

## TÁC ĐỘNG CỦA CYPERMETHRIN VÀ NHIỆT ĐỘ LÊN BIẾN ĐỔI MÔ GAN TỤY TÔM SÚ (*Penaeus monodon*)

Trần Thị Tuyết Hoa<sup>1</sup>, Phạm Thị Thanh Phương<sup>1</sup>, Đỗ Thị Thanh Hương<sup>1</sup> và Nguyễn Thanh Phương<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Khoa Thủy sản, Trường Đại học Cần Thơ

### Thông tin chung:

Ngày nhận: 30/05/2014

Ngày chấp nhận: 26/02/2015

### Title:

Effects of Cypermethrine and temperature on the histological changes in hepatopancreas of *Penaeus monodon*

### Từ khóa:

Cypermethrine, nhiệt độ, biến đổi mô học, *Penaeus monodon*

### Keywords:

Cypermethrine, temperature, histological changes, *Penaeus monodon*

### ABSTRACT

This study aims to evaluate the effects of pesticide containing Cypermethrin on 45-day-old *Penaeus monodon* at different temperatures, as indicated through the value of  $LC_{50-96h}$  and changes in histology of hepatopancreas. The values of  $LC_{50-96h}$  at 22°C, 28°C, 32°C and 36°C were 0.564; 0.345; 0.278; 0.22µg/L, respectively. The histological results showed that hepatopancreas of the shrimp changed significantly as Cypermethrin concentration and temperature increased. The most serious change was at 36°C, but change severity decreased at 28°C and 22°C, and fewer changes were observed at 32°C. Compared with control samples, changes were characterized as follows: infiltration of haemocytes around hepatopancreatic tubules; reduction to absence of B, R, and F-cells; presence of pyknotic nuclei in the epithelial cells; retraction of hepatopancreatic tubules; sloughing cells into the hepatopancreatic tubule lumens; loss of structure of the hepatopancreatic tubules; replacing absence of hepatopancreatic tubules with the presence of haemocytes. Besides, the structure of the hepatopancreatic tubules observed in control groups at the temperatures of 22°C, 28°C, 32°C, and 36°C was normal with the presence of B, F, R-cells and the mitotic activity in E-cells.

### TÓM TẮT

Nghiên cứu ảnh hưởng của Cypermethrin lên tôm sú giống 45 ngày tuổi ở các nhiệt độ khác nhau được thực hiện nhằm tìm hiểu giá trị  $LC_{50-96h}$  và những biến đổi mô bệnh học ở cơ quan gan tụy của tôm sú. Giá trị  $LC_{50-96h}$  tại các nhiệt độ 22, 28, 32 và 36°C lần lượt là 0,564; 0,345; 0,278; 0,22µg/L. Kết quả phân tích cho thấy mức độ biến đổi mô bệnh học gan tụy của tôm sú tăng dần theo nồng độ cypermethrin và nhiệt độ thí nghiệm. Thay đổi nặng nhất ở nhiệt độ 36°C giảm dần ở nhiệt độ 28, 22°C và ít thay đổi là 32°C. Những biến đổi đặc trưng so với mẫu đối chứng như sau: tế bào máu tập trung xung quanh ống gan tụy; giảm cho đến mất một số tế bào gan tụy như tế bào B, R, F; một số tế bào biểu mô của ống gan tụy có nhân to bất thường; teo tế bào biểu mô ống gan tụy; tế bào gan tụy bị bong tróc rơi vào trong lòng ống; mất cấu trúc ống gan tụy; các tế bào gan tụy biến mất thay vào đó là sự hiện diện của tế bào máu. Bên cạnh đó, cấu trúc mô gan tụy của nghiệm thức đối chứng các nhiệt độ 22, 28, 32, 36°C vẫn bình thường qua các lần thu mẫu, có sự xuất hiện các tế bào B, F, R, và hoạt động phân bào của tế bào E.

## 1 GIỚI THIỆU

Cypermethrin là một trong những thuốc bảo vệ thực vật có khả năng gây ảnh hưởng đến gan tụy tôm và gây chết tôm sú (*Penaeus monodon*) và tôm thẻ chân trắng (*Litopenaeus vannamei*) với tỉ lệ cao (Lê Hữu Tài và *ctv.*, 2011). Ở Thái Lan khi nuôi tôm sú giống trong nước có chứa Cypermethrin với nồng độ 0,005 µg/L thì sau 24 giờ tôm chết 100%. Ở tôm sú (1-3 g) với nồng độ 1 ng/L Cypermethrin trong ao nuôi cũng có thể làm tôm chết hàng loạt khoảng 50% trong vòng 10 ngày thí nghiệm (Flegel *et al.*, 1992). Tôm chết có biểu hiện ruột trắng và phân đứt đoạn, gan nhũn, sung to hoặc teo nhỏ, màu sắc nhợt nhạt, tôm không bắt mồi được và chết rải rác đến hàng loạt (Nguyễn Thị Hiền và *ctv.*, 2011). Trong môi trường nước, hoạt lực của cypermethrin có thể tồn tại từ 42 đến 72 ngày, và bị hấp thụ mạnh vào các hạt đất (Ostiz and Khan, 1994). Cypermethrin có thời gian bán hủy trong đất từ 2 đến 4 tuần (WHO, 1989). Kết quả điều tra của Cao Thành Trung và *ctv.* (2011) thì có hơn 50% ao nuôi tôm (tổng số 40 ao) trong nghiên cứu ở Mỹ Thanh, Sóc Trăng có tồn lưu chất diệt giáp xác Cypermethrin trong đất dao động từ 31,5-603,5 ppb.

Bên cạnh đó, nhiệt độ môi trường thay đổi cũng ảnh hưởng đến độc lực của hoạt chất cypermethrin lên tôm, cá (Pahl and Opitz, 1999; Carriquiriborde *et al.*, 2009). Kết quả nghiên cứu của dự án “Dự tính khí hậu tương lai với độ phân giải cao cho Việt Nam” cho thấy, Việt Nam chịu sự gia tăng nhiệt độ mạnh mẽ. Nhiệt độ các vùng dự tính tăng từ 0,8 – 3,4°C vào cuối 2050. Nhiệt độ trung bình năm được dự tính tăng từ 1,6 đến 5,8°C vào cuối thế kỷ (Cơ quan phát triển quốc tế Úc - AusAID).

Hiện đã có nhiều đề tài nghiên cứu về ảnh hưởng của cypermethrin đến hiện tượng hoại tử gan tụy ở tôm (Flegel *et al.*, 1992; Nguyễn Thị Hiền và *ctv.*, 2011; Lê Hữu Tài và *ctv.*, 2011), nhưng ảnh hưởng kết hợp của nhiệt độ và cypermethrin đến khả năng gây chết tôm và cơ quan gan tụy tôm vẫn chưa được xác định. Vì vậy, nghiên cứu “Ảnh hưởng của Cypermethrin lên biến đổi mô gan tụy tôm sú giống (*Penaeus monodon*) ở nhiệt độ khác nhau” được thực hiện. Nghiên cứu nhằm tìm hiểu mức độ ảnh hưởng của cypermethrin ở nhiệt độ khác nhau lên tôm sú giai đoạn giống 45 ngày tuổi từ đó có thể đưa ra khuyến cáo hợp lý trong việc sử dụng hoạt chất cypermethrin, làm giảm tác động của hoạt chất này ở các vùng nuôi tôm.

## 2 PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1 Vật liệu nghiên cứu

Tôm sú giống mua từ trại sản xuất giống tại thành phố Cần Thơ được thuần dưỡng trong bể thể tích 2 m<sup>3</sup> khoảng 20-25 ngày để đạt đến giai đoạn thí nghiệm 45 ngày tuổi. Trong thời gian thuần hóa tôm được cho ăn 3 lần/ngày bằng thức ăn viên công nghiệp của công ty Uni-President (khoảng 3% trọng lượng thân). Tôm được chọn bố trí thí nghiệm có kích cỡ đồng đều, khỏe và hoạt động mạnh.

Thuốc trừ sâu sử dụng có tên thương mại là Cyperan 10 EC (hoạt chất cypermethrin) và có nồng độ hoạt chất theo lý thuyết là 100 g/L do Công ty cổ phần BVTV An Giang sản xuất.

### 2.2 Phương pháp nghiên cứu

*Xác định giá trị LC<sub>50</sub>96 giờ của cypermethrin ở các mức nhiệt độ khác nhau 22, 28, 32 và 36°C*

Nguồn nước máy và nước ót điều chỉnh về độ mặn 20‰ sử dụng cho thí nghiệm. Thí nghiệm được tiến hành theo phương pháp nước tĩnh (APHA, 2005) qua hai giai đoạn gồm thí nghiệm xác định khoảng gây độc (thăm dò) ở các mức nhiệt độ 22, 28, 32, 36°C và thí nghiệm xác định giá trị LC<sub>50</sub>-96 giờ ở các mức nhiệt độ 22, 28, 32 và 36°C. Thí nghiệm được bố trí trong bể kính 60L, thả 10 con/bể với nhiệt độ nước ở mức 22°C/ 28°C/ 32°C/ 36°C. Tôm được thuần nhiệt bằng cách giảm hay tăng nhiệt độ của nước thí nghiệm 2°C mỗi giờ. Nhiệt độ được giảm bằng cách đặt các bể thí nghiệm trong phòng có máy lạnh. Ở mỗi bể, nhiệt độ được tăng bằng một máy tăng nhiệt có điều chỉnh nhiệt độ (heater) và được đặt ở giữa bể cạnh sự khí để đảm bảo giảm sự chênh lệch nhiệt độ quanh heater với môi trường nước trong bể.

Tám mức nồng độ cypermethrin (0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5; 0,6; 0,7 và 0,8 µg/L) được bố trí để xác định nồng độ chết 10% tôm và nồng độ gây chết 90% tôm trong 96 giờ. Thuốc trừ sâu được pha thành hai bước, bước 1 pha dung dịch mẹ (100 ppb) từ thuốc ban đầu và bước 2 là pha nồng độ thuốc cho các bể thí nghiệm. Cả hai dung dịch pha (dung dịch mẹ và dung dịch thí nghiệm) đều dựa vào công thức  $C_1V_1=C_2V_2$ . Trong đó:  $C_1$  là nồng độ thuốc dung dịch gốc;  $V_1$  là thể tích dung dịch gốc cần cho vào bể thí nghiệm;  $C_2$  là nồng độ thuốc cần cho thí nghiệm;  $V_2$  là thể tích dung dịch thuốc trong thí nghiệm.

Thí nghiệm xác định giá trị LC<sub>50</sub>-96 giờ ở các mức nhiệt độ khác nhau 22, 28, 32 và 36°C được thực hiện dựa vào kết quả của thí nghiệm thăm dò. Thí nghiệm tiến hành với 6 nồng độ và 1 nghiệm thức đối chứng (không có thuốc) (Bảng 1). Các nghiệm thức được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với 3 lần lặp lại cho mỗi nghiệm thức. Thí nghiệm được bố trí trong bể kính hình chữ nhật chứa 60L. Mỗi bể thả 10 con, tôm được thả vào bể 2 ngày trước khi cho thuốc vào. Trong thời gian thí nghiệm bể không sục khí và không thay nước. Tôm sẽ được thuần hóa ở nhiệt độ 22°C cho thí nghiệm xác định LC<sub>50</sub> ở nhiệt độ 22°C và nhiệt độ nước này cũng được duy trì suốt thời gian thí nghiệm. Theo dõi và ghi nhận số tôm chết sau 3, 6, 9, 12, 24, 48, 72 và 96 giờ thí nghiệm. Thí nghiệm xác định LC<sub>50</sub> ở nhiệt độ 28, 32 và 36°C cũng được thực hiện tương tự. Giá trị LC<sub>50</sub> được xác định dựa vào phương pháp Probit (Finney, 1971).

**Bảng 1: Nồng độ cypermethrin tương ứng các mức nhiệt độ xác định giá trị LC<sub>50</sub>**

| Nồng độ Cypermethrin (µg/L) ở các mức nhiệt độ thí nghiệm |      |      |      |  |
|---|------|------|------|--|
| 22°C  | 28°C | 32°C | 36°C |  |
| 0   | 0    | 0    | 0    |  |
| 0,3   | 0,1  | 0,15 | 0,1  |  |
| 0,4   | 0,2  | 0,2  | 0,15 |  |
| 0,5   | 0,3  | 0,25 | 0,2  |  |
| 0,6   | 0,4  | 0,3  | 0,25 |  |
| 0,7   | 0,5  | 0,35 | 0,3  |  |
| 0,8   | 0,6  | 0,4  | 0,35 |  |

*Thí nghiệm xác định ảnh hưởng của cypermethrin lên biến đổi mô gan tụy ở các mức nhiệt độ 22, 28, 32 và 36°C*

Ba mức nồng độ cypermethrin (0,017 µg/L, 0,17 µg/L, 0,345 µg/L) và đối chứng (nước dưỡng tôm không cho cypermethrin vào) được bố trí với 3 lần lặp lại ở nhiệt độ 22, 28, 32 và 36°C. Nồng độ cypermethrin được chọn là 5%, 10% và 50% của

kết quả LC<sub>50</sub>-96 giờ ở 28°C do nhiệt độ 28°C là nhiệt độ thích hợp cho các loài giáp xác.

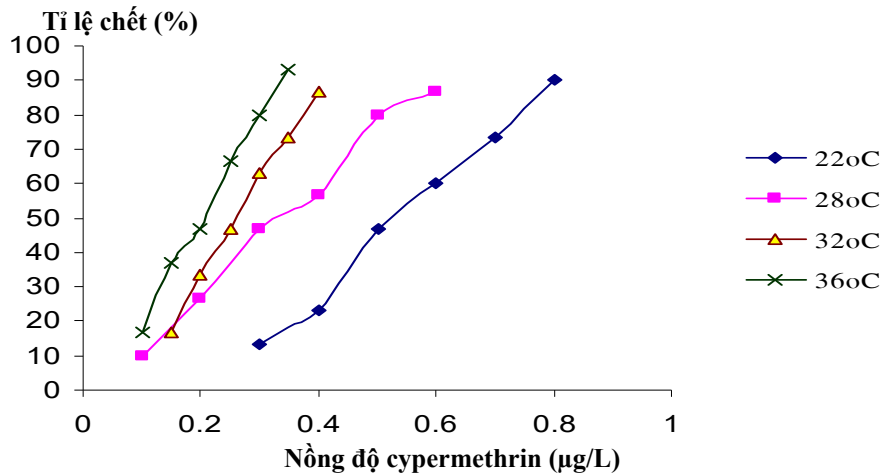
Trong thời gian thí nghiệm, tôm được cho ăn thức ăn viên công nghiệp 35% đạm với lượng vừa đủ nhằm đảm bảo nhu cầu hoạt động sống tối thiểu cho tôm, bể có sục khí nhẹ để đảm bảo đủ oxy cho tôm, theo dõi hoạt động của tôm, vớt tôm chết và thức ăn thừa. Thu mẫu phân tích mô học tại các thời điểm ngày thứ 3, 4, 5 để xác định thời điểm bắt đầu có dấu hiệu hoại tử và những ngày tiếp sau đó định kỳ 7 ngày thu mẫu 1 lần (thu mẫu trước khi thay nước) cho đến ngày thứ 33. Dùng vợt thu nhẹ những con có dấu hiệu lơ dờ mỗi bể 1 con tôm. Tôm có dấu hiệu lơ dờ trong thời gian thí nghiệm và tôm còn sống khi kết thúc thí nghiệm cũng được thu mẫu cho phân tích mô học. Phương pháp phân tích mô học được thực hiện theo qui trình của Lightner (1996).

### 3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

#### 3.1 Giá trị LC<sub>50</sub>-96 giờ của cypermethrin ở các mức nhiệt độ khác nhau 22, 28, 32 và 36°C

Sau ba giờ tiếp xúc với thuốc, tôm có biểu hiện: lơ dờ, bơi lội bất thường, nổi lên xoay tròn không định hướng, sau đó chìm xuống đáy, ở các nồng độ cao tôm bung mình lên thành bể, thân tôm cong lại và chết...

Tỷ lệ chết của tôm trong 96 giờ ở các nồng độ và nhiệt độ khác nhau được trình bày trong Hình 1. Không phát hiện tôm chết và có dấu hiệu bất thường ở nghiệm thức đối chứng. Ở các nghiệm thức có cypermethrin thì tỷ lệ chết tăng dần theo nồng độ từ thấp đến cao. Ở 22°C nồng độ dao động từ 0,3-0,8 µg/L với tỷ lệ chết tương ứng tăng dần theo nồng độ là 13,3-90%. Và cũng được ghi nhận tương tự ở các nhiệt độ còn lại 28°C (10-86,7% nồng độ 0,1-0,6 µg/L), 32°C (16,7-86,7% nồng độ 0,15-0,4 µg/L) và 36°C (16,7-93,3% nồng độ 0,1-0,35 µg/L) (Hình 1). Kết quả ghi nhận tỷ lệ chết tăng dần theo nồng độ và phụ thuộc vào nhiệt độ.



**Hình 1: Tỷ lệ chết của tôm trong 96 giờ ở các nhiệt độ khác nhau**

Qua Hình 1 cho thấy ở các nhiệt độ khác nhau thì các nồng độ gây chết tôm khác nhau. Ở nhiệt độ cao thì nồng độ gây chết sẽ thấp hơn nhiệt độ thấp. Tôm ở 36°C, 32°C có tỷ lệ chết lần lượt là 93,3% với nồng độ 0,35 µg/L và 86,7% với nồng độ 0,4 µg/L. Trong khi đó ở 28°C, 22°C cũng có tỷ lệ chết tương ứng 86,7% và 90% nhưng nồng độ gây chết là 0,6 µg/L, 0,8 µg/L, nồng độ này lại cao hơn nhiều so với các nhiệt độ 32, 36°C. Bên cạnh đó, trong cùng một nồng độ nhưng ở nhiệt độ khác nhau thì tỷ lệ chết cũng cho kết quả khác nhau điều

này được thể hiện rõ trong kết quả của thí nghiệm ở Hình 1. Cùng một nồng độ 0,3 µg/L nhưng ở 22°C tỷ lệ chết 13,3%; 46,7% nhiệt độ 28°C; 63,3% nhiệt độ 32°C và gây chết đến 80% ở nhiệt độ 36°C. Nhiệt độ có ảnh hưởng rất lớn đến nồng độ gây chết tôm của thí nghiệm. Điều này có thể là do khi nhiệt độ tăng đồng thời quá trình hô hấp và trao đổi chất của tôm cũng tăng theo từ đó thúc đẩy nhanh quá trình xâm nhập độc tố vào cơ thể của tôm (Đỗ Thị Thanh Hương và Nguyễn Văn Tư, 2010).

**Bảng 2: Giá trị LC<sub>50</sub> từ 24-96 giờ ở các nhiệt độ khác nhau**

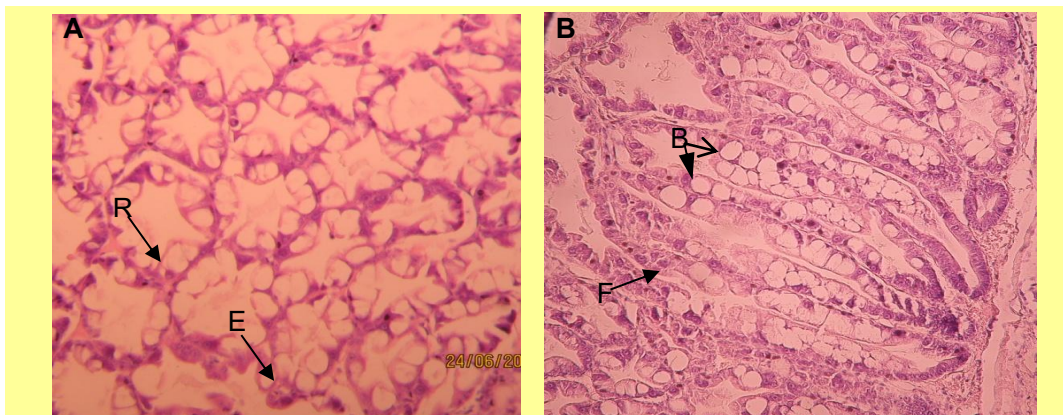
| Thời gian (giờ) | LC <sub>50</sub> của cypermethrin (µg/L) đối với tôm sú ở các nhiệt độ khác nhau |       |       |       |
|-----------------|--|-------|-------|-------|
|                 | 22°C   | 28°C  | 32°C  | 36°C  |
| 24h             | 0,597  | 0,396 | 0,292 | 0,226 |
| 48h             | 0,573  | 0,345 | 0,278 | 0,220 |
| 72h             | 0,573  | 0,345 | 0,278 | 0,220 |
| 96h             | 0,564  | 0,345 | 0,278 | 0,220 |

Qua Bảng 2 cho thấy giá trị LC<sub>50</sub>-24giờ và LC<sub>50</sub>-96 giờ không khác biệt trong cùng nhiệt độ. Độ lệch của các giá trị chỉ từ 0,033; 0,051; 0,014; 0,002 tương ứng với các nhiệt độ từ 22 đến 36°C. Qua đó cũng cho thấy ở nhiệt độ 28-36°C sau 48 giờ thì giá trị LC<sub>50</sub> không còn thay đổi. Giá trị LC<sub>50</sub>-96giờ ở các nhiệt độ khác nhau thì khác nhau, giá trị này sẽ giảm dần theo sự gia tăng của nhiệt độ. Điều đó được thể hiện qua giá trị LC<sub>50</sub>-96 giờ ở các nhiệt độ 22, 28, 32, 36°C lần lượt là 0,564; 0,345; 0,278; 0,22 µg/L. Khi ở nhiệt độ cao các hoạt động hô hấp và trao đổi chất của tôm sẽ diễn ra nhanh hơn, từ đó làm tăng khả năng hấp thu độc chất vào cơ thể, làm cho tôm trúng độc nhanh hơn

khi ở các nhiệt độ thấp. Do đó, LC<sub>50</sub> giảm theo sự tăng nhiệt độ (Murty, 1988; Đỗ Thị Thanh Hương và Nguyễn Văn Tư, 2010).

### 3.2 Biến đổi mô gan tụy của các nghiệm thức có cypermethrin ở các mức nhiệt độ 22, 28, 32 và 36°C

Kết quả phân tích mô bệnh học mẫu tôm đối chứng cho thấy các gan tụy đều bình thường. Cụ thể, mẫu mô tôm sú ở mặt cắt ngang của cơ quan gan tụy (Hình 2) có nhiều ống nhỏ, trong mỗi ống đều có xoang dạng “hình sao”. Trên ống tiêu quản gan tụy có rất nhiều không bào lớn (tế bào B), tế bào F, tế bào R.



**Hình 2: Mô gan tụy của tằm ở nghiệm thức đối chứng ở các mức nhiệt độ**

(A) Ống tiêu quản gan tụy tằm sú bình thường ở mặt cắt ngang (40X)

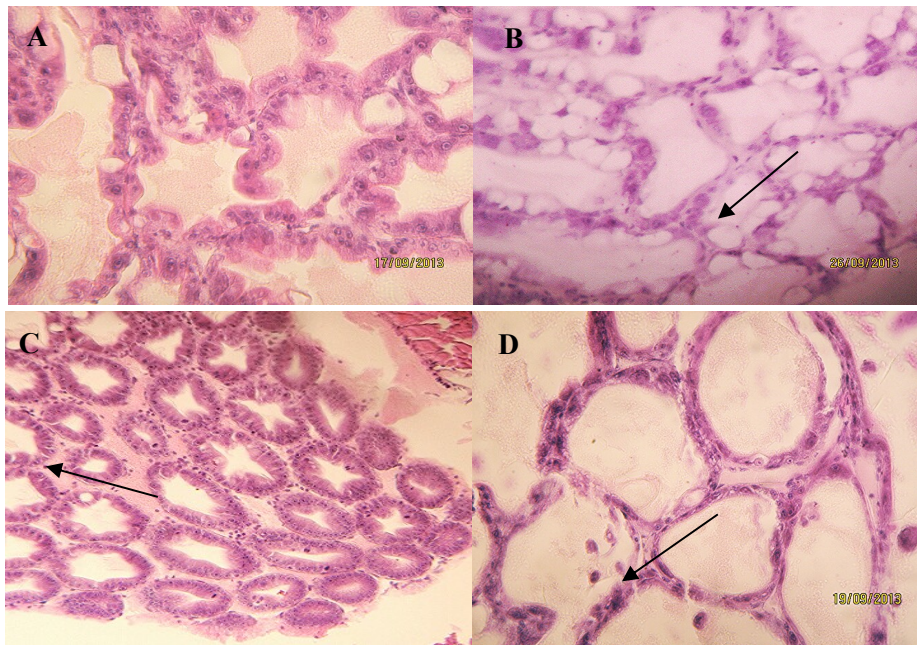
(B) Ống tiêu quản gan tụy tằm sú bình thường ở mặt cắt dọc (40X)

Ở nhiệt độ 22°C, hiện tượng hoại tử mất cấu trúc ống gan tụy (Hình 3A) xảy ra trên tất cả các nghiệm thức có cypermethrin xuất hiện sớm nhất từ ngày thu mẫu thứ 12 kéo dài cho đến đợt thu mẫu cuối ngày thứ 33. Cấp độ mất cấu trúc cũng tăng dần từ nhẹ cho đến nặng theo thời gian thu mẫu. Song song với hiện tượng tế bào gan tụy bị teo (co rút lại) là sự xuất hiện của tế bào máu tập trung xung quanh ống gan tụy (Hình 3B) tăng dần theo nồng độ cypermethrin và thời gian thí nghiệm. Hiện tượng giảm (giảm 2 - 6 tế bào) cho đến mất các tế bào B, R (tế bào đảm nhận chức năng bài tiết và giải độc) (Hình 3C) xuất hiện trên tất cả các nghiệm thức có cypermethrin, và xuất hiện sớm nhất ở nghiệm thức có nồng độ 0,345 µg/L vào ngày thu mẫu thứ 5. Tỷ lệ này tăng dần qua các ngày thu mẫu tiếp theo 12, 19, 26 và 33 ngày. Các tế bào này mất đi sẽ ảnh hưởng đến khả năng giải độc trực tiếp ảnh hưởng lên tỷ lệ sống của tằm (Sousa and Petriella, 2007). Bên cạnh đó, hiện tượng bong tróc tế bào từ nhẹ cho đến nặng cũng được ghi nhận tùy vào nồng độ cypermethrin và thời gian thí nghiệm. Bắt đầu xuất hiện vào ngày thu mẫu thứ 26, nhẹ nhất là ở nồng độ 0,017 µg/L chỉ một vài tế bào bị bong tróc và mức độ tăng dần lên ở các nghiệm thức có nồng độ cypermethrin cao hơn (0,345 µg/L; 0,345 µg/L) (Hình 3D).

Ở nhiệt độ 28°C, sau 5 ngày bố trí thuốc thì mô gan tụy tằm đã có những biểu hiện bất thường so với mẫu đối chứng: mất tế bào B và F trong ống gan tụy, các tế bào còn lại giảm một cách đáng kể đặc biệt là tế bào R ở 0,345 µg/L. Điều này cho thấy tác dụng của thuốc Cypermethrin đã tác động

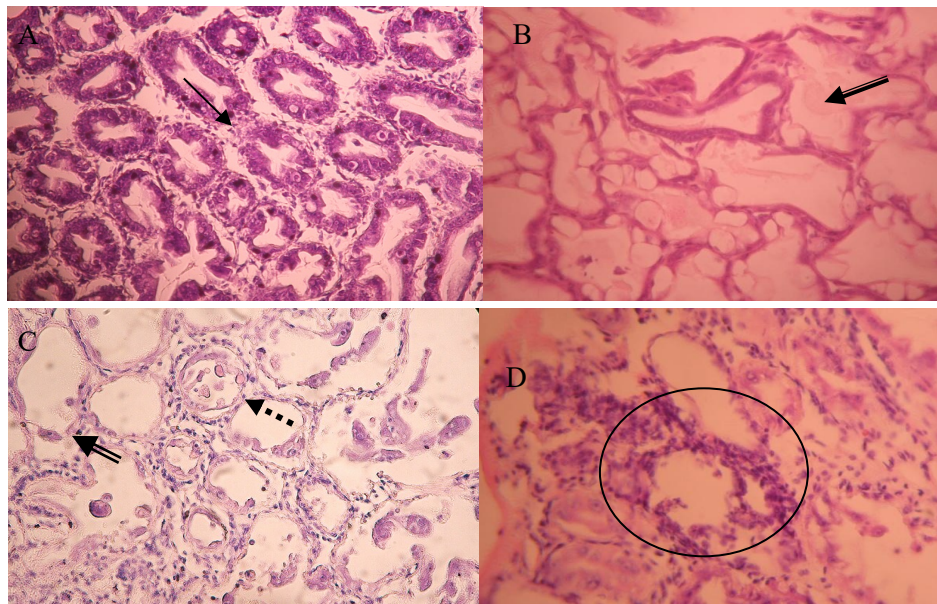
đến cấu trúc gan tụy của tằm sau 5 ngày bố trí thuốc. Qua các đợt thu mẫu tiếp theo đã nhận thấy rằng tằm có dấu hiệu hoại tử từ mức độ nhẹ đến nặng theo các đợt thu mẫu 4, 5, 6, 7 và theo ba nồng độ cypermethrin thí nghiệm. Tằm có dấu hiệu nặng nhất ở nghiệm thức có nồng độ cypermethrin 0,345 µg/L kế đến 0,17 µg/L và 0,017 µg/L.

Những biến đổi đặc trưng của tằm ở cả ba nồng độ cypermethrin thí nghiệm so với mẫu đối chứng như sau: số lượng tế bào giảm một cách đáng kể đặc biệt là số lượng tế bào R và tế bào B (Hình 4A) có sự chênh lệch rất lớn giữa các nghiệm thức có thuốc so với nghiệm thức đối chứng bắt đầu xuất hiện ở ngày thu mẫu thứ 5 của nghiệm thức có nồng độ cypermethrin cao nhất, đến ngày thu mẫu thứ 12 thì mới xuất hiện ở 2 nghiệm thức còn lại với mức độ giảm dần. Bên cạnh đó, hiện tượng một số tế bào biểu mô của ống gan tụy có nhân to bất thường (Hình 4A) được tìm thấy ở nghiệm thức có nồng độ cypermethrin 0,017 µg/L và 0,345 µg/L trong ngày thu mẫu thứ 19. Đi kèm theo đó là hiện tượng ống gan tụy và tế bào gan tụy bị teo (Hình 4B) xuất hiện ở tất cả các nghiệm thức có nồng độ thấp 0,017 µg/L và 0,17 µg/L (sau 26 ngày bố trí), nồng độ cao nhất 0,345 µg/L (sau 19 ngày bố trí). Tế bào máu tập trung nhiều xung quanh ống gan tụy, hoại tử mất cấu trúc hình ống gan tụy chỉ còn bộ khung bao bên ngoài (Hình 4C), các tế bào gan tụy bong tróc rơi vào trong lòng ống (Hình 4C) nặng nhất ở nghiệm thức 8, hoại tử nặng mất cấu trúc ống, các tế bào gan tụy biến mất thay vào đó là sự hiện diện của tế bào máu (Hình 4D).



**Hình 3: Mô gan tụy tôm sú dưới tác động của cypermethrin ở mức nhiệt độ 22°C**

(A) (0,017 µg/L) hoại tử mất cấu trúc tế bào; (B) (0,017 µg/L) (mũi tên) teo tế bào gan tụy, tế bào máu tập trung xung quanh ống gan tụy; (C) (0,17 µg/L) (mũi tên) ống gan tụy bị teo, tế bào B, R, F giảm, mất tế bào; (D) (0,345 µg/L) (mũi tên) tế bào bị bong tróc rơi vào lòng ống gan tụy (H&E, x40)



**Hình 4: Mô bệnh học gan tụy tôm sú chịu ảnh hưởng của cypermethrin ở mức 28°C**

(A): Nghiệm thức có nồng độ cypermethrin 0,17 µg/L (Gan tụy có hiện tượng mất các tế bào B, R, số lượng tế bào R giảm rất nhiều, tế bào máu tập trung nhiều quanh ống gan tụy, (→) tế bào biểu mô ống gan tụy có nhân to bất thường (H & E, 40X). (B) Nghiệm thức có nồng độ cypermethrin 0,017 µg/L có hiện tượng teo tế bào ống gan tụy (⇒). (C): Nghiệm thức có nồng độ cypermethrin 0,345 µg/L (⇒⇒) tế bào gan tụy bị bong tróc rơi vào trong lòng ống, (••▶) tế bào gan tụy bị mất hoàn toàn chỉ còn hiện diện bộ khung bên ngoài (H & E, 40X). (D): Nghiệm thức có nồng độ cypermethrin 0,345 µg/L có hiện tượng tế bào gan tụy biến mất thay vào đó là sự hiện diện của tế bào máu (vòng tròn)(H & E, 40X)

Ở nhiệt độ 32°C, các biểu hiện biến đổi mô gan tụy xuất hiện sớm ngay lần thu mẫu đầu tiên (sau 3 ngày bố trí) với các biểu hiện đặc trưng như: tế bào máu tập trung xung quanh ống gan tụy xuất hiện trên ba nghiệm thức có bổ sung cypermethrin, với mức độ tăng dần theo nồng độ của cypermethrin (0,017; 0,17; 0,345 µg/L). Bên cạnh biến đổi theo nồng độ cypermethrin, sự biến đổi mô gan tụy cũng thay đổi theo thời gian. Ở hai nghiệm thức nồng độ cypermethrin cao thì bắt đầu biến đổi từ ngày thu mẫu thứ 4, còn đối với nghiệm thức nồng độ cypermethrin thấp nhất thì biến đổi từ ngày thứ 5 và mức độ tăng dần ở các lần thu tiếp theo (ngày 12, 19, 26, 33). Ngoài ra, hiện tượng gan tụy mất cấu trúc hình ống, teo ống gan tụy, teo tế bào gan tụy cũng xuất hiện rải rác trên tất cả các nghiệm thức nhưng với mức độ nhẹ. Đặc biệt, nghiệm thức cypermethrin 0,345 µg/L vào thời điểm cuối thí nghiệm có xuất hiện hiện tượng tế bào gan tụy bị bong tróc rơi vào lòng ống. Hiện tượng giảm và mất các tế bào B, R, F diễn ra thường xuyên và nặng nhất so với 2 nghiệm thức bổ sung cypermethrin còn lại.

Ở nhiệt độ 36°C, các biến đổi mô gan tụy xuất hiện rất sớm ngay từ ngày thứ 3, biểu hiện sớm hơn so với các nhiệt độ 22, 28, 32°C. Tương ứng với tỷ lệ chết cao nhất của nghiệm thức cypermethrin 0,345 µg/L đến ngày thứ 19 là 100%, thì biến đổi mô gan tụy của tôm trong nghiệm thức này diễn biến nhanh và nặng hơn các nghiệm thức còn lại trong cùng nhiệt độ. Ở thí nghiệm 36°C mô gan tụy tôm có các biểu hiện đặc trưng như: tế bào máu tập trung rất nhiều xung quanh ống gan tụy xuất hiện trên cả 3 nghiệm thức ngay lần thu mẫu đầu tiên (ngày 3), trong đó nhiều nhất là nghiệm thức nồng độ cypermethrin cao (0,345 µg/L) và giảm dần ở hai nghiệm thức cypermethrin thấp cùng với sự giảm mạnh đến mất tế bào B, R, F. Song song đó là hiện tượng teo tế bào biểu mô ống gan tụy tăng dần theo thời gian từ một vùng nhỏ lan rộng ra cả khối gan tụy, bắt đầu xuất hiện ngày 4, 5 trên cả 3 nghiệm thức và kéo dài đến ngày 33 của thí nghiệm. Bên cạnh đó, mức độ hoại tử tăng dần qua các lần thu mẫu của các nghiệm thức trên, từ hoại tử nhẹ cho đến mất hoàn toàn tế bào chỉ còn lại đường viền, tế bào bong tróc rơi vào trong lòng ống cho đến mất cấu trúc hoàn toàn thay vào đó là sự hiện diện của tế bào máu... Về cuối thí nghiệm có dấu hiệu giảm biến đổi, phục hồi lại có thể do nồng độ thuốc giảm và khả năng tự phục hồi của động vật (Vijayram and Geraldine, 1996; Wu *et al.*, 2008).

Nhìn chung, những biến đổi mô gan tụy tôm sú trong tất cả các thí nghiệm và ở các lần thu mẫu lặp lại đều có những biểu hiện chung bao gồm: tế bào máu tập trung xung quanh ống gan tụy, từ giảm cho đến mất hoàn toàn tế bào B, R, F và hoại tử mất cấu trúc tế bào ống gan tụy mức độ nặng nhẹ hay thời gian tác động khác nhau tùy vào nồng độ cypermethrin và nhiệt độ tác động lên gan tụy của tôm. Ở nhiệt độ 36°C có biểu hiện biến đổi mô bệnh học nặng nhất mức độ giảm dần ở nhiệt độ 28, 22°C và nhẹ nhất là 32°C. Điều này cho thấy tác động của cypermethrin ở mức nhiệt độ 36°C làm mô gan tụy biến đổi rất nhanh và gây ảnh hưởng rất lớn đến gan tụy của tôm. Có thể là do nhiệt độ không thích hợp kèm theo độc chất đã thúc đẩy nhanh quá trình hoại tử. Pedro *et al.* (2009) đã nhận định nhiệt độ ảnh hưởng lên tác dụng của cypermethrin. Kaneko (2010) ghi nhận về đặc tính của cypermethrin tan rất ít trong nước ở nhiệt độ thấp. Bên cạnh đó, khi nhiệt độ thấp quá trình trao đổi chất trong gan diễn ra chậm hơn (Nguyễn Thanh Phương và *ctv.*, 1999), điều này làm cho quá trình biến đổi diễn ra chậm hơn so với nhiệt độ 28°C.

Ở nồng độ độc tố (aflatoxin) cao tôm xanh Nam Mỹ (*Penaeus stylirostris*) và tôm thẻ chân trắng (*Penaeus vannamei*) chết là do nhiễm độc, nhưng nồng độ thấp làm suy giảm hệ miễn dịch, với liều lượng nhỏ cũng đủ làm biến đổi mô gan tụy (Lightner *et al.*, 1982). Sự suy giảm tế bào F là do phần lớn tế bào chuyển hóa thành tế bào B phục vụ cho quá trình tích tụ và loại bỏ chất độc ra bên ngoài (Miriam and Menon, 2005). Nhưng khi nồng độ này vượt quá mức cho phép của tế bào, có nghĩa là tế bào không giải độc được nữa và gây ra thiệt hại làm thoái hóa dần cho đến mất tế bào (Triebkorn *et al.*, 1991), đồng thời phá vỡ chức năng sản xuất các enzyme tiêu hóa bởi các tế bào F. Không có tế bào B, R (tế bào bài tiết) thì chất độc sẽ lưu giữ lại trong tế bào cho đến khi tế bào bị hoại tử (Vogt and Quintino, 1994).

Sự tập trung của tế bào máu được tìm thấy trên tất cả các nghiệm thức có chứa cypermethrin của tất cả các nghiệm thức nhiệt độ, và tìm thấy hầu hết trên tất cả các lần thu mẫu. Hiện tượng tế bào máu tập trung xung quanh ống gan tụy là do phản ứng của cơ thể chống lại chất độc (Bhavan and Geraldine, 2000; Collins, 2010), hay do đáp ứng miễn dịch của cơ thể khi phát hiện chất lạ xâm nhập (Cairrao *et al.*, 2004). Doughtie and Rao (1984) khi nghiên cứu ảnh hưởng của thuốc trừ sâu lên gan tụy của *Palaemonetes pugio*, nhận định sự

xâm nhập của tế bào máu có liên quan đến đại thực bào của các tế bào hoại tử.

Với hiện tượng nhân trương to bất thường, một nghiên cứu kiểm tra ảnh hưởng của Chrom hóa trị sáu trên tôm cỏ *Palaemonetes pugio* (Doughtie and Rao, 1984) đã ghi nhận nhiều mức độ khác nhau của hiện tượng hạt nhân trương to bất thường và sự hiện diện của thể vùi trong nhân tế bào. Trong nghiên cứu này, kết quả cũng tìm thấy hiện tượng nhân trương to bất thường ở cả bốn mức nhiệt độ nhưng tần xuất xuất hiện không nhiều; không tìm thấy thể vùi trong nhân, thay vào đó là các trường hợp nhân bị thoái hoá với các cấu trúc bất thường trong nhân. Sousa and Petriella (2007) nhận định thuốc trừ sâu là nguyên nhân chính gây ra thoái hóa gan tụy. Lightner (1996) cho rằng đây chính là sự phản ứng của cơ thể trước sự xâm nhập của vật thể lạ vào bên trong cơ thể.

Ở vùng ĐBSCL, Cypermethrin đã được người nuôi tôm sử dụng để diệt giáp xác tại Bạc Liêu, Cà Mau từ năm 2003 do hiệu quả diệt giáp xác cao, giá thành rẻ. Cụ thể, hơn 50% ao tôm trong tổng số 40 ao kiểm tra tại Sóc Trăng có tồn lưu Cypermethrin trong đất dao động trong khoảng 31,5-603,5 ppb. Bên cạnh đó, vào mùa nóng nhiệt độ nước ở các ao tôm biến động có thể lớn hơn 30°C (Phạm Thị Tuyết Ngân và Trương Quốc Phú, 2010). Như vậy, dưới tác động của Cypermethrin và nhiệt độ khi vượt quá giới hạn cho phép đều gây ảnh hưởng lớn đến tôm sú đặc biệt là cơ quan gan tụy.

#### 4 KẾT LUẬN

Tác động kết hợp của cypermethrin và nhiệt độ lên biến đổi mô gan tụy tôm sú giống 45 ngày tuổi được ghi nhận bao gồm: (i) tỷ lệ chết của tôm tăng dần khi nồng độ cypermethrin tăng (0,017; 0,17; 0,345 µg/L); (ii) tỷ lệ chết trong cùng nồng độ tăng dần theo mức nhiệt độ (22, 28, 32, 36°C); (iii) Những biến đổi mô bệnh học thay đổi nhiều nhất ở nhiệt độ 36°C, giảm dần ở nhiệt độ 28, 22°C và ít thay đổi là 32°C. Những biểu hiện đặc trưng của mô bệnh học gan tụy tôm sú khi tiếp xúc với cypermethrin bao gồm tế bào máu tập trung xung quanh ống gan tụy, giảm cho đến mất một số tế bào biểu mô ống gan tụy (tế bào B, R, F), nhân tế bào trương to bất thường, teo tế bào biểu mô ống gan tụy, tế bào bị bong tróc rơi vào trong lòng ống, cho đến hoại tử nặng mất hoàn toàn cấu trúc, các tế bào biến mất hoàn toàn thay vào đó là sự hiện diện của tế bào máu.

#### LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được dự án iAQUA (Project number: DFC 12-014AU) tài trợ.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bhavan, S.P and P. Geraldine (2000). Histopathology of the hepatopancreas and gills of the prawn *Macrobrachium rosenbergii* exposed to endosulfan. *Aquaculture Toxicology* 50:331-339.
2. Cao Thành Trung, Nguyễn Văn Hào và Lê Hồng Phước (2011). Thực trạng sử dụng thuốc, hóa chất và chế phẩm sinh học trong ao nuôi thâm canh, vấn đề tôm bệnh trên diện rộng ở các mô hình trang trại ở Mỹ Thanh, Sóc Trăng. Viện NTTS II.
3. Cairrao, E., Couderchet, M., Soares, AM and Guilhermino, L. (2004) Glutathione-S-transferase activity of *Fucus* spp. as a biomarker of environmental contamination. *Aquatic Toxicology*, 70(4): 277-286.
4. Carriquiriborde P, Díaz J, López GC, Ronco AE, Somoza GM. (2009). Effects of cypermethrin chronic exposure and water temperature on survival, growth, sex differentiation, and gonadal developmental stages of *Odontesthes bonariensis* (Teleostei).
5. Collins Pablo (2010). Environmental stress upon hepatopancreatic cells of freshwater prawns (Decapoda: Caridea) from the floodplain of Paraná River. *Natural Science* 2(7): 748-759.
6. Doughite D.G., Rao K.R (1984). Histopathological and ultrastructural changes in the antennal gland, midgut, hepatopancreas, and gill of gass shrimp following exposure to hexavalent chromium. *Journal Invertebrate Pathology* 43: 89-108.
7. Đỗ Thị Thanh Hương và Nguyễn Văn Tư (2010). Một số vấn đề sinh lý cá và giáp xác. Nhà xuất bản nông nghiệp. 152 trang.
8. Phạm Thị Tuyết Ngân và Trương Quốc Phú (2010). Biến động các yếu tố môi trường trong ao nuôi tôm sú (*Penaeus monodon*) thâm canh tại Sóc Trăng. *Tạp chí Khoa học Đại học Cần Thơ* 15a: 179-188.



9. Lê Hữu Tài, Nguyễn Văn Hào và Lê Hồng Phước (2011). Một số kết quả chuẩn đoán mô bệnh học và phân tích siêu cấu trúc của hội chứng hoại tử gan tụy trên tôm nuôi ở Đồng bằng sông Cửu Long. Viện Nghiên cứu NTTS 2.
10. Lightner DV, Redman RM, Price RL, Wiseman MO (1982). Histopathology of aflatoxicosis in the marine shrimp *Penaeus stylirostris* and *P. vannamei*. Journal Invertebrate Pathology 40: 279–291.
11. Lightner DV (1996). A Handbook of Pathology and Diagnostic Procedures for Diseases of Penaeid Shrimp. Tucson, AZ: Department of Veterinary Science, University of Arizona.
12. Flegel TW, Fegan DF, Kongsom S, Vuthikomudomkit S, Sriurairatana S, Boonyaratpalin S, Chantanachookhin C, Vickers JC and Macdonald OD (1992). Occurrence, Diagnosis and treatment of shrimp diseases in Thailand in Diseases of cultured Penaeid shrimp in Asia and the United States. 57-112.
13. Kaneko H (2010). Hayes' Handbook of Pesticide Toxicology (3rd Ed.), Chapter 76 - Pyrethroid Chemistry and Metabolism, Pages 1635-1663.
14. Miriam Paul Sreeram and N. R. Menon (2005). Histopathological changes in the hepatopancreas of the penaeid shrimp *Metapenaeus dobsoni* exposed to petroleum hydrocarbons. Journal Marine Biology Associated India, 47 (2): 160 – 168.
15. Nguyễn Thanh Phương, Trần Ngọc Hải và Trương Trọng Nghĩa (1999). Bài giảng kỹ thuật sản xuất giống thủy sản nước lợ. Khoa Nông nghiệp. Trường Đại học Cần Thơ.
16. Nguyễn Thị Hiền, Lê Hữu Tài, Nguyễn Việt Dũng, Võ Hồng Phương, Chung Minh Lợi, Nguyễn Phạm Hoàng Huy, Lê Hồng Phước, Nguyễn Văn Hào (2011). Đánh giá ảnh hưởng của Cypermethrin ở các nồng độ khác nhau lên tỉ lệ sống và hiện tượng hoại tử cơ quan gan tụy trên tôm sú nuôi trong điều kiện thực nghiệm trong nhà. Viện NTTS II.
17. Ostiz SB and Khan SU (1994). Nonextractable (bound). Residues of cypermethrin in soils. Bull Environ Contam Toxicol, 53:907-912.
18. Pahl B and Opitz H (1999). The effects of cypermethrin (Excis) and azamethiphos (Salmosan) on lobster *Homarus americanus* larvae in a laboratory study. Aquaculture research, 30(9): 655–665.
19. Pedro Carriquiribordea, b, Juan Díaz, Gabriela C. López, Alicia E. Ronco, Gustavo M. Somoza (2009). Effects of cypermethrin chronic exposure and water temperature on survival, growth, sex differentiation, and gonadal developmental stages of *Odontesthes bonariensis* (Teleostei). Chemosphere 76: 374–380.
20. Sousa L.G and A.M. Petriella (2007). Functional morphology of the hepatopancreas of *Palaemonetes argentinus* (Crustacea: Decapoda): influence of environmental pollution. Rev. Biol. Trop. 55 (1): 79-86.
21. Triebkorn, R., Köhler, HR, Zahn, T., Vogt, G., Ludwig, M., Rumpf, S., Kratzmann, M., Alberti, G. and Storch, V. (1991) Invertebrate cells as targets for hazardous substances. Zeitschrift fuer Angewandte Zoologie 78(3): 277-287.
22. Vijayram, K., Geraldine, P., 1996. Regulation of essential heavy metals (Cu, Cr, and Zn) by the freshwater prawn *Macrobrachium malcolmsonii*. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 56: 335–342.
23. World Health Organization (WHO) (1989). Cypermethrin. Environmental Health Criteria 82. Geneva, Switzerland: United Nations Environment Programme, International Labor Organization, and WHO.
24. Wu Jui-Pin, Hon-Cheng Chen, Da-Ji Huang (2008). Histopathological and biochemical evidence of hepatopancreatic toxicity caused by cadmium and zinc in the white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. Chemosphere 73: 1019–1026.