2005, **5**(45):680-688.
30. Froese R., Pauly D., *Fish Stocks*, In: Encyclopedia of Life Science, Elsevier [in press] <https://www.fishbase.us/summary/>

SUMMARY

THE LEUKOCYTE FORMULA OF PERIPHERAL BLOOD AND HEMATOPOIETIC ORGANS OF *Channa striata* (Bloch, 1793) AND *Monopterus albus* (Zuiew, 1793) FROM CATTIEN NATIONAL PARK (VIETNAM)

The composition of leukocytes of peripheral blood of the snakehead *Channa striata* and rice eel *Monopterus albus* and the hematopoietic organs of the snakehead was investigated. It was established that the leukocytes of *C. striata* and *M. albus* were heterogeneous in terms of morphofunctional characteristics and different by cell structures: lymphocytes, monocytes, neutro-, eosinophils and blast cells. The compositions of blood leukocytes and hematopoietic organs were dominated by lymphocytes, following by blast forms of cells and a small percentage of granulocytes and monocytes/macrophages. Two types of granulocytes were revealed in the striped snakehead: neutrophils and eosinophils, while in rice eel - only neutrophils.

Keywords: Fish, snakehead, eel, leukogram, leukocytes.

⁽¹⁾ *Viện Nghiên cứu Thủy sản và Hải dương học toàn Nga*

⁽²⁾ *Trường Đại học Tổng hợp Mát-x-cơ-va mang tên M.V. Lomonosov*

⁽³⁾ *Viện Sinh học nước nội địa, Viện Hàn lâm Khoa học Nga*

Nhận bài ngày 25 tháng 6 năm 2019

Phản biện xong ngày 23 tháng 9 năm 2019

Hoàn thiện ngày 18 tháng 10 năm 2019