

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
TRƯỜNG ĐẠI HỌC CẦN THƠ
KHOA THỦY SẢN

BÁO CÁO KHOA HỌC
Đề tài cấp Bộ

**ẢNH HƯỞNG CỦA AFLATOXIN LÊN TỈ LỆ SỐNG VÀ
TỐC ĐỘ TĂNG TRƯỞNG CỦA CÁ TRA**

(Pangasius hypophthalmus)

Mã số đề tài: B-2003-31-51

8/ 2005

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
TRƯỜNG ĐẠI HỌC CẦN THƠ
KHOA THỦY SẢN

BÁO CÁO KHOA HỌC
Đề tài cấp Bộ

**ẢNH HƯỞNG CỦA AFLATOXIN LÊN TỈ LỆ SỐNG VÀ
TỐC ĐỘ TĂNG TRƯỞNG CỦA CÁ TRA
(*Pangasius hypophthalmus*)
Mã số đề tài: B-2003-31-51**

Chủ nhiệm đề tài
Ts. Trương Quốc Phú

Cán bộ tham gia
Ts. Nguyễn Anh Tuấn
Ths. Dương Thúy Yên
Ks. Phạm Trần Nguyên Thảo
Ts. Trần Thị Thanh Hiền
Ks. Nguyễn Quốc Thịnh

8/ 2005

MỤC LỤC

	Trang
Trang phụ bìa	ii
Mục lục	iii
Danh mục các bảng	iv
Danh mục các hình	iv
Chương 1. Giới thiệu	1
Chương 2. Lược khảo tài liệu	3
2.1. Lịch sử phát hiện Aflatoxin	3
2.2. Công thức cấu tạo và một số tính chất lý hóa của các Aflatoxin	3
2.3. Sự hiện diện và phát triển của Aflatoxin trong tự nhiên	4
2.4. Một số ảnh hưởng của Aflatoxin trên các đối tượng cá nuôi	5
Chương 3. Phương pháp nghiên cứu	8
3.1. Địa điểm và thời gian nghiên cứu	8
3.2. Đối tượng nghiên cứu	
3.3. Ảnh hưởng của thức ăn có chứa hàm lượng AFB1 khác nhau lên tăng trưởng và những biến đổi mô gan, thận của cá Tra	8
3.4. Khảo sát những thay đổi về tiêu hao oxy và khả năng chịu đựng nhiệt của cá tra khi ăn thức ăn có chứa AFB1 với các liều lượng khác nhau	13
3.5. Khảo sát tính miễn cảm của cá tra với bệnh mũ gan khi cho cá ăn thức ăn có chứa hàm lượng AFB1 khác nhau.	15
3.6. Xử lý số liệu	16
Chương 4. Kết quả và thảo luận	17
4.1. Ảnh hưởng của Aflatoxin B1 lên tốc độ tăng trưởng và tỉ lệ sống của cá Tra	17
4.2. Ảnh hưởng của AFB1 trên mô gan và mô thận của cá Tra	21
4.3. Ảnh hưởng của AFB1 với các liều lượng khác nhau lên một số chỉ tiêu sinh lý	26
4.4. Khảo sát tính miễn cảm của cá Tra với bệnh mũ gan khi ăn thức ăn có chứa AFB1	29
Chương 5. Kết luận và đề nghị	32
5.1. Kết luận	
5.2. Đề nghị	
Tài liệu tham khảo	33

DANH SÁCH BẢNG

Bảng 3.1: Thành phần nguyên liệu của thức ăn trong thí nghiệm	9
Bảng 3.2: Lượng hỗn hợp NRRL 2999 và lượng bột mì cần để phối trộn cho các nghiệm thức thức ăn	9
Bảng 4.1: Một số yếu tố môi trường của trong thí nghiệm	17
Bảng 4.2: Tốc độ tăng trưởng tương đối về khối lượng sau 90 ngày nuôi của cá tra	19
Bảng 4.3 : Ngưỡng nhiệt độ trên và dưới của cá tra cho ăn thức ăn có chứa hàm lượng AFB ₁ khác nhau	26
Bảng 4.4: Cường độ hô hấp và ngưỡng oxy của cá tra cho ăn thức ăn có chứa hàm lượng AFB ₁ khác nhau	28

DANH SÁCH HÌNH

Hình 2.1: Công thức cấu tạo hoá học của AFB ₁	4
Hình 4.1. Tăng trưởng của cá tra cho ăn thức ăn có hàm lượng AFB ₁ khác nhau	18
Hình 4.2. Tỷ lệ sống của cá tra	20
Hình 4.3: Mô gan của cá tra ăn thức ăn không có chứa AFB ₁	21
Hình 4.4: Mô thận của cá tra ăn thức ăn không có chứa AFB ₁	22
Hình 4.5: Mô gan của cá tra ăn thức ăn có chứa AFB ₁ sau 90 ngày	23
Hình 4.6: Mô gan của cá tra ăn thức ăn có chứa AFB ₁ sau 150 ngày	24
Hình 4.7: Mô thận của cá tra ăn thức ăn có chứa AFB ₁ sau 90 ngày	25
Hình 4.8: Tổng tỷ lệ chết của cá theo thời gian thí nghiệm	30

CHƯƠNG I: GIỚI THIỆU

Độc chất aflatoxin được tạo ra từ các loài nấm mốc thuộc giống *Aspergillus*, mọc trên các loài ngũ cốc, trong đó aflatoxin B₁ (AFB₁) chủ yếu do loài *Aspergillus flavus* sinh ra có độc tính rất cao (Nabil Saad, 2004; Victoria, 2001; Roberts, 2002). Động vật, kể cả con người, nếu ăn phải thức ăn chứa AFB₁, hoặc sử dụng nguyên liệu thức ăn có nguồn gốc từ ngũ cốc bị nhiễm nấm mốc *Aspergillus flavus* có thể nguy hại đến tính mạng. Cá ăn phải thức ăn có chứa AFB₁ ở nồng độ cao (hơn 10 mg/kg thức ăn) có thể bị chết. Ở nồng độ thấp, dưới 100 ppb (phần tỷ, microgram/kg) trong thức ăn, AFB₁ làm rối loạn chức năng tiêu hóa, gây bệnh mãn tính, làm cá chậm lớn và trở nên miễn cảm hơn với các loại bệnh tật và các yếu tố môi trường. Những loài cá khác nhau có tính nhạy cảm khác nhau đối với aflatoxin. Có những loài cá rất nhạy cảm với aflatoxin như cá hồi (Hendricks, 1994), song cũng có loài có khả năng chịu đựng tốt, chỉ bị ảnh hưởng bởi hàm lượng aflatoxin cao như cá nheo Mỹ (*Ictalurus punctatus*) (Jantrarotai and Lovell, 1990; Jantrarotai et al., 1990).

Ở nhiều nước người ta đã phát hiện aflatoxin không những có trong nguyên liệu chế biến thức ăn mà còn có trong cả trong thức ăn công nghiệp. Ở Ai Cập, AFB₁ được tìm thấy trong các loại thức ăn công nghiệp dùng cho cá với hàm lượng 749-3388 ppb (Abdelhamid et al., 1998). Ở Thái Lan, trong 150 mẫu thức ăn tôm được kiểm nghiệm năm 1997-1998 có chứa AFB₁ từ mức không phát hiện (nhỏ hơn 0,003 ppb đến 0,651 ppb (Bintvihok et al., 2003).

Ở ĐBSCL hiện nay, cá tra (*Pangasius hypophthalmus*) được nuôi bằng thức ăn công nghiệp và thức ăn tự chế mà thành phần nguyên liệu thức ăn chủ yếu là ngũ cốc. Trong nhiều hợp cá bị bệnh hoặc cá chậm lớn người ta thường quy trách nhiệm cho các yếu tố môi trường mà ít khi đặt nghi vấn về hàm lượng AFB₁ có thể có trong thức ăn. Đề tài này là rất cần thiết nhằm tìm hiểu ảnh hưởng của AFB₁ trong thức ăn lên tỉ lệ sống và tốc độ tăng trưởng của cá tra, từ đó có thể đề xuất những biện pháp kỹ thuật phù hợp nhằm tránh được những nguy hại của thức ăn và nguyên liệu thức ăn có chứa AFB₁.

Mục tiêu của đề tài là tìm hiểu ảnh hưởng của AFB₁ lên tỉ lệ sống và tăng trưởng của cá ba sa, những thay đổi về tình trạng sức khỏe của cá khi ăn phải thức ăn có chứa AFB₁ nhằm cung cấp những dẫn liệu khoa học về những ảnh hưởng của độc tố nấm cho nghề nuôi cá da trơn làm cơ sở để khuyến cáo những biện pháp tránh nguy hại từ độc tố nấm.

Nội dung của đề tài bao gồm:

- Khảo sát tốc độ tăng trưởng cá tra khi ăn thức ăn có AFB₁ ở các nồng độ khác nhau.
- Khảo sát những thay đổi về mô học trong gan và thận ở những cá ăn thức có chứa hàm lượng AFB₁ khác nhau.
- Khảo sát những thay đổi về tiêu hao oxy, và về khả năng chịu đựng với các yếu tố môi trường (oxy, và nhiệt độ) khi ăn thức ăn có chứa AFB₁ với các liều lượng khác nhau.
- Khảo sát tính miễn cảm của cá tra với bệnh mũ gan khi ăn thức ăn có chứa AFB₁

CHƯƠNG 2: LƯỢC KHẢO TÀI LIỆU

2.1. Lịch sử phát hiện Aflatoxin

Vào năm 1960, nghề nuôi gia cầm ở nước Anh bị tổn thương rất nặng nề, lúc đầu hơn 10.000 gà tây chết vì một bệnh mới gọi là “bệnh gà tây X” (Turkey X disease). Sau đó, các loại gia cầm khác như vịt, gà lôi cũng bị nhiễm bệnh và tử vong rất nhiều. Qua điều tra, người ta xác định được bệnh có liên quan đến một loại độc tố do nấm có trong thức ăn sinh ra. Đến năm 1961 người ta đã tìm ra bản chất hoá học của độc chất này là Aflatoxin do vi nấm *Aspergillus flavus* và *Aspergillus parasiticus*. Aflatoxin có 4 dẫn xuất quan trọng là AFB₁, AFB₂, AFG₁, AFG₂. Giữa 4 loại trên thì Aflatoxin B₁ chiếm nhiều nhất trong nông sản và gây tác hại nhiều nhất, gây ngộ độc nhanh nhất và phổ biến nhất (Nabil Saad, 2004).

Năm 1961, các công trình nghiên cứu công nhận rằng Aflatoxin được tạo ra bởi nấm *Aspergillus flavus* và có thể là nguyên nhân gây ra khối u ở gan của động vật (Dollar et al, 1967; Halver, 1969; Wales, 1970; Alpert et al, 1971; New, 1987 trích dẫn bởi Chaver- Sanchehez, 1994). Trên động vật thủy sản, những nghiên cứu đầu tiên về độc tố aflatoxin trên cá hồi được thực hiện bởi Ashley *et al.* (1964) và Halver (1965) (trích dẫn bởi Roberts, 2002).

Từ đó trở đi có nhiều công trình nghiên cứu về độc tố Aflatoxin. Các nhà khoa học cũng đã xác định được công thức phân tử và công thức cấu tạo của Aflatoxin.

2.2. Công thức cấu tạo và một số tính chất lý hóa của các Aflatoxin

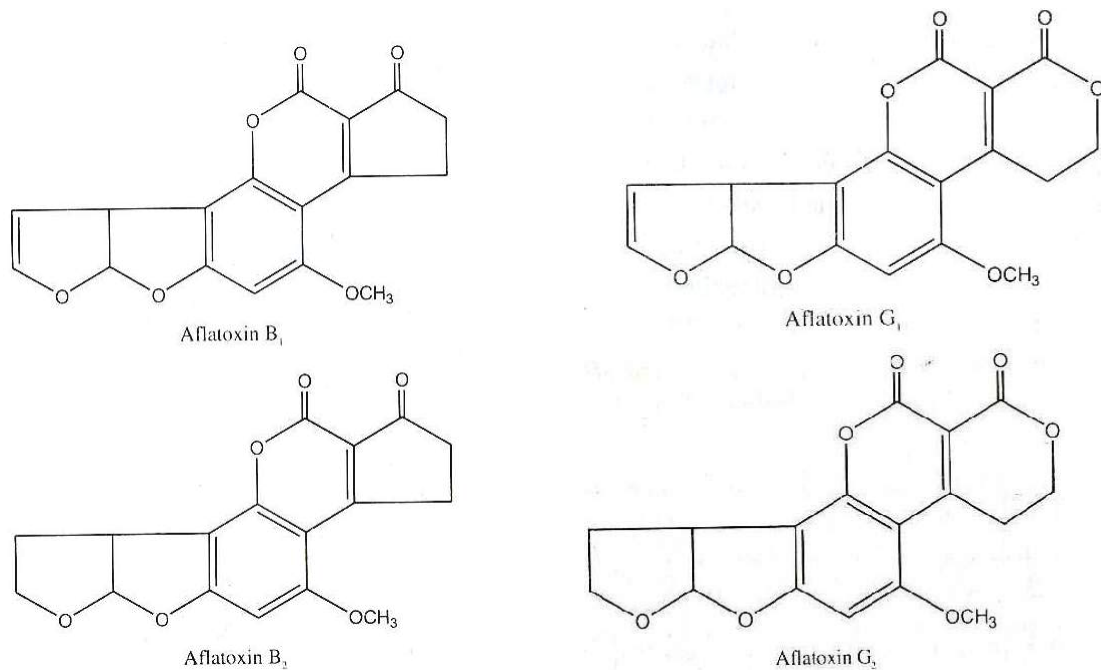
Aflatoxin gồm 4 loại là (AFB₁, AFB₂, AFG₁, AFG₂), có công thức phân tử là:

- AFB₁: C₁₇H₁₂O₆
- AFB₂: C₁₇H₁₄O₆
- AFG₁: C₁₇H₁₂O₇
 - AFG₂: C₁₇H₁₄O₇

Trong đó AFB₂ và AFG₂ là dẫn xuất dihydroxy của B₁ và G₁ (Victoria, 2001; Nabil Saad, 2004).

Ngoài 4 loại trên, aflatoxin còn có thêm hai sản phẩm trao đổi chất là aflatoxin M₁ và aflatoxin M₂. M₁ là 4-hydroxy aflatoxin B₁ và aflatoxin M₂ là 4-dihydroxy aflatoxin B₂.

Công thức cấu tạo của 4 loại aflatoxin như sau:



Hình 2.1: Công thức cấu tạo hoá học của AFB₁, AFB₂, AFG₁ và AFG₂
(Vitoria, 2001)

Tính chất lý học của các loại aflatoxin:

- AFB₁: có điểm nóng chảy 268-269 °C, có màu xanh lam trên đèn huỳnh quang.
 - AFB₂: có điểm nóng chảy 286-289 °C, có màu xanh lam trên đèn huỳnh quang.
 - AFG₁: có điểm nóng chảy 244-246 °C, có màu xanh lục trên đèn huỳnh quang.
 - AFG₂: có điểm nóng chảy 229-231 °C, có màu xanh lục trên đèn huỳnh quang.
- (Aflatoxin-Home-Page)

2.3. Sự hiện diện và phát triển của Aflatoxin trong tự nhiên

2.3.1. Sự hiện diện của Aflatoxin

Aflatoxin thường xuất hiện trong các sản phẩm nông nghiệp trên cánh đồng trước khi thu hoạch hoặc sau khi thu hoạch nếu sản phẩm không được phơi khô ngay hay ẩm độ trong sản phẩm cao tạo điều kiện cho nấm mốc phát triển. Trong điều kiện bảo quản không tốt, sản phẩm bị sâu bọ hoặc các loài gặm nhấm đục khoét cũng là điều kiện thuận lợi làm cho sản phẩm bị nhiễm aflatoxin. Đôi khi sữa, trứng, thịt cũng bị phát hiện có aflatoxin do động vật đã ăn những loại thức ăn bị nhiễm aflatoxin. Các sản phẩm thường có nguy cơ bị nhiễm aflatoxin cao nhất là bắp, đậu phộng và hạt bông (Nabil Saad, 2004). Theo Hagazy (1988), ở Ai Cập, 32% số ngũ cốc và 6% số loại bột cá đem kiểm nghiệm bị nhiễm aflatoxin từ 1-50 ppb; 8% số ngũ cốc và 16% số loại bột cá bị nhiễm từ 201-2.000 ppb (trích dẫn bởi Diab *et al.*, 2000). Ở Indonesia, người ta cũng đã điều tra phát hiện

Aflatoxin ở đậu từ 40-4100 ppb và tỉ lệ đậu nhiễm nấm từ 60-80%, ở bắp là 5,3-291,11 ppb (Sudjadi *et al.*, 1999). Theo Bhatti *et al.* (2001), trong 3320 mẫu nguyên liệu có nguồn gốc động, thực vật ở Pakistan được kiểm nghiệm đều có chứa AFB₁ với hàm lượng thấp nhất là 13 ppb và cao nhất là 78 ppb. Hầu hết các mẫu cám gạo, cám lúa mì, bột bắp, bột cá, bột hướng dương, bột đậu nành và bột hạt bông đều có hàm lượng AFB₁ cao hơn mức khuyến cáo (20 ppb) của tổ chức FDA (Food and Drug Administration, Hoa Kỳ).

Aflatoxin cũng có thể hiện diện trong các loại thực phẩm chế biến, đặc biệt là các sản phẩm từ bắp. Tuy nhiên, các nhà sản xuất cũng có những phương pháp thích hợp nhằm hạn chế tối đa loại độc tố này. Những sản phẩm từ sữa như sữa bột, phô mai, sữa chua đôi khi cũng phát hiện có aflatoxin.

2.3.2. Điều kiện thuận lợi cho sự phát triển của Aflatoxin

Nấm mốc sinh ra độc tố thường phát triển trong điều kiện tự nhiên ở những quốc gia ở vùng nhiệt đới. Điều kiện dự trữ thức ăn và nguyên liệu thức ăn không thích hợp (khi nhiệt độ môi trường trên 27° C, độ ẩm môi trường lớn hơn 62% và độ ẩm trong thức ăn lớn hơn 14 % (Juli-Anne and Yanong, 1995; Diab, 2000; Nabil Saad, 2004), sự xâm nhập của sâu bọ...) là những nhân tố quan trọng nhất để nấm mốc phát triển và sinh ra độc tố Aflatoxin.

Những phương pháp chế biến thông thường không làm giảm lượng Aflatoxin trong thức ăn do phân tử Aflatoxin rất bền với nhiệt, Aflatoxin chỉ bị nóng chảy ở nhiệt độ rất cao, trên 250°C (Gayatri, 2000).

2.4. Một số ảnh hưởng của Aflatoxin đối với động vật và cá

Theo Wheeler *et al.* (1985) khi các loài động vật bị nhiễm độc tố sẽ làm tổn thương mô gan và thận gây ra những biến đổi bên trong tế bào như:

- Nhân tế bào bị teo (cell atrophy), hiện tượng này thường xảy ra đối với tế bào mô gan
- Tế bào bị phù (hydropic degeneration) và xuất hiện các không bào trong tế bào chất (cytoplasmic vacuolation), hiện tượng này hay xảy ra ở tế bào mô thận
- Tích lũy mỡ trong tế bào chất (fatty change), quá trình chuyển hóa mỡ không bình thường dẫn đến tích lũy mỡ trong tế bào chất. Trên tiêu bản lát cắt trong tế bào mô gan xuất hiện những vùng không ăn màu khi nhuộm

hai màu đỏ là các vùng tích lũy mỡ.

- Hoại tử (cell necrosis), hiện tượng này xuất hiện cả trong mô gan và thận. Tế bào chết ăn màu tím của eosin sậm hơn so với tế bào sống (cell necrosis), hạch nhân tế bào chết cũng ăn màu sậm (pyknotic) và có hiện tượng vỡ nhân (karyorrhexis)

Các loài cá khác nhau có tính nhạy cảm khác nhau đối với AFB₁. Theo Hendricks (1994), cá hồi (Rainbow trout) rất mẫn cảm với độc tố này. Khi cá được cho ăn thức ăn có chứa 0,4 ppb AFB₁/kg thức ăn trong 15 tháng đã có 14 % khối u ở gan phát triển, nếu cho cá ăn 20 ppb AFB₁/kg thức ăn trong 8 tháng có 58 % khối u ở gan và tiếp tục đến 12 tháng kết quả có tới 83 % khối u ở gan (Juli-Anne and Yanong, 1995).

Tương tự như cá hồi, cá trôi Ấn (*Labeo rohita*) cũng rất nhạy cảm với AFB₁. Sahoo and Mukherjee (2001) cho biết hệ thống miễn dịch của cá trôi Ấn bị giảm nếu tiêm vào cơ thể cá một lượng AFB₁ là 1,25 mg/kg khối lượng cơ thể. Điều này cảnh báo AFB₁ có thể gây thiệt hại về kinh tế rất lớn đối với nghề nuôi cá trôi thâm canh ở Ấn độ.

Một số công trình nghiên cứu về ảnh hưởng của AFB₁ đối với cá rô phi vằn (*Oreochromis niloticus*) như của El-Bana *et. al.* (1992) cho thấy, cá rô phi cho ăn 10 tuần với thức ăn có hàm lượng 0,1 mg AFB₁/kg thức ăn có tăng trọng thấp hơn nghiệm thức đối chứng (không có AFB₁) và khi cá cho ăn thức ăn có hàm lượng 0,2 mg AFB₁/kg thức ăn có tỉ lệ chết 16,7 %. Tuy nhiên, theo Chavez-Sanchez (1994) thức ăn có hàm lượng 1,88 mg AFB₁/kg làm giảm sự tăng trọng của cá nhưng hàm lượng AFB₁ đến 30 mg/kg thức ăn vẫn không làm chết cá rô phi vằn có khối lượng ban đầu 0,5g sau 50 ngày thí nghiệm. Một nghiên cứu khác của Tuan *et al.* (2002) cho thấy khi cá rô phi được cho ăn 0,25 mg AFB₁/kg thức ăn, tăng trưởng của cá khác biệt không có ý nghĩa so với nghiệm thức đối chứng (không có AFB₁), nhưng ở hàm lượng cao hơn (2,5 mg AFB₁/kg) tăng trưởng của cá bị giảm rõ và với hàm lượng 100 mg AFB₁/kg, 60% cá bị chết sau 8 tuần thí nghiệm.

Cá nheo Mỹ được xem là loài có khả năng chịu đựng tốt với độc tố AFB₁ (Hendricks, 2002), Jantrarotai *et al.* (1990) đã bố trí thí nghiệm trên cá nheo có khối lượng ban đầu 7,5g/con được cho ăn 5 thức ăn có chứa Aflatoxin B₁ với 5 mức khác nhau: 0; 0,1; 0,464; 2,145 và 10 (mg/kg thức ăn). Kết quả cho thấy cá cho ăn AFB₁ ở mức 10 mg đã tăng trọng thấp hơn các nghiệm thức khác. Trên mẫu mô bệnh học của những cá ăn AFB₁ cao nhất 10 mg/kg tế bào gan có những

điểm hoại tử rải rác với tế bào ưa kiềm, xuất hiện những khoảng không ở tế bào gan là kết quả của sự hoại tử gan trong vùng ưa kiềm.

Gan bị ảnh hưởng nhiều bởi Aflatoxin, Gayatri (2000) tiến hành thí nghiệm quan sát mô bệnh học trên cá chép. Thí nghiệm được tiến hành trên 96 cá có khối lượng 200 ± 5 g chia làm 4 nhóm, 3 nhóm được tiêm hàm lượng AFB₁ 0,75; 1,25 và 2,5 mg/kg khối lượng cá, và 1 nhóm đối chứng chỉ tiêm nước muối (0,85%). Cá được nuôi trong bể 2000 lít, cho ăn thức ăn bình thường (thức ăn được phân tích không có hàm lượng AFB₁) trong 9 tháng nuôi. Kết quả quan sát mô gan và mô thận thấy: Gan có hình dáng và kích thước bình thường nhưng các tổ chức trong gan có sự hoại tử nhỏ đang phát triển. Mô bệnh học tế bào gan cho thấy sự nở ra của tinh mạch trung tâm và điểm hoại tử định tâm trong mô liên kết tế bào gan. Có sự sưng phù trong mô liên kết gan chỉ sự hoại tử lan rộng bên trong và sự thâm nhiễm bạch huyết bào. Ống dẫn mật có sự dày đặc của tế bào biểu mô và sự tăng nhanh của tế bào bạch huyết. Mô liên kết thận có những điểm hoại tử và sự lan nhanh của tế bào hoại tử.

Trên cá rô phi vằn, Tuan *et al.* (2002) cho biết, sau 8 tuần thí nghiệm cá được cho ăn thức ăn có chứa các hàm lượng AFB₁ khác nhau: 0; 0,25; 2,5; 10 và 100 mg/kg thức ăn, chỉ ở nghiệm thức cá cho ăn 10 và 100 mg AFB₁/ kg thức ăn, tổn thương tìm thấy ở gan, các bộ phận khác như tim, tụy tạng, dạ dày và ruột không bị tổn thương.

Liên quan đến ảnh hưởng của AFB₁ đến các chỉ tiêu sinh lý của động vật, có rất ít công trình nghiên cứu về lãnh vực này. Các công trình nghiên cứu chủ yếu được thực hiện trên các loài động vật như thỏ, ngựa... Theo Borgatti và Trigari (1979) thì AFB₁ gây ức chế sự hô hấp của tế bào tim và thận của thỏ làm giảm cường độ hô hấp của tế bào tim 35-50% và làm giảm cường độ hô hấp của tế bào thận 28-35%. Một nghiên cứu khác của Jose (2005) trên ngựa cho kết quả ở hàm lượng thấp của độc tố nấm cũng có thể là suy giảm chức năng của các cơ quan như ảnh hưởng đến tốc độ sinh trưởng, hiệu quả sử dụng thức ăn, khả năng sinh sản và cường độ hô hấp và tuổi thọ...

Hiện nay, chưa tìm thấy công trình nghiên cứu nào về ảnh hưởng của AFB₁ lên các chỉ tiêu sinh lý của cá tôm hay các loài thủy sinh vật khác. Do đó, đây là một trong những nội dung cần nghiên cứu thêm.

CHƯƠNG 3: PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

3.1. Địa điểm và thời gian nghiên cứu

- Địa điểm nghiên cứu: Thí nghiệm được thực hiện tại Phòng thí nghiệm Dinh dưỡng và Thức ăn và Phòng thí nghiệm Bệnh học Thủy sản, Khoa Thủy sản, Trường Đại học Cần Thơ.
- Thời gian nghiên cứu: từ tháng 01/2003 đến 12/2004

3.2. Đối tượng nghiên cứu

Đối tượng thí nghiệm là cá Tra giống (*Pangasius hypophthalmus*). Cá được mua từ một trại sản xuất giống cá ở huyện Hồng Ngự tỉnh Đồng Tháp. Trước khi bố trí thí nghiệm, cá được nuôi dưỡng trong bể một tuần cho khỏe và tập quen với thức ăn thí nghiệm. Cá Tra ban đầu có khối lượng trung bình là 5,2 g.

3.3 Ảnh hưởng của thức ăn có chứa hàm lượng AFB₁ khác nhau lên tăng trưởng và những biến đổi mô gan, thận của cá Tra

3.3.1. Thí nghiệm ảnh hưởng của AFB₁ lên sinh trưởng

Thí nghiệm được tiến hành trong hệ thống bể nhựa chứa 40 Lít, cấp nước chảy tràn với lưu tốc là 0,3 lít/phút và có sục khí.

Thí nghiệm gồm có 5 nghiệm thức được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên với 3 lần lặp lại cho mỗi nghiệm thức. Cá tra có khối lượng trung bình ban đầu là 5,2 g, mật độ nuôi 15 con/bể. Thời gian thí nghiệm là 90 ngày.

Năm loại thức ăn thí nghiệm được phối chế có chứa hàm lượng AFB₁ từ 0 mg/kg, 0,5 mg/kg, 2,5 mg/kg 10 mg/kg và 50 mg/kg. Các thức ăn đều có cùng hàm lượng đạm là 30%, chất béo 7,55% và mức năng lượng là 4 KCal/g thức ăn được phối chế từ các nguồn nguyên liệu như ở Bảng 3.1.

Bảng 3.1. Thành phần nguyên liệu của thức ăn trong thí nghiệm

Thành phần nguyên liệu	(%)
Bột cá	42,7
Bột đậu nành	14,2
Cám	17,1
Bột mì	19,0
Dầu đậu nành	1,0
Dầu mực	1,0
Primix	2,0
CMC	3,0
<i>Thành phần hóa học của thức ăn theo tính toán</i>	
Protein	35,0
Lipid	8,7
Bột đường	34,5
Tro	15,7
Xơ	6,1
Năng lượng (KCal/g)	4,2

AFB₁ được lấy từ hỗn hợp NRRL 2999 của Phòng thí nghiệm Chẩn Đoán Bệnh Thú Y, Khoa Thú Y, Trường Đại Học Missouri, Columbia (Veterinary Medical Diagnostic Laboratory, College of Veterinary Medicine, University of Missouri, Columbia). Hàm lượng AFB₁ chứa trong hỗn hợp NRRL 2999 là 1.200 mg/kg. Lượng hỗn hợp NRRL 2999 cần phối trộn để đạt được hàm lượng AFB₁ theo các nghiệm thức thí nghiệm được trình bày theo Bảng 3.2.

Bảng 3.2. Lượng hỗn hợp NRRL 2999 và lượng bột mì cần để phối trộn cho các nghiệm thức thức ăn

Nghiệm thức thức ăn	Hàm lượng AFB ₁ mg/kg thức ăn	Hỗn hợp NRRL 2999 (g)	Bột mì (g)
1	0,0	0,00	190,0
2	0,5	0,42	189,6
3	2,5	2,10	187,9
4	10,0	8,40	181,6
5	50,0	42,00	148,0

Dùng lượng hỗn hợp NRRL 2999 đã được xác định cho từng nghiệm thức (Bảng 3.2), thêm bột mì vào cho đủ 190g (thức ăn có chứa 19% bột mì), trộn thật đều trước khi được trộn với hỗn hợp các nguyên liệu khác để được 1 kg thức ăn. Nguyên liệu sau khi trộn đều được ép thành dạng viên, sấy khô và bảo quản ở tủ đông.

Cá được cho ăn 3 lần mỗi ngày, vào lúc sáng 8 giờ, 13 giờ và 16 giờ. Tùy theo mức độ sử dụng thức ăn của cá, lượng thức ăn được điều chỉnh hàng ngày, từ 4-8% khối lượng cá. Hàng ngày rút cạn bể nuôi vào lúc sáng sớm và đo các yếu tố môi trường.

- **Yếu tố môi trường:** đo nhiệt độ ngày 2 lần bằng nhiệt kế, pH đo 1 lần/tuần.
- **Tăng trưởng của cá:** Mẫu tăng trưởng của cá được thu sau mỗi 15 ngày bằng cách cân từng cá thể trong bể.

Tính toán các chỉ tiêu sinh trưởng và tỉ lệ sống theo các công thức sau:

- Tốc độ tăng trưởng tuyệt đối (Daily weight gain, DWG)

$$DWG = \frac{W_2 - W_1}{t_2 - t_1} \quad (\text{g/ngày})$$

- Tốc độ tăng trưởng tương đối (Specific growth rate, SGR):

$$SGR = \frac{\ln W_2 - \ln W_1}{t_2 - t_1} 100 \quad (\%/ngày)$$

Với: W_2 : Khối lượng cá cuối thí nghiệm

W_1 : Khối lượng cá trước thí nghiệm

t_2 : Thời gian bắt đầu (ngày)

t_1 : Thời gian kết thúc (ngày)

- Tỉ lệ sống của cá (survival rate, SR)

$$SR = \frac{n}{N} 100 \quad (\%)$$

n : Số lượng cá lúc thu hoạch

N : Số lượng thả ban đầu

3.3.2 Phương pháp làm tiêu bản lát cắt

Cá tra sau 90 ngày cho ăn thức ăn có chứa hàm lượng AFB₁ khác nhau ở thí nghiệm trên được thu mẫu để phân tích mô học.

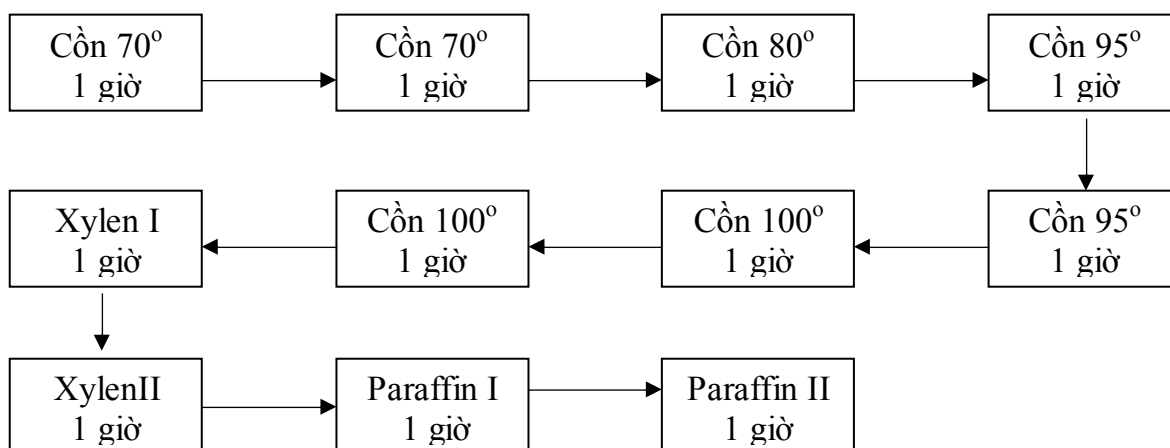
Phương pháp thu mẫu: Cá được mổ, phơi bày nội tạng và bỏ vào lọ chứa mẫu có chứa sẵn dung dịch Formol 10% để cố định mẫu. Đối với mô gan, thận dùng dao giải phẫu cắt thẳng góc với bề mặt cơ quan, diện tích mẫu cắt khoảng 1cm², dày khoảng 2 mm. Sau đó, mẫu được làm tiêu bản theo phương pháp Suprane

(1991).

Loại nước (sử dụng Ethanol): Trước khi loại nước phải rửa sạch Formol bằng cách ngâm mẫu dưới vòi nước chảy liên tục 1-2 giờ. Để loại nước mẫu được ngâm trong dung dịch Etanol lần lượt thay đổi nồng độ của dung dịch ngâm từ 70° đến 100°. Cách làm này nhằm mục đích tránh sự mất nước đột ngột.

Tắm dung môi trung gian (Xylen): Paraffin và Etanol là hai chất không hoà tan vào nhau nên phải sử dụng dung môi trung gian có khả năng hòa tan được cả Paraffin và Etanol đó là Xylen. Để tắm dung môi trung gian mẫu được ngâm vào dung dịch Xylen qua hai lọ, mỗi lọ 1 giờ đến khi mẫu trong đều (thời gian ngâm có thể ít hơn).

Định hình với Paraffin (vùi mẫu): Paraffin là chất nền để đảm bảo cho tế bào giữ nguyên hình dạng khi cắt. Vì thế, paraffin phải được tắm hoàn toàn vào mẫu, bằng cách vùi mẫu vào paraffin nóng chảy. Các bước của quá trình định hình như sau:



Đúc khuôn: Sau khi paraffin đã ngấm đều vào mẫu, cho mẫu vào khuôn đúc, rót paraffin nóng chảy vào khuôn, để nguội rồi cho vào tủ mát trong vài giờ.

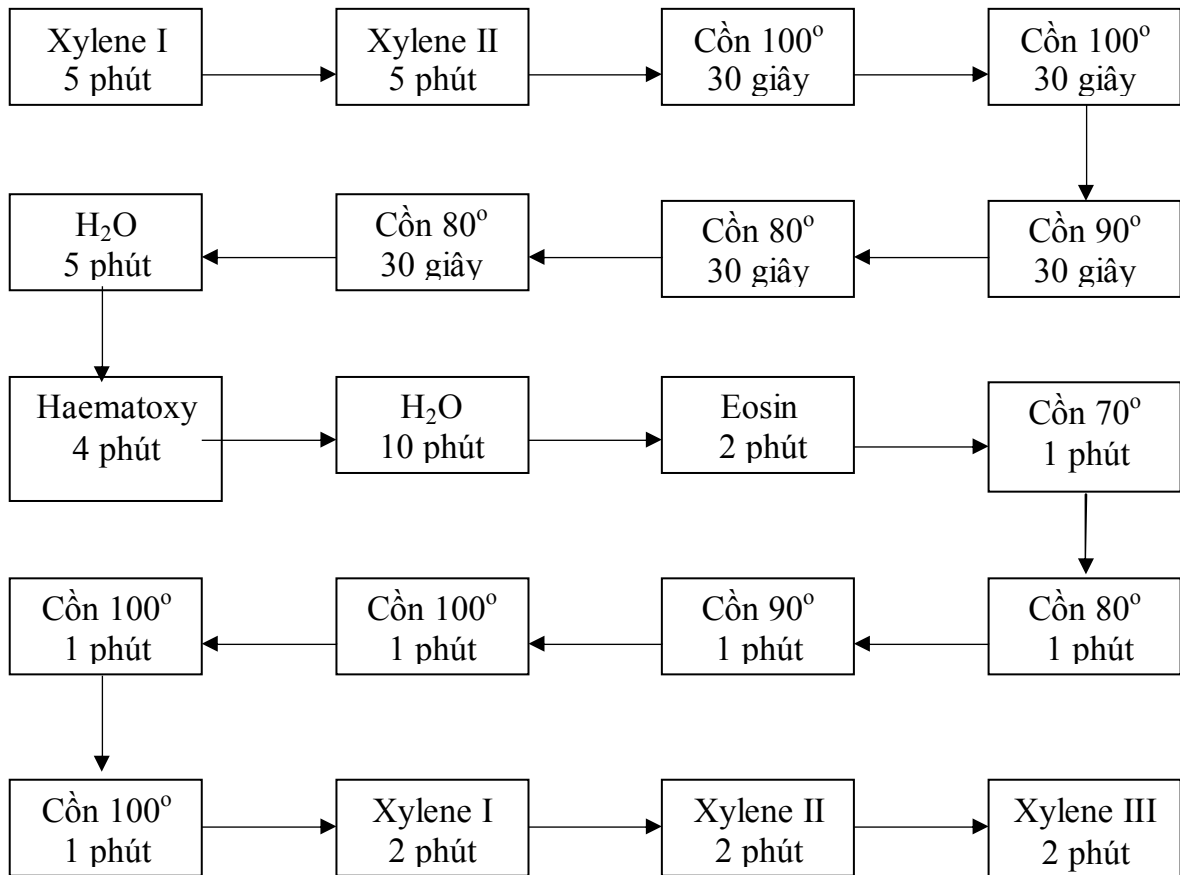
Cắt mẫu: Để có thể quan sát mẫu tốt, mẫu cần có độ dày 3-6 μm . Mẫu được giữ lạnh trong quá trình cắt.

Khi tiến hành cắt, gắn mẫu vào máy cắt, chỉnh cho khối mẫu ngang và thẳng đứng chính độ dày về vạch 4 μm và cắt mẫu. Mẫu được cắt ra thành băng dài và cho vào nước ở nhiệt độ 40°C cho Paraffin căng ra, dùng kim mũi giáo nhẹ nhàng tách riêng từng đoạn mẫu đạt yêu cầu.

Dán mẫu: Dùng lame sạch đưa một đầu lame vào chậu nước nghiêng 45°, đưa gần và nâng từ từ lên dùng kim mũi giáo chỉnh mẫu ngay ngắn trên lame.

Mẫu dán xong đưa vào tủ hấp điều chỉnh nhiệt độ 14-20 °C khoảng 20 phút cho mẫu dính chặt vào lame. Sau đó nâng nhiệt độ lên 60°C trong vòng 30 phút cho Paraffin chảy ra khỏi mẫu. Sau đó tiến hành nhuộm mẫu.

Nhuộm mẫu: Quá trình nhuộm mẫu được tiến hành theo các bước sau:



Dán lamelle vào lame: Để đảm bảo giữ mẫu lâu và tăng tính chiết quang cần phủ keo Canada Palsam và dán lamelle lên mẫu. Nhỏ một giọt keo lên mẫu đặt lamelle nghiêng 45° và tiếp xúc với giọt keo, hạ lamelle xuống từ từ để tránh bọt khí.

Đọc kết quả: Tiêu bản được quan sát dưới kính hiển vi. Đầu tiên ở độ phóng đại 100x để đánh giá tiêu bản, tiêu bản đạt yêu cầu phải có nhân bắt màu tím xanh của Hematoxylin, phần còn lại là bắt màu hồng của Eosin.

Các tiêu bản đạt yêu cầu sẽ được quan sát lần lượt ở độ phóng đại 10x, 40x và chụp hình tiêu bản đặc trưng. Việc quan sát tiêu bản và nhận dạng bệnh tích dựa

vào một số thay đổi cấu trúc của tế bào (Wheater *et al.*, 1985; Supranee, 1991; Tuan *et al.* 2002).

3.4. Khảo sát những thay đổi về tiêu hao oxy và khả năng chịu đựng nhiệt của cá tra khi ăn thức ăn có chứa AFB₁ với các liều lượng khác nhau

Mục đích của thí nghiệm nhằm khảo sát những thay đổi các chỉ tiêu sinh lý của cá dưới sự ảnh hưởng của AFB₁. Cá tra dùng để xác định các chỉ tiêu sinh lý đã được ương trong 5 bể 500 L và cho ăn AFB₁ với hàm lượng khác nhau từ 0 đến 50 mg/kg thức ăn (như thí nghiệm ở mục 3.3) trong thời gian 3 tháng. Khi thí nghiệm xác định ngưỡng, chọn cá đều cỡ (8-12g) và bố trí trong bình giữ cá có thể tích nước 3 lít với mật độ 4 con/bình. Mỗi nghiệm thức được lặp lại 3 lần. Ở thí nghiệm xác định ngưỡng nhiệt độ, cá được cung cấp đầy đủ oxy. Đo nhiệt độ bằng nhiệt kế và ôxy được xác định bằng phương pháp Winkler.

3.4.1. Ngưỡng nhiệt độ

Thí nghiệm này nhằm đánh giá khả năng chịu đựng nhiệt độ cao và thấp của cá sau thời gian được cho ăn AFB₁. Ngưỡng nhiệt độ được xác định theo phương pháp của Paladino *et al.*, 1980; Bonin 1981, trích bởi Wedemeyer *et al.*, 1990). Các bình giữ cá được đặt trong các thùng lớn để nhiệt độ được điều chỉnh đồng đều giữa các bình. Dùng nước sôi và nước đá để tăng và giảm nhiệt độ sao cho cứ 30 phút, nhiệt độ trong bình thay đổi 1°C. Ghi nhận nhiệt độ làm chết 50% số cá thí nghiệm. Nhiệt độ lúc bắt đầu thí nghiệm là 28°C.

3.4.2. Ngưỡng oxy

Ngưỡng oxy được xác định theo phương pháp bình kín. Giữ cá trong bình sinh lý 2 vòi (thể tích bình 3 L) đến khi 50% cá chết thì lấy mẫu nước phân tích. Hàm lượng oxy tại thời điểm gây chết 50% cá gọi là ngưỡng oxy (mg O₂/L).

3.4.3 Cường độ hô hấp

Cường độ hô hấp (mg O₂/kg/giờ) cũng được xác định theo phương pháp bình kín. Cân cá cho vào bình kín và để trong một giờ. Cường độ hô hấp được tính theo công thức:

$$Q = \frac{(O_c - O_D)(V_B - V_C)}{P.T} \quad (\text{mg O}_2/\text{kg/giờ})$$

Với: O_D :	Hàm lượng oxy trong nước trước thí nghiệm (mg/lít)
O_C :	Hàm lượng oxy trong nước sau thí nghiệm (mg/lít)
V_B :	Thể tích bình dùng làm thí nghiệm (lít)
V_C :	Thể tích cá làm thí nghiệm (lít)
P :	Khối lượng cá thí nghiệm (kg)
T :	Thời gian thí nghiệm (giờ)

3.5. Khảo sát tính miễn cảm của cá tra với bệnh mủ gan khi cho cá ăn thức ăn có chứa hàm lượng AFB₁ khác nhau.

Mục đích của thí nghiệm nhằm đánh giá ảnh hưởng của AFB₁ đến tính miễn cảm của cá đối với bệnh vi khuẩn mủ gan (*Edwardsiella ictaluri*). Cá trước khi gây cảm nhiễm đã được ương trong 5 bể 500 L và cho ăn AFB₁ với hàm lượng khác nhau từ 0 đến 50 mg/kg thức ăn (như thí nghiệm ở mục 3.4) trong thời gian 3 tháng. Kích thước cá dùng trong thí nghiệm 8,5-17,3 g

3.5.1. Tăng độc lực vi khuẩn

Tăng độc lực vi khuẩn được thực hiện trước khi tiến hành gây cảm nhiễm do vi khuẩn trữ trong thời gian lâu độc lực hay khả năng gây bệnh sẽ giảm so với vi khuẩn mới được phân lập từ cá bệnh.

Để tăng độc lực cho vi khuẩn, dùng mẫu vi khuẩn lưu trữ cho phục hồi lại và tiêm vào cá khoẻ. Sau 2-3 ngày tiến hành phân lập vi khuẩn, định danh, nhân số lượng và tiến hành gây cảm nhiễm trên cá.

3.5.2. Phương pháp bố trí

Thí nghiệm được tiến hành với 6 nghiệm thức, mỗi nghiệm thức có 2 lần lặp lại. Cá được bố trí vào bể 20 L, mỗi bể 6 con. Các nghiệm thức thí nghiệm gồm:

- Nghiệm thức 1: cá cho ăn thức ăn không có aflatoxin (0 mg/kg thức ăn), tiêm 0,1 ml dung dịch vi khuẩn.
- Nghiệm thức 2: cá cho ăn aflatoxin ở nồng độ 2,5 mg/kg thức ăn, tiêm 0,1 ml dung dịch vi khuẩn.
- Nghiệm thức 3: cá cho ăn aflatoxin ở nồng độ 5 mg/kg thức ăn, tiêm 0,1 ml dung dịch vi khuẩn.
- Nghiệm thức 4: cá cho ăn aflatoxin ở nồng độ 10 mg/kg thức ăn, tiêm 0,1 ml dung dịch vi khuẩn.
- Nghiệm thức 5: cá cho ăn aflatoxin ở nồng độ 50 mg/kg thức ăn, tiêm 0,1 ml dung dịch vi khuẩn.

- Nghiệm thức 6 (đối chứng): cá cho ăn thức ăn không có aflatoxin (0 mg/kg thức ăn AFB1), tiêm 0,1 ml nước muối sinh lý.

Loại vi khuẩn dùng để gây cảm nhiễm là *Edwardsiella ictaluri*, các đặc điểm của loài vi khuẩn này được trình bày ở Bảng 3.3. Xác định nồng độ vi khuẩn bằng cách sử dụng máy so màu quang phổ ở bước sóng 610nm và độ hấp thụ OD = 0,2, sau đó tiến hành xác định mật độ vi khuẩn bằng phương pháp pha loãng và đếm trên đĩa petri. Ở bước sóng 610nm và OD=0,2 thì tương ứng với mật độ vi khuẩn là $1,6 \times 10^8$ cfu/ml. Nồng độ vi khuẩn tiêm $1,6 \times 10^5$, liều lượng 0,1ml/cá.

Sau khi tiêm vi khuẩn tiến hành theo dõi, thu mẫu cá vừa chết để quan sát, ghi nhận các dấu hiệu bệnh lý và phân lập vi khuẩn. Tiến hành quan sát vào các thời điểm: 6:30, 11:00, 13:30, 17:00, 21:00 mỗi ngày. Không cho cá ăn trong suốt thời gian thí nghiệm. Sau khi gây cảm nhiễm 2 tuần tiến hành thu mẫu toàn bộ và phân lập vi khuẩn.

Bảng 3.3: Đặc điểm sinh hoá của vi khuẩn *Edwardsiella ictaluri*

Chỉ tiêu	<i>Edwardsiella ictaluri</i>
Gram	-
Shape	rod
O/F	F
Oxydase	-
Motility	+
β -galactosidase	-
Arginine dihydrolase	-
Lysine decarboxylase	+
Ornithine decarboxylase	+
Simmons' citrate	-
H ₂ S production	-
Urease	-
Tryptophane deaminase	-
Indole	-
Methyl red	+
Voges-Proskauer	-
Gelatin hydrolysis	-
Gas from glucose	+
Acid from:	
arabinose	-
glucose	+
inositol	-
mannitol	-
rhamnose	-
sorbitol	-
sucrose	-
trehalose	-

3.6. Xử lý số liệu

Các giá trị trung bình và độ lệch chuẩn được tính trên chương trình Excell và xử lý thống kê (ANOVA một nhân tố và phép thử Duncan) bằng chương trình Statistica.

CHƯƠNG IV: KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

4.1. Ảnh hưởng của Aflatoxin B₁ lên tốc độ tăng trưởng và tỉ lệ sống của cá Tra

Trong suốt thời gian thí nghiệm, các yếu tố như nhiệt độ, pH và Oxy đều nằm trong khoảng thích hợp cho sinh trưởng của cá Tra, kết quả được trình bày qua bảng 4.1. Nhiệt độ trong ngày chênh lệch 1-2 °C, pH và oxy gần như ổn định trong thời gian thí nghiệm, tương ứng là 7,4 và oxy hoà tan là 4,3 mg/L.

Bảng 4.1: Một số yếu tố môi trường của trong thí nghiệm

Các yếu tố môi trường	Giá trị
Nhiệt độ (°C)	
Sáng	27,1 ± 0,7
Chiều	28,8 ± 0,8
pH	7,4 ± 0,1
Ôxy (mg/L)	4,30 ± 0,63

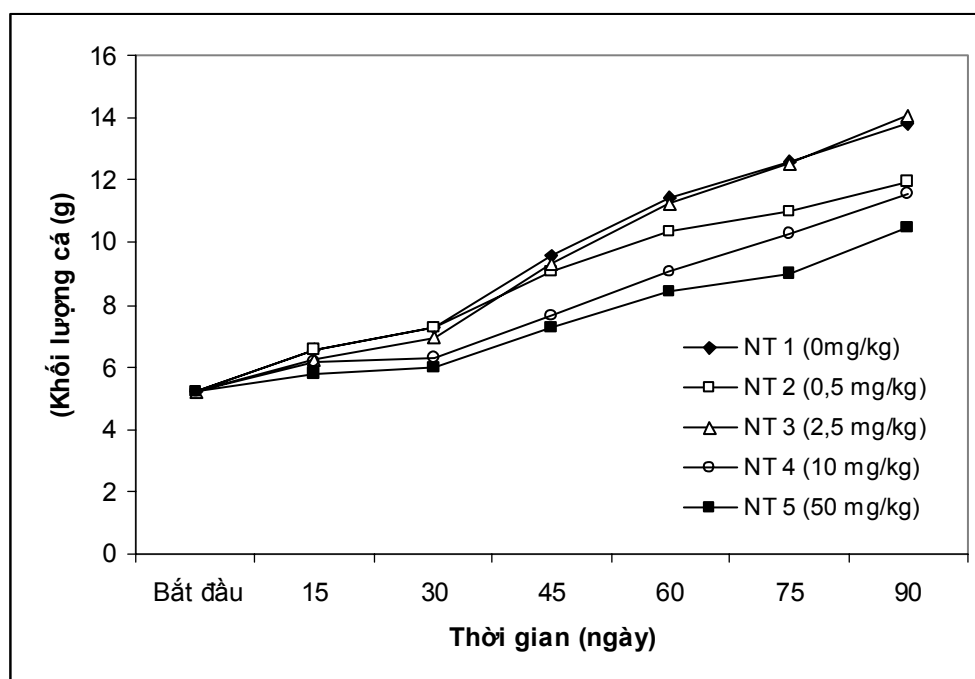
4.1.2. Tốc độ tăng trưởng của cá Tra

Kết quả thí nghiệm cho thấy tăng trưởng của cá Tra ở nghiệm thức 0 (đối chứng) và 2,5 mg AFB₁/kg thức ăn gần như trùng khít lên nhau, chứng tỏ tăng trưởng của cá ở 2 nghiệm thức này tương đương nhau. Với hàm lượng AFB₁ trong thức ăn càng cao hơn, tăng trưởng của cá càng chậm thể hiện ở mô hình đường tăng trưởng càng thấp.

Kết quả phân tích thống kê cho thấy khối lượng của cá ở 45 ngày khác biệt có ý nghĩa giữa các nghiệm thức ($p < 0,05$). Trong đó, khối lượng trung bình của cá ở nghiệm thức 50 mg AFB₁/kg thức ăn là thấp nhất ($7,3 \pm 0,7$ g), tiếp theo nghiệm thức 10 mg AFB₁/kg thức ăn ($7,6 \pm 0,9$ g), khác biệt có ý nghĩa so với các nghiệm thức có nồng độ AFB₁ từ 0 đến 2,5 mg/kg thức ăn. Ngoài trừ thời điểm này (45 ngày), ở các lần thu mẫu khác, các chỉ tiêu về tăng trưởng như khối lượng trung bình và tốc độ tăng trưởng tương đối (SGR) của cá khác biệt không có ý nghĩa giữa các nghiệm thức. Song các giá trị tăng trưởng đều thể hiện cá cho ăn AFB₁ với hàm lượng 10 đến 50 mg/kg thức ăn tăng trưởng chậm hơn cá cho ăn AFB₁ thấp hơn. SGR ở nghiệm thức 50 mg/kg thức ăn là 0,77 %/ngày, ở 10 mg/kg thức ăn là 0,87 %/ngày, so với các nghiệm thức 0 và 2,5 mg/kg thức ăn là 1,1 %/ngày (Bảng 4.2).

Tại sao các trung bình nghiệm thức khối lượng cá ở 45 ngày thí nghiệm khác biệt có ý nghĩa nhưng các trung bình nghiệm thức khối lượng cá ở 90 ngày lại khác biệt không ý nghĩa có thể được giải thích như sau:

Khi xem xét khối lượng cá của từng lô thí nghiệm ở 90 ngày cho thấy có sự biến động lớn giữa các lô trong cùng một nghiệm thức thí nghiệm (sự biến động giữa các lần lặp lại), kết quả làm tăng sai số của thí nghiệm. Tổng bình phương sai số (Sum of Square of error = 34,3) lớn hơn tổng bình phương nghiệm thức (Sum of Square of treatment = 28,4) và hệ số biến động lớn (coefficient variation = 24%). Như vậy, về cuối thí nghiệm thì sai số gia tăng, nguyên nhân là do trong quá trình thí nghiệm sau 45 ngày ở một số lô cá bị bệnh (trùng quả dưa) làm cá ở lô đó sinh trưởng chậm. Hơn nữa, một số cá thể có kích thước lớn bị chết sau khi mất bệnh hoặc do xử lý thuốc trị bệnh làm ảnh hưởng đến khối lượng trung bình của cá. Kết quả, ở lô không mắc bệnh cá sinh trưởng bình thường nhưng ở lô bị mắc bệnh cá sinh trưởng chậm làm cho có sự chênh lệch lớn giữa các lô trong cùng một nghiệm thức thí nghiệm.



Hình 4.1. Tăng trưởng của cá Tra cho ăn thức ăn có hàm lượng AFB1 khác nhau

Bảng 4.2: Tốc độ tăng trưởng tương đối về khối lượng sau 45 và 90 ngày nuôi của cá Tra

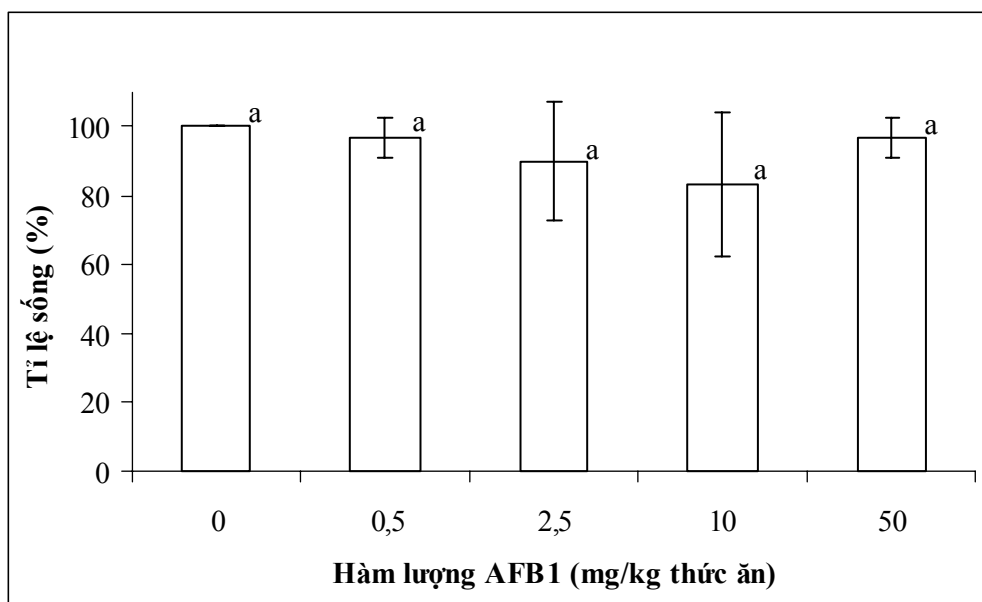
Nghiệm thức	Khối lượng ban đầu (g)	Khối lượng cá 45 ngày (g)	Khối lượng cá 90 ngày (g)	DWG (g/ngày)	SGR (%/ngày)
0	5,18±0,26 ^a	9,6 ± 1,2 ^c	13,82 ± 2,07 ^a	0,096±0,020 ^a	1,08 ± 0,11 ^a
0,5	5,20 ± 0,10 ^a	9,0 ± 0,9 ^{bc}	11,96 ± 1,44 ^a	0,075±0,016 ^a	0,92 ± 0,14 ^a
2,5	5,17±0,08 ^a	9,3 ± 0,7 ^c	14,06 ± 2,21 ^a	0,099±0,024 ^a	1,10 ± 0,17 ^a
10	5,22±0,06 ^a	7,6 ± 0,9 ^{ab}	11,54 ± 1,86 ^a	0,070±0,021 ^a	0,87 ± 0,19 ^a
50	5,17±0,20 ^a	7,3 ± 0,7 ^a	10,46 ± 1,57 ^a	0,059±0,015 ^a	0,77 ± 0,13 ^a

Ghi chú: Các giá trị trong cùng một cột có cùng chữ cái thì khác nhau không có ý nghĩa ($p > 0,05$).

Kết quả trong nghiên cứu này tương tự như kết quả trên cá nheo Mỹ của Jantrarotai and Lovell (1990), tăng trưởng của cá nheo Mỹ cho ăn thức ăn có chứa AFB₁ với hàm lượng 0,46 và 2,15 mg/kg thức ăn không làm giảm tốc độ tăng trưởng của cá và chỉ giảm đi 24% ở nghiệm thức 10 mg/kg thức ăn so với nghiệm thức đối chứng còn cá tra ăn thức ăn có hàm lượng AFB₁ 10 và 50 mg/kg thức ăn bị giảm tăng trưởng so với lô đối chứng (tính theo SGR) tương ứng 19 và 29%. Khi so sánh giữa cá tra và cá rô phi thì cá tra ít bị ảnh hưởng bởi AFB₁ hơn cá rô phi, theo Tuan *et al.* (2002), cá rô phi vẫn cho ăn AFB₁ với hàm lượng 10 mg/kg thức ăn bị giảm đến tăng trưởng 90% so với lô đối chứng. Chaver-Sanchez (1994) cũng cho rằng thức ăn có hàm lượng 1,88 mg AFB₁/kg làm giảm sự tăng trọng của cá rô phi vằn.

4.1.3. Tỷ lệ sống cá Tra

Sau 90 ngày nuôi, tỷ lệ sống của cá Tra tương đối cao, đạt từ 83,3 % (ở nghiệm thức 10 mg/kg thức ăn) đến 100% (ở nghiệm thức đối chứng). Nhìn chung, cá Tra cho ăn thức ăn có hàm lượng AFB₁ càng cao, tỷ lệ sống của cá có xu hướng giảm nhưng quy luật giảm không rõ ràng và sự khác biệt về tỷ lệ sống giữa các nghiệm thức không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Ở hàm lượng 50 mg AFB₁/kg thức ăn, tỷ lệ sống của cá đạt $96,7 \pm 5,8$. Như vậy, ở hàm lượng AFB₁ cao đến 50 mg/kg thức ăn vẫn ít ảnh hưởng đến tỷ lệ chết cá của cá Tra.



Hình 4.2. Tỉ lệ sống của cá Tra cho ăn thức ăn có hàm lượng AFB₁ khác nhau

Kết quả này khác biệt so với một số báo cáo trước đây trên một số đối tượng khác. Trên tôm sú (*Penaeus monodon*) khối lượng đầu 1-2g, theo Boonyaratpalin *et al.* (2001) thức ăn chứa 0,05-1 mg AFB₁/kg thức ăn không làm ảnh hưởng đến tỉ lệ sống của tôm sau 8 tuần thí nghiệm, song khi hàm lượng AFB₁ tăng đến 2,5 mg/kg thức ăn, tỉ lệ sống của tôm giảm có ý nghĩa, chỉ đạt 26,3%. El-Bana *et al.* (1992) cho biết, tỉ lệ sống của cá rô phi vằn (*Oreochromis niloticus*) giảm chỉ còn 83,3% khi cho cá ăn thức ăn có chứa AFB₁ 0,2 mg/kg thức ăn trong 10 tuần. Nhưng ở nghiên cứu của Chaver-Sanchez (1994) thì thức ăn có hàm lượng AFB₁ đến 30 mg/kg thức ăn không gây chết cá rô phi vằn có trọng lượng ban đầu 0,5g sau 50 ngày thí nghiệm, tỉ lệ sống của cá ở nghiệm thức này (95%) khác biệt không có ý nghĩa so với nghiệm thức đối chứng - không có AFB₁ (100%). Nghiên cứu trên cùng đối tượng cá rô phi vằn có khối lượng ban đầu là 2,7g, Tuan *et al.* (2002) cho biết cá rô phi sau 8 tuần cho ăn thức ăn có chứa AFB₁ với hàm lượng 10 mg/kg thức ăn, tỉ lệ sống của cá đạt 97%, khác biệt không có ý nghĩa so với nghiệm thức đối chứng (100%), nhưng tỉ lệ sống của cá chỉ còn 40% nếu hàm lượng AFB₁ trong thức ăn tăng 100 mg/kg thức ăn. Đối với cá nheo Mỹ, Jantrarotai (1990) cho biết hàm lượng AFB₁ 10 mg/kg thức ăn không làm ảnh hưởng đến tỉ lệ sống của cá. Theo Abdelhamid *et al.* (1998), cá nheo Mỹ chịu đựng được các độc tố aflatoxin tốt hơn so với cá rô phi.

Với kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của AFB₁ lên sinh trưởng và tỉ lệ sống của cá Tra cho thấy cá tra là loài có khả năng chịu đựng tốt đối với độc tố nấm AFB₁,

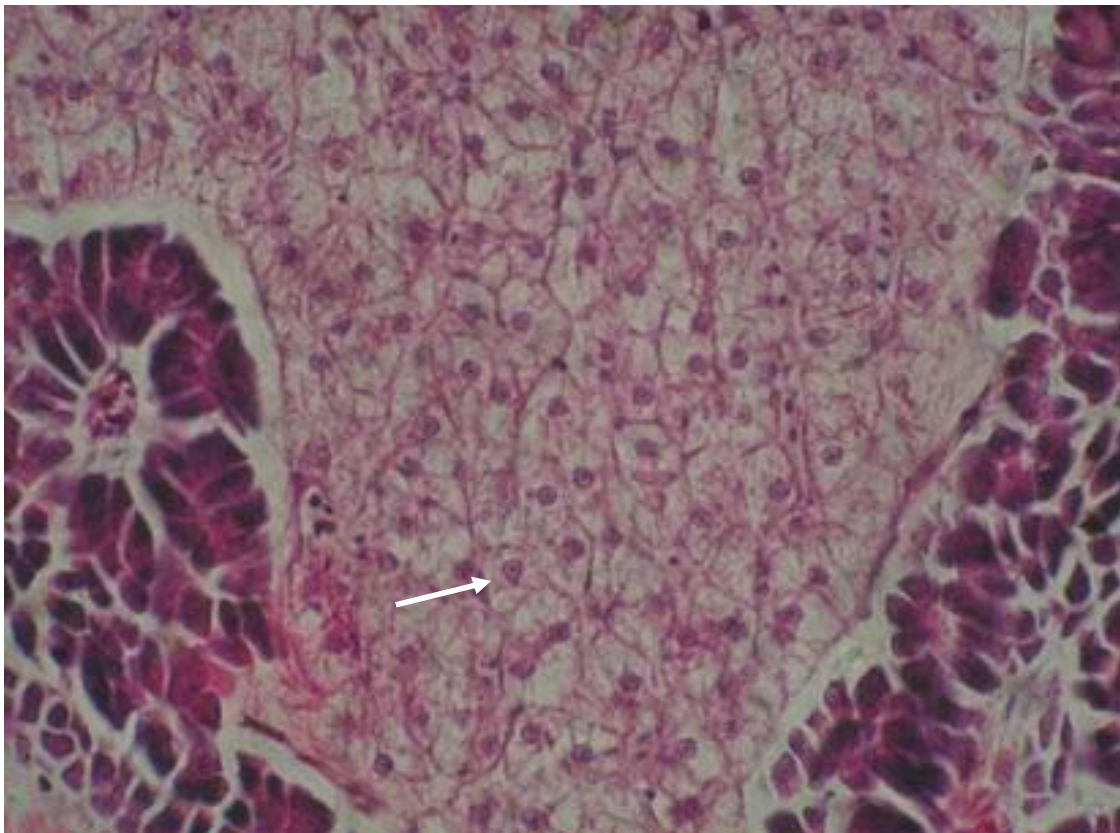
với hàm lượng AFB₁ chứa trong thức ăn nhỏ hơn 2,5 mg/kg thì hoàn toàn không ảnh hưởng đến sinh trưởng và tỉ lệ sống của chúng.

4.2. Ảnh hưởng của AFB₁ trên mô gan và mô thận của cá Tra

Gan và thận và hai cơ quan thường bị tổn thương khi cá ăn phải thức ăn có độc tố. Biểu hiện của mô gan và mô thận của cá Tra cho ăn thức ăn có hàm lượng AFB₁ khác nhau như sau:

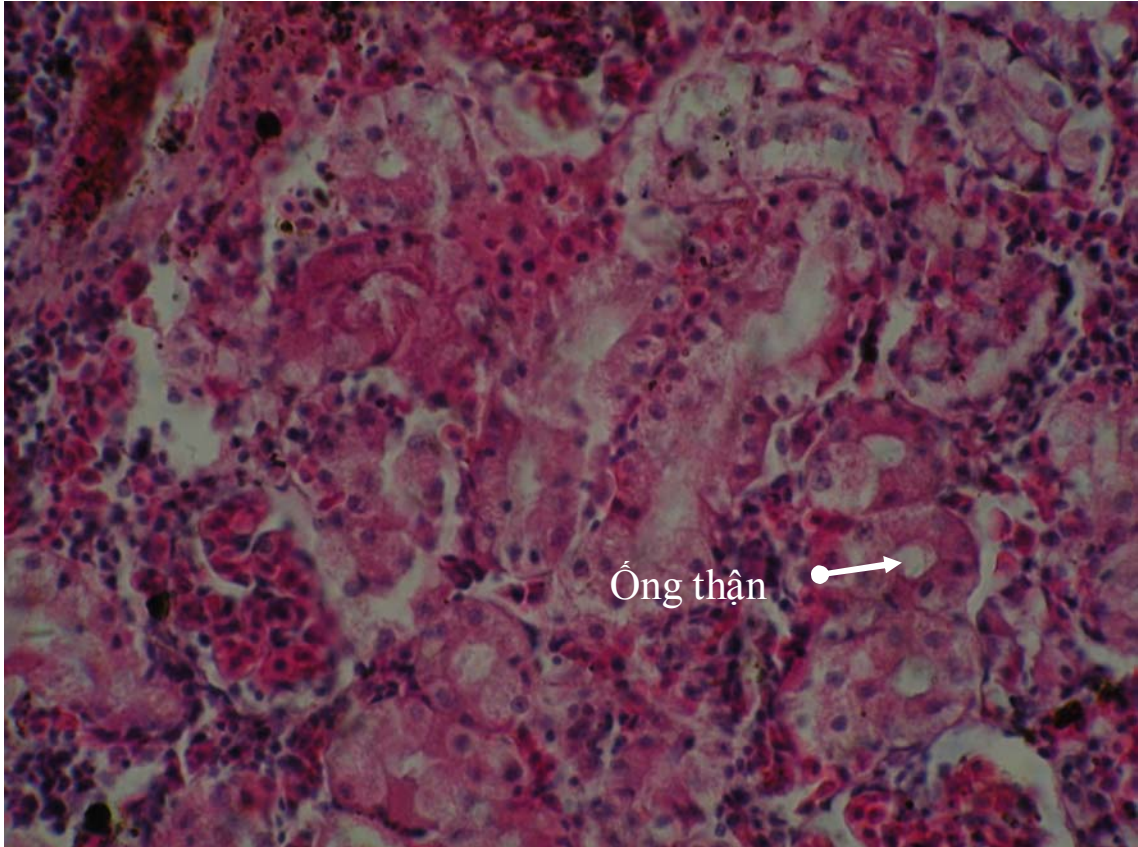
4.2.1. Mô gan và mô thận của cá Tra ở nghiệm thức đối chứng (thức ăn không chứa AFB₁)

Mô gan: Khi quan sát lát cắt ngang của gan dưới kính hiển vi cho thấy gan được cấu tạo bởi những dây tế bào gan có hình đa giác (xem mũi tên trong Hình 4.3), bên trong có một nhân hình cầu và các dây tế bào này sắp xếp theo hướng lan tỏa từ tĩnh mạch trung tâm. Kích thước nhân giữa các tế bào khác nhau tương đối đồng đều, tế bào chất có màu hồng nhạt (bắt màu eosin), nhân và hạch nhân có màu xanh đen (bắt màu hematoxylin), hạch nhân bắt mạnh hơn nên có màu sậm hơn nhân tế bào (Hình 4.3).



Hình 4.3: Mô gan của cá tra ăn thức ăn không có chứa AFB₁ (400x)

Mô thận: Quan sát lát cắt ngang của thận cá Tra dưới kính hiển vi cho thấy mô thận gồm nhiều ống thận, ống thận được cấu tạo bởi một lớp tế bào bao xung quanh, ở giữa là khoảng trống của ống thận. Giữa các ống thận còn có nhiều tế bào liên kết các ống thận lại với nhau. Các tế bào của mô thận có màu hồng do tế bào chất bắt màu của eosin, nhân bên trong tế bào có màu xanh đen do bắt màu của Hematoxylin (Hình 4.4).



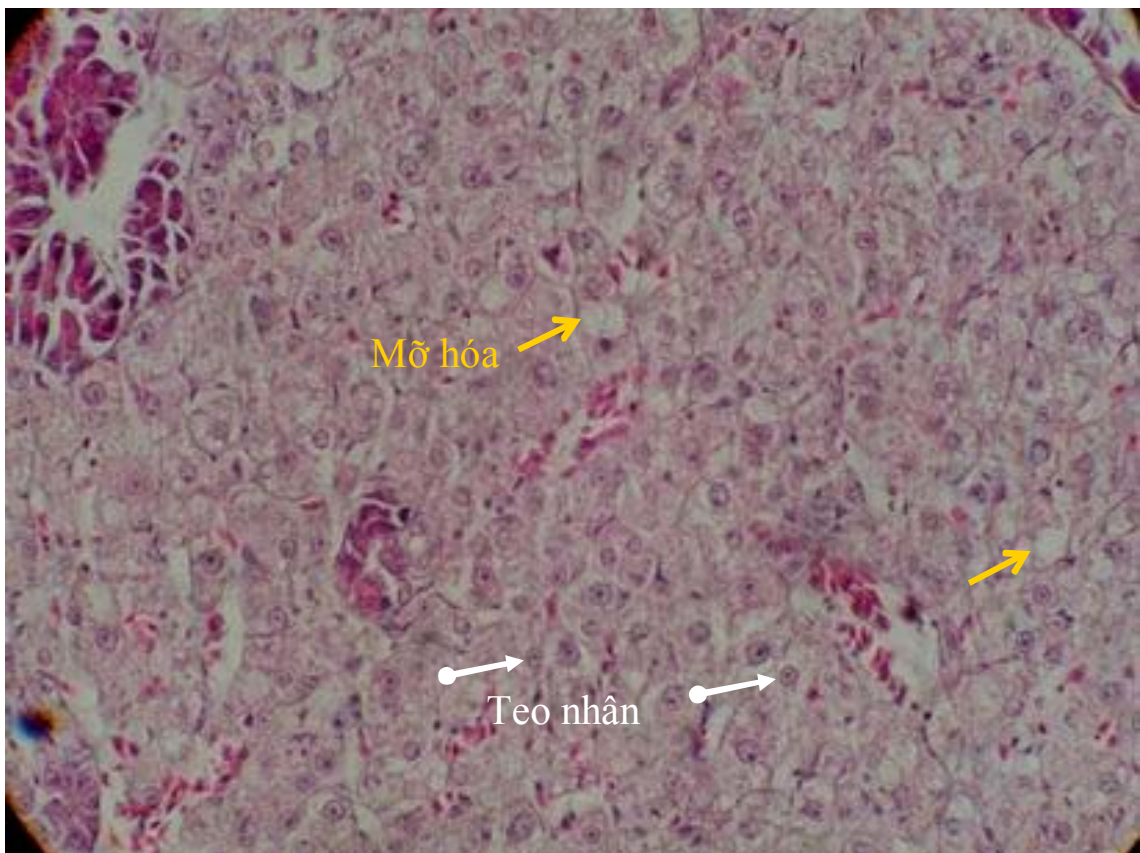
Hình 4.4: Mô thận của cá tra ăn thức ăn không có chứa AFB₁ (400x)

4.2.2. Mô gan và mô thận của cá Tra cho ăn thức ăn có chứa AFB₁ với các hàm lượng khác nhau

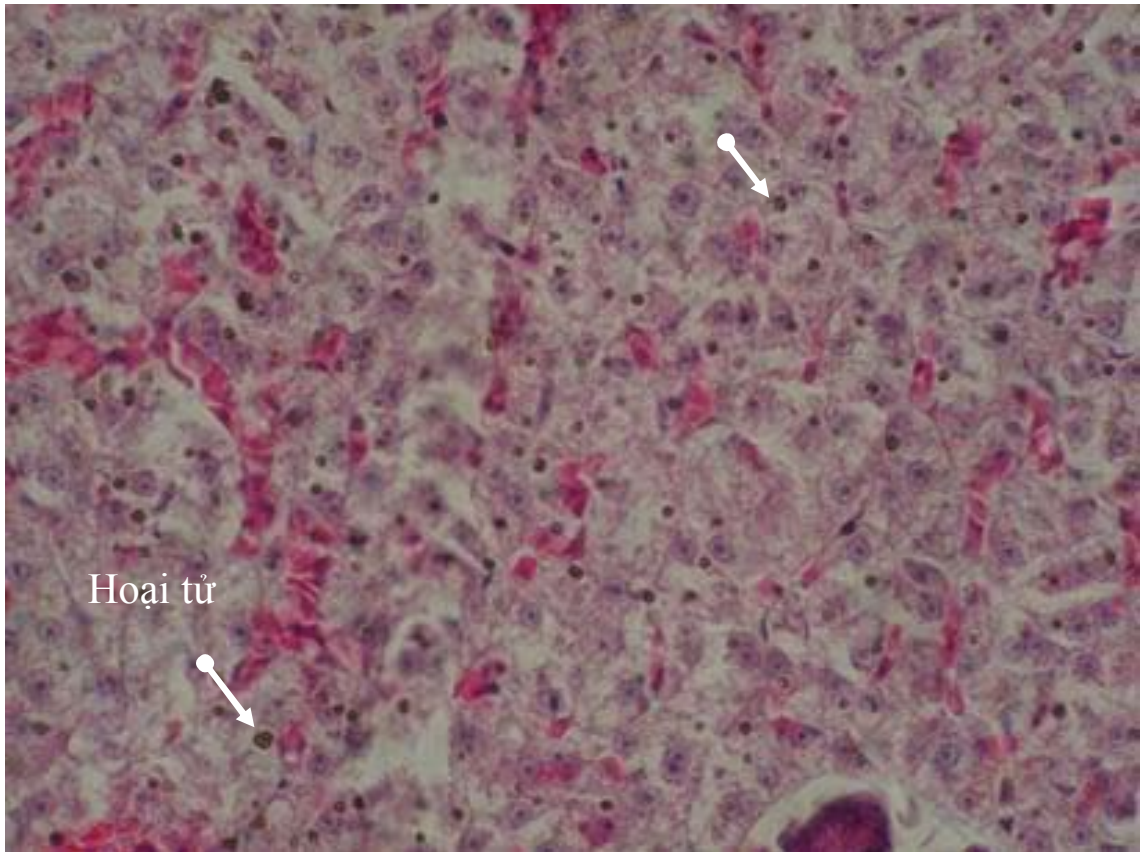
Mô gan: Sau thời gian nuôi 3 tháng cá được cho ăn thức ăn có chứa AFB₁ khác nhau, trên gan của cá Tra có những biến đổi về cấu trúc vi thể. Hàm lượng AFB₁ trong thức ăn càng cao thì mức độ biến đổi càng nhiều. Trên mô gan có những biến đổi như sau (Hình 4.5):

- Quan sát lát cắt ngang mô gan của cá có hiện tượng teo nhân, trên mô gan có nhiều tế bào nhân bị co lại nhỏ hơn bình thường trong khi một số tế bào khác thì nhân có kích thước bình thường .

- Một biến đổi khác trên mô gan là một số tế bào có hiện tượng tích lũy mỡ, trên tiêu bản lát cắt tế bào tích lũy mỡ thì không bắt màu thuốc nhuộm nên khi quan sát dưới kính hiển vi thì tế bào này có màu sáng.
- Đối với cá tra cho ăn AFB₁ 90 ngày sau đó ngừng cho ăn AFB₁ và được nuôi đến 150 ngày thì mô gan có những biến đổi đặc biệt hơn. Ngoài hiện tượng teo nhân thì nhiều tế bào bị hoại tử, hiện tượng hoại tử là do tế bào bị chết đi và nhân thường bị vỡ sau một thời gian. Quan sát dưới kính hiển vi, tế bào bị hoại tử thường nhân tế bào bắt màu hematoxylin mạnh, đặc biệt là hạch nhân. Nhân và hạch nhân thường có màu xám đen, một số tế bào thì nhân bị vỡ ra (Hình 4.6).



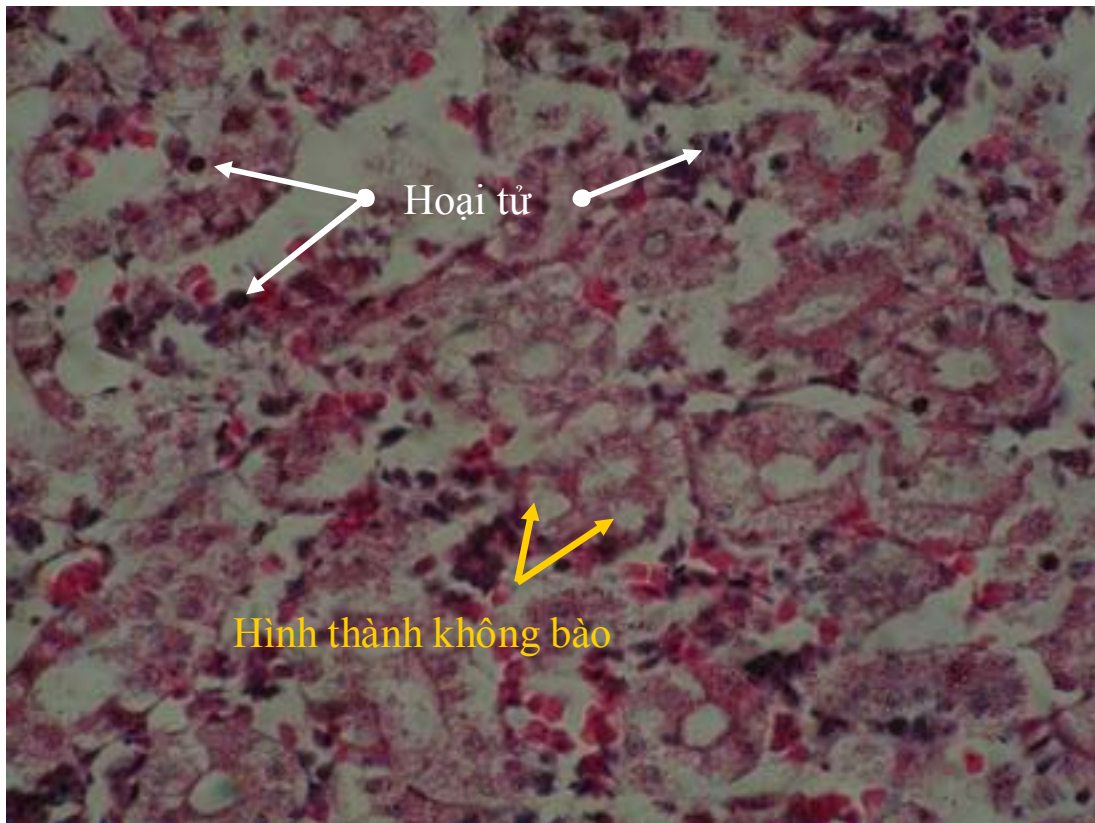
Hình 4.5: Mô gan của cá tra ăn thức ăn có chứa AFB₁ sau 90 ngày (400x)



Hình 4.6: Mô gan của cá tra ăn thức ăn có chứa AFB₁ sau 150 ngày (400x)

Mô thận: Tương tự như mô gan, sau thời gian nuôi 3 tháng cá được cho ăn thức ăn có chứa AFB₁ khác nhau, trên thận của cá Tra cũng có những biến đổi về cấu trúc vi thể. Hàm lượng AFB₁ trong thức ăn càng cao thì mức độ biến đổi càng nhiều. Dưới ảnh hưởng của AFB₁, mô thận có 3 sự biến đổi như sau (Hình 4.7):

- Hiện tượng sưng phồng của tế bào thận (Hydropic degeneration), tế bào chất tích đầy nước làm cho tế bào sưng phồng
- Sự hình thành các không bào trong tế bào chất (cytoplasmic vacuolation), sự hình thành không bào không ảnh hưởng đến nhân tế bào nhưng dưới kính hiển vi sẽ không nhìn rõ nhân.
- Hiện tượng hoại tử (necrosis) xảy ra tương tự như tế bào gan, tế bào thận bị hoại tử thì nhân bắt màu sậm và có màu xám đen, lấp lánh (pyknotic). Một số tế bào nhân tế bào bị vỡ thành nhiều mảnh nhỏ (karyorrhexis).



Hình 4.7: Mô thận của cá tra ăn thức ăn có chứa AFB₁ sau 90 ngày

Tóm lại, hàm lượng AFB₁ trong thức ăn đã ảnh hưởng lớn đến cấu trúc của gan và thận. Với hàm lượng AFB₁ thấp (nhỏ hơn 2,5 mg/kg thức ăn), mặc dù mô gan, thận cá bị tổn thương nhưng chưa thể hiện sự khác biệt rõ ràng so với mô gan bình thường. Mức độ tổn thương càng nghiêm trọng khi cá ăn thức ăn có AFB₁ cao hơn 10mg/kg và khi thời gian ảnh hưởng càng dài. Đặc biệt, ở hàm lượng 50 mg AFB₁/kg thức ăn, đa số tế trên mô gan, thận bị thay đổi kích thước, cấu trúc và bị hoại tử.

Sau khi ngưng cho cá ăn AFB₁ thì sự ảnh hưởng của độc tố vẫn còn kéo do bị tích tụ trong cơ thể cá. Cá ăn thức ăn có chứa AFB₁ sau 90 ngày, các thay đổi chính trên mô gan, thận là hiện tượng teo nhân, tích lũy mỡ, hình thành không bào trong tế bào chất, lúc này tỉ lệ tế bào bị hoại tử rất thấp. Tuy nhiên, sau 150 ngày (60 ngày sau khi ngưng cho cá ăn thức ăn có chứa AFB₁) thì tỉ lệ tế bào bị hoại tử tăng lên rất cao. Điều này chứng tỏ AFB₁ ảnh hưởng lâu dài khi chúng tích lũy trong cơ thể cá.

4.3. Ảnh hưởng của AFB₁ với các liều lượng khác nhau lên một số chỉ tiêu sinh lý

Hiện nay, có rất ít các công trình nghiên cứu về ảnh hưởng của aflatoxin lên các chỉ tiêu sinh lý của động vật, chỉ có một vài nghiên cứu về sự thay đổi cường độ hô hấp dưới ảnh hưởng của aflatoxin. Đặc biệt, trên đối tượng cá, tôm thì hầu như chưa có công trình nào nghiên cứu về ảnh hưởng của aflatoxin lên các chỉ tiêu sinh lý.

Theo các nghiên cứu trước đây đối với động vật trên cạn thì aflatoxin có ảnh hưởng làm giảm cường độ hô hấp (Borgatti và Trigari, 1979). Trên cơ sở đó, nghiên cứu này cũng nhằm tìm hiểu sự ảnh hưởng của AFB₁ lên một số chỉ tiêu của cá tra.

4.3.1. Ngưỡng nhiệt độ

Kết quả ở bảng 4.3 cho thấy, khả năng chịu nhiệt của cá giữa các nghiệm thức là tương đương nhau, ngưỡng nhiệt độ trên của cá tra cho ăn thức ăn có hàm lượng AFB₁ khác nhau dao động rất ít, từ 41,5-42°C và ngưỡng nhiệt độ dưới là 11-12°C. Tuy nhiên, ở những nghiệm thức có hàm lượng AFB₁ cao 10 và 50 mg/kg thức ăn, cá có biểu hiện không bình thường nhanh hơn như hoạt động liên tục mất định hướng, sau đó mất cân bằng và lơ lờ khi nhiệt độ tăng lên 40°C và thời gian chịu đựng nhiệt độ cao ngắn hơn, từ 10 đến 20 phút. Trong khi đó ở nghiệm thức có hàm lượng AFB₁ từ 0 đến 2,5 mg/kg thức ăn, cá có biểu hiện không bình thường khi nhiệt độ tăng lên 41°C và thời gian chịu đựng từ 20 đến 25 phút.

Bảng 4.3 : Ngưỡng nhiệt độ trên và dưới của cá tra cho ăn thức ăn có chứa hàm lượng AFB₁ khác nhau

AFB ₁ trong thức ăn (mg/kg)	Ngưỡng nhiệt độ trên (°C)	Ngưỡng nhiệt độ dưới (°C)
0	42,0±0,0 ^a	11,0±0,0 ^a
0,5	42,0±0,0 ^a	11,3±0,6 ^a
2,5	41,8±0,3 ^a	11,3±0,6 ^a
10	41,8±0,3 ^a	11,5±0,5 ^a
50	41,8±0,3 ^a	11,5±0,5 ^a

Ngưỡng nhiệt độ của cá khác nhau tùy loài. Đối với những loài cá nhiệt đới, khả năng chịu đựng nhiệt độ cao tương đối lớn. Cá lóc bông (*Channa micropeltes*) có khối lượng 6-12g có thể chịu đựng nhiệt độ cao đến 42-43°C và ngưỡng nhiệt độ dưới là 14-16°C (Nguyễn Anh Tuấn *et al.*, 2004). Như vậy, trong nghiên cứu này cá tra có khả năng chịu đựng nhiệt độ cao (41-42°C) tương đối kém hơn nhưng chịu đựng nhiệt độ dưới (11-12°C) tốt hơn cá lóc bông.

Trong cùng một loài, ngưỡng nhiệt độ của cá phụ thuộc vào nhiều yếu tố, đặc biệt là yếu tố kích cỡ và tình trạng sinh lý của cơ thể. Đối với cá tra cỡ nhỏ, khối lượng từ 1,14 ± 0,13g, ngưỡng nhiệt độ trên của cá là 40-41°C và ngưỡng nhiệt độ dưới là 17°C (Đương Thúy Yên, 2003). Đối với cá cỡ lớn hơn (từ 8,5-17,3g) trong thí nghiệm này, mặc dù sức khỏe của cá tra có thể bị ảnh hưởng do ăn thức ăn có chứa AFB₁ nhưng nhìn chung, khả năng chịu nhiệt của cá vẫn cao so với cá tra cỡ nhỏ trong nghiên cứu trên.

Tóm lại, thức ăn có hàm lượng AFB₁ khác nhau không ảnh hưởng rõ đến khả năng chịu nhiệt của cá tra.

4.3.2. Cường độ hô hấp và ngưỡng oxy của cá

Kết quả nghiên cứu cường độ hô hấp của cá Tra cho thấy cá ăn thức ăn có chứa hàm lượng AFB₁ từ 0,5-10 mg/kg thức ăn thì có cường độ hô hấp không có sự chênh lệch lớn so với cá ăn thức ăn không có chứa AFB₁, kết quả xử lý thống kê thì sự sai khác không ý nghĩa. Tuy nhiên, đối với nghiệm thức cá ăn thức ăn có chứa hàm lượng AFB₁ 50 mg/kg thức ăn thì cường độ hô hấp của chúng tăng cao hơn và khác biệt có ý nghĩa so với các nghiệm thức khác (Bảng 4.4).

Bảng 4.4: Cường độ hô hấp và ngưỡng oxy của cá tra cho ăn thức ăn có chứa hàm lượng AFB1 khác nhau

AFB1 trong thức ăn (mg/kg)	Cường độ hô hấp (mgO ₂ /kg/giờ)	Ngưỡng oxy (mg/L)
0	166±5,6 ^a	1,68±0,24 ^a
0,5	184±4,8 ^{ab}	1,68±0,10 ^a
2,5	159±2,4 ^a	1,83±0,29 ^a
10	163±2,5 ^a	1,68±0,2 ^a
50	208±2,4 ^b	1,83±0,08 ^a

Quá trình trao đổi chất của cá có liên quan mật thiết đối với môi trường (nhiệt độ, oxy hòa tan, CO₂...), tình trạng sức khỏe và bệnh tật... Khi điều kiện môi trường thay đổi, cá bị tổn thương hoặc bị nhiễm độc đều dẫn đến sự thay đổi về cường độ trao đổi chất. Thí nghiệm này được thực hiện trong điều kiện ổn định (điều kiện nhân tạo), các yếu tố môi trường ảnh hưởng lên các nghiệm thức thí nghiệm là tương đối đồng nhất nên ít tác động đến sự khác biệt của các nghiệm thức. Tuy nhiên, cá thí nghiệm ăn thức ăn có chứa AFB₁ với hàm lượng khác nhau thì bị tổn thương các cơ quan nội tạng như gan, thận ở các mức độ khác nhau (Xem mục 4.2), kết quả nghiên cứu mô học cũng cho thấy cá ăn AFB₁ có hàm lượng 50 mg/kg thức ăn thì có những tổn thương lớn trên mô gan và thận. Có thể khi cá bị nhiễm độc tố thì chúng tăng quá trình trao đổi chất để loại thải độc tố và để phục hồi những tổn thương do độc tố gây ra nên cường độ hô hấp của chúng tăng, đây cũng là nguyên nhân dẫn đến sự khác biệt về cường độ hô hấp giữa nghiệm thức cá ăn 50 mg AFB1/kg thức ăn và các nghiệm thức còn lại.

Khi so sánh cường độ hô hấp của cá Tra với một số loài cá khác (so sánh cá có cùng kích thước) thì cá Tra có cường độ hô hấp thấp hơn so với các loài thuộc họ cá Chép như cá Mè trắng, Trắm cỏ khoảng hơn 1,5 lần, nhưng cá Tra có cường độ hô hấp tương đương với loài cá Lóc bông. Cá Tra là loài sinh trưởng nhanh nhưng tại sao lại có cường độ hô hấp thấp, nguyên nhân có thể là do với phương pháp bình kín nước tĩnh chỉ đo được cường độ trao đổi khí oxy hòa tan trong nước mà không đo được cường độ trao đổi khí của cơ quan hô hấp phụ (hô hấp khí trời). Cá Tra trong dùng trong thí nghiệm có kích thước 8-12g, lúc này chúng đã phát triển cơ quan hô hấp phụ, nếu đo được cường độ hô hấp khí trời thì chắc

chấn tổng cường độ hô hấp (bao gồm hô hấp oxy hòa tan trong nước bằng mang và hô hấp khí trời bằng cơ quan hô hấp phụ) của cá Tra sẽ khá cao.

Kết quả theo dõi ngưỡng oxy của cá Tra dưới ảnh hưởng của AFB₁ với các hàm lượng khác nhau cho thấy ngưỡng oxy của cá có xu hướng tăng khi ăn thức ăn có hàm lượng AFB₁ tăng, nhưng xu hướng này không rõ ràng và không có sự khác biệt lớn giữa các trung bình nghiệm thức thí nghiệm, kết quả xử lý thống kê cũng cho sự khác biệt không ý nghĩa ($P > 0,05$). Có thể sự tác động của AFB₁ lên ngưỡng oxy không lớn nên chưa dẫn đến sự khác biệt có ý nghĩa khi cá ăn AFB₁ với các hàm lượng khác nhau.

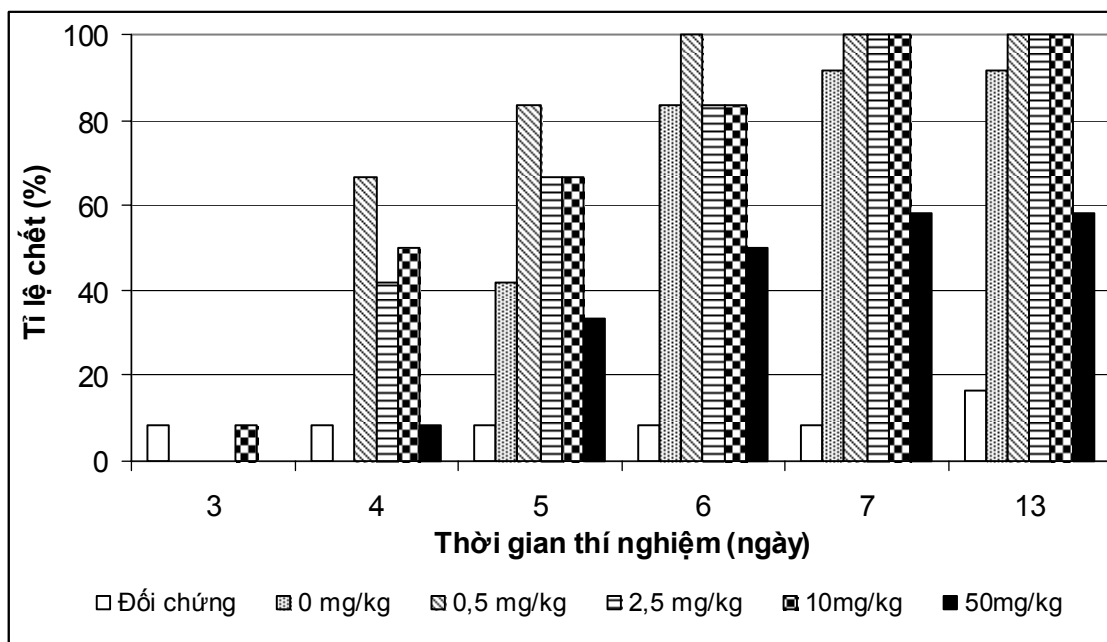
Khi so sánh ngưỡng oxy của cá Tra với các loài cá khác thì ngưỡng oxy của cá Tra rất cao, cao hơn các loài thuộc họ cá Chép (Mè, Trắm cỏ, Trôi...) khoảng 5-10 lần, điều này trái với thực tế trong các ao nuôi cá Tra thâm canh, cá có thể sống trong điều kiện oxy hòa tan rất thấp (gần bằng 0) mà không cần sục khí. Nguyên nhân của vấn đề này có thể được giải thích là cá Tra ở kích thước 8-12g đã phát triển cơ quan hô hấp phụ, trong điều kiện tự nhiên cá luôn đớp khí để bổ sung lượng oxy bị thiếu hụt do quá trình trao đổi khí ở mang không đủ đáp ứng đủ lượng oxy cho hoạt động của cơ thể cá. Trong khi đó, với phương pháp đo ngưỡng oxy bằng bình kín nước tĩnh cá không thể ngoi lên mặt nước để đớp khí nên cá không lấy đủ oxy từ đó làm tăng ngưỡng oxy của cá.

4.4. Khảo sát tính miễn cảm của cá Tra với bệnh mũ gan khi ăn thức ăn có chứa AFB₁

Thí nghiệm cho kết quả trong 2 ngày đầu sau khi tiêm vi khuẩn số cá vẫn sống bình thường, nhưng ngày thứ 3 thì ở nghiệm thức đối chứng và nghiệm thức cho cá ăn 10 mg AFB₁/kg thức ăn bắt đầu có cá chết. Từ ngày thứ 4 của thí nghiệm, tỉ lệ cá chết tăng cao đặc biệt là ở các nghiệm thức cá ăn thức ăn có thức 2,5 đến 10mg AFB₁/kg thức ăn. Cá chết ở hầu hết các nghiệm thức thí nghiệm đều có dấu hiệu nhiễm bệnh mũ gan (gan và thận có mũ) và có sự xuất hiện của vi khuẩn (*Edwardsiella ictaluri*) trên cơ thể cá chết. Điều này chứng tỏ cá bị chết trong thí nghiệm là do cá bị nhiễm loài vi khuẩn được dùng để khảo sát tính miễn cảm của cá dưới ảnh hưởng của hàm lượng AFB₁ khác nhau có chứa trong thức ăn của cá.

Ở nghiệm thức cá ăn 0,5 mg AFB₁/kg thức ăn thì cá chết hoàn toàn ở ngày thứ 6 và ở nghiệm thức cá ăn 2,5 mg AFB₁/kg và 10 mg AFB₁/kg thì cá chết hoàn toàn ở ngày thứ 7, trong khi đó, ở nghiệm thức cá không ăn AFB₁ (0 mg/kg) thì bắt đầu chết vào ngày thứ 5 và tỉ lệ chết tối đa của cá là 91,7%. Với kết quả trên cho

thấy, khi cá ăn AFB₁ với liều lượng khác nhau sẽ tăng tính mẫn cảm với bệnh mù gan (giảm khả năng kháng bệnh) (Hình 4.6).



Hình 4.8: Tổng tỉ lệ chết của cá theo thời gian thí nghiệm

Trong các lô đối chứng, thức ăn không có chứa AFB₁ và chỉ tiêm nước muối sinh lý nhưng một số cá bị chết (16,6%), trên cơ thể cá chết không có biểu hiện đặc trưng cũng như không xuất hiện vi khuẩn khi phân lập trên môi trường TSA chứng tỏ cá chết không do nhiễm bệnh. Nguyên nhân cá chết trong các lô đối chứng có thể do cá bị yếu trong quá trình thao tác tiêm chích hoặc bị chết tự nhiên.

Trong thí nghiệm này, khi cá ăn AFB₁ với hàm lượng cao (50 mg/kg thức ăn) thì tỉ lệ chết lại thấp hơn so với các nghiệm thức khác (0-10 mg AFB₁/kg thức ăn), trên cơ thể cá chết cũng có những biểu hiện bệnh lý đặc trưng và có sự xuất hiện vi khuẩn khi phân lập trên môi trường TSA. Như vậy, cá ăn AFB₁ với hàm lượng 50 mg/kg thức ăn thì cá cũng bị nhiễm bệnh mù gan nhưng tỉ lệ cảm nhiễm thấp hơn so với các nghiệm thức khác. Đây là một kết quả đặc biệt cần được nghiên cứu sâu hơn, một vài loài nấm khi chúng phát triển chúng tiết ra độc tố có thể làm ức chế sự phát triển của vi khuẩn (peniciline), có thể với hàm lượng độc tố AFB₁ cao sẽ làm ảnh hưởng đến sự phát triển của vi khuẩn trên cá.

Kết quả xử lý thống kê thì chỉ cho sự khác biệt có ý nghĩa giữa nghiệm thức đối chứng (chỉ tiêm nước muối sinh lý) và các nghiệm thức còn lại (cá ăn AFB₁ từ 0-

50 mg/kg thức ăn, có tiêm vi khuẩn *Edwardsiella ictaluri*). Giữa các nghiệm thức cá ăn AFB₁ từ 0-50 mg/kg thức ăn thì khác biệt không ý nghĩa ($P>0,05$)

Tất cả cá thu được khi kết thúc thí nghiệm đều không có biểu hiện bệnh lý đặc trưng của bệnh gan thận có mũ và không xuất hiện vi khuẩn khi phân lập trên môi trường TSA. Có thể cá còn sống sót sau thí nghiệm là các cá thể khỏe mạnh nên chúng có thể kháng lại với vi khuẩn dùng để gây cảm nhiễm.

CHƯƠNG V: KẾT LUẬN & ĐỀ NGHỊ

5.1. Kết luận

Qua kết quả nghiên cứu của đề tài có thể rút ra những kết luận sau:

- Tốc độ tăng trưởng của cá tra cho ăn thức ăn chứa AFB₁ với hàm lượng 10 đến 50 mg/kg chậm hơn so với cá cho ăn AFB₁ thấp hơn, từ 0 đến 2,5 mg/kg thức ăn.
- AFB₁ chứa trong thức ăn với hàm lượng khác nhau (0,5-50 mg/kg) ít ảnh hưởng đến tỉ lệ sống của cá Tra, trung bình đạt từ 83,3 đến 100%.
- Gan và thận cá tra bị tổn thương khi cá được cho ăn thức ăn chứa hàm lượng AFB₁ từ 0,5 mg/kg thức ăn trở lên. Ở hàm lượng 50 mg AFB₁/kg thức ăn, nhân tế bào gan bị teo, tích lũy mỡ và bị hoại tử, tế bào thận bị sưng phồng, xuất hiện các không bào trong tế bào chất và bị hoại tử.
- Ngưỡng nhiệt độ của cá tra không thay đổi theo hàm lượng AFB₁ trong thức ăn. Ngưỡng nhiệt độ trên của cá tra là 41-42°C và ngưỡng nhiệt độ dưới là 11-12°C.
- Cường độ hô hấp và ngưỡng oxy ít thay đổi theo thức ăn thí nghiệm. Ở nghiệm thức 50 mg AFB₁/kg thức ăn, cá tra có cường độ hô hấp (208 mg Oxy/kg/giờ) và ngưỡng oxy (1,83 mg/L) cao hơn so với nghiệm thức đối chứng.
- Tính miễn cảm của cá tăng lên khi cá được cho ăn thức ăn chứa hàm lượng AFB₁ tăng từ 0-10mg/kg thức ăn.

5.2. Đề nghị

- Nghiên cứu mức độ tích lũy độc tố nấm trong nguyên liệu làm thức ăn cho cá Tra hiện nay
- Nghiên cứu khả năng tích lũy AFB₁ trong thịt cá khi ăn phải thức ăn có chứa độc tố này

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Abdelhamid, A. M., F. F. Khalil and M. A. Ragab. 1998. Problem of mycotoxins in fish production. Egyptian Journal of Nutrition and Feed, vol. 1 (1):63-71.
2. Bhatti, B. M., T. Tanzeela and S. Rozina. 2001. Estimation of aflatoxin B1 in feed ingredients and compound poultry feeds. Pakistan Veterinary Journal; vol. 21 (2):57-60.
3. Bintvihok, A., A. Ponpornpisit, J. Tangtrongpiros, W. Panichkriangkrai, R. Rattanapanee, K. Doi and S. Kumagai. 2003. Aflatoxin contamination in shrimp feed and effects of aflatoxin addition to feed on shrimp production. Journal of Food Protection; vol. 66 (5):882-885.
4. Boonyaratpalin, M; K. Supamattaya; V. Verakunpiriya and D. Suprasert. 2001. Effects of aflatoxin B1 on growth performance, blood components, immune function and histopathological changes in black tiger shrimp (*Penaeus monodon* Fabricius). Aquaculture Research; vol. 32, Supplement 1; pp. 388-398.
5. Borgatti A.R., G. Trigari. 1979. Effect of aflatoxin B1 on respiration and oxidative phosphorylation in the rabbit. II. Research on carriac and renal mitochondria. Boll Soc Ital Biol Sper. 1979 Nov 15;55(21):2253-9.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/...> (10/10/2005)
6. Chavez-Sanchez, Ma.C., C.A.M. Palacios, and I.O. Moreno. 1994. Pathological effects of feeding young *Oreochromis niloticus* diets supplemented with different levels of aflatoxin B1. Aquaculture 127:49-60.
7. Diab A. S., S. M. M. Abuzead, M. M. Abou El Maged. 2000. Effect of Aflatoxin B₁ on reproductive traits in *Oreochromis niloticus* and *Oreochromis aureus* and its control. Paper presented at the Fifth International Symposium on Tilapia in Aquaculture, Phillipines.
8. Dương Thúy Yên. 2003. Khảo sát một số tình trạng hình thái, sinh trưởng và sinh lý của cá Ba sa (*Pangasius bocourti*) cá Tra (*P. hypophthalmus*) và con lai của chúng. Luận văn thạc sĩ. Đại học Cần Thơ. 60 trang.
9. El-Banna, R., H.M. Teleb, M.M. Hadi, and F.M. Fakhry. 1992. Performance and tissue residue of tilapias fed dietary aflatoxin. Veterinary Medicine Journal 40:17-23.
10. Gayatri, M. 2000. Aflatoxicosis in fish and its relevance to human health. Aquatic Animal Health Division. Center Institute of Fresh water Aquaculture. India. <Http://www.shaping-the-future.de/pdf-www/poster.pdf>

11. Hendricks, J. D. 2002. Adventitious toxins. *In* John E. Halver and R. Hardy (eds). *Fish Nutrition*. Third Edition, Academic Press, 602-651
12. Hendricks, J.D., 1994. Carcinogenicity of aflatoxins in nonmammalian organisms. Pages 103-136 in Eaton, D.L. and Groopman, J.D. (Eds.). *The Toxicology of Aflatoxins: Human Health, Veterinary, and Agricultural Significance*. Academic Press, California. Jantrarotai, W., and R.T. Lovell. 1990. Subchronic toxicology of dietary aflatoxin B₁ to channel catfish. *Journal of Aquatic Animal Health* 2:248-254.
13. Jantrarotai, W., and R.T. Lovell. 1990. Subchronic toxicology of dietary aflatoxin B₁ to channel catfish. *Journal of Aquatic Animal Health* 2:248-254.
14. Jantrarotai, W., R.T. Lovell, and J.M. Grizzle. 1990. Acute toxicology of dietary aflatoxin B₁ to channel catfish. *Journal of Aquatic Animal Health* 2:237-247.
15. Jose, E. Ferrer. Effects of mycotoxins (aflatoxin B₁, deoxynivalenol, zearalenone, vomitoxin T-2) on the health and productivity of specific Animals (Agranco Corp.). Technical Articles.
http://www.engormix.com/e_articles_view.asp?art=59&AREA=MYC-255 (11/10/2005)
16. Juli-Anne, B. R and R. P. E. Yanong. 1995. Mold in fish feeds and aflatoxicosis. <http://edis.idas.ufl.edu/Body-FAO95> (10/8/2005).
17. Nabil Saad. 2004. Aflatoxin: Occurrence and Health Risks.
<http://www.ansci.cornell.edu/plants/toxicagents/aflatoxin/aflatoxin.html> (10/8/2005)
18. Nguyễn Anh Tuấn, Dương Nhựt Long, Trần Thị Thanh Hiền, Nguyễn Văn Kiểm, Nguyễn Văn Thường, Nguyễn Bạch Loan và Bùi Thị Bích Hằng. 2004. Nghiên cứu đặc điểm sinh học cá lóc bông (*Channa micropeltes* Cuvier, 1831). Báo cáo đề tài cấp Bộ. 54 trang.
19. Nguyễn Bạch Loan. 2000. Giáo trình Ngư Loại I. Khoa Thủy Sản, Đại Học Cần Thơ.
20. Roberts R. J. 2002. Nutritional pathology. *In* John E. Halver and R. Hardy (eds). *Fish Nutrition*. Third Edition, Academic Press, 454-505.
21. Sahoo P. K and S. C. Mukherjee. 2001. The effect of dietary immunomodulation upon Edwardsiella tarda vaccination in healthy and immunocompromised Indian major carp (*Labeo rohita*). *Fish & Shellfish Immunology*; vol. 12 (1): 1-16.
22. Supranee C. 1991. Histology of walking catfish (*Clarias batrachus*)
23. Tuan N.A., J. M. Grizzle, R. T. Lovell, B. B. Manning, G. E. Rottinghaus. 2002.

Growth and hepatic lesions of Nile tilapia fed diets containing aflatoxin B₁.
Aquaculture 212: 311-319.

24. Victoria, K. R. N. 2001. Aflatoxin.
<http://ansi.cornell.edu/plants/toxicagents/aflat/aflat.html>
(<http://www.umm.edu/ency/article/002429.htm>)
25. Wedemeyer, G. A., B. A. Barton, and D. J. Mcleay. 1990. Stress and acclimation. Pp 451-490 *in* C. B. Schreck and P. B. Moyle (editors). *Methods for Fish Biology*. American Fisheries Society, Bethesda, Maryland, USA.
26. Wheater, P.R., H. G. Burkitt, A. Stevens, J. S. Lowe. 1985. *Basis histopathology*. Churchill Livingstone. Edinburgh London Melbourne and New York. 217 pp.