

# ẢNH HƯỞNG CỦA ĐỘ MẶN THẤP LÊN ĐIỀU HÒA ÁP SUẤT THẨM THẤU VÀ HOẠT TÍNH MEN $Na^+/K^+$ ATPASE Ở TÔM THẺ CHÂN TRẮNG (*Litopenaeus vannamei*)

Đỗ Thị Thanh Hương<sup>1</sup> và Marcy N. Wilder<sup>2</sup>

## ABSTRACT

*Hemolymph osmolality of the shrimp (Litopenaeus vannamei) exposed to salinities of 0.5 ppt or 1 ppt decreasing rapidly from 800 mOsm to 540 mOsm after 6 hours. Levels also dropped dramatically from 800 mOsm to 560 mOsm in shrimp exposed to 3 ppt after 6 hours and 1 day. The significant difference were found between the osmolality levels in the shrimp at before and after exposure. Hemolymph osmolality of the whiteleg shrimps changed after exposure to low salinities, showing hyper-osmoregulatory behavior in low salinities. Hemolymph sodium levels of the shrimps remained stable in the highest salinity treatment (28ppt), whereas levels in the other treatments dropped very quickly and significantly compared to those from the highest salinity treatment. At 0.5 ppt and 1 ppt, after 6 hours of transfer, the levels decreased from 380 mmol/L to 180 and 200mmol/L respectively. The highest activity of  $Na^+/K^+$  ATPase in the gill of shrimp transferred to 7 ppt after 7 days was  $6.5 \pm 1.6 \mu\text{mol ADP/mg protein/h}$ . This activities in gills of the white leg shrimps increased when they were transferred to low salinities except 0.5 and 1 ppt. Results from this study show that the whiteleg shrimp (*Litopenaeus vannamei*) can not survive in low salinities (<1ppt) because it loses the capacity to osmoregulate.*

**Keywords:** shrimp, salinity

**Title:** The  $Na^+/K^+$  ATPase activities and osmoregulation in adult whiteleg shrimp (*Litopenaeus vannamei*) exposed to low salinities

## TÓM TẮT

Áp suất thẩm thấu (ASTT) của dịch máu tôm thẻ chân trắng (*Litopenaeus vannamei*) khi chuyển trực tiếp từ môi trường có độ mặn 28 ‰ vào môi trường có độ mặn 0,5 ‰ hoặc 1 ‰ đã bị giảm rất nhanh từ 800 mOsm xuống 540 mOsm sau 6 giờ. Giá trị này cũng giảm đột ngột từ 800 mOsm xuống 560 mOsm khi cho tôm vào độ mặn 3 ‰ sau 6 giờ và 1 ngày thí nghiệm. Sự khác biệt có ý nghĩa ( $p < 0,05$ ) xuất hiện giữa ASTT của tôm tại thời điểm 0 giờ so với các thời điểm thu mẫu khác. Như vậy tôm thẻ chân trắng khi chuyển vào môi trường có độ mặn thấp đã điều hòa tình trạng ASTT cao so với môi trường (hyper-osmoregulatory). Nồng độ  $Na^+$  trong dịch máu tôm đã không thay đổi ở nghiệm thức 28 ‰. Trong khi đó ở các nghiệm thức khác giá trị này giảm rất nhanh và có ý nghĩa so với đối chứng ( $p < 0,05$ ). Ở độ mặn 0,5 ‰ và 1 ‰, nồng độ ion Natri đã giảm từ 380 mmol/L xuống 180 và 200mmol/L theo thứ tự sau 6 giờ. Hoạt tính của men này cao nhất trong tôm ở độ mặn 7 ‰ là  $6,5 \pm 1,6 \mu\text{mol ADP/mg protein/h}$ . Hoạt tính của  $Na/K$  ATPase trong mang tôm đã gia tăng khi chuyển vào môi trường có độ mặn thấp ngoại trừ nghiệm thức 0,5 và 1 ‰. Kết quả thí nghiệm này cho thấy tôm thẻ chân trắng (*Litopenaeus vannamei*) không thể sống sót ở độ mặn thấp (<1 ‰) vì mất khả năng điều hòa áp suất thẩm thấu trong máu.

**Từ khóa:** tôm, độ mặn

## 1 GIỚI THIỆU

Hầu hết các loài giáp xác biển điều hòa áp suất thẩm thấu (ASTT) dịch máu ngang bằng với ASTT của môi trường. Tuy nhiên, những loài sống trong môi trường nước ngọt hoặc nước lợ chúng phải đối mặt với vấn đề quan trọng là duy trì nồng độ ASTT dịch cơ thể

<sup>1</sup> Bộ môn Dinh dưỡng và chế biến Thủy sản, Khoa Thủy sản, Đại học Cần Thơ

<sup>2</sup> Trung tâm quốc tế nghiên cứu khoa học nông nghiệp Nhật Bản3 (JIRCAS)

cao hơn ASTT môi trường. Một vài tác giả đã cho biết những loài điều hòa tình trạng ASTT cao hơn môi trường như nhóm hẹp muối, trong nhóm này có thể chia làm hai nhóm nhỏ phụ thuộc vào nồng độ ure mà chúng sản xuất ra, và nhóm điều hòa tình trạng ASTT hoặc cao hoặc thấp như nhóm giáp xác rộng muối. Tôm thẻ chân trắng (*Litopenaeus vannamei*) là một loài tôm biển phân bố tự nhiên ở vùng ven biển tây thuộc vùng Tây bán cầu (Western Hemisphere) và phân bố tự nhiên ở các nước như phía bắc Peru đến Sonora, Mexico và rất nhiều ở vùng biển của Ecuador (Elovaara, 2003). Tôm thẻ chân trắng giai đoạn giống điều hòa tình trạng ASTT cao khi chúng sống trong môi trường có độ mặn thấp và có thể điều hòa tình trạng ASTT thấp khi nuôi trong môi trường có độ mặn cao, đường đẳng áp của chúng với môi trường có ASTT là 718 mOsm với nồng độ muối là 25 ‰ (Castille & Lawrence, 1981a). Đã có nhiều nghiên cứu về ASTT của một số loài giáp xác tương tự như loài này như *Penaeus aztecus*, *Penaeus duorarum*, *Penaeus setiferus*, và *Penaeus stylirostris*. Áp suất thẩm thấu của nhóm này có độ đẳng áp với môi trường nước biển lần lượt là 745 mOsm/Kg, 768 mOsm/Kg, 680 mOsm/Kg và 699 mOsm/Kg. Áp suất thẩm thấu của dịch máu cao hơn ASTT của môi trường khi tôm sống trong môi trường có nồng độ muối thấp hơn nồng độ đẳng trương so với môi trường và ASTT sẽ thấp khi tôm sống trong môi trường có ASTT cao hơn nồng độ đẳng trương. Nồng độ ion  $\text{Na}^+$  và  $\text{Cl}^-$  cũng thể hiện sự thay đổi giống như ASTT, tôm điều hòa tình trạng ion cao hơn môi trường khi sống trong môi trường có nồng độ ion thấp và điều hòa tình trạng ngược lại nếu sống môi trường có nồng độ ion cao (Castille & Lawrence; 1981a). Điều hòa ASTT và ion  $\text{Cl}^-$  trong dịch máu tôm sú ở các giai đoạn lột xác khác nhau trong các nồng độ muối khác nhau đã được xác định. Kết quả cho thấy loài này điều hòa tình trạng ASTT thích ứng với điều kiện môi trường trong chu kỳ lột xác hay ngay tại thời điểm sau khi lột xác. Điểm đẳng áp ở giai đoạn gian lột xác (intermolt) là 663 mOsm/kg, trước khi lột xác là 940 mOsm. Điều hòa ion  $\text{Cl}^-$  ở tình trạng cao hơn môi trường ở môi trường có nồng độ muối thấp 20 ‰ và điểm ion cân bằng là 300 mM (Ferraris *et al.*, 1987). Điều hòa ASTT là một yếu tố sinh lý quan trọng của giáp xác nhằm thích ứng với điều kiện môi trường luôn không ổn định về nồng độ muối.

Tôm thẻ chân trắng có khả năng chịu đựng được với độ mặn của môi trường thấp (Menz & Blake, 1980), chính nhờ yếu tố này mà tôm thẻ chân trắng được nuôi rộng rãi và trở thành đối tượng có giá trị kinh tế nhất nhì trong nghề nuôi thủy sản hiện nay. Loài này có thể tăng trưởng tốt ở môi trường nuôi có độ mặn thấp tại một số vùng ở Mỹ và Ecuador (Samocha *et al.*, 1998; 2002). Tỷ lệ sống của tôm sẽ gia tăng theo sự gia tăng thời gian thuần hóa; thời gian thuần hóa dài vào môi trường có độ mặn thấp trước khi chuyển vào môi trường có nồng độ ion không cân bằng sẽ giúp tôm có khả năng điều hòa được nồng độ ion để thích ứng với môi trường.

Nghề nuôi tôm thẻ chân trắng công nghiệp có thể phát triển mạnh, thành công và bền vững hay không sẽ phụ thuộc rất nhiều vào sự hiểu biết cơ bản về sinh học sinh lý của đối tượng này. Loài này có khả năng thích nghi với yếu tố môi trường như thế nào và khả năng chịu đựng về sự thay đổi độ mặn tốt hay không cần phải được cung cấp cho người nuôi. Quá trình điều hòa ASTT và ion cũng như hoạt tính của các men liên quan đến quá trình vận chuyển các ion có thay đổi với môi trường có nồng độ muối thấp hay không cần phải được nghiên cứu.

## 2 PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1 Mẫu vật và thu mẫu

Tôm thẻ chân trắng (*L. vannamei*) đực, trưởng thành ở giai đoạn gian lột xác có khối lượng cơ thể là  $17,6 \pm 1,4$ g được chuyển từ trại nuôi tôm đến phòng thí nghiệm, sau đó tôm

được thuần hóa cho thích nghi với độ mặn 30 ‰ khoảng 2 tuần. Thí nghiệm được tiến hành với 6 nghiệm thức bao gồm các độ mặn như sau: 15 mOsm (0,5 ‰), 28 mOsm (1 ‰), 73 mOsm (3 ‰), 200 mOsm (7 ‰), 500 mOsm (18 ‰) và 800 mOsm (28 ‰).

Số lượng tôm được dùng cho mỗi nghiệm thức từ 8 đến 14 con. Tôm được chuyển trực tiếp từ bể nuôi có độ mặn 30 ‰ đến các bể có độ mặn tương ứng với các nghiệm thức trên. Máu tôm được thu ở tim hoặc mặt bụng gần gốc chân bò thứ tư bằng kim tiêm 1 mL vào các thời điểm 0 giờ, 6 giờ, 24 giờ, 72 giờ (3 ngày) và 168 giờ (7 ngày) sau khi tôm được chuyển đến các bể thí nghiệm. Máu tôm được trữ trong tủ âm -80°C cho đến khi phân tích ASTT và nồng độ ion. Trong suốt thời gian thí nghiệm mẫu nước cũng được thu để phân tích ASTT và nồng độ ion trong nước.

Mẫu mang tôm được thu để phân tích hoạt tính của enzyme Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase khi kết thúc thí nghiệm hoặc ở các nghiệm thức có độ mặn thấp tôm chết trước.

## 2.2 Phương pháp phân tích mẫu

Áp suất thẩm thấu được phân tích bằng máy đo áp suất thẩm thấu Fiske 1-10 (USA). Nồng độ Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, Ca<sup>2+</sup> được đo bằng máy đo ion IA-100 analyzer (TOA Electronics Ltd., Japan). Mẫu được ly tâm bằng tube có màng lọc (UltraFree<sup>R</sup> MC, Cat. No. UFC3TG00, Millipore Corporation, USA) với tốc độ 7000 vòng trên phút khoảng 30 phút. Dung dịch sau khi lọc được pha loãng từ 100 đến 200 lần hoặc hơn nữa tùy theo nồng độ của ion trong dịch máu tôm ở các độ mặn khác nhau. Dung dịch đệm sử dụng để đo nồng độ các ion là 1.2-benzenedicarboxylic acid (C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>(COOH)<sub>2</sub>), phthalic acid 3.00 mM, 2-amino-2-(hydroxymethyl)-1,3-propanedio (H<sub>2</sub>NC(CH<sub>2</sub>OH)<sub>2</sub>) 2,74 mM và boric acid H<sub>2</sub>BO<sub>3</sub> 200 mM (Huong *et al.*, 2001).

Hoạt tính của men Na/K-ATPase được phân tích theo phương pháp Elisa, mang tôm được nghiền trong dung dịch đệm và ly tâm bằng máy ly tâm lạnh ở tốc độ 12.000 vòng/ phút. Phần trên dung dịch được thu lại sau đó cho thêm các dung dịch đệm vào và đọc ở bước sóng 340 nm bằng máy microplate reader. Kết quả hoạt tính của men thể hiện trên mg protein và theo thời gian (Đỗ Thị Thanh Hương, *et al.*, 2004).

## 2.3 Xử lý số liệu

Số liệu được phân tích ANOVA, Duncan's Multiples range test với chương trình SPSS software. Sự khác biệt có ý nghĩa được xem xét ở mức P=0,05 hoặc thấp hơn.

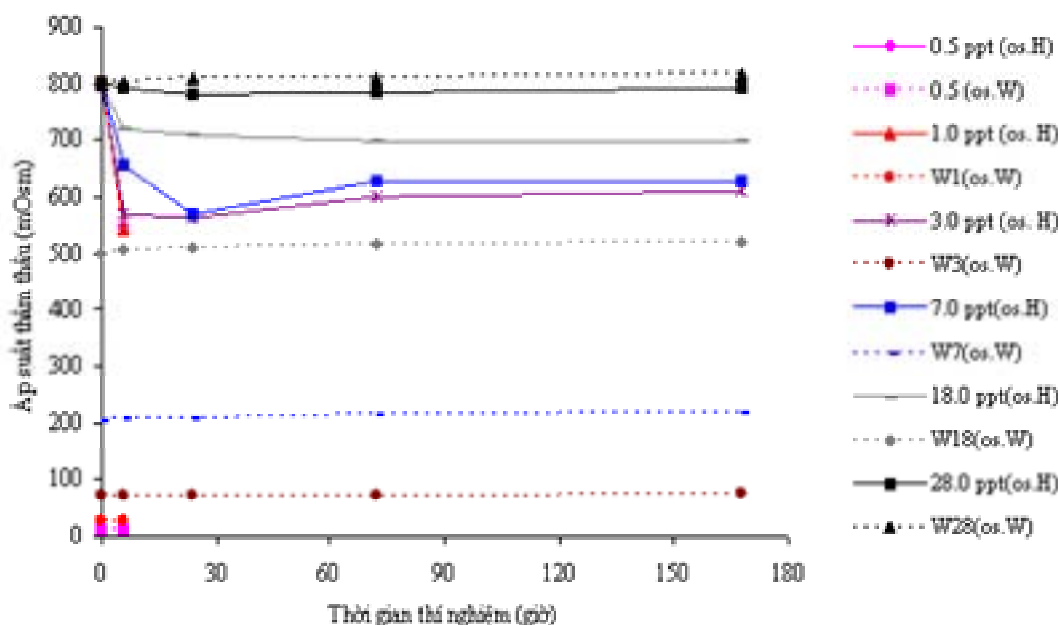
# 3 KẾT QUẢ THÍ NGHIỆM

## 3.1 Áp suất thẩm thấu của dịch máu tôm thẻ chân trắng ở các độ mặn thấp khác nhau

Áp suất thẩm thấu của dịch máu tôm thẻ chân trắng đã thay đổi khi chuyển tôm vào môi trường có độ mặn thấp khác nhau. Sự thay đổi này được trình bày trong Hình 1. Ở nghiệm thức có độ mặn thấp (0,5 ‰ hoặc 1 ‰), ASTT máu tôm giảm nhanh chóng từ 800 mOsm xuống 540 mOsm sau 6 giờ thí nghiệm. Tôm đã chết toàn bộ sau 6 giờ thí nghiệm. Áp suất thẩm thấu cũng giảm khá nhanh từ 800 mOsm xuống còn 560 mOsm ở nghiệm thức có độ mặn 3 ‰ sau 6 giờ và 1 ngày kể từ khi bắt đầu thí nghiệm. Tuy nhiên, giá trị này đã được hồi phục trở lại, đạt 600 mOsm sau 3 ngày, và duy trì ổn định trong suốt thời gian thí nghiệm còn lại, đã có sự sai khác có ý nghĩa giữa ASTT tại thời điểm 0 giờ với ASTT của dịch máu ở các thời điểm lấy mẫu máu. Tỷ lệ sống của tôm ở nghiệm thức có độ mặn 3 ‰ là 30% sau 7 ngày. Sau khi chuyển đến môi trường có độ mặn 7 ‰, ASTT dịch máu tôm đã giảm dần dần xuống còn 630 và 570 mOsm sau 6 giờ và 1 ngày thí nghiệm theo thứ tự. Sự sai khác có ý nghĩa ( $p < 0,05$ ) so với ASTT của tôm ở thời điểm 0 giờ đã được tìm thấy. Tỷ lệ sống khi chuyển tôm trực tiếp vào môi trường nước có độ

mặn 7 ‰ là 50% sau 7 ngày thí nghiệm. Khi chuyển tôm vào môi trường có độ mặn 18 ‰, ASTT của tôm giảm tương đối chậm từ 800 mOsm xuống 700 mOsm sau 6 giờ, và duy trì đến hết thời gian thí nghiệm. Tỷ lệ sống của tôm ở độ mặn 18 ‰ là 80% sau 7 ngày thí nghiệm. Ở độ mặn 28 ‰ tôm không có sự gia tăng hay giảm ASTT. Áp suất thẩm thấu của dịch máu tôm có thay đổi khi chuyển tôm đến môi trường có độ mặn thấp điều này cho thấy tôm thể chân trắng điều hòa tình trạng ASTT dịch máu cao khi sống trong môi trường có độ mặn thấp.

Áp suất thẩm thấu của tôm thể chân trắng khoảng 790 mOsm ở độ mặn 28 ‰ cao hơn và sai khác có ý nghĩa ( $P<0,05$ ) so với ASTT của tôm ở các độ mặn thấp sau 6 giờ thí nghiệm (Hình 1). Ở độ mặn thấp 0,5 và 1 ‰, ASTT môi trường quá thấp tôm không có khả năng điều hòa được nồng độ ion để duy trì ASTT trong dịch máu, trong khi ở độ mặn 3 ‰, ASTT của môi trường nước tương đối cao hơn (73 mOsm); ASTT trong máu có thể duy trì được khoảng 560 mOsm, và một vài cá thể đã có khả năng điều hòa được, sau đó 3 ngày thì chúng có khả năng tồn tại được.



Hình 1: Áp suất thẩm thấu máu (os.H) tôm thể chân trắng *Litopenaeus vannamei* ở các độ mặn thấp khác nhau và áp suất thẩm thấu của môi trường nước thí nghiệm (os.W)

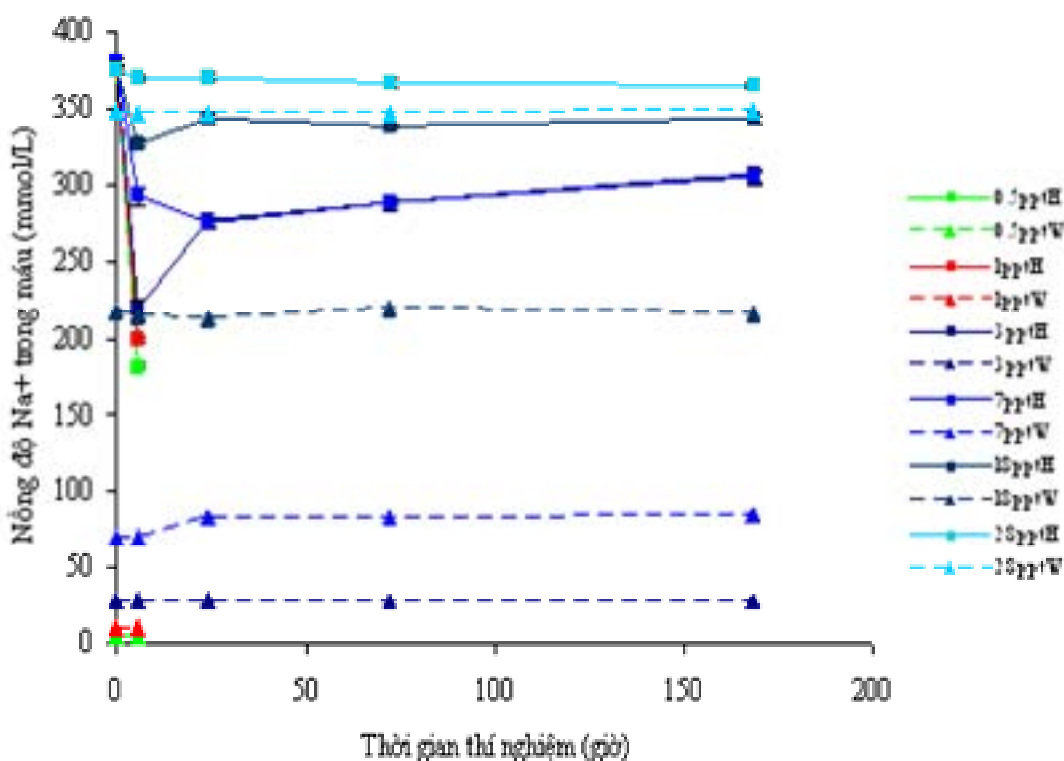
### 3.2 Nồng độ ion trong máu tôm thể chân trắng ở các nghiệm thức có độ mặn thấp khác nhau

Nồng độ ion  $Na^+$  trong máu tôm duy trì ổn định ở nghiệm thức 28 ‰. Tuy nhiên giá trị này đã giảm nhanh chóng khi chuyển tôm đến môi trường có độ mặn thấp khác nhau. Sự sai khác có ý nghĩa ( $P<0,05$ ) đã tìm thấy giữa nồng độ ion natri của máu tôm ở các nghiệm thức có độ mặn thấp so với nghiệm thức có độ mặn cao (28 ‰). Và sự sai khác có ý nghĩa ( $P<0,05$ ) cũng thể hiện theo thời gian tại thời điểm 0 giờ với 6 giờ, 1 ngày, 3 ngày và 7 ngày ở tất cả các nghiệm thức (Hình 2).

Ở nghiệm thức có độ mặn thấp nhất, nồng độ ion  $Na^+$  trong máu tôm giảm thật nhanh từ 380 mmol/L xuống còn 180 và 200mmol/L sau 6 giờ chuyển đến môi trường có độ mặn 0,5 ‰ và 1 ‰, theo thứ tự. Sự sai khác có ý nghĩa giữa nồng độ ion  $Na^+$  tại thời điểm 0 giờ và 6 giờ.

Ở nghiệm thức có độ mặn thấp vừa, nồng độ ion  $\text{Na}^+$  trong máu tôm giảm xuống 220 mmol/L sau 6 giờ khi chuyển tôm đến môi trường nước có độ mặn 3 ‰, và nồng độ này đã tăng lên từ đạt 300 mmol/L khi kết thúc thí nghiệm. Tuy nhiên sự sai khác có nghĩa cũng thể hiện ( $P < 0,05$ ) giữa các nồng độ tại thời điểm 0 giờ và 6 giờ, 1 ngày, 3 ngày và 7 ngày. Nồng độ ion này cũng giảm chậm từ giá trị cực đại (380 mmol/L) xuống còn 290 mmol/L ở nghiệm thức 7 ‰ và duy trì cho đến khi kết thúc thí nghiệm. Nồng độ ion  $\text{Na}^+$  của tôm tại thời điểm 0 giờ sai khác có ý nghĩa so với giá trị này tại thời điểm 6 giờ, 1 ngày, 3 ngày và 7 ngày. Tuy nhiên sự sai khác đã không có ý nghĩa khi so sánh giá trị này tại thời điểm 6 giờ với các thời điểm lấy máu khác trong suốt thí nghiệm.

Ở nghiệm thức có nồng độ muối cao, nồng độ ion  $\text{Na}^+$  trong máu tôm giảm nhẹ từ 380 mmol/L xuống 330 mmol/ sau 6 giờ chuyển đến môi trường có độ mặn 18 ‰, và sau đó giá trị này đã phục hồi trở lại và đạt 350 mmol/L ở thời điểm cuối thí nghiệm. Tuy nhiên, sự sai khác không có ý nghĩa ( $P > 0,05$ ) giữa các giá trị tại thời điểm 6 giờ với các thời điểm khác trong suốt thời gian thí nghiệm nhưng có ý nghĩa ( $P < 0,05$ ) tại thời điểm 0 giờ với các thời điểm 6 giờ, 1 ngày, 3 ngày và 7 ngày.

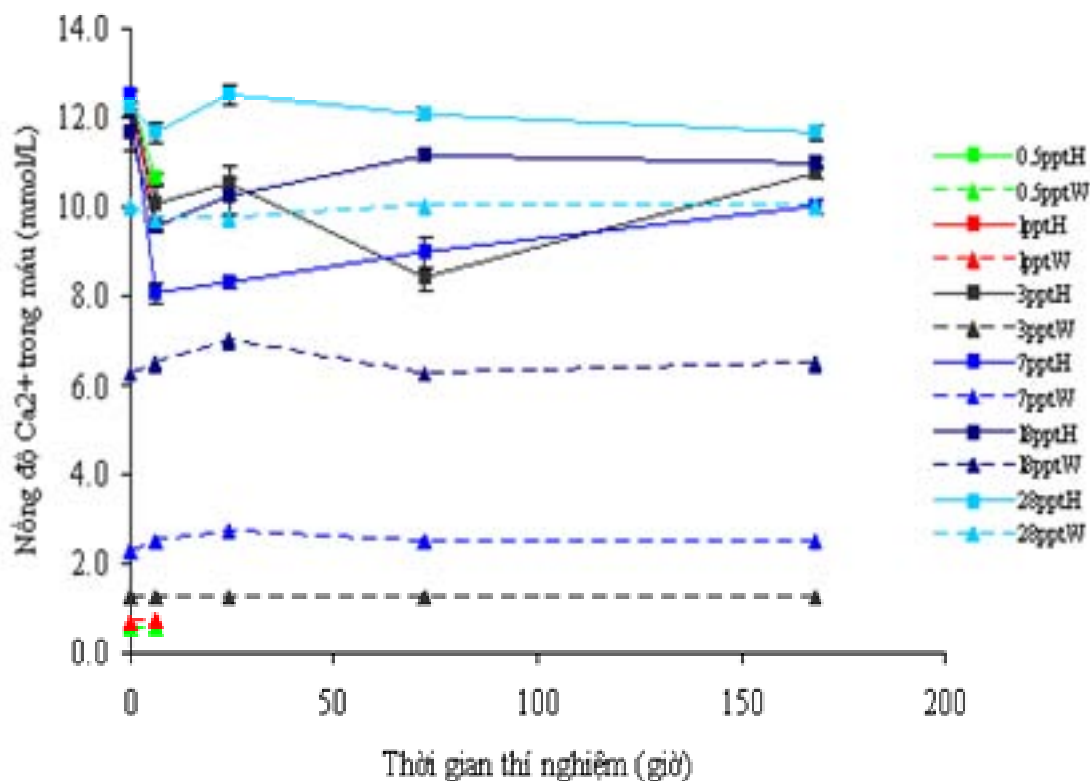


Hình 2: Nồng độ ion  $\text{Na}^+$  trong máu tôm *Litopenaeus vannamei* ở các độ mặn khác nhau và nồng độ ion  $\text{Na}^+$  của môi trường nước thí nghiệm (trong máu (H) và trong nước (W))

Sự thay đổi về nồng độ ion  $\text{Ca}^{2+}$  trong máu tôm thẻ chân trắng trong suốt thời gian thí nghiệm được trình bày trong Hình 3. Giá trị này đã giảm rất ít từ 12,5 mmol/L xuống 9,5 mmol/L sau 6 giờ chuyển đến môi trường có độ mặn 1 ‰. Sự sai khác có ý nghĩa ( $P < 0,05$ ) giữa các giá trị tại 0 giờ và 6 giờ. Ở nghiệm thức 7 ‰ cũng giảm từ 12,5 mmol/L xuống 8,1 mmol/L sau 6 giờ và cũng sai khác có ý nghĩa so với giá trị này tại thời điểm 0 giờ. Những nghiệm thức còn lại, nồng độ ion này không thay đổi nhiều.

Nồng độ ion  $\text{Mg}^{2+}$  trong dịch máu tôm sau 6 giờ chuyển đến các nghiệm thức 0.5 ‰, 1 ‰, 3 ‰ và 7 ‰ cũng giảm nhanh từ 6,5 mmol/L đến 2,5 mmol/L và sai khác có ý nghĩa ( $P < 0,05$ ). Tuy nhiên sau 1 ngày ở nghiệm thức 3 ‰ và 7 ‰, thì giá trị này trở lại ổn định cho đến cuối thí nghiệm. Sai khác không có ý nghĩa ( $P > 0,05$ ) giữa các giá trị tại thời

điểm 6 giờ và 1 ngày, 3 ngày và 7 ngày. Ở nghiệm thức 18 ‰, nồng độ ion  $Mg^{2+}$  giảm xuống còn 4 mmol/L sau 6 giờ và sai khác có ý nghĩa so với thời điểm 0 giờ.

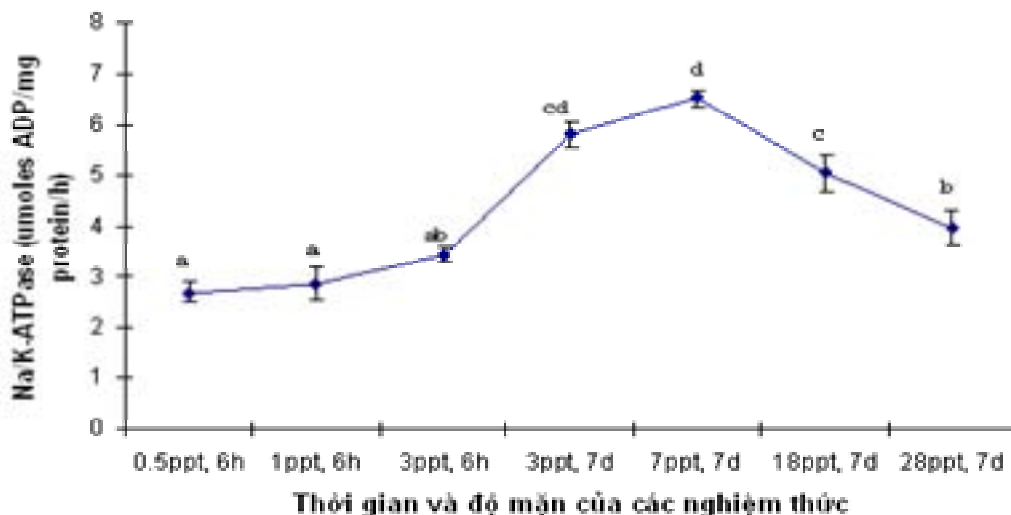


**Hình 3: Nồng độ ion  $Ca^{2+}$  trong máu tôm *Litopenaeus vannamei* ở các độ mặn khác nhau và nồng độ ion  $Ca^{2+}$  của môi trường nước thí nghiệm (trong máu (H) và trong nước (W))**

Nồng độ  $K^+$  đã giảm từ 9,3 mmol/L xuống 4,8 mmol/L sau 6 giờ chuyển đến 0,5 ‰, 1 ‰, 3 ‰ và 7 ‰. Sai khác có ý nghĩa ( $P < 0,05$ ) giữa các giá trị tại thời điểm 0 giờ và 6 giờ. Nồng độ này đã tăng dần từ lên 5,6 mmol/L sau 3 ngày, và đạt 8 mmol/L sau 7 ngày; không có sự sai khác tại thời điểm 0 giờ và 7 ngày. Sự thay đổi giống như vậy cũng thể hiện ở nghiệm thức 7 ‰; giá trị này tăng lên 7,8 mmol/L sau 3 ngày, và sai khác không có nghĩa tại 0 giờ và 3 ngày. Nồng độ này cũng giảm nhẹ xuống mức 7,9 mmol/L sau 6 giờ ở nghiệm thức 18 ‰ và sai khác có ý nghĩa khi so sánh với giá trị này tại thời điểm 0 giờ. Sau đó, giá trị này đã tăng và đạt gần với giá trị ban đầu (0 giờ). Sai khác không có ý nghĩa giữa các giá trị tại thời điểm 6 giờ so với thời điểm 1 ngày, 3 ngày và 7 ngày.

### 3.3 Hoạt tính của men Na/K ATPase trong mang tôm thể chân trắng ở các nghiệm thức có độ mặn thấp khác nhau

Hoạt tính của men Na/K ATPase trong mang tôm khi chuyển vào môi trường có độ mặn thấp được trình bày trong Hình 4; hoạt tính của men giảm thấp  $2,7 \pm 0,2$  và  $2,9 \pm 0,2$   $\mu\text{mol ADP/mg protein/h}$  theo sự giảm ASTT của máu tôm khi chuyển vào môi trường có độ mặn thấp 0,5 và 1 ‰. Trong môi trường có độ mặn cao hơn (3 ‰), hoạt tính của men thấp khoảng  $3,4 \pm 0,1$   $\mu\text{mol ADP/mg protein/giờ}$  sau 6 giờ, nhưng hoạt tính của men đã gia tăng dần và đạt  $5,8 \pm 0,2$   $\mu\text{mol ADP/mg protein/giờ}$  sau 7 ngày. Hoạt tính của men Na/K ATPase ở nghiệm thức 7 ‰ là  $6,5 \pm 1,6$   $\mu\text{mol ADP/mg protein/giờ}$ , nhưng ở các độ mặn cao 18 ‰ và 28 ‰ hoạt tính của men không tăng cao chỉ đạt  $5,1 \pm 0,4$  và  $4,0 \pm 0,3$   $\mu\text{mol ADP/mg protein/giờ}$  theo thứ tự.



**Hình 4: Hoạt tính men Na/K ATPase trong mang tôm thẻ chân trắng theo thời gian ở các độ mặn khác nhau (chữ cái khác nhau thể hiện sự sai khác có ý nghĩa giữa các nghiệm thức ( $P < 0,05$ ))**

#### 4 THẢO LUẬN

Sự điều hòa ASTT và ion trong máu tôm thẻ chân trắng *L. vannamei* ở môi trường có độ mặn thấp đã được xác định. Trong nghiên cứu này đã tìm thấy ASTT máu của loài này (790 mOsm/kg) duy trì ổn định và ngang bằng với ASTT của môi trường (isosmotic) ở độ mặn 28 ‰ (800 mOsm/kg), trong suốt thời gian thí nghiệm. Thêm một kết quả mới là ở các nghiệm thức có nồng độ muối thấp, áp suất thẩm thấu máu giảm nhanh chóng trong trường hợp này tôm điều hòa tình trạng ASTT cao hơn môi trường (hyperosmoregulator). Kết quả này chỉ ra rằng *L. vannamei* có khả năng điều hòa ASTT trong môi trường nước biển và nước lợ (độ mặn thấp từ 3 ‰), kết quả này phù hợp với một số nghiên cứu với những loài khác trong giống *Penaeus* (Castille & Lawrence, 1981a; Mantel & Farmer 1983). *P. setiferus* có khả năng chịu đựng được sự thay đổi độ mặn rất rộng, từ nước ngọt đến 150% nước biển (45 ‰) và *P. aztecus* thì từ 10 đến 200% nước biển (3 ‰ đến 70 ‰); tôm *P. setiferus* có khả năng điều hòa tình trạng ASTT cao khi cho vào môi trường có độ mặn thấp và *P. stylirostris* thì có khả năng điều hòa tình trạng ASTT thấp (hypoosmoregulator) khi ở môi trường có độ mặn cao và ngược lại điều hòa tình trạng cao (hyperosmoregulator) khi vào môi trường có độ mặn thấp (Lemaire *et al.*, 2002). Một loài khác thuộc giống *Penaeus* có tên là western king prawn (*Penaeus latisulcatus*) cũng có khả năng điều hòa ASTT như các loài được đề cập phía trên, loài này cũng có khả năng điều hòa tình trạng ASTT thấp hoặc cao hơn nếu như cho chúng vào môi trường có độ mặn cao hoặc thấp hơn điểm đẳng áp giữa máu và môi trường nước (Sang & Foteda, 2004). Loài tôm *P. chinensis* cũng thể hiện khả năng điều hòa ASTT và ion như các loài trên, khi chuyển chúng đến môi trường có ASTT và nồng độ ion thấp hơn điểm đẳng áp hoặc điểm đẳng áp thì chúng sẽ điều hòa tình trạng cao (hyper-osmotic và hyper-ionic) và sẽ điều hòa tình trạng ngược lại (hypo-osmotic hoặc hypo-ionic) nếu được chuyển vào môi trường có độ mặn và ion cao hơn điểm đẳng áp (Chen & Lin, 1998). Tôm bạc thẻ *P. indicus* cũng có khả năng chịu đựng và điều hòa ASTT và ion trong môi trường có độ mặn thay đổi lớn (Parado-Esteba *et al.*, 1987).

Khi chuyển trực tiếp vào môi trường có độ muối thấp từ 3 ‰, 7 ‰, và 18 ‰, tôm thẻ chân trắng có khả năng điều hòa ASTT và ion trong suốt thời gian thí nghiệm. Mặc dù, khi chuyển vào môi trường nước 3 ‰, trong thời gian đầu vài giờ tôm đã cố gắng thoát

khỏi môi trường; một vài tôm đã không có khả năng điều hòa được ASTT, lượng nước vào cơ thể quá nhiều, tôm bị mất một lượng ion khá lớn, ASTT máu giảm đột ngột dẫn đến tỉ lệ chết tăng lên cao so với các nghiệm thức khác (70%). Tôm còn sống sót vẫn chưa ăn được trong 2 ngày đầu, đồng thời tôm cũng hoạt động chậm chạp. Sau 2 ngày thì tôm bắt đầu trở nên hoạt động lại và bắt đầu ăn, điều này cho thấy tôm có khả năng điều hòa được ASTT, giá trị này tăng từ 560 mOsm sau 1 ngày thí nghiệm và tăng lên 600 mOsm sau 3 ngày. Khi chuyển trực tiếp tôm từ môi trường có độ mặn là 28 ‰ vào môi trường có độ mặn 7 ‰, tỉ lệ sống của tôm khoảng 50%; ASTT thấu của môi trường có nâng cao hơn nhưng một số tôm vẫn chưa có khả năng điều hòa ASTT tốt. Khi vào môi trường có độ muối quá thấp 0,5 ‰ (15 mOsm) và 1 ‰ (28 mOsm), ASTT giữa máu và môi trường chênh lệch quá lớn tôm bị hiện tượng trương nước và mất một lượng ion khá lớn ra môi trường ngoài, ASTT và nồng độ ion giảm đột ngột trong vào 6 giờ thí nghiệm, kết quả là tôm không có khả năng sống sót trong môi trường độ mặn quá thấp như vậy. Nghiên cứu này cho thấy ASTT máu tôm thấp nhất mà chúng có thể điều hòa được ở khoảng là 540 mOsm, nếu ASTT máu thấp hơn ngưỡng tôm không có khả năng sống sót. Từ đó cho thấy, khi chuyển trực tiếp vào môi trường có độ mặn thấp, ASTT máu tôm sẽ thay đổi nhanh chóng và tạo nên một sự cân bằng ASTT mới giữa cơ thể và môi trường. Kết quả nghiên cứu về điều hòa ASTT của vài loài tôm khác *P. setiferus*, *P. aztecus*, *P. duorarum* và *P. stylirostris* cho thấy 3 loài đầu đòi hỏi khoảng 3-4 ngày cho quá trình điều hòa ASTT để thích nghi với môi trường có độ mặn thấp trong khi *P. stylirostris* thì chỉ mất 1-2 ngày (Castille JR & Lawrence, 1981 a). So sánh với kết quả của nghiên cứu cho thấy *L. vannamei* đòi hỏi thời gian thích nghi trong vòng 1 đến 3 ngày khi chuyển vào môi trường có độ mặn thấp.

Nồng độ ion trong máu tôm cũng thay đổi, nồng độ ion  $\text{Na}^+$  thay đổi giống như sự thay đổi của ASTT máu khi vào môi trường có độ mặn thấp, trong khi  $\text{K}^+$  và  $\text{Mg}^{2+}$  giảm không giống nhau khi chuyển tôm vào môi trường có độ mặn thấp. Nồng độ can xi máu tôm tương đối ổn định trong suốt thời gian thí nghiệm. Kết quả về sự thay đổi nồng độ ion  $\text{Na}^+$  của máu tôm chân trắng trong thí nghiệm này phù hợp với kết quả nghiên cứu trên tôm *P. setiferus* ở độ mặn thấp của tác giả Castille và Lawrence (Castille và Lawrence, 1981b); Giá trị này trong máu tôm giảm từ 400 mOsm trong nước có độ mặn 40 ‰ còn 328 mOsm và 244 mOsm ở 24 ‰ và 10 ‰ theo thứ tự, nồng độ ion  $\text{Cl}^-$  cũng thay đổi như thế. Nồng độ ion  $\text{Na}^+$  trong máu loài tôm khác như *P. stylirostris* cũng giảm rất nhanh khi chuyển chúng vào môi trường có độ mặn thấp 20 ‰ và 10 ‰; từ những kết quả này tác giả đã kết luận rằng nồng độ ion natri trong máu tôm giảm dẫn đến hiện tượng giảm nồng độ  $\text{Na}^+$  trong nước tiểu nhằm hạn chế việc mất ion này ra môi trường ngoài. Với nghiên cứu này, nồng độ ion  $\text{Na}^+$  trong máu luôn cao hơn trong môi trường nước ở các nghiệm thức. Như vậy khi mà động vật này được chuyển vào môi trường có độ mặn thấp đã điều hòa tình trạng ASTT cao hơn môi trường, tại thời điểm này ions trong máu đi ra môi trường và nước từ môi trường sẽ khuếch tán vào cơ thể tôm; cơ chế điều hòa cơ bản của những động vật trong trường hợp này là phải hấp thu, giữ lại ion cho cơ thể và tích cực thải nước ra khỏi cơ thể. Cơ chế vận chuyển ion  $\text{Na}^+$  và  $\text{Cl}^-$  vào cơ thể hoặc thải ra môi trường đã được xác định, cơ chế này được tiến hành bởi khả năng thấm nước của bề mặt cơ thể hoặc sự tham gia của một vài enzyme  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ATPase ở mang hoặc tuyến râu hàm (antenal gland) của giáp xác.

Hoạt tính của men  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ATPase ở mang tôm liên quan đến quá trình vận chuyển tích cực các ion từ môi trường ngoài vào cơ thể tôm, kết quả nghiên cứu của thí nghiệm cho thấy hoạt tính của enzyme quá thấp ở các độ mặn thấp tôm không còn khả năng vận chuyển các ion như  $\text{Na}^+$  vào cho cơ thể vì vậy không bù đắp được lượng  $\text{Na}^+$  đã mất đi ngang qua bề mặt cơ thể. Điều này lý giải vì sao ASTT máu tôm đã giảm quá thấp, kết



quả là tôm đã chết trong vòng 6 giờ thí nghiệm. Trong khi hoạt tính của men ở độ muối cao hơn (3 ‰) vẫn duy trì được cao  $3,4 \pm 0,1 \mu\text{mol ADP/mg protein/giờ}$ , điều này đã giúp tôm sống sót trong thời gian đầu, rồi sau đó tôm đã gia tăng được hoạt tính của men đạt  $5,8 \pm 0,2 \mu\text{mol ADP/mg protein/giờ}$ , giúp tôm bù đắp được lượng ion mất đi, đồng thời trong môi trường này lượng ion mất đi cũng ít hơn so với môi trường có độ mặn thấp hơn 1 ‰. Ở độ mặn 7 ‰ thì hoạt tính tăng cao hơn so với hoạt tính của men tôm ở độ mặn 18 ‰ hoặc 28 ‰, điều này cho thấy hoạt tính của men gia tăng cao khi chuyển tôm vào môi trường có độ mặn thấp cho phép.

Vào giữa thập niên 1980, khả năng thấm của bề mặt vỏ giáp xác đã được nhiều tác giả nghiên cứu (Anevet & Lignon, 1985; Lignon, 1987a; Lignon & Péqueux, 1990); vỏ của giáp xác cho phép các ion, nước có thể thâm thấu ngang qua, đây chính là bộ phận có ảnh hưởng rất lớn đến quá trình điều hòa ASTT cũng như ion  $\text{Na}^+$  và  $\text{Cl}^-$ . Tuy nhiên bộ phận này sẽ tùy thuộc vào từng loài, đối với những loài hẹp muối, mối quan hệ của khả năng thâm thấu của ion dương và âm ngang qua vỏ sẽ phụ thuộc vào hoạt động của dịch lỏng ngang qua bề mặt. Ngược lại, những loài rộng có khả năng điều hòa (euryhaline species), khả năng thâm thấu mà đặc biệt thâm thấu ion phụ thuộc vào nồng độ ion trong máu, chính nhờ điều này chúng có khả năng lấy được ion trong môi trường có độ muối thấp và tích cực thải ion trong môi trường có độ mặn cao. Vì vậy, khi *L. vannamei* được chuyển vào môi trường có độ mặn thấp khả năng thâm thấu vỏ của chúng sẽ giảm nhằm ngăn cản việc xâm nhập nước từ môi trường vào cơ thể và mất ion ra môi trường ngoài.

Nồng độ ion  $\text{Ca}^+$  trong máu tôm thay đổi sau khi chuyển vào môi trường có độ muối thấp nhất (0,5 và 1 ‰) trong 6 giờ đầu. Tuy nhiên, giá trị này đã duy trì ổn định ở tất cả các nghiệm thức có độ mặn thấp. Kết quả thí nghiệm này phù hợp với nghiên cứu trên tôm càng xanh của một số tác giả (Funge-Smith, 1995) và (Wilder *et al.*, 1998). Nồng độ ion can xi của tôm thẻ chân trắng cao hơn so với môi trường ngoài. Cơ chế điều hòa ion can xi trong giáp xác mà đại diện là cua xanh (Cameron & Thomas, 1992) và *Orchetia cavimana* (Garf *et al.*, 1989); kết quả nghiên cứu của các thí nghiệm cho thấy chức năng của can xi trong giáp xác liên quan đến quá trình, chu kỳ lột xác của chúng. Từ kết quả này cho thấy ion  $\text{Ca}^+$  không tham gia vào quá trình điều hòa ASTT của tôm thẻ chân trắng trong môi trường có độ mặn thấp.

Giống như ion  $\text{Ca}^+$ , nồng độ ion  $\text{Mg}^{2+}$  cũng giảm khi chuyển tôm vào môi trường có độ mặn thấp trong vòng 6 giờ, nhưng sau đó chúng có khả năng điều chỉnh ổn định trở lại trong vòng 1 ngày, điều này có thể đưa ra kết luận ban đầu là chúng tham gia vào quá trình lột xác hơn là điều hòa ASTT.

Trong nghiên cứu này nồng độ  $\text{K}^+$  cũng có thay đổi nhỏ khi chuyển tôm từ môi trường có độ mặn cao sang độ mặn thấp, nhưng giá trị này đã hồi phục trở lại sau 3 ngày. Kết quả này cho thấy các ion  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ , và  $\text{K}^+$  không tham gia vào quá trình điều hòa ASTT thâm của tôm thẻ chân trắng.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Anevet P. and J.M. Lignon JM. 1985. Ion permeabilities of gill lamina cuticle of the cray fish *Astacus leptodactylus* (E.). *Journal of Physiology* 363:377-401.
- Cameron J.N. and P. Thomas. 1992. Calcitonin-like immunoreactivity in the blue crab: Tissue distribution, variations in the molt cycle, and partial characterization. *J Exp Zool* 262:279-286.
- Castille Jr. F.L. and A.L. Lawrence. 1981a. The effect of salinity on the osmotic; sodium, and chloride concentrations in hemolymph of euryhaline shrimp of genus *Penaeus*. *Comp Biochem Physiol* 68A:75-80.

- Castille Jr.F.L. and A.L. Lawrence. 1981b. A comparison of osmotic, sodium and chloride concentrations between the urine and hemolymph of *Penaeus setiferus* (L.) and *Penaeus stylirostris* stimpson. *Comp Biochem Physiol* 70A:525-528.
- Chen J.C. and J.N. Lin. 1998. Osmotic concentration and tissue water of *Penaeus chinensis* juveniles rearing at different salinity and temperature levels. *Aquaculture* 164:173-181.
- Đỗ Thị Thanh Hương, Bùi Thị Bích Hằng, Trần Văn Bùi. 2004. Nghiên cứu hoạt tính men  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPase và ương ấu trùng tôm càng xanh (*Macrobrachium rosenbergii*) ở các nồng độ muối khác nhau. *Tạp chí khoa học Đại học Cần Thơ*: 80-90.
- Elovaara A.K. 2003. *Shrimp Farming Manual. Practical technology for Intensive shrimp production.* ISBN: 0-9708605-1-X. Printed in the United States of America.
- Ferraris R.P., F.D. Parado-Esteva, E.G. de Jesus and J.M Ladjá. 1987. Osmotic and chloride regulation in the hemolymph of the tiger prawn *Penaeus monodon* during molting in various salinities. *Marine Biology*. 95:377-385.
- Funge-Smith S.J., A.C. Taylor, J. Whitley and J.H. Brow. 1995. Osmotic and ionic regulation in the giant Malaysian fresh water prawn, *Macrobrachium rosenbergii* (de Man), with special reference to strontium and bromine. *Comp Biochem Physiol* 119A:941-950
- Graf F, M. Fouchereau-Peron, A. Van-Wormhoudt and J.C. Meyran. 1989. Variations of calcitonin-like immunoreactivity in the crustacean *Orchestia cavimana* during a molt cycle. *Gen Comp Endocrinol* 73:80-84.
- Huong D.T.T., W.J. Yang, A. Okuno and M.N. Wilder. 2001. Changes in free amino acids in the hemolymph of giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* exposed to varying salinities: Relationship to osmoregulatory ability. *Comp Biochem Physiol* 128A:317-326.
- Lemaire P, E. Bernard, J.A. Martinez-Paz and L. Chim. 2002. Combined effect of temperature and salinity on osmoregulation of juvenile and subadult *Penaeus stylirostris*. *Aquaculture* 209:307-317
- Lignon J.M. 1987a. Ionic permeability of isolated gill cuticle of shore crab, *Cancer maenas*. *J Exp Biol* 131:159-174.
- Lignon J.M. and A. Péqueux. 1990. Permeability properties of the cuticle and gill ion exchanges in decapod crustacean. In: *Animal nutrition and transport processes. 2. Transport, respiration and excretion: comparative and environmental aspects.* Truchot JP and Lahlou B (eds.) *Comparative Physiology*. 6:14-27. Kager, Basel, Switzerland.
- Mantel LH and L. Farmer. 1983. Osmotic and ionic regulation, In: Mantel L (Ed.). *The biology of crustacean, Vol. 5. Internal anatomy and physiological regulation.* New York: Academic Press, pp:54-161.
- Menz A and B.F. Blake. 1980. Experiments on the growth of *Penaeus vannamei* Boone. *J Exp Mar Biol Ecol* 48:99-111.
- Parado-Esteva FeD, R. Ferraris, J.M. Ladjá and E.G. De Jesus. 1987. Responses of intermolt *Penaeus indicus* to large fluctuations in environmental salinity. *Aquaculture* 64:175-184.
- Samocha T.M., L. Hamper, C.R. Emberson, D.A. Davis, D. McIntosh, A.L. Lawrence and P.M. Van Wyk. 2002. Review of some recent developments in sustainable shrimp farming practices in Texas, Arizona and Florida. *J.Appl Aquac* 12 (1):1-42.
- Samocha T.M., A.L. Lawrence and D. Poser. 1998. Salinity effect on growth and survival of juvenile *Penaeus vannamei* in a semi-closed recirculating system. *Isr J Aquac Bamidgah* 50:55-59.
- Sang H.M. and R. Fotedar. 2004. Growth, survival, haemolymph osmolality and organosomatic indices of western king prawn (*Penaeus latisulcatus* Kishinouye, 1896) reared at different salinities. *Aquaculture* 234:601-614.
- Wilder M.N., K. Ikuta, M. Atmomarsono, T. Hatta and K. Komoro. 1998. Change in osmotic and ionic concentrations in the hemolymph of *Macrobrachium rosenbergii* exposed to varying salinities and correlation to ionic and crystalline composition of the carapace. *Comp Biochem Physiol* 119A:941-950.