

NGHIÊN CỨU ĐỘC TÍNH CẤP CỦA FLORFENICOL ĐỐI VỚI MỘT SỐ LOÀI SINH VẬT THỦY SINH

Lê Huy Tuấn¹, Bùi Thị Diệu², Lê Thị Ánh Tuyết³

TÓM TẮT

Nghiên cứu này nhằm đánh giá độc tính của kháng sinh Florfenicol đối với một số loài thủy sinh vật phổ biến. Sinh vật được sử dụng để thử nghiệm là vi khuẩn phát quang *Vibrio fischeri*, vi tảo *Chlorella vulgaris*, vi giáp xác *Daphnia magna*. Thử nghiệm theo dõi khả năng phát triển của các đối tượng sinh vật trên ở các nồng độ khác nhau của Florfenicol cho thấy: nồng độ chất thử tại đó khả năng phát quang của vi khuẩn *V. fischeri* giảm 50% (EC_{50}) ở các thời điểm sau 5 phút, 15 phút, 30 phút lần lượt là 586 mg/L, 414 mg/L và 343 mg/L; nồng độ chất thử tại đó tốc độ phát triển của vi tảo *Chlorella vulgaris* bị ức chế 50% (EC_{50}) sau thời gian 24h, 48h, 72h, 96h và 120h lần lượt là: 91,09 mg/L, 87,47 mg/L, 81,78 mg/L, 64,32 mg/L và 58,3 mg/L; nồng độ chất thử tại đó tỷ lệ sống của vi giáp xác *Daphnia magna* bị ức chế 50% (LC_{50}) sau thời gian 24h và 48h lần lượt là: 665 mg/L và 449 mg/L. Đối chiếu với tiêu chuẩn đánh giá độc tính của các chất hóa học đối với thủy sinh vật có thể thấy: Florfenicol là chất kháng sinh có mức độ độc tính thấp và tương đối an toàn đối với thủy sinh vật và hệ sinh thái ao nuôi.

Từ khóa: Độc tính cấp, sinh vật thủy sinh, vi khuẩn phát quang, vi giáp xác, vi tảo.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Trong những năm qua, cùng với sự phát triển không ngừng về diện tích và sản lượng, nghề nuôi trồng thủy sản cũng đang đứng trước những thách thức không nhỏ từ vấn đề dịch bệnh. Và đây cũng chính là một trong những nguyên nhân dẫn đến việc lạm dụng các loại thuốc kháng sinh trong nuôi trồng thủy sản.

Trước đây, thuốc kháng sinh Chloramphenicol được người nuôi sử dụng nhiều trong việc điều trị các bệnh do vi khuẩn gây ra trên cơ thể động vật thủy sản, nhưng loại kháng sinh này gần đây đã bị cấm sử dụng trong nuôi trồng thủy sản vì dư lượng của nó có thể gây ra hiện tượng thoái hóa tủy xương ở người [1]. Dẫn xuất Florinated của kháng sinh này đã được thay thế bằng Florfenicol (FF) và nhanh chóng được sử dụng rộng rãi trong chăn nuôi và thủy sản. Trong quá trình điều trị bệnh cho tôm cá, việc sử dụng loại kháng sinh này có thể gây ra những ảnh hưởng nhất định đến các loài thủy sinh khác và làm mất cân bằng môi trường sinh thái trong hệ thống nuôi thủy sản.

Do đó, mục tiêu của nghiên cứu này là đánh giá độc tính cấp của Florfenicol đối với các sinh vật phổ biến trong môi trường nước dựa trên các giá trị EC_{50} và LC_{50} . Từ kết quả nghiên cứu có thể đưa ra được sự cảnh báo về mức độ an toàn của FF đối với các loài thủy sinh vật và đối với hệ sinh thái ao nuôi.

^{1,2,3} Giảng viên khoa Nông - Lâm - Ngư Nghiệp, trường Đại học Hồng Đức

2. NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng và khách thể nghiên cứu

Đối tượng nghiên cứu:

Độc tính của Florfenicol

Khách thể nghiên cứu (sinh vật thử nghiệm):

Sinh vật thử nghiệm được sử dụng là vi khuẩn phát quang *Vibrio fischeri*, vi tảo *Chlorella vulgaris*, vi giáp xác *Daphnia magna*. Các đối tượng này đại diện cho 4 nhóm sinh vật tồn tại phổ biến trong môi trường nước. Chúng có tính mẫn cảm cao với các hợp chất chứa độc tố, có thể dễ dàng được nhận biết và kiểm soát thường được sử dụng để đánh giá độc tính của các loại hóa chất trong thủy vực [2, tr. 461-468], [9, tr. 418-421].

Vi khuẩn: *Vibrio fischeri* được lưu trữ dưới dạng bột khô ở nhiệt độ -20°C, được cung cấp bởi công ty thiết bị nghiên cứu khoa học Skalar Hà Lan, và được hoạt hóa bằng dung dịch chuyên dụng trước khi thử nghiệm.

Vi tảo: *Chlorella vulgaris* được nuôi cấy trong môi trường BG11 (Blue-Green Medium) tại phòng thí nghiệm sinh học khoa Nuôi trồng thủy sản, trường Đại học Hải Dương, Thượng Hải.

Vi giáp xác: *Daphniamagna* được nuôi cấy tại phòng thí nghiệm sinh học khoa Nuôi trồng thủy sản, trường Đại học Hải Dương, Thượng Hải.

2.2. Thời gian, địa điểm nghiên cứu

Nghiên cứu này được tiến hành tại phòng thí nghiệm sinh học khoa Nuôi trồng thủy sản - trường Đại học Hải Dương, Thượng Hải năm 2015.

2.3. Thiết bị thí nghiệm

Máy đo độ phát quang sinh học BHP9511 (Công ty thiết bị thí nghiệm Bắc Kinh); máy quang phổ huỳnh quang Nanodrop 3300; nồi hấp tiệt trùng thân không ALP CLG-32L, 54 lít; bể rửa siêu âm EMMI H40; kính hiển vi Olympus BX51; buồng đếm Sedgwick - Rafter (20mm × 50mm × 1mm); bể ổn nhiệt; tủ nuôi cấy tảo; cân phân tích điện tử và một số thiết bị thí nghiệm khác.

2.4. Nội dung nghiên cứu

Tiến hành kiểm tra độc tính cấp của Florfenicol thông qua 3 thí nghiệm: thí nghiệm nghiên cứu sự ức chế phát quang của FF đối với vi khuẩn *Vibrio fischeri*; thí nghiệm nghiên cứu sự ức chế phát triển của FF đối với tảo lục *Chlorella vulgaris*; thí nghiệm nghiên cứu FF ảnh hưởng đến tỷ lệ sống của vi giáp xác *Daphniamagna*.

2.5. Phương pháp nghiên cứu

2.5.1. Thử nghiệm độ độc tính cấp trên vi khuẩn

Thử nghiệm ức chế sự phát quang của vi khuẩn *Vibrio fischeri* (bao gồm phương pháp bố trí thí nghiệm và công thức tính toán) được tiến hành theo theo Tiêu chuẩn quốc tế

Iso 11348-3 [10, tr.623-624]. Độ độc được đánh giá qua chỉ số EC_{50} - nồng độ hóa chất tại đó khả năng phát quang của vi khuẩn bị giảm 50%. Chỉ số này được xác định ở các thời điểm 5 phút, 15 phút, 30 phút tính từ khi vi khuẩn tiếp xúc với chất thử. Cụ thể như sau:

Chuẩn bị huyền phù gốc

Lấy lọ vi khuẩn *Vibrio fisheri* (dạng đông khô) ra khỏi tủ lạnh. Làm mát 1ml nước cất trong ống nghiệm thủy tinh đến $3^{\circ}C$. Cho lượng nước này vào lọ đựng vi khuẩn, để ở nhiệt độ phòng 20 phút. Sau đó sử dụng huyền phù vi khuẩn phát quang đã hoàn nguyên này làm huyền phù gốc cho các thử nghiệm, bảo quản ở nhiệt độ $3^{\circ}C$.

Chuẩn bị dung dịch Florfenicol

Hòa tan Florfenicol bằng nước cất thành các dung dịch ở 7 nồng độ khác nhau (50 mg/L, 200 mg/L, 400 mg/L, 600 mg/L, 800 mg/L, 1000 mg/L, 1200 mg/L).

Phương pháp bố trí thí nghiệm

Lấy 0,01ml huyền phù gốc cho vào cuvet 2ml, thêm 0,5ml dung dịch hoạt hóa vi khuẩn (2% NaCl; 0,2035% $MgCl_2$; 0,03% KCl). Đặt cuvet vào hộp ôn nhiệt, duy trì ở nhiệt độ $15^{\circ}C$ trong 15 phút. Dùng máy đo độ phát quang để xác định cường độ phát quang của tảo (I_0) trong các ống cuvet. Sau đó, lần lượt thêm 0,5ml dung dịch Florfenicol ở các nồng độ vào các ống cuvet có chứa sẵn huyền phù gốc, lắc đều. Xác định cường độ phát quang trong các cuvet tại các thời điểm sau 5 phút (I_5), 15 phút (I_{15}), 30 phút (I_{30}) tính từ khi thêm Florfenicol. Thí nghiệm lặp lại 3 lần.

Sử dụng $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ thay thế Florfenicol làm thí nghiệm lặp lại tương tự để làm căn cứ đánh giá tính chính xác của thí nghiệm.

Phương pháp xác định giá trị EC_{50}

Sử dụng công thức (1) để tính hệ số hiệu chỉnh (R_t) từ cường độ phát quang đo được.

$$R_t = \frac{I_t}{I_0} \quad (1)$$

Trong đó:

R_t : là hệ số hiệu chỉnh đối với thời gian 5 phút, 15 phút, 30 phút;

I_t : là cường độ phát quang thời gian tiếp xúc 5 phút, 15 phút, 30 phút;

I_0 : là cường độ phát quang huyền phù kiểm tra, ngay trước khi cho thêm chất thử.

Sử dụng công thức (2) để tính giá trị gamma Γ của mẫu thử

$$\Gamma_t = \frac{R_t \times I_0}{I_t} - 1 \quad (2)$$

Trong đó:

Γ_t : là giá trị gamma của mẫu thử sau thời gian tiếp xúc 5 phút, 15 phút, 30 phút;

R_t : là hệ số hiệu chỉnh tính theo công thức (1);

I_t : là cường độ phát quang thời gian tiếp xúc 5 phút, 15 phút, 30 phút;

I_0 : là cường độ phát quang huyền phù kiểm tra.

Số liệu được xử lý bằng phần mềm Excel, tính giá trị EC_{50} của chất thử ở $\Gamma_t = 1,00$.

2.5.2. Thử nghiệm độ độc tính cấp trên vi tảo.

Thử nghiệm ức chế sự phát triển của tảo lục *Chlorella vulgaris* (bao gồm phương pháp bố trí thí nghiệm và công thức tính toán) được tiến hành theo tiêu chuẩn quốc tế ISO 8692-2012 [11]. Cụ thể như sau:

Chuẩn bị tảo thí nghiệm: Tảo *Chlorella vulgaris* được nuôi cấy môi trường BG11, nhiệt độ 24°C, cường độ ánh sáng 4000lux, quang kỳ 18h sáng/6h tối.

Chuẩn bị dung dịch Florfenicol: Hòa tan Florfenicol bằng nước cất thành các dung dịch ở 8 nồng độ khác nhau (10mg/L, 20 mg/L, 40 mg/L, 60 mg/L, 80 mg/L, 100 mg/L).

Phương pháp bố trí thí nghiệm

Lấy 50ml dung dịch tảo giống *Chlorella vulgaris* (tảo giống cấp 1 đã được nuôi trong 7 ngày) vào bình Erlen 250ml. Lần lượt thêm 50ml dung dịch Florfenicol đã pha loãng ở các nồng độ, sau đó đưa vào tủ nuôi cấy vô trùng ở cùng điều kiện như nuôi cấy tảo giống. Xác định mật độ tảo ở các thời điểm trước khi cho chất thử (N_0) và sau khi cho chất thử Florfenicol ở các thời điểm 24h, 48h, 72h, 96h và 120h (N_t).

Sinh trưởng của tảo ở các thời điểm được xác định theo phương pháp đo mật độ quang OD ở bước sóng 680nm và xác định mật độ tế bào. Mật độ tế bào tảo được đếm trên buồng đếm Sedgwick-Rafter (20mm × 50mm × 1mm) dưới kính hiển vi Olympus BX51 và số tế bào được đếm trong 1ml.

Phương pháp xác định giá trị EC_{50}

Tốc độ tăng trưởng quần thể của tảo được xác định theo công thức (3)

$$\mu = (\ln N_t - \ln N_0) / t \quad (3)$$

Trong đó:

μ : là tốc độ phát triển;

N_t : là mật độ tảo tại thời gian t (cá thể/mL);

N_0 : là mật độ tảo ban đầu (cá thể/mL);

t : là thời gian nuôi (giờ).

Mức độ ảnh hưởng của chất thử đến tốc độ tăng trưởng của tảo được tính theo công thức (4)

$$N \% = [(\mu_b - \mu_{tox}) / \mu_b] \times 100 \quad (4)$$

Trong đó:

$N\%$: mức độ ức chế tốc độ tăng trưởng của chất thử đối với tảo (%);

μ_b : là tốc độ tăng trưởng của tảo ở mẫu đối chứng trong thời gian t ;

μ_{tox} : là tốc độ tăng trưởng của tảo ở mẫu chất thử trong thời gian t .

Từ các số liệu thực nghiệm được xử lý bằng chương trình Excel tính được giá trị EC_{50} - nồng độ Florfenicol tại đó tốc độ phát triển của tảo bị ức chế 50%.

2.5.3. Thử nghiệm độ độc tính cấp trên vi giáp xác

Thử nghiệm ảnh hưởng của Florfenicol đến tỷ lệ sống của vi giáp xác được tiến hành theo tiêu chuẩn Trung Quốc GB/T 13266-91 [13]. Các con non *Daphnia magna* nhỏ hơn

24 giờ tuổi được cho vào bình tam giác 50 ml có chất thử với các nồng độ khác nhau và theo dõi tỷ lệ sống sau 24h, 48h. Mỗi cốc thử nghiệm chứa 10 cá thể, thí nghiệm được đặt ở điều kiện nhiệt độ nước $25 \pm 1^\circ\text{C}$, cường độ ánh sáng 2000 lux với quang kỳ 16 giờ sáng và 8h tối. Mỗi nồng độ của Florfenicol bố trí thí nghiệm lặp lại 4 lần.

Từ số lượng sinh vật chết sau 48 giờ, tính toán mức độ ức chế tỷ lệ sống của *Daphnia magna* trong môi trường chứa chất thử ở các nồng độ khác nhau. Xác định giá trị LC_{50} - nồng độ chất thử tại đó tỷ lệ sống của sinh vật bị ức chế 50%.

Sử dụng $K_2Cr_2O_7$ thay thế Florfenicol làm thí nghiệm lặp lại tương tự để làm căn cứ đánh giá tính chính xác của thí nghiệm.

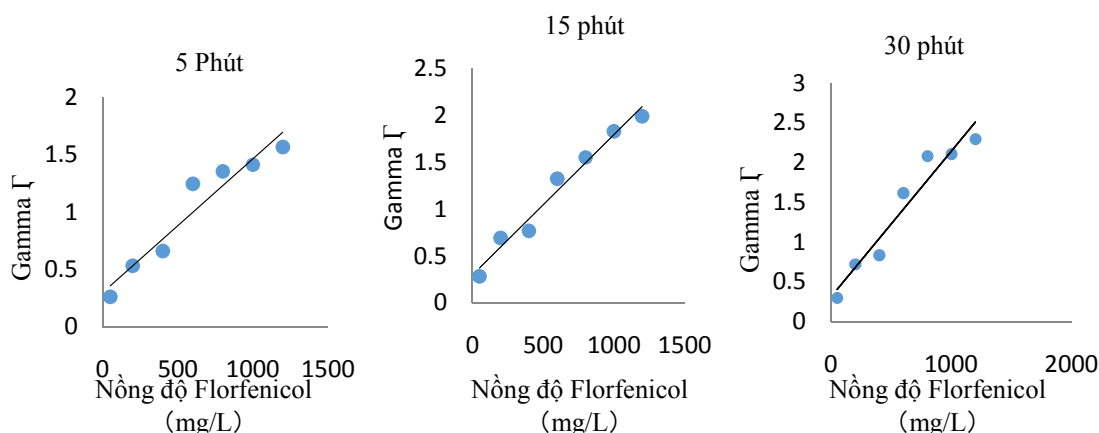
3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả thử nghiệm độc tính cấp trên vi khuẩn

Kết quả thử nghiệm độc tính của Florfenicol trên vi khuẩn *Vibrio fisheri* được thể hiện trên hình 1 và bảng 1. Từ hình 1 cho thấy mối tương quan rất chặt giữa nồng độ Florfenicol và sự phát triển của *Vibrio fisheri* (hệ số tương quan R^2 : 0,955 - 0,987). Giá trị EC_{50} tại các thời điểm sau khi vi khuẩn tiếp xúc với chất thử 5 phút, 15 phút và 30 phút lần lượt là: 586mg/L, 414mg/L và 343mg/L (thể hiện trên bảng 1).

Bảng 1. Kết quả thử nghiệm độc tính cấp của Florfenicol trên vi khuẩn *Vibrio fisheri*

Thời gian (phút)	Các giá trị	Nồng độ Florfenicol (mg/L)						
		50	200	400	600	800	1000	1200
5 phút	Trung bình Γ	0,26	0,53	0,66	1,245	1,354	1,411	1,566
	EC_{50} (mg/L)	586						
15 phút	Trung bình Γ	0,282	0,663	0,768	1,385	1,552	1,831	1,992
	EC_{50} (mg/L)	414						
30 phút	Trung bình Γ	0,303	0,742	0,84	1,62	2,084	2,11	2,297
	EC_{50} (mg/L)	343						

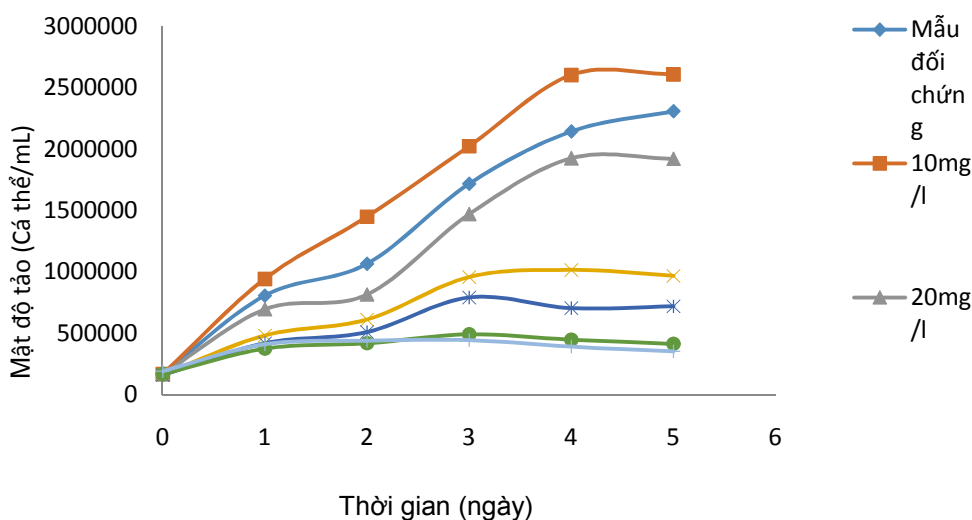


Hình 1. Tương quan giữa nồng độ Florfenicol và cường độ phát quang của vi khuẩn *Vibrio fisheri*

Theo dõi sự ức chế của FF đối với *V.fisheri* cho thấy: sau 5 phút FF đã bắt đầu có tác dụng ức chế *V.fisheri*, sự ức chế tăng dần theo thời gian. Tuy nhiên, sau 30 phút vi khuẩn vẫn tiếp tục phát sáng chứng tỏ độc tính cấp của FF đối với *V.fisheri* thấp. Giá trị EC_{50} (30 phút) < EC_{50} (15 phút) < EC_{50} (5 phút), kết quả này tương đồng với các nghiên cứu khác về độc học môi trường. Khi sử dụng $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ (nồng độ 19,3 mg/L) thay thế FF để kiểm chứng phương pháp thí nghiệm, kết quả cho thấy khả năng ức chế phát quang của hợp chất này là 53%. Kết quả này đã khẳng định phương pháp thí nghiệm đã đáp ứng được yêu cầu về tính chính xác mà tiêu chuẩn Iso 11348-3 đưa ra.

3.2. Kết quả thử nghiệm độc cấp tính trên vi tảo

Tiến hành thử nghiệm trên vi tảo với các nồng độ FF pha loãng từ 10-100mg/L cho kết quả ở bảng 2, hình 2 và hình 3. Thông qua hình 2 nhận thấy đường cong tăng trưởng của tảo có dạng chữ S và đều có pha thích nghi 1 ngày. Pha tăng trưởng khi FF ở nồng độ 10mg/l và 20mg/L kéo dài từ ngày thứ 1 đến ngày thứ 4, đạt mật độ cực đại vào ngày thứ 4 và sau đó giảm dần. Pha tăng trưởng khi FF ở nồng độ 40mg/L và 60mg/L kéo dài đến ngày thứ 3, sau đó duy trì ổn định đến ngày thứ 5. Đường cong tăng trưởng khi FF ở nồng độ 80mg/L và 100mg/L thấp nhất và có thời gian tăng trưởng ngắn nhất (1 ngày), sau đó duy trì ổn định đến hết ngày thí nghiệm. Các đường cong tăng trưởng trên hình 2 cũng cho thấy rất rõ khi nồng độ chất thử càng cao thì ảnh hưởng của chất thử đến tốc độ tăng trưởng của tảo càng mạnh.



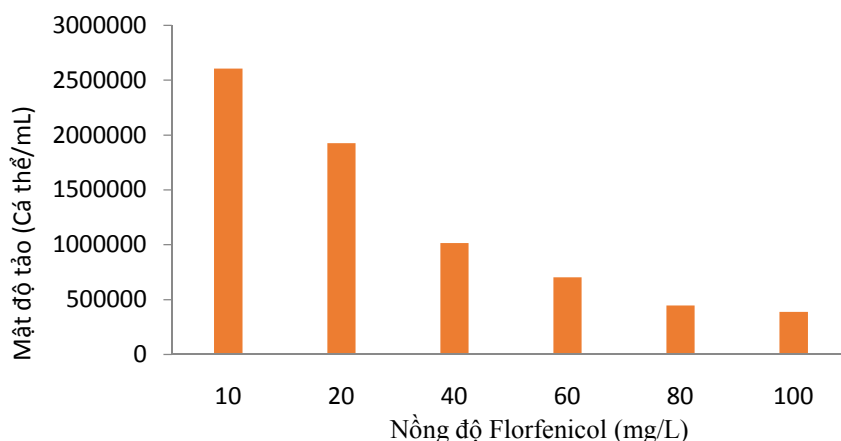
Hình 2. Ảnh hưởng của Florfenicol đến mật độ tảo

Bảng 2 cho thấy giữa nồng độ chất thử và mức độ ức chế tốc độ tăng trưởng của chất thử đối với tảo có mối tương quan chặt chẽ R^2 : 0,95- 0,994. Thời gian thí nghiệm càng dài nồng độ chất thử tại đó tốc độ phát triển của tảo bị ức chế 50% càng nhỏ, EC_{50} sau thời gian 24h, 48h, 72h, 96h và 120h lần lượt là: 91,09mg/L, 87,47mg/L, 81,78mg/L, 64,32 mg/L và 58,3mg/L.

Bảng 2. Kết quả thử nghiệm độc tính cấp của Florfenicol trên vi tảo

Thời gian lấy mẫu sau khi tiếp xúc với chất thử (h)	EC ₅₀ (mg/L)	Phương trình tuyến tính	Hệ số tương quan R ²
24	91.09	Y = 59.086x 65.744	0.9948
48	87.47	Y = 57.938x 62.508	0.9911
72	81.78	Y = 68.149x 80.346	0.9586
96	64.32	Y = 79.95x 94.579	0.9598
120	58.3	Y = 80.986x 92.998	0.956

Trong đó: x là nồng độ chất thử (mg/L); y là mức độ ức chế tốc độ tăng trưởng của chất thử đối với tảo (%).

**Hình 3. Mật độ tảo trong các mẫu thí nghiệm ở thời gian 96h**

Thông qua hình 3 có thể thấy mật độ tế bào sau 96h tiếp xúc với chất thử giảm dần khi nồng độ chất thử tăng. Trong đó mật độ tế bào ở mẫu chất thử nồng độ 10mg/L là 2.60×10^6 cá thể/mL, ở mẫu chất thử nồng độ 100mg/L mật độ tế bào là 3.88×10^5 cá thể/mL. Điều đó chứng tỏ trong thời gian tiến hành thí nghiệm, mức độ độc của Florfenicol đối với vi tảo càng thể hiện rõ khi nồng độ chất thử tăng. Kết quả này phù hợp với các nghiên cứu trước đây về độc tính học của một chất thử bất kỳ nào đó. Tác giả 王清林 [14] sau khi nghiên cứu về độc tính cấp của Florfenicol đối với tảo lục *Chlorophyta* và tảo vàng ánh *Chrysophyta* đã cho kết quả như sau: sau thời gian 96h tiếp xúc với chất thử, EC₅₀ của Florfenicol đối với tảo *Chlorophyta* và *Chrysophyta* lần lượt là 56mg/L và 41mg/L. Điều này cho thấy ảnh hưởng của 1 chất đối với các loài tảo khác nhau là khác nhau.

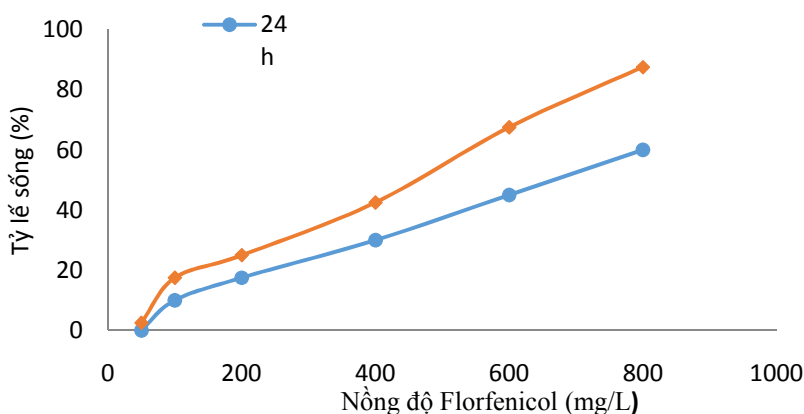
3.3. Kết quả thử nghiệm độc tính cấp trên vi giáp xác

Khi tiến hành thử nghiệm trên vi giáp xác với nồng độ Florfenicol 900 mg/L nhận thấy sau 24h tiếp xúc với chất thử, hoạt động của *Daphnia magna* bị ức chế đáng kể, lúc đầu chúng bơi nhanh xung quanh miệng cốc, bám vào thành cốc, sau đó chúng bơi chậm dần, rồi lắng xuống đáy cốc và không di chuyển, toàn bộ cá thể mang thử nghiệm đều bị chết sau 48h. Do đó đây nồng độ pha loãng của chất thử khi tiến hành thí nghiệm được

thiết kế nằm trong khoảng 50 - 800mg/L. Quan sát hoạt động của vi giáp xác sau 48h thu được kết quả về tỷ lệ sống của sinh vật thử nghiệm thể hiện ở bảng 3 và hình 4.

Bảng 3. Kết quả nghiên cứu độc tính cấp của FF đối với *Daphnia magna*

Nồng độ Florfenicol (mg/L)	Tỷ lệ sống (%)		LC ₅₀ (mg/L)	
	24h	48h	24h	48h
50	0	2,5	665	449
100	10	17,5		
200	17,5	25		
400	30	42,5		
600	45	67,5		
800	60	87,5		



Hình 4. Mối tương quan giữa nồng độ FF và tỷ lệ sống của *Daphnia magna*

Giá trị LC₅₀- nồng độ Florfenicol tại đó tỷ lệ sống của vi giáp xác bị ức chế 50% sau thời gian 24h và 48h lần lượt là: 665mg/L và 449 mg/L. Từ kết quả nghiên cứu cho thấy, trong vòng 48h, khi nồng độ chất thử tăng dần cùng với thời gian càng kéo dài thì mức độ độc của florfenicol đối với vi giáp xác càng mạnh. Kết quả này cũng phù hợp với nhiều nghiên cứu về độc cấp tính của chất thử khác đối với *Daphnia magna*. Tác giả 江敏 [15] khi nghiên cứu về độc cấp tính của Nonylphenol đối với *Daphnia magna* đã cho kết quả giá trị LC₅₀ của chất thử tại sau 24h và 48h lần lượt là 8,61mg/L và 4,96mg/L. Tác giả 徐建明 [16] đã tiến hành nghiên cứu độc cấp tính của Methanol và Ethanol đối với *Daphnia magna* cũng cho kết quả tương tự với nghiên cứu này LC₅₀ tại 24h và 48h lần lượt là 19001mg/L và 14672mg/L.

3.4. Đánh giá độc tính cấp của Florfenicol đối với một số sinh vật thủy sinh

Dựa trên các kết quả nghiên cứu độc cấp tính của FF đối với một số loài thủy sinh vật ở trên và căn cứ theo bảng 4 (Quy phạm đánh giá mức độ an toàn của thuốc và hóa chất GB/T 31270.3-2014) [17], nhận thấy: FF hơi độc đối với vi khuẩn *Vibrio fisheri*. Giá trị EC₅₀ tại các thời điểm sau khi vi khuẩn tiếp xúc với chất thử 5 phút, 15 phút và 30 phút

lần lượt là: 586mg/L, 414mg/L và 343mg/L. FF ít độc đối với vi tảo *Chlorella vulgaris*. EC₅₀ sau thời gian 24h, 48h, 72h, 96h và 120h lần lượt là: 91,09mg/l, 87,47mg/l, 81,78mg/l, 64,32 mg/l và 58,3mg/l. FF hơi độc đối với vi giáp xác *Daphnia magna*. Giá trị LC₅₀ - nồng độ Florfenicol tại đó tỷ lệ sống của vi giáp xác bị ức chế 50% sau thời gian 24h và 48h lần lượt là: 665mg/L và 449 mg/L.

Bảng 4. Thứ tự đánh giá độc tính cấp của một số độc chất đối với sinh vật thủy sinh

Xếp hạng độc	Vi giáp xác LC ₅₀ (mg/L)	Cá LC ₅₀ (mg/L)	Vi khuẩn, vi tảo EC ₅₀ (mg/L)
Cực độc	<0,1	-	<0,1
Rất độc	0,1-1,0	0.1-1	0,1-1,0
Khá độc	1,0-10	0.1-10	1,0-10
Ít độc	10-100	>10	10-100
Hơi độc	>100	-	>100

Trước đây đã có nhiều nghiên cứu về độc tính cấp của FF đối với các sinh vật như cá, chuột, vi sinh vật và các loại vi giáp xác khác cũng đều cho kết quả Florfenicol là một chất hơi độc đối với các đối tượng nghiên cứu này. Tác giả Carla [18] nghiên cứu về độc tính cấp của FF đối với *Artemia parthenogenetica* đã nhận thấy nồng độ chất thử tại đó tỷ lệ sống của *Artemia parthenogenetica* bị ức chế 50% sau thời gian 24h và 48h tương đối cao LC₅₀ > 889 mg/L. Điều đó có thể khẳng định thêm rằng FF là một chất có độc tính thấp đối với sinh vật thủy sinh.

4. KẾT LUẬN

Florfenicol là chất kháng sinh có mức độ độc tính thấp và tương đối an toàn đối với thủy sinh vật và hệ sinh thái ao nuôi.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Thông tư số: 08/VBHN-BNNPTNT về Danh mục hóa chất, kháng sinh cấm sử dụng, hạn chế sử dụng trong sản xuất, kinh doanh Thủy sản và trong Thú y.
- [2] Shen Guo Xing, Yan Guo An, Yu Xin (1999), *The toxic effect of Naphthalene and ITS on Chlorella vulgaris*, Acta Hydrobiologica Sinica. 23(5): 461-468.
- [3] Xiang Li, et al (2011), *Influence of aflatoxin on Vibrio fischeri luminescence*, Acta Microbiologica Sinica. 51(12): 1669-1697.
- [4] Jin Xing-long, et al (2011), *Toxic effects of four nanoscale oxides on Chlorella vulgaris*, Journal of Tian Jin University of Technology, 27(2): 58-62.
- [5] Gong Ning, et al (2011), *Biotoxicity of two size nickel oxide nanoparticles on Chlorellavulgaris*, Marine Environmental Science, 30(4): 458-461.
- [6] Liu Na, et al (2006), *Study on acute toxicity of three fuel to Chlorellavulgaris*, Marine Environmental Science. 25 (1): 29-32.

- [7] Tan Ya Jun, Li Shao Nan, Wu Xiao Mao (2004), *Chronic Toxicity of Several Insecticides to Daphnia magna*, Chinese Journal of Pesticide Scienc, 6(3): 62-66
- [8] Zhang Xuemei, Wang Chengju (2007), *Research Advance of Pesticide Toxicity to Daphnia magna*, Pesticide Science and Administration, 28(12): 52-57.
- [9] Shi Jia-chen, et at (2011), *Toxicity of β -adrenergic receptor blockers to Daphnia (Daphnia magna)*, J Toxicol, 25(6): 418-421.
- [10] Felipe C.Cabello (2009), *Aquaculture and Florfenicol Resistance in Salmonella enterica Serovar Typhimurium DT104*, Emerg Infect Dis. Apr; 15(4): 623–624.
- [11] ISO 11348-3 (2007), *Water quality-Determination of the inhibitory effect of water samples on the light emission of Vibrio fischeri (Luminescent bacteria test)*, International standard.
- [12] ISO 8692-2012 (2012), *Water quality-fresh water algal growth inhibition test with unicellular green algae*, International standard.
- [13] 国家环保总局(1991). *水和废水监测分析方法第四版*. 中国环境科学出版社, 11-18.
- [14] 王清林, 侯晓刚, 等(2013). *氟苯尼考对藻类生态毒性研究*. 中国环境科学出版社, 45:8-13.
- [15] 江敏, 彭自然, 安世杰, 蔡怡燕, 薛蕾(2006), *4-壬基酚对三种水生生物的毒性影响* [J]. 水产生物学报, 30(4): 1-4.
- [16] 徐建明等. *甲醇(2007), 乙醇和甲醛对大型蚤的毒性研究* [J]. 四川省环境保护科研监测所, 7(2): 18-24.
- [17] 国家环境保护局化学农药环境安全评价试验准则(1989), 北京国家环境保护局, 1-25.
- [18] Calar sofia, Bruno (2007), *Acute toxicity of oxytetracycline and florfenicol to the microalgae tetraselmis chuii and to the crustacean Artemia parthenogenetica*, Ecotoxicology and Environmental Safety, 67(3): 425-458.

STUDY OF ACUTE TOXICITY OF FLORFENICOL ON SOME AQUATIC ORGANISMS

Le Huy Tuan, Bui Thi Diu, Le Thi Anh Tuyet

ABSTRACT

This study aimed to assess the acute toxicity of Florfenicol to some popular aquatic species. The bacterium Vibrio fischeri (decomposer), the alga Chlorella vulgaris (1st producer) and the Daphnia magna (1st consumer) were used as the test organisms. The monitoring experiments of development capacity of test organisms in different concentrations of Florfenicol showed that: At the EC_{50} value - reagent concentrations, the luminescence ability of bacterium Vibrio fischeri reduced to 50% after 5.15 and 30 minutes, corresponding to 586mg/L, 414mg/L, 343mg/L, respectively; in addition, the growth of alga

Chlorella vulgaris was inhibited by 50% after a period of 24, 48, 72, 96 and 120 hours, corresponding to 91.09mg/L, 87.47mg/L, 81.78mg/L, 64.32 mg/L and 58.3mg/L, respectively. At the LC_{50} value - reagent concentrations, the survival of *Daphnia magna* was inhibited by 50% after a period of 24 and 48 hours, corresponding to 665mg/L and 449 mg/L, respectively. The comparison of these testing results with the toxicological assessment criteria of chemicals to aquatic species showed that the antibiotic Florfenicol has a low toxicity level, therefore, has a relative safety for aquatic species and fish rearing ecosystems.

Keywords: Acute toxicity, aquatic organisms, bacterium *Vibrio fischeri* (decomposer), the alga *Chlorella vulgaris* (1st producer) and the *Daphnia magna* (1st consumer).