

ĐÁNH GIÁ ĐỘC TÍNH CỦA DỊCH CHIẾT TỪ CÂY DÂY GẮM (*Gnetum montanum*) TRÊN CÁ TRA (*Pangasianodon hypophthalmus*) GIAI ĐOẠN GIỐNG

Nguyễn Thị Mai^{1*}, Nguyễn Thu Hằng²

¹Khoa Thủy sản, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

²Bộ môn Dược lý, Đại học Dược Hà Nội

*Tác giả liên hệ: ntmai.ntts@vnua.edu.vn

Ngày nhận bài: 7.11.2024

Ngày chấp nhận đăng: 19.06.2025

TÓM TẮT

Thảo dược đang ngày càng được nghiên cứu và ứng dụng rộng rãi trong nuôi trồng thủy sản, tuy nhiên, thảo dược cũng có độc tính nhất định. Nghiên cứu được thực hiện nhằm đánh giá độc tính của dịch chiết từ cây dây gắm và xác định nồng độ/liều gây chết 50% (LC₅₀/LD₅₀) trên cá tra giống theo phương pháp ngâm và cho uống. Cá tra (~ 10g) được ngâm trong nước có pha dịch chiết ở các nồng độ khác nhau (800, 1.000, 1.200, 1.400 và 1.600 mg/l) hoặc uống cường bức (350, 450, 550, 650 và 750 mg/kg). Tỷ lệ chết được theo dõi sau 12, 24, 48, 72 và 96h. Kết quả cho thấy dịch chiết cây dây gắm có khả năng gây độc trên cá tra giống. LC₅₀ sau 24, 48 và 72/96h lần lượt là 1.114,81; 1.100,56 và 1.046,62 mg/l. LD₅₀ là 562,83 mg/kg cá sau 48h và 518,23 mg/kg cá sau 72/96h. Nồng độ an toàn dưới 111,48; 110,06 và 104,66 mg/l sau 24, 48 và 72/96h; liều an toàn dưới 56,28 mg/kg cá sau 48h và 51,82 mg/kg cá sau 72/96h. Cá có biểu hiện trúng độc cho thấy sự thay đổi rõ rệt về hình thái và màu sắc của các cơ quan nội tạng như túi mật, gan, lách, thận và tim; bao gồm hiện tượng sung huyết, đổi màu và biến dạng, cho thấy tác động tiêu cực của chất độc đến chức năng sinh lý cơ thể.

Từ khoá: Độc tính, cá tra, liều gây chết 50%, nồng độ gây chết 50%, dây gắm.

Evaluation of the Toxicity of Extract From *Gnetum montanum* on the Striped Catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*) Fingerlings

ABSTRACT

Medicinal plants are increasingly being researched and widely utilized in aquaculture; however, certain herbs also possess inherent toxicity. The current study assessed the toxicity of extracts from *Gnetum montanum* and determined the concentration or dose causing 50% mortality (LC₅₀/LD₅₀) in striped catfish through immersion and oral administration. Striped catfish fingerlings (~10 g) were exposed to water containing various extract concentrations (800; 1,000; 1,200; 1,400, and 1,600 mg/l), while the oral gavage method involved doses of 350, 450, 550, 650, and 750 mg/kg fish. Mortality rates were observed at 24, 48, 72, and 96 hours. The results showed that Gam extract was toxic to striped catfish fingerlings. The LC₅₀ after 24, 48, and 72/96h were 1,114.81; 1,100.56; and 1,046.62 mg/l, respectively; the LD₅₀ was 562.83 mg/kg fish after 48h and 518.23 mg/kg fish after 72/96h. Safe concentrations were below 111.48, 110.06, and 104.66 mg/l after 24, 48, and 72/96h, respectively; safe doses were below 56.28 mg/kg fish after 48h and 51.82 mg/kg fish after 72/96h. Fish exhibiting signs of toxicity showed pronounced alterations in the morphology and coloration of internal organs such as the gallbladder, liver, spleen, kidney, and heart. Observed changes included congestion, discoloration, and deformation, indicating significant physiological impacts of the toxic compounds on internal organ function.

Keywords: Toxicity, striped catfish, lethal dose 50%, lethal concentration 50%, *Gnetum montanum*.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cá tra (*Pangasianodon hypophthalmus*) là loài cá có nhiều ưu điểm vượt trội so với các loài cá nước ngọt khác và đặc biệt đây là đối tượng

xuất khẩu chủ lực của nước ta. Như nhiều loài cá kinh tế khác, việc nuôi thâm canh hóa luôn đi kèm với các vấn đề tiêu cực liên quan đến sức khỏe cá, thậm chí còn xuất hiện dịch bệnh gây chết tỷ lệ cao như bệnh gan thận mủ và xuất

huyết phù đầu. Khi xuất hiện dịch bệnh, hoá chất và kháng sinh thường được sử dụng để diệt khuẩn và chữa bệnh cho cá, tuy nhiên chúng có thể gây ra nhiều hệ lụy do khả năng tồn dư trong các sản phẩm thuỷ sản và tác động lên môi trường sinh thái (Mavraganis & cs., 2020; Nguyen & cs., 2024). Việc sử dụng các sản phẩm có hoạt tính sinh học giúp tăng cường hệ miễn dịch của cá và ức chế tác nhân gây bệnh đang được chú trọng nghiên cứu và ứng dụng trong nuôi trồng thuỷ sản nói chung và nuôi cá tra nói riêng (Badguzar & cs., 2024; Mai & cs., 2023; Wang & cs., 2017). Một số thảo dược như sài đất, ổi, diệp hạ châu, cỏ mực... đang ngày càng được ứng dụng rộng rãi. Các sản phẩm này được báo cáo là không gây ảnh hưởng xấu đến sức khỏe người tiêu dùng, thời gian phân hủy nhanh và có tác động nâng cao sức khỏe động vật thuỷ sản (Dadras & cs., 2023). Trong số các cây thảo dược đang được nghiên cứu, cây dây gắm (*Gnetum montanum*) rất được chú ý do tác dụng tích cực trong điều trị bệnh trên người (bệnh Gout) và động vật thí nghiệm như chuột và cá ngựa vằn (Ông Bình Nguyễn & cs., 2018; Pan & cs., 2022). Dây gắm, hay còn gọi là gắm núi, là loài thực vật thuộc họ dây gắm (Gnetaceae), phân bố rộng rãi ở khu vực Đông Nam Á. Trong y học dân gian, loài cây này được sử dụng để điều trị viêm, giảm đau và có đặc tính kháng khuẩn. Nghiên cứu hoạt tính sinh học của cây dây gắm cho thấy chúng có tác dụng kháng khuẩn, kháng viêm và chống oxy hóa (Ông Bình Nguyễn & cs., 2018). Những hoạt tính sinh học này hoàn toàn phù hợp để ứng dụng trong phòng bệnh thuỷ sản. Việc sử dụng cây dây gắm trong nuôi trồng thuỷ sản là hướng mới trong việc khai thác thảo dược hoặc phụ phẩm của chúng. Như các loại thuốc nói chung và thảo dược nói riêng, cây dây gắm cũng có thể có độc tính gây ảnh hưởng xấu đến cơ thể vật chủ (Anywar & cs., 2021; Sadino & cs., 2017; Nguyễn Ngọc Thuần & cs., 2021). Ngưỡng gây độc 50% đối với mô hình tế bào SW480 là 50,77 µg/ml (Pan & cs., 2024). Tuy vậy, chưa có nghiên cứu nào thực hiện đánh giá độc tính của cao chiết từ dây gắm trên động vật thuỷ sản. Do đó, nghiên cứu này được thực hiện với mục tiêu xác định được nồng độ/liều gây chết 50% (LC_{50}/LD_{50}) và ngưỡng an toàn khi sử dụng dịch chiết trên cá tra bằng phương pháp ngâm và cho uống ở cá tra giống.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Chuẩn bị dịch chiết cây dây gắm

Dịch chiết cây dây gắm được cung cấp bởi đề tài cấp Bộ NN&PTNT: “Nghiên cứu nâng cao tỷ lệ sống trong ương cá tra bằng sử dụng thảo dược” và đề tài sinh viên nghiên cứu khoa học NCKH “Đánh giá độc tính của dịch chiết dây gắm *Gnetum montanum* trên cá tra *Pangasianodon hypophthalmus*”. Cụ thể, dây gắm nguyên liệu sau khi sơ chế, rửa sạch và sấy khô ở 40-50°C trong 72h đến khối lượng không đổi, sẽ được xay nhỏ thành bột kích thước < 0,5mm. Bột nguyên liệu sau đó được chiết xuất bằng phương pháp chiết hồi lưu, sử dụng dung môi ethanol. Cân chính xác trên cân phân tích khoảng 100g bột nguyên liệu vào bình cầu chứa 1.000ml ethanol 95%. Hỗn hợp được chiết ở 60°C trong 4h. Sau khi làm lạnh về nhiệt độ phòng, lọc qua giấy lọc thu phần dịch lọc, phần bã tiếp tục được chiết hồi lưu với ethanol 95% thêm 2 lần nữa với qui trình như trên. Dịch chiết sau đó được tập hợp, cất thu hồi dung môi dưới áp lực giảm, sấy chân không thu dịch chiết toàn phần (với độ ẩm khoảng 23%). Dịch chiết sau đó được hoà với nước để tạo thành dạng dung dịch gốc trước khi pha ra các nồng độ thử nghiệm.

2.2. Cá thí nghiệm

Cá tra giai đoạn giống (~ 10g) có kích cỡ đồng đều, không xây sát, không dị tật, hoạt động tốt, không có biểu hiện bệnh lí. Cá được đưa về phòng thí nghiệm và tắm với thuốc tím ở nồng độ 5ppm trong khoảng 10 phút nhằm tiêu diệt mầm bệnh và sát trùng vết xây sát trên cá trong quá trình di chuyển trước khi chuyển vào hệ thống bể thí nghiệm. Trong thời gian nuôi thuần hoá, cá được cho ăn thức ăn công nghiệp dạng viên (Aquaxcel, Cargill, Mã số 7414), các yếu tố môi trường như nhiệt độ, oxy hoà tan, pH được theo dõi thường xuyên và phù hợp với cá tra. Nước được thay 30% thể tích 2 lần/ngày. Cá được nuôi thuần hoá trong vòng 2 tuần trước khi bắt đầu thí nghiệm. Sau thời gian nuôi thuần hoá, cá được lấy mẫu ngẫu nhiên (mẫu dịch nhầy và mẫu thận cá) và tiến hành kiểm tra mầm bệnh do vi khuẩn *Edwardsiella ictaluri*; kết quả cho thấy cá không xuất hiện mầm bệnh.

Đánh giá độc tính của dịch chiết từ cây dây gắm (*Gnetum montanum*) trên cá tra (*Pangasianodon hypophthalmus*) giai đoạn giống



Hình 1. Sơ chế cây dây gắm và dịch chiết cồn

2.3. Thí nghiệm đánh giá độc tính của dịch chiết tổng từ dây gắm bằng phương pháp ngâm

Thí nghiệm thăm dò: cá tra ($9,2 \pm 0,3$ g/con) sau khi nuôi thuần hóa được chia đều về các bể thí nghiệm có thể tích 10l với mật độ 10 con/bể, bể sục khí liên tục (oxy hoà tan dao động từ 5-6 mg/l). Dịch chiết cây dây gắm được hòa tan trong nước với các tỷ lệ thăm dò khác nhau: 0, 100, 200, 400, 800, 1.600, 3.200 mg/l, tương ứng với nồng độ ĐC, CS1, CS2, CS3, CS4, CS5, CS6. Các nghiệm thức không lặp lại. Các nồng độ này dựa trên các thí nghiệm đánh giá độc tính thảo dược trước đây trên động vật thủy sản và chuột (Sadino & cs., 2017; Nguyễn Ngọc Thuần & cs., 2021). Cá được ngâm trong nước thuốc và theo dõi tỷ lệ chết và biểu hiện sau 24, 48, 72 và 96h. Cá không được cho ăn trong suốt quá trình thí nghiệm.

Thí nghiệm xác định nồng độ gây chết 50% (LC_{50}): Dựa trên kết quả thu được từ thí nghiệm thăm dò, nồng độ gây chết 50% của dịch chiết chiết tổng từ cây dây gắm nằm trong khoảng từ 800 đến 1.600 mg/l. Trên cơ sở đó, các nồng độ được thiết kế lần lượt là 800, 1.000, 1.200, 1.400 và 1.600 mg/l, tương ứng với các nghiệm thức C1, C2, C3, C4, C5. Cá tra giống có khối lượng $10,0 \pm 0,4$ g/con sau khi nuôi thuần hóa được chia đều về các bể thí nghiệm có thể tích 10l với mật độ 10 con/bể, sục khí liên tục. Mỗi nghiệm thức lặp lại ba lần. Cá được theo dõi tương tự thí nghiệm thăm dò.

2.4. Thí nghiệm đánh giá độc tính của dịch chiết bằng phương pháp cho uống

Thí nghiệm thăm dò: Cá tra sau khi nuôi thuần hóa, khỏe mạnh có khối lượng trung bình $13,2 \pm 0,1$ g/con, được chia đều về các bể thí nghiệm có thể tích 10l với mật độ 10 con/bể và

được sục khí liên tục. Dịch chiết cây dây gắm được hòa tan trong nước và cho cá uống cưỡng bức (10 μ l/con) với các liều khác nhau: 0, 45, 90, 180, 360, 720 mg/kg cá. Các tỷ lệ dịch chiết sử dụng trong nghiên cứu này dựa trên kết quả đánh giá độc tính trên động vật thủy sản của các nghiên cứu trước (Souza & cs., 2019; Xavier & Kripasana, 2020). Cá được cho uống nước thuốc 1 lần. Nước thuốc được lấy một lượng chính xác bằng đầu pipet mềm và đưa thẳng xuống thực quản của cá. Cá đối chứng được uống nước cất với lượng tương đương. Cá thí nghiệm sau đó được theo dõi biểu hiện và tỷ lệ chết sau 24, 48, 72 và 96h. Cá không được cho ăn trong suốt quá trình thí nghiệm. Các quy trình thí nghiệm dựa trên hướng dẫn của OECD về đánh giá độc tính trên cá (OECD, 2019) và các nghiên cứu trước đây trên cá ngựa vằn (Souza & cs., 2019).

Thí nghiệm xác định liều gây chết 50% (LD_{50}): Dựa trên kết quả thu được từ thí nghiệm thăm dò, liều gây chết 50% trên cá tra của dịch chiết tổng từ dây gắm nằm trong khoảng từ 360 đến 720 mg/kg cá. Trên cơ sở đó, các nồng độ trong thử nghiệm này được thiết kế lần lượt là 350, 450, 550, 650 và 750 mg/kg cá, được mã hoá tương ứng các nghiệm thức D1, D2, D3, D4, D5. Cá tra giống ($10,6 \pm 0,5$ g/con) sau khi nuôi thuần hóa được chia đều về các bể thí nghiệm có thể tích 10l với mật độ 10 con/bể, bể sục khí liên tục. Mỗi nghiệm thức lặp lại ba lần. Cá được theo dõi tương tự thí nghiệm thăm dò.

2.5. Mổ khám cá

Cá có biểu hiện đổi màu, nuốt không khí, bơi thất thường, mất phản xạ, nổi đầu và cuối cùng nằm bất động dưới đáy ngay trước khi chết. Cá chết được mổ kiểm tra các cơ quan nội tạng để so sánh sự khác biệt giữa cá thí nghiệm và cá đối chứng.



Hình 2. Phương pháp uống cường bức sử dụng trong nghiên cứu

2.6. Xử lý số liệu

Nồng độ/liều gây chết 50% (LC_{50}/LD_{50}) được tính theo giá trị probit trong phương pháp của Finney (1971):

$$LC_{50}/LD_{50} = 10^{(5 - \alpha/\beta)}$$

Trong đó, các giá trị α , β là các giá trị lấy từ đường hồi quy tuyến tính giữa số probit và $\log_{10}$ (liều thử nghiệm).

Nồng độ/liều an toàn:

$$(SC/SD) = LC/LD_{50-96h}/SF$$

Trong đó, SF là hệ số an toàn, dao động từ 10-100 (U.S. FDA, 2005). Trong nghiên cứu này, chúng tôi lựa chọn SF = 10

Số liệu được biểu diễn dưới dạng trung bình $\pm$ SD, được chuyển đổi bằng hàm arcsin trước khi xử lý bằng phần mềm STATISTICA 10.0, sử dụng phương pháp phân tích ANOVA một nhân tố và chuẩn LSD để so sánh sự khác biệt giữa các nghiệm thức với mức $P < 0,05$. Trong đó, số lượng bể thí nghiệm ($n = 3$) được coi là số lần lặp lại.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

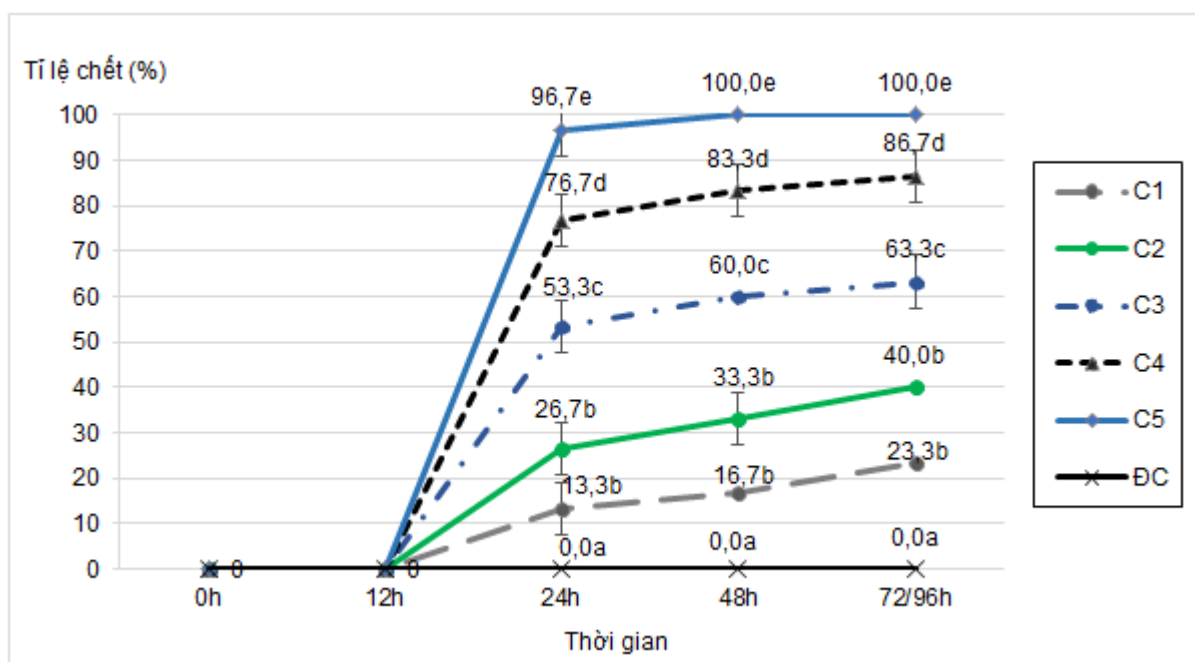
3.1. Kết quả xác định nồng độ gây chết 50% và ngưỡng an toàn ở thí nghiệm ngâm

Trong thí nghiệm thăm dò, tỷ lệ chết của cá tra ở thí nghiệm ngâm được theo dõi sau 24, 48, 72 và 96h tiếp xúc với thuốc. Sau 24h ở các nồng độ từ 0 đến 800 mg/l, không quan sát thấy hiện

tượng cá chết. Ở nồng độ 1.600 và 3.200 mg/l, xuất hiện cá chết sau 24h với tỷ lệ chết là 100%. Điều này cho thấy phản ứng gây chết xảy ra nhanh khi nồng độ vượt ngưỡng dung nạp, có thể do ảnh hưởng trực tiếp đến mô mang hoặc quá trình trao đổi ion. Từ kết quả tỷ lệ chết thu được, nồng độ gây chết 50% được dự đoán nằm trong khoảng từ 800 đến 1.600 mg/l. Ở thí nghiệm xác định liều gây chết 50% sau đó, kết quả tỷ lệ chết của cá sau 24, 48, 72 và 96h được trình bày trong hình 3.

Kết quả cho thấy tỷ lệ chết tăng theo thời gian và nồng độ. Sau 24h, tỷ lệ chết cao nhất ở C5 là 96,7%, tiếp đến là C4 (76,7%), C3 (53,3%) C2 (26,7%) và thấp nhất ở C1 (13,3%) ($P < 0,05$). Các kết quả này phù hợp với mô hình độc tính cấp tính đã được công nhận trong nghiên cứu trước đây sử dụng chiết xuất thực vật (Xavier & Kripasana, 2020). Sau 48h và 72h vẫn ghi nhận có cá chết ở các nghiệm thức. Từ 72 đến 96h, không quan sát thấy có cá chết trong các bể thí nghiệm. Nhóm đối chứng không có cá chết. Tỷ lệ chết cao nhất ($P < 0,05$) sau thời gian thí nghiệm vẫn ghi nhận ở C5 (100%) và thấp nhất ở C1 (23,3%). Từ tỷ lệ chết của cá ở các nồng độ, nồng độ gây chết 50% (LC_{50}) và nồng độ an toàn được trình bày trong bảng 2. Giá trị LC_{50} giảm dần từ 1.114,81 mg/l (sau 24h) xuống 1.046,62 mg/l (sau 72/96h), cho thấy độc tính tăng theo thời gian. SC cũng giảm tương ứng, từ 1.11,48 mg/l xuống 104,66 mg/l.

Đánh giá độc tính của dịch chiết từ cây dây gắm (*Gnetum montanum*) trên cá tra (*Pangasianodon hypophthalmus*) giai đoạn giống



Ghi chú: C1, C2, C3, C4, C5: các nồng độ 800, 1.000, 1.200, 1.400 và 1.600 mg/l; Các số liệu trong cùng một thời điểm có kí hiệu chữ cái khác nhau thể hiện sự sai khác có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$).

Hình 3. Tỷ lệ chết tích lũy của cá tiếp xúc với dịch chiết của dây gắm ở các nồng độ khác nhau sau 24, 48 và 72/96h

Bảng 2. Nồng độ gây chết 50% (LC_{50}) và liều an toàn ở các thời điểm được xác định từ phân tích probit

Thời gian	LC_{50} (mg/l)	SC (mg/l)
24h	1.114,81	111,48
48h	1.100,56	110,06
72/96h	1.046,62	104,66

Ghi chú: LC_{50} : Nồng độ gây chết 50%, SC: Nồng độ an toàn.

Các nghiên cứu thử độc tính của thảo dược chủ yếu sử dụng mô hình cá ngựa vằn (*Danio rerio*) để áp dụng trên người. Kết quả công bố hầu hết các loài thảo dược như xuyên tâm liên *Andrographis paniculata*, nghệ rễ vàng *Curcuma xanthorrhiza*, quế *Cinnamom zeylanicum*, sắn thuyền *Eugenia polyantha*, hoa môi *Orthosiphon stamineus* đều có độc tính, với giá trị LC_{50} dao động từ 520-1.680 mg/l (Jayasinghe & Jayawardena, 2019). Điều này cho thấy, dịch chiết từ cây dây gắm nằm trong khoảng trung bình so với các thảo dược khác nhưng vẫn có khả năng gây chết nhanh ở nồng

độ ≥ 1.600 mg/l. Sự khác biệt này có thể do bản chất hoạt chất, thời gian tiếp xúc hoặc độ nhạy của loài cá. Nghiên cứu trên các loài cá thương phẩm còn rất hạn chế. Một nghiên cứu trên cá rô phi vằn *Oreochromis niloticus* (Mandefro & cs., 2024) khi thử nghiệm đánh giá độc tính của dịch chiết cây cỏ xước *Achyranthes aspera* cho thấy nồng độ LC_{50} là 1.310,74 mg/l lại cao hơn trong nghiên cứu này.

Cá trúng độc khi tiếp xúc với dịch chiết dây gắm có các biểu hiện như nổi lên mặt nước và nhảy ra khỏi nước, mất định hướng, bơi thất thường, tần số hô hấp nhanh hơn, liên tục nhảy

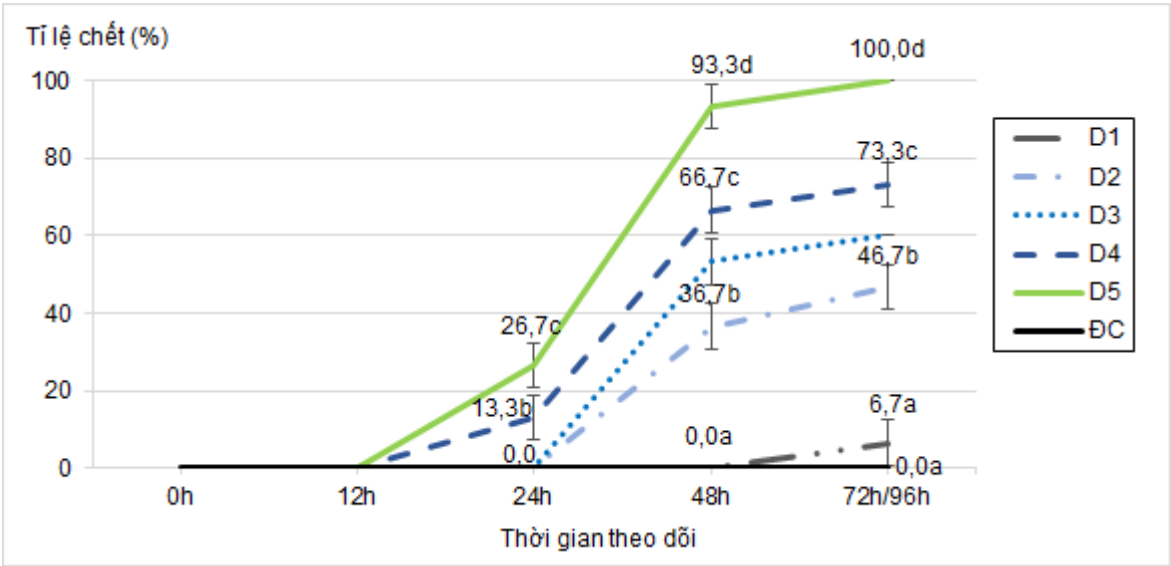
lên đốp không khí, đổi màu toàn bộ cơ thể và tiết chất nhầy quá mức. Ở nồng độ cấp tính trước khi chết, cá tụ tập ở tầng mặt, miệng mở liên tục.

3.2. Kết quả xác định liều LD₅₀ và ngưỡng an toàn ở thí nghiệm cho uống

Kết quả tỷ lệ chết trong thí nghiệm thăm dò liều gây chết 50% (LD₅₀) của cá bằng phương pháp cho uống dịch chiết ở các liều khác nhau sau 24, 48, 72 và 96h được thể hiện trong hình 4. Theo đó, sau 24h, không quan sát thấy cá chết ở tất cả các nghiệm thức. Sau 48h, ở các liều 0, 45, 90, 180, 360 mg/kg cá vẫn không quan sát thấy hiện tượng cá chết. Ở liều 720 mg/kg xuất hiện hiện tượng cá chết với tỷ lệ chết là 100%. Từ số liệu thu được, liều gây chết 50% (LD₅₀) được dự đoán nằm trong khoảng từ 360 đến 720 mg/kg cá. Ở thí nghiệm xác định

liều LD₅₀ sau đó với các liều bố trí từ 350-750 mg/kg cá, tỷ lệ chết của cá sau 0, 12, 24, 48 và 72/96h được trình bày trong hình 4.

Theo đó, cá chết bắt đầu xuất hiện sau 24h ở các nghiệm thức D4, D5 với tỷ lệ chết tương ứng là 13,3 ± 5,8% và 26,7 ± 5,8%, các nghiệm thức đối chứng, D1, D2, D3 không quan sát thấy cá chết. Sau 48h, tỷ lệ chết tăng lên theo nồng độ thuốc, cao nhất (P <0,05) ở D5 (93,3 ± 5,8%) và không quan sát thấy cá chết ở D1 và đối chứng. Sau 72h, tỷ lệ chết vẫn theo xu hướng tăng theo nồng độ thuốc và tỷ lệ này được duy trì tới 96h. Kết quả, sau 96h quan sát, tỷ lệ cá chết tích lũy cao nhất ở nghiệm thức D5 (100%) và thấp nhất ở D1 (6,7 ± 5,8%), không quan sát thấy cá chết ở lô đối chứng. Dựa trên tỷ lệ chết, liều gây chết 50% (LD₅₀) và liều an toàn (SD) được trình bày trong bảng 3.



Ghi chú: D1, D2, D3, D4, D5: Các liều 350, 450, 550, 650 và 750 mg/kg cá; Các số liệu trong cùng một thời điểm có kí hiệu chữ cái khác nhau thể hiện sự sai khác có ý nghĩa thống kê (P <0,05).

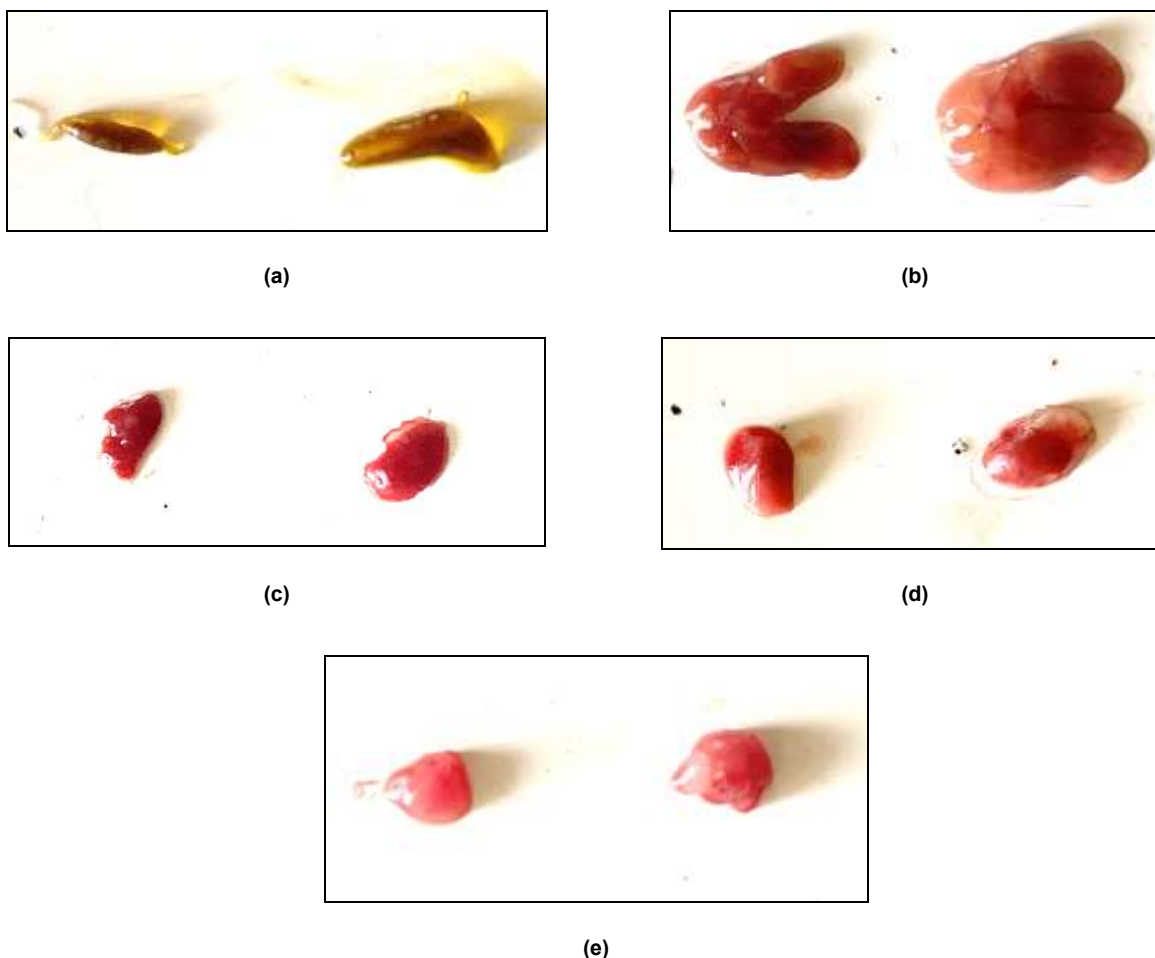
Hình 4. Tỷ lệ chết tích lũy của cá khi tiếp xúc với dịch chiết ở các tỷ lệ khác nhau sau 0, 12, 24, 48 và 72/96h

Bảng 3. Liều gây chết 50% (LD₅₀) và liều an toàn ở các thời điểm được xác định từ phân tích probit

Thời gian	LD ₅₀ (mg/kg cá)	SD (mg/kg cá)
48h	562,83	53,28
72/96h	518,23	51,82

Ghi chú: LD₅₀: Liều gây chết 50%, SD: Liều an toàn.

Đánh giá độc tính của dịch chiết từ cây dây gắm (*Gnetum montanum*) trên cá tra (*Pangasianodon hypophthalmus*) giai đoạn giống



Hình 5. So sánh nội tạng trong thí nghiệm ngâm của cá có biểu hiện trúng độc (phải) và cá đối chứng (trái) của túi mật (a), gan (b), lách (c), thận (d) và tim (e)

Liều gây chết 50% của dịch chiết cây dây gắm bằng phương pháp cho uống cưỡng bức ở cá tra là 562,83 mg/kg cá sau 48h và 518,23 mg/kg cá sau 72/96h, ở mức khá cao so với một số nghiên cứu trước khi trên cá, cụ thể là chiết xuất hoa của *Acmella oleracea* trên cá ngựa vằn *D. rerio* là 148,42 mg/kg (Souza & cs., 2019), hay cao chiết cây ngổ trâu *Enydra fluctuans* là từ 200 mg/kg (Xavier & Kripasana, 2020). Như vậy, dịch chiết cây dây gắm khá an toàn đối với mô hình cá tra và mức nồng độ có thể gây tổn thương cho cá ở liều cao so với một số dịch chiết thảo dược khác trên mô hình động vật thủy sản khi sử dụng cùng phương pháp. Tuy nhiên, tỷ lệ chết hoàn toàn ở liều cao nhấn mạnh tầm quan trọng của việc tối ưu hóa liều dùng và đánh giá an toàn toàn diện trước khi ứng dụng. Kết quả này cung cấp cơ sở khoa học cho các nghiên cứu

tiếp theo về giới hạn an toàn, tác động dưới liều độc và độc tính lên các cơ quan đích của dây gắm trên các loài thủy sản. Tuy không thể so sánh trực tiếp giữa liều LD_{50} (mg/kg cá) và LC_{50} (mg/l) do khác biệt đơn vị và cơ chế tiếp xúc, kết quả vẫn cho thấy xu hướng độc tính có thể phụ thuộc đáng kể vào đường phơi nhiễm. Trong khi phương pháp ngâm phản ánh ảnh hưởng trực tiếp lên mô mang và bề mặt cơ thể, thì đường uống liên quan đến hấp thu qua ruột và chuyển hóa qua gan. Do đó, việc đánh giá độc tính theo nhiều con đường là cần thiết để có cái nhìn toàn diện về ảnh hưởng của dịch chiết dây gắm trên các đối tượng thủy sản.

3.3. Mức độ tổn thương nội tạng

Các chất độc hoặc hợp chất có độc tính có thể làm ảnh hưởng đến hình thái, chức năng và

hoạt động của các cơ quan nội tạng vì các cơ quan này duy trì hoạt động bình thường của cơ thể và có thể phân giải các độc tố bên ngoài đưa vào (Nguyễn Ngọc Thuận & cs., 2021). Giải phẫu các cơ quan nội tạng được nghiên cứu và quan sát như túi mật, gan, lách, thận và tim đã quan sát thấy những thay đổi bất thường giữa cá trúng độc và cá đối chứng (Hình 5). Theo quan sát, cơ quan nội tạng của cá trúng độc đều có hiện tượng sưng to và nhạt màu hơn so với đối chứng, chỉ ra sự tổn thương mô rõ rệt do dịch chiết dây gắm. Những thay đổi này có thể phản ánh các quá trình viêm, thoái hóa hoặc suy giảm chức năng tế bào tại các cơ quan đích, ảnh hưởng tiêu cực đến sự cân bằng sinh lý tổng thể của cá. Quan sát này cũng khá tương đồng với những nghiên cứu về độc tính của thảo dược trên chuột (Nguyễn Ngọc Thuận & cs., 2021) và động vật thủy sản (EL Moussaoui & cs., 2020; Souza & cs., 2019). Trên chuột, Nguyễn Ngọc Thuận & cs. (2021) mô tả sự thay đổi mô bệnh học tương đồng ở gan và thận khi cho dùng các dịch chiết thảo dược có độc tính cao. Những tổn thương mô này làm suy giảm chức năng giải độc và trao đổi chất, góp phần gây stress oxy hóa và rối loạn nội môi, làm gia tăng nguy cơ tử vong ở động vật.

4. KẾT LUẬN

Dịch chiết cây dây gắm có khả năng gây độc trên cá tra giống. Nồng độ/liều gây chết 50% (LC/LD₅₀) ở mức trung bình so với một số thảo dược được thử nghiệm trên động vật thủy sản. Trong đó, LC₅₀ lần lượt là 111,48; 110,06; 104,66 sau 24, 48, 72/96h phơi nhiễm với dịch chiết dây gắm; LD₅₀ lần lượt là 562,83 và 518,23 sau 48 và 72/96h uống dịch chiết dây gắm. Dịch chiết ở mức độc gây ra những biến đổi về nội tạng và hành vi của cá. Kết quả nghiên cứu về độc tính cấp tính này là cơ sở quan trọng để xác định liều lượng an toàn cho các nghiên cứu tiếp theo nhằm đánh giá công dụng sinh học của dịch chiết dây gắm trên cá tra, bao gồm các chỉ tiêu về tăng trưởng, miễn dịch và khả năng kháng bệnh.

LỜI CẢM ƠN

Đề tài được thực hiện với nguồn kinh phí từ đề tài sinh viên nghiên cứu khoa học: “Đánh giá

độc tính của dịch chiết dây gắm *Gnetum montanum* trên cá tra *Pangasianodon hypophthalmus*” và đề tài cấp Bộ NN&PTNT: “Nghiên cứu nâng cao tỷ lệ sống trong ương cá tra bằng sử dụng thảo dược”, mã số ĐTTN.35/23.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Anywar G., Kakudidi E., Byamukama R., Mukonzo J., Schubert A., Oryem-Origa H. & Jassoy C. (2021). A Review of the Toxicity and Phytochemistry of Medicinal Plant Species Used by Herbalists in Treating People Living With HIV/AIDS in Uganda. *Frontiers in Pharmacology*. 12: 1-10. doi:10.3389/fphar.2021.615147.
- Badguzar V.S., Satkar S.G., Kumar R. & A.A. (2024). Comprehensive review of prebiotics and probiotics in aquaculture: Mechanisms and applications. *International Journal of Veterinary Sciences and Animal Husbandry*. 9(1S): 777-780. doi: 10.22271/veterinary.2024.v9.i1sk.1157.
- Dadras F., Velisek J. & Zuskova E. (2023). An update about beneficial effects of medicinal plants in aquaculture: A review. *Veterinarni Medicina*. 68(12): 449-463. doi:10.17221/96/2023-VETMED.
- EL Moussaoui A., Bourhia M., Jawhari F.Z., Mechchate H., Slighoua M., Bari A., Ullah R., Mahmood H.M., Ali S.S., Ibenmoussa S., Bousta D. & Bari A. (2020). Phytochemical identification, acute, and sub-acute oral toxicity studies of the foliar extract of *Withania frutescens*. *Molecules*. 25(19): 1-10. doi:10.3390/molecules25194528.
- Finney D.J. (1971). *Probit Analysis*. Cambridge University Press. doi:10.1002/jps.2600600940.
- Jayasinghe C.D. & Jayawardena U.A. (2019). Toxicity assessment of herbal medicine using zebrafish embryos: A systematic review. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. doi:10.1155/2019/7272808.
- Mai N.T., Tung M. Van, Quan D.H., Huong V.T.T. & Hang N.T. (2023). Impacts of dietary supplementation of peptidoglycan extracted from *Lactobacillus* sp. on the growth performance and resistance to *Streptococcus agalactiae* of Nile tilapia. *Vietnam Journal of Agricultural Sciences*. 6(2): 1787-1796. doi:10.31817/vjas.2023.6.2.04.
- Mandefro B., Fereja W. M., Fremichael D., Mereta S. T. & Ambelu A. (2024). Analysis of *Achyranthes aspera* leaf extract and acute toxicity study on fingerlings of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Biochemistry and Biophysics Reports*. 37: 101624. DoI:10.1016/j.bbrep.2023.101624.
- Mavraganis T., Constantina C., Kolygas M., Vidalis K. & Nathanailides C. (2020). Environmental issues

- of aquaculture development. Egyptian Journal of Aquatic Biology and Fisheries. 24(2): 441-450. doi:10.21608/EJABF.2020.85857.
- Nguyễn Ngọc Thuần, Trần Thị Phương Nhung, Nguyễn Ngọc Tuấn, Nguyễn Thị Ngân, Đào Thị Huệ, Võ Dương Mỹ Duyên, Bùi Thanh Hoà, Trần Thành Đạt & Đàm Sao Mai (2021). Đánh giá độc tính cấp tính dịch cao chiết ethanol từ quả thể nấm vân chi (*Coriolopsis aspera*) ở Việt Nam trên chuột *Swiss albino*. Tạp chí Khoa học và Công nghệ. 49: 77-83.
- OECD (2019). Test No. 203: Fish, Acute Toxicity Test. 203: 24. doi:10.1787/9789264069961-en.
- Ông Bình Nguyễn, Nguyễn Đăng Kim Quyên, Lý Hải Triều, Bùi Thị Phương Quỳnh & Lê Văn Minh (2018). Khảo sát thành phần hoá học và hoạt tính sinh học của cao chiết Dây gắm (*Gnetum montanum* Markgr.). Tạp chí Khoa học và Công nghệ. (4): 15-21. DOI:10.55401/jst.v1i4.188.
- Pan X., Hou X., Zhang F., Tang P., Wan W., Su Z., Yang Y., Wei W., Du Z., Deng J. & Hao E. (2022). *Gnetum montanum* extract induces apoptosis by inhibiting the activation of AKT in SW480 human colon cancer cells. Pharmaceutical Biology. 60(1): 915-930. doi:10.1080/13880209.2022.2063340.
- Pan X., Hou X., Zhang F., Xie J., Wei W., Du Z., Deng J. & Hao E. (2024). Identification of chemical composition in *Gnetum montanum* extract and plasma components after oral administration in cynomolgus monkey by UPLC-Q-TOF-MS and its anti-tumor active components analysis. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. 249(May): 116347. doi:10.1016/j.jpba.2024.116347.
- Sadino A., Sahidin I. & Wahyuni W. (2017). Acute toxicity of ethanol extract of *Polygonum pulchrum* Blume using brine shrimp lethality test method. Pharmacology and clinical pharmacy research. 2(2): 46-50. doi:10.15416/pcpr.v2i2.15210.
- Souza G.C., de Silva I.D.R., da Viana M.D., Melo N.C., de Sánchez-Ortiz B.L., Oliveira M.M.R., de Barbosa W.L.R., Ferreira I.M. & Carvalho J.C.T. (2019). Acute toxicity of the hydroethanolic extract of the flowers of *acmella oleracea* L. In zebrafish (*danio rerio*): Behavioral and histopathological studies. Pharmaceuticals, 12(173). https://doi.org/10.3390/ph12040173.
- U.S. FDA. (2005). Guidance for Industry Starting Dose in Initial Clinical Trials Estimating the Maximum Safe for Therapeutics in Adult Healthy Volunteers. In Guidance for Industry Starting Dose in Initial Clinical Trials Estimating the Maximum Safe for Therapeutics in Adult Healthy. p. 27. doi:10.1089/blr.2006.25.697.
- Wang W., Sun J., Liu C. & Xue Z. (2017). Application of immunostimulants in aquaculture: current knowledge and future perspectives. Aquaculture Research. 48(1): 1-23. doi:10.1111/are.13161.
- Xavier J. & Kripasana K. (2020). Acute toxicity of leaf extracts of *Enydra fluctuans* Lour in zebrafish (*Danio rerio* Hamilton). Scientifica. pp. 1-6. doi:10.1155/2020/3965376.