



Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ

Số chuyên đề: Thủy sản

website: [sj.ctu.edu.vn](http://sj.ctu.edu.vn)



DOI:10.22144/ctu.jsi.2020.003

## ĐỘC CẤP TÍNH VÀ ẢNH HƯỞNG CỦA QUINALPHOS ĐẾN ENZYME CHOLINESTERASE Ở TÔM CÀNG XANH (*Macrobrachium rosenbergii*)

Nguyễn Văn Công<sup>1\*</sup>, Đào Kim Thoa<sup>1</sup>, Trần Sỹ Nam<sup>1</sup> và Mitsunori Tarao<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Khoa Môi Trường và Tài nguyên thiên nhiên, Trường Đại học Cần Thơ

<sup>2</sup>Trường Đại học Nông nghiệp và Công nghệ Tokyo (Tokyo University of Agriculture Technology), Nhật Bản

\*Người chịu trách nhiệm về bài viết: Nguyễn Văn Công (email: [nvcong@ctu.edu.vn](mailto:nvcong@ctu.edu.vn))

### Thông tin chung:

Ngày nhận bài: 21/10/2019

Ngày nhận bài sửa: 12/02/2020

Ngày duyệt đăng: 23/04/2020

### Title:

Acute toxicity and effects of quinalphos on activity of cholinesterase in postlarval stage of giant freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii*)

### Từ khóa:

Cholinesterase, độc học, *Macrobrachium rosenbergii*, quinalphos

### Keywords:

Cholinesterase, *Macrobrachium rosenbergii*, quinalphos, toxicity

### ABSTRACT

Acute toxicity and effects of quinalphos insecticide on activity of muscle cholinesterase (ChE) in post larval (P<sub>134</sub>) of giant fresh water prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) were evaluated in static non-renewable system for determining LC<sub>50</sub> of quinalphos for postlarval and effects of sublethal concentrations of quinalphos on ChE of this species. Static non-renewable system was conducted to determine LC<sub>50</sub>. Effects of quinalphos at concentration of 1%, 10% and 20% LC<sub>50-96h</sub> on ChE were carried out for 48 hrs. Result showed that quinalphos was very toxic for post larval of *Macrobrachium rosenbergii*, LC<sub>50-96h</sub> was 0.69 µg/L. ChE activity in muscle tissue of this species was very sensitive to quinalphos; at the concentration far below the actual concentration in opened water bodies, quinalphos has already caused serious ChE inhibition for this species. ChE inhibition was highest at 24hrs exposure and reached 43.3%, 44.1% and 58.6% for concentrations of 1%, 10% and 20% LC<sub>50-96h</sub>, respectively. Quinalphos was very high acute toxicity for this stage of the species and muscle ChE is very sensitive to this pesticide.

### TÓM TẮT

Độc cấp tính và ảnh hưởng của thuốc bảo vệ thực vật hoạt chất quinalphos đến enzyme cholinesterase (ChE) ở tôm càng xanh (*Macrobrachium rosenbergii*) giai đoạn hậu ấu trùng 34 ngày tuổi được đánh giá nhằm xác định giá trị LC<sub>50</sub> của hoạt chất này và ảnh hưởng của thuốc đến ChE trong cơ thể ở nồng độ dưới ngưỡng gây chết. Phương pháp nước tĩnh, không thay nước được áp dụng để xác định LC<sub>50</sub> và ảnh hưởng của quinalphos ở nồng độ 1%, 10% và 20% LC<sub>50-96h</sub> đến ChE của tôm trong 48 giờ. Kết quả ghi nhận quinalphos rất độc đối với tôm càng xanh, LC<sub>50-96h</sub> là 0,69 µg/L. ChE ở thịt tôm rất nhạy cảm với hoạt chất quinalphos; ở nồng độ 1% LC<sub>50-96h</sub>, quinalphos đã gây ức chế ChE ở cơ thể tôm đến mức có thể gây ảnh hưởng bất lợi cho đa số thủy sinh vật. Tỷ lệ ức chế ChE đạt cao nhất ở thời điểm 24 giờ sau phơi nhiễm và lần lượt là 43,3%, 44,1% và 58,6% ở các nghiệm thức 1%, 10% và 20% LC<sub>50-96h</sub>. Kết quả cho thấy quinalphos độc cấp tính cao đối với tôm càng xanh giai đoạn hậu ấu trùng và ChE tôm rất nhạy cảm với thuốc này.

Trích dẫn: Nguyễn Văn Công, Đào Kim Thoa, Trần Sỹ Nam và Mitsunori Tarao, 2020. Độc cấp tính và ảnh hưởng của quinalphos đến enzyme cholinesterase ở tôm càng xanh (*Macrobrachium rosenbergii*). Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. 56(Số chuyên đề: Thủy sản)(1): 20-28.

## 1 GIỚI THIỆU

Thuốc trừ sâu hoạt chất quinalphos được sử dụng khá phổ biến trong canh tác nông nghiệp ở ĐBSCL. Hoạt chất này thuộc nhóm lân hữu cơ, gây hại cho sinh vật qua cơ chế ảnh hưởng đến thần kinh thông qua ức chế hoạt tính enzyme cholinesterase (ChE) (Stenersen, 2004). Nhiều tên thuốc thương phẩm khác nhau chứa hoạt chất quinalphos như: Quin 25EC, Kinalux 25EC, Methink 25EC, Quintox 25EC,... được bày bán nhưng Kinalux 25EC là một trong những tên thương mại được sử dụng phổ biến hiện nay để diệt trừ nhện gié, sâu phao, sâu đục bẹ, sâu cuốn lá trên lúa (Nguyễn Văn Toàn và Nguyễn Văn Công, 2018). Khi sử dụng thuốc cho cây trồng hay ruộng lúa, có trên 50% đi vào môi trường mà không đến đối tượng muốn tiêu diệt (Lê Huy Bá và Lâm Minh Triết, 2005). Tồn lưu quinalphos trong nước ở các thủy vực khác nhau đã được phát hiện. Trên ruộng, quinalphos được phát hiện ở nồng độ từ 9-11,3µg/L ngay sau khi phun và giảm còn khoảng 1,1-1,8 µg/L ở ngày thứ 3 sau khi phun (Nguyễn Quốc Thịnh và *ctv.*, 2016). Quinalphos cũng được phát hiện ở các thủy vực như ruộng lúa, kênh nội đồng, sông rạch ở tỉnh Hậu Giang; nồng độ cao nhất là 0,7 µg/L trên ruộng, 0,58 µg/L ở kênh nội đồng và 0,12 µg/L ở sông rạch nhận nước từ kênh nội đồng (Phạm Văn Toàn và *ctv.*, 2014). Nồng độ quinalphos gây chết 50% thủy sinh vật (LC<sub>50</sub>) như tôm sú (*Penaeus monodon*) ở 48 giờ là 0,77 µg/L cho giai đoạn hậu ấu trùng và 0,31 µg/L cho giai đoạn tiền trưởng thành (Joshi and Mukhopadhyay, 1990). Ở nồng độ dưới ngưỡng gây chết, quinalphos còn gây ức chế nghiêm trọng đến cholinesterase (ChE) thủy sinh vật (Nguyễn Quang Trung và Đỗ Thị Thanh Hương, 2012). Khi ChE bị ức chế hơn 30% sẽ làm ảnh hưởng bất lợi đến sinh vật và hơn 70% sẽ làm đa số sinh vật chết (Fulton and Key, 2001).

Tôm càng xanh (*Macrobrachium rosenbergii*) là một trong những đối tượng có giá trị kinh tế cao. Tôm được nuôi phổ biến với các hình thức và mức độ thâm canh khác nhau như nuôi tôm càng xanh xen canh với lúa vào mùa mưa (sau vụ nuôi tôm sú trên ruộng), mô hình nuôi tôm càng xanh luân canh với thâm canh tôm sú hay với lúa (ở vùng nước ngọt). Vì vậy, đây là đối tượng dễ bị ảnh hưởng từ việc sử dụng thuốc bảo vệ thực vật (BVTV) trong canh tác nông nghiệp. Tuy nhiên, độc tính của quinalphos hay những ảnh hưởng khác như hoạt tính ChE chưa được rõ. Nghiên cứu này sẽ tập trung xác định độc tính cấp tính của thuốc đối với tôm và nhạy cảm enzyme cholinesterase của tôm càng xanh giai

đoạn hậu ấu trùng 34 ngày tuổi đối với thuốc. Từ đó thảo luận cho thấy tiềm năng rủi ro của quinalphos cho tôm khi nuôi cũng như trong tự nhiên.

## 2 PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1 Sinh vật thí nghiệm

Tôm càng xanh (*Macrobrachium rosenbergii*) giai đoạn Pl<sub>20</sub> được thuần dưỡng 2 tuần trong bể composite 600L với nước máy đã sục khí 48 giờ nhằm loại bỏ chlor dư. Tôm được cho ăn trùn chỉ 2 lần/ngày. Tôm khỏe mạnh, không dị tật, không có dấu hiệu bệnh và đồng cỡ (0,17 ± 0,02g/con) được lựa chọn để thực hiện nghiên cứu.

### 2.2 Nguồn độc chất thí nghiệm

Hoạt chất quinalphos được lấy từ thuốc có tên thương mại là Kinalux 25EC (chứa 250g hoạt chất quinalphos) được phân phối bởi Công ty Cổ phần Lộc Trời (23 Hà Hoàng Hồ - TP Long Xuyên - An Giang).

### 2.3 Phương pháp bố trí thí nghiệm.

2.3.1 Phương pháp xác định nồng độ gây chết 50% tôm càng xanh (LC<sub>50</sub> - 96 giờ)

#### a. Thí nghiệm xác định khoảng gây độc

Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với 5 mức nồng độ quinalphos (0,31; 0,77; 1,92; 4,8; và 12,0 µg/L) và nghiệm thức đối chứng (không có quinalphos). Dung dịch thuốc sau khi pha và cả đối chứng được khuấy trộn bằng ống nhựa PVC trong 2 phút cho dung dịch thuốc phân bố đồng đều trong bể. Thí nghiệm được bố trí 10 tôm trong bể kiếng chứa 10 lít dung dịch trong 96 giờ. Thí nghiệm nhằm tìm ra khoảng nồng độ quinalphos gây chết từ 10% đến 90% tôm càng xanh trong 96 giờ. Kết quả này được sử dụng để làm cơ sở cho bố trí thí nghiệm xác định LC<sub>50</sub>-96 giờ.

Dung dịch có quinalphos ở nồng độ 3.000µg/L được pha từ thuốc BVTV Kinalux 25EC (chứa quinalphos 250g/L) được dùng để pha các nồng độ quinalphos khác nhau.

#### b. Thí nghiệm xác định LC<sub>50</sub>

Thí nghiệm được thực hiện trong hệ thống nước tĩnh, không thay nước. Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với 6 nghiệm thức gồm 1 nghiệm thức đối chứng (nước máy đã sục khí 48 giờ) và 5 mức nồng độ (0,36; 0,51; 0,74; 1,05; 1,5µg/L) quinalphos nằm trong khoảng gây độc vừa ước tính trong thí nghiệm thăm dò. Mỗi nghiệm thức bố trí 10 cá thể trong bể kiếng chứa 10 lít dung dịch và 3 lần lặp lại.

Theo dõi số tôm chết ở các thời điểm 3, 6, 9, 12, 24, 36, 48, 60, 72, 84 và 96 giờ sau khi bố trí thí nghiệm. Khi phát hiện tôm chết, ghi nhận số liệu trước rồi dùng vợt vớt tôm chết để tránh ảnh hưởng đến chất lượng nước thí nghiệm.

Các yếu tố môi trường như pH được đo bằng máy Hanna (HI 8314 do Rumani sản xuất), oxy hòa tan(DO) được đo bằng máy Hanna (HI 9146 do Rumani sản xuất), nhiệt độ được đo bằng nhiệt kế rượu 2 lần/ngày. Các yếu tố nhiệt độ, DO, pH được đo hàng ngày vào khoảng 7:00 – 8:00 giờ và 14:00 – 15:00 giờ.

### 2.3.2 Xác định độ nhạy cảm của enzyme cholinesterase tôm càng xanh post với quinalphos

#### a. Phương pháp bố trí thí nghiệm

Theo Lê Huy Bá và ctv. (2000) nồng độ an toàn có thể ước tính từ LC<sub>50</sub> bằng cách nhân với hệ số; hệ số này dao động từ 0,01-0,1 hay 1 hoặc 10% LC<sub>50</sub>. Do đó, nghiên cứu được thực hiện ở ba (3) mức nồng độ quinalphos (1%, 10% và 20% LC<sub>50</sub>-96 giờ) và đối chứng, được chọn bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên trong bể thủy tinh chứa 12L dung dịch với 3 lần lặp lại. Theo Nguyễn Quốc Thịnh và ctv.(2016) thời gian bán hủy của quinalphos trong nước khoảng 1 ngày. Do đó thí nghiệm này được triển khai trong 2 ngày (48 giờ). Dung dịch thuốc sau khi pha và cả đối chứng được khuấy trộn bằng ống nhựa PVC trong 2 phút cho dung dịch thuốc phân bố đồng đều trong bể. Dựa vào chu kỳ thu mẫu và số lượng mẫu tôm phải thu, mỗi bể thả 10 con tôm. Trong thời gian bố trí là 48 giờ tôm không được thay nước, nước không được khuấy trộn.

Hàng ngày đo nhiệt độ, oxy hòa tan và pH vào lúc 7:00 – 8:00 giờ và 14:00 – 15:00 giờ bằng nhiệt kế, máy đo DO (oxy hòa tan) và máy đo pH.

Tôm được thu ở các thời điểm: trước bố trí, 12, 24 và 48 giờ sau khi bố trí tôm vào thuốc. Mỗi nồng độ thu 6 cá thể (2 contôm/bể).

#### b Phương pháp xử lý mẫu và phân tích ChE

##### Phương pháp xử lý mẫu

Mẫu thu xong sẽ được cho ngay vào nước đá để tôm chết trong điều kiện lạnh. Sau khi tôm chết sẽ tiến hành lột vỏ (chỉ lấy phần thịt tôm) và cho mẫu vào eppendorf 1,5 mL(đã được cân khối lượng), cân lại eppendorf để xác định khối lượng mẫu. Mẫu tôm được nghiền riêng biệt từng con trong dung dịch đệm 0,1 M phosphate buffer pH 7,4. Thể tích dung dịch đệm cho vào đảm bảo tất cả các mẫu tôm đều có nồng độ 15 mg tôm/mL. Sau mỗi lần nghiền, rửa cối nghiền bằng nước cất - acetone - nước cất, rửa

chài nghiền bằng nước cất - acetone - nước cất- pH 7,4. Mẫu được ly tâm ở tốc độ 2.000 vòng/phút trong 20 phút. Phần trong phía trên mẫu ly tâm được lấy ra đo ChE.

##### Phương pháp phân tích ChE

ChE được đo bằng máy so màu quang phổ ở bước sóng 412 nm trong 200 giây dựa theo phương pháp Ellman *et al.* (1961). Mỗi mẫu đo được chuẩn bị bằng cách cho 2,65 mL 0,1M Phosphate buffer pH 7,4 vào cuvet nhựa, tiếp tục cho 0,1 mL dung dịch 3 mM DTNB và 0,05 mL dung dịch 10 mM Acetylthiocholine iodide. Sau đó, cho 0,2 mL dung dịch mẫu tôm đã ly tâm vào và bắt đầu đo. Mẫu trắng cũng có hóa chất tương tự như mẫu đo ChE nhưng lấy 0,2 mL dung dịch đệm 0,1M phosphate pH 7,4 thay cho dung dịch mẫu tôm. Kết quả được ghi nhận khi hệ số tương quan (r<sup>2</sup>) đạt từ 0,9 trở lên.

### 2.4 Phương pháp tính toán và xử lý số liệu

#### 2.4.1 Phương pháp ước tính LC<sub>50</sub>

LC<sub>50</sub> được ước tính theo phương pháp probit (Finney, 1971) trong đó nồng độ hoạt chất được chuyển sang logarit cơ số 10 khi tính toán.

#### 2.4.2 Phương pháp tính hoạt tính ChE và tỷ lệ ức chế ChE

– Công thức tính hoạt tính ChE

$$HT = \frac{Ax C_v x H_v}{Ex L x S_v x P_s}$$

Trong đó:

HT: hoạt tính μm/g/phút

a: abs mẫu - abs blank (abs/phút)

c<sub>v</sub>: thể tích cuvet hay tổng thể tích dung dịch đo (ml) = 3 ml

h<sub>v</sub>: thể tích buffer sử dụng để nghiền mẫu (ml)

e: hệ số = 13,6

l: chiều dài cuvet (cm) = 1 cm

s<sub>v</sub>: thể tích mẫu sau khi ly tâm lấy đo (ml) = 0,2 ml

p<sub>s</sub>: trọng lượng mẫu lấy nghiền (g)

– Công thức tính tỷ lệ enzyme ChE bị ức chế:

$$I = 100 - \frac{A}{A_{dc}} \times 100$$

Trong đó:

I: tỉ lệ che bị ức chế (%)

A: là hoạt tính ChE đo được từng mẫu ( $\mu\text{m/g/phút}$ )

$A_{dc}$ : là trung bình hoạt tính che của nghiệm thức đối chứng ở từng thời điểm ( $\mu\text{m/g/phút}$ )

**2.5 Phương pháp tính toán và xử lý số liệu**

Số liệu về hoạt tính ChE được kiểm tra phân phối chuẩn và tính đồng nhất về phương sai trước khi áp dụng thống kê. Dữ liệu thu thập được áp dụng phương pháp phân tích phương sai ANOVA một nhân tố và kiểm định Duncan để xem xét sai khác giữa các trung bình. Sai khác có ý nghĩa thống kê được tính khi  $p < 0,05$ . Số liệu được xử lý bằng phần mềm SPSS 13.0.

**Bảng 1: Tỷ lệ chết của tôm càng xanh ở các nồng độ xác định khoảng gây độc**

Nồng độ Quinalphos ( $\mu\text{g/L}$ )	Tổng số tôm bố trí	Số tôm chết (con)	Tỷ lệ chết (%)
Đối chứng	10	1	10
0,31	10	1	10
0,77	10	7	70
1,92	10	10	100
4,8	10	10	100
12	10	10	100

**3.1.2 Nhiệt độ, DO và pH trong thời gian thí nghiệm xác định LC50**

Trong thời gian thí nghiệm, nhiệt độ dao động từ  $27,75 \pm 0,26^\circ\text{C}$  vào buổi sáng (7:00 - 8:00 giờ) và  $29,5 \pm 0,5^\circ\text{C}$  vào buổi chiều (14:00 - 15:00 giờ) (Bảng 2). Nhiệt độ buổi sáng thấp hơn buổi chiều và khoảng chênh lệch trung bình giữa hai buổi khoảng  $2^\circ\text{C}$ . Do thí nghiệm được bố trí trong nhà lưới có mái

**3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN**

**3.1 LC50 của quinalphos đối với tôm càng xanh giai đoạn post**

**3.1.1 Khoảng gây độc của Quinalphos đối với tôm càng xanh giai đoạn post**

Kết quả nghiên cứu cho thấy tỷ lệ chết của tôm càng xanh ở nồng độ  $0,31 \mu\text{g/L}$  là 10%, ở nồng độ  $0,77 \mu\text{g/L}$  là 70% và ở nồng độ  $1,92 \mu\text{g/L}$  trở lên, tôm chết 100% sau 96 giờ thí nghiệm (Bảng 1). Qua đó, nồng độ được điều chỉnh để bố trí xác định LC50 trong khoảng  $0,36 - 1,5 \mu\text{g/L}$ .

che nên nhiệt độ giữa các bể thí nghiệm khá đồng nhất. Theo Nguyễn Thanh Phương và ctv. (2003), nhiệt độ thích hợp cho tôm càng xanh dao động từ  $26 - 31^\circ\text{C}$ , tốt nhất là  $28 - 30^\circ\text{C}$  nên nhiệt độ trong thí nghiệm này phù hợp cho tôm càng xanh sống và phát triển. Tuy nhiên, nhiệt độ tăng sẽ làm cho sinh vật tăng cường trao đổi chất dẫn đến tăng sự xâm nhập chất độc vào trong cơ thể (Murty, 1988).

**Bảng 2: Nhiệt độ, DO (trung bình  $\pm$  SD) và pH (khoảng biến động) trong thời gian thí nghiệm**

Quinalphos ( $\mu\text{g/L}$ )	Nhiệt độ ( $^\circ\text{C}$ )		DO (mg/L)		pH	
	Sáng	Chiều	Sáng	Chiều	Sáng	Chiều
ĐC	$27,75 \pm 0,26$	$29,5 \pm 0,52$	$4,68 \pm 0,46$	$4,3 \pm 0,28$	7,9-8,06	7,89-7,92
0,36	$27,75 \pm 0,26$	$29,5 \pm 0,52$	$4,54 \pm 0,26$	$4,4 \pm 0,12$	7,93-8,04	7,98-8,03
0,51	$27,75 \pm 0,26$	$29,5 \pm 0,52$	$4,75 \pm 0,11$	$4,4 \pm 0,15$	7,98-8,05	7,96-8,01
0,74	$27,75 \pm 0,26$	$29,5 \pm 0,52$	$4,57 \pm 0,22$	$4,5 \pm 0,25$	7,96-8,04	7,95-8,02
1,05	$27,75 \pm 0,26$	$29,5 \pm 0,52$	$4,81 \pm 0,28$	$4,4 \pm 0,38$	8,02-8,08	7,89-8,01
1,5	$27,75 \pm 0,26$	$29,5 \pm 0,52$	$5,03 \pm 0,23$	$4,3 \pm 0,32$	8,07-8,12	7,97-8,08

Oxy hòa tan (DO) buổi sáng dao động từ  $4,54 \pm 0,26 - 5,03 \pm 0,23 \text{ mg/L}$ , buổi chiều dao động từ  $4,3 \pm 0,28 - 4,5 \pm 0,25 \text{ mg/L}$ . Giá trị DO trong cùng một thời điểm khảo sát có sự khác biệt không đáng kể giữa các nghiệm thức. Khả năng hòa tan của các chất khí phụ thuộc vào nhiệt độ và áp suất. Khi nhiệt độ tăng khả năng hòa tan của oxy vào nước giảm. Vì vậy, DO buổi sáng ghi nhận cao hơn buổi chiều trong nghiên cứu này. Bên cạnh đó, các bể thí nghiệm không được sục khí nên oxy chủ yếu khuếch tán từ không khí vào bể và tự tiêu hao oxy do hô hấp của

tôm nên lượng oxy trong nước ngày càng giảm dần. Theo Ngô Tô Linh và Nguyễn Văn Công (2009), sinh vật sẽ tăng cường độ hô hấp để lấy đủ oxy cho nhu cầu trao đổi chất khi hàm lượng oxy hòa tan giảm. Đây là điều kiện dễ độc chất xâm nhập vào cơ thể và gây độc nhanh hơn.

Kết quả theo dõi pH của nước trong thời gian thí nghiệm cho thấy vào buổi sáng dao động trong khoảng 7,9-8,12 và buổi chiều dao động trong khoảng 7,89-8,08. Nhìn chung, giá trị pH tương đối ổn định trong suốt thời gian thí nghiệm, nằm trong

khoảng trung tính. Theo Nguyễn Thanh Phương và ctv.(2003), pH dao động từ 7,0 – 8,5 là điều kiện thuận lợi cho tôm sinh trưởng và phát triển tốt nhất. Do đó, trong thí nghiệm này tôm vẫn có thể sống và phát triển ở điều kiện pH này.

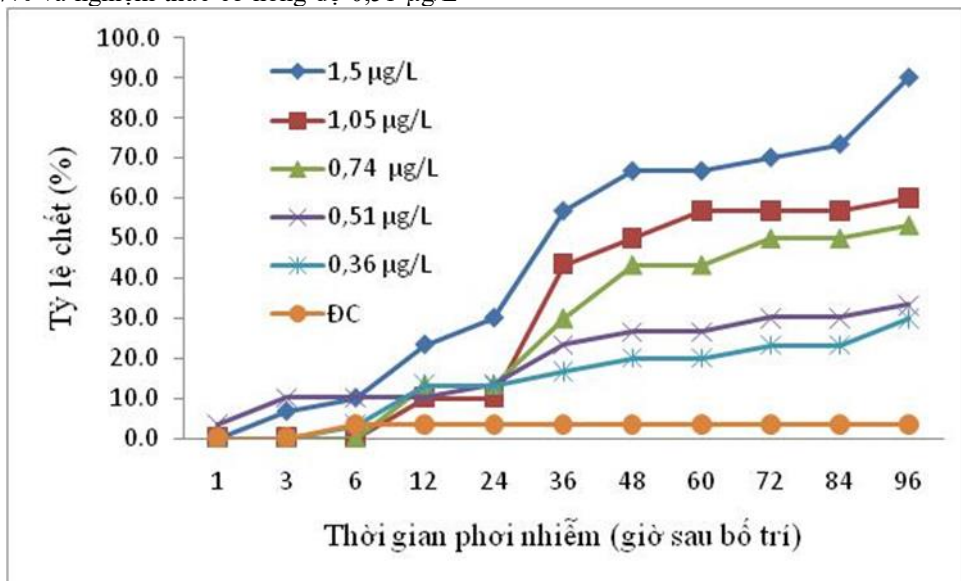
Nhìn chung, các yếu tố môi trường như nhiệt độ, pH, và oxy hòa tan trong thí nghiệm xác định LC50 của tôm càng xanh tương đối ổn định và đồng nhất giữa các nghiệm thức.

### 3.1.3 Tỷ lệ tôm chết trong thời gian phơi nhiễm với quinalphos

Quan sát hoạt động của tôm cho thấy ở các nghiệm thức có nồng độ quinalphos thấp ( $\leq 1,05\mu\text{g/L}$ ) tôm giảm hoạt động bơi lội trong 24 giờ đầu. Tuy nhiên, nồng độ quinalphos càng tăng thời gian hoạt động bơi lội của tôm càng ngắn, ở nồng độ  $1,5\mu\text{g/L}$  hoạt động bơi lội của tôm giảm trong 12 giờ đầu, sau đó tôm có biểu hiện bị stress, cắn xé lẫn nhau, co giật cơ thể, bơi lội không xác định được phương hướng và chết dần. Tỷ lệ chết gia tăng theo sự tăng nồng độ quinalphos(Hình 1).

Sau khi cho quinalphos vào các bể thí nghiệm, sau 1 giờ đầu tiên có xuất hiện tôm chết ở nồng độ  $0,51\mu\text{g/L}$  với tỷ lệ 3,3%. Sau 3 giờ quan sát, tôm ở nồng độ cao nhất là  $1,5\mu\text{g/L}$  xuất hiện tôm chết với tỷ lệ 6,67% và nghiệm thức có nồng độ  $0,51\mu\text{g/L}$

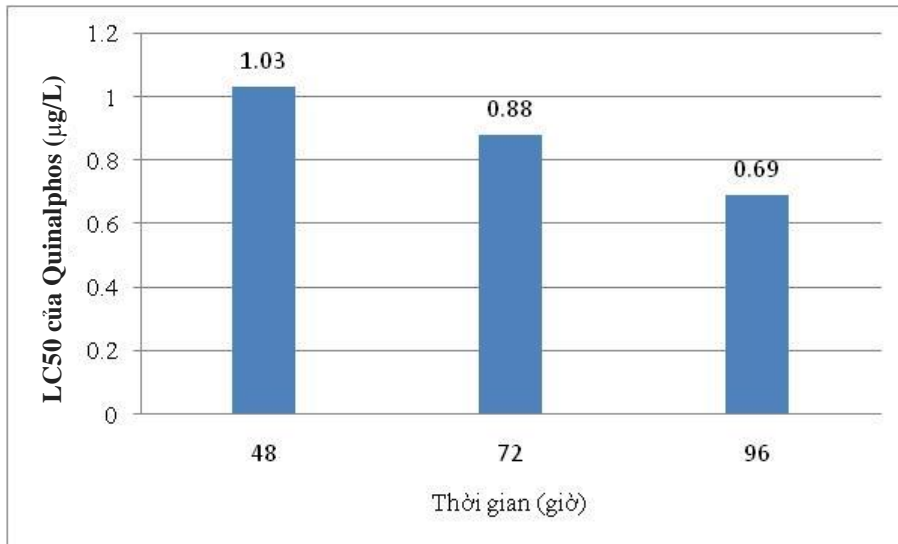
có tỷ lệ chết 10%. Sau 6 giờ, nghiệm thức đối chứng bắt đầu xuất hiện tôm chết với tỷ lệ 3,3%, ở 2 nghiệm thức  $0,51$  và  $1,5\mu\text{g/L}$  có tỷ lệ tôm chết ngang nhau là 10%. Sau 12 giờ, tỷ lệ tôm chết ở các nghiệm thức đối chứng,  $0,36$ ;  $0,51$ ;  $0,74$ ;  $1,05$ ;  $1,5\mu\text{g/L}$  lần lượt là 3,3%; 13,3%; 10%; 13,3%; 10% và 23,3%. Sau 24 giờ, tỷ lệ tôm chết vẫn thay đổi không đáng kể so với 12 giờ, có sự tăng lên ở nghiệm thức  $0,51$  và  $1,5\mu\text{g/L}$  lần lượt là 13,3 và 30%. Sau 36 giờ, có sự thay đổi đáng kể thể hiện tỷ lệ chết của tôm tăng dần theo nồng độ, tỷ lệ chết ở các nghiệm thức  $0,36$ ;  $0,51$ ;  $0,74$ ;  $1,05$  và  $1,5\mu\text{g/L}$  lần lượt là 16,67%; 23,3%; 30%; 43,3% và 56,67%. Sau 48 giờ quan sát, tỷ lệ tôm chết tăng dần theo mức nồng độ từ thấp đến cao ( $0,36\mu\text{g/L}$  –  $1,5\mu\text{g/L}$ ) lần lượt là 20%; 26,6%; 43,3%; 50% và 66,67%. Từ 48 – 84 giờ, tỷ lệ chết của tôm ở các mức nồng độ thay đổi không đáng kể. Đến 96 giờ, tỷ lệ chết của tôm vẫn giữ trạng thái tăng dần từ nồng độ thấp đến nồng độ cao, cụ thể ở nghiệm thức có nồng độ thấp nhất là  $0,36\mu\text{g/L}$  tỷ lệ chết của tôm là 30%, ở nghiệm thức có nồng độ  $0,51\mu\text{g/L}$  tỷ lệ tôm chết là 33,3%, ở nồng độ  $0,74\mu\text{g/L}$  tỷ lệ tôm chết là 53,3%, ở nghiệm thức  $1,05\mu\text{g/L}$  tỷ lệ chết là 60% và nghiệm thức có nồng độ cao nhất là  $1,5\mu\text{g/L}$  có tỷ lệ chết là 90% (Hình 1). Kết quả cho thấy nồng độ quinalphos càng tăng thì tỷ lệ tôm chết càng nhiều.



Hình 1: Tỷ lệ chết (%) ở các mức nồng độ khác nhau theo thời gian

Từ kết quả tỷ lệ chết, ước tính LC50 cho thấy nồng độ gây chết 50% ở tôm càng xanh tại các thời điểm 48, 72 và 96 giờ lần lượt là 1,03; 0,88; và 0,69

$\mu\text{g/L}$ . Giá trị LC50 giảm dần theo thời gian phơi nhiễm và nhỏ hơn 1 mg/L khoảng 1000 lần nên quinalphos cực độc cho tôm.



**Hình 2: Giá trị LC50 của Quinalphos theo thời gian**

Giá trị LC<sub>50</sub> là một trong những tiêu chí đánh giá nhanh độc tính của hóa chất, LC<sub>50</sub> càng nhỏ, độc tính càng cao. Giá trị LC<sub>50</sub>-96 giờ của quinalphos đối với tôm càng xanh trong thí nghiệm này là 0,69µg/L.

Giá trị LC<sub>50</sub>-96 giờ của quinalphos đối với tôm sú giai đoạn post là 0,77 µg/L (Joshi and Mukhopadhyay, 1990), đối với cua nước ngọt (*Spiralothelphusa hydrodroma*) là 1,305mg/L (Pandiammal *et al.*, 2017). Kết quả cho thấy tôm càng xanh thuộc nhóm nhạy cảm với quinalphos hơn tôm sú giai đoạn post và cua nước ngọt (*S. hydrodroma*).

Trong thực tế dư lượng quinalphos cũng phát hiện ở các dạng thủy vực khác nhau như ruộng lúa, kênh nội đồng, sông rạch ở tỉnh Hậu Giang (Phạm Văn Toàn *và ctv.*, 2014); nồng độ cao nhất là 0,7 µg/L trên ruộng, 0,58 µg/L ở kênh nội đồng và 0,12 µg/L ở sông rạch nhận nước từ kênh nội đồng. Theo Nguyễn Quốc Thịnh *và ctv.* (2016), sau khi sử dụng Kinalux 25EC cho lúa 30 phút, hàm lượng Quinalphos trong nước đạt 11,3±1,5 µg/L ở lần phun thứ nhất và 9,1±1,2 µg/L ở lần phun thứ hai. Kết quả cho thấy thực tế nếu phun thuốc trừ sâu có hoạt chất quinalphos, nồng độ trong nước ở ruộng

cao hơn LC<sub>50</sub>-96h cho giai đoạn post từ 13-16 lần. Như vậy, khả năng tôm chết hoàn toàn là rất cao. Ngoài ra, nồng độ trong các thủy vực tự nhiên như nghiên cứu của Phạm Văn Toàn *và ctv.* (2014) cũng đạt đến nồng độ gây chết (≥0,36 µg/L) tôm càng xanh giai đoạn post.

**3.2 Nhạy cảm của enzyme cholinesterase trong thịt tôm càng xanh giai đoạn post với quinalphos**

**3.2.1 Nhiệt độ, DO và pH trong thời gian thí nghiệm**

Trong thời gian thí nghiệm nhiệt độ ở các nghiệm thức dao động trong khoảng 28,25±0,26°C vào buổi sáng và 30,25±0,26°C vào buổi chiều. Nhiệt độ buổi chiều cao hơn buổi sáng, tuy nhiên giữa các nghiệm thức nhiệt độ buổi sáng và buổi chiều thay đổi không đáng kể. Giá trị oxy hòa tan (DO) giữa các nghiệm thức dao động từ 4,74±0,30 đến 5,09±0,22 mg/L vào buổi sáng và 4,42±0,38 đến 5,06±0,18 mg/L vào buổi chiều. Giá trị pH thay đổi không đáng kể giữa sáng và chiều, dao động trong khoảng 7,93 đến 8,05. Như vậy, các yếu tố môi trường như nhiệt độ, DO, pH khá đồng nhất giữa các nghiệm thức.

**Bảng 3: Nhiệt độ, DO và pH trong thời gian thí nghiệm**

Quinalphos (µg/L)	Nhiệt độ (°C)		DO (mg/L)		pH	
	Sáng	Chiều	Sáng	Chiều	Sáng	Chiều
ĐC	28,25±0,26	30,25±0,26	4,91±0,29	4,42±0,38	7,93-8,04	7,93-8,01
0,007	28,25±0,26	30,25±0,26	4,86±0,22	4,57±0,38	7,95-8,04	7,98-8,04
0,069	28,25±0,26	30,25±0,26	4,74±0,30	4,56±0,22	8,02-8,05	7,97-8,02
0,138	28,25±0,26	30,25±0,26	5,09±0,22	5,06±0,18	8,01-8,05	7,97-8,03

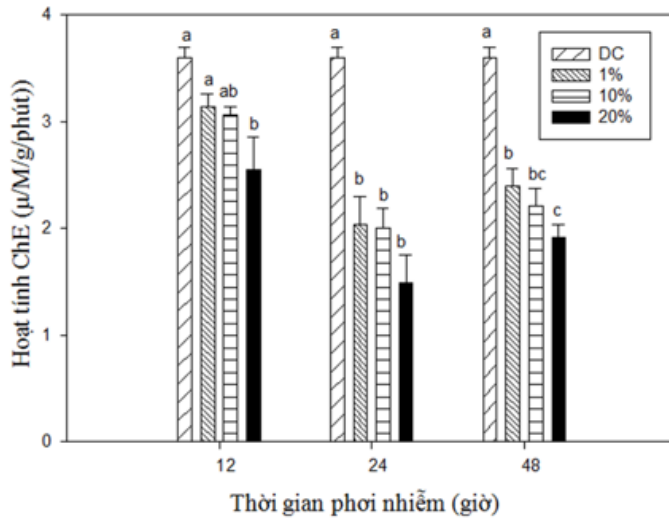
(Trung bình ± SD cho nhiệt độ và DO, pH trình bày dao động thấp nhất – cao nhất)

3.2.2 Thay đổi hoạt tính ChE ở các nồng độ quinalphos theo thời gian

Thay đổi hoạt tính của ChE ở các nồng độ quinalphos theo thời gian

Hoạt tính ChE trong thịt tôm ở nghiệm thức đối chứng dao động 3,3 – 3,6 μM/g/phút. Hoạt tính ChE ở các nghiệm thức quinalphos giảm dần theo sự tăng nồng độ thuốc. Ở thời điểm 12 giờ phơi

niêm, ChE có xu hướng giảm thấp nhưng chỉ có ở nồng độ 20% LC50-96h thấp hơn đối chứng. Ở thời điểm 24 giờ phơi nhiễm, ChE trong thịt tôm ở các nghiệm thức có thuốc khác biệt không lớn ( $p > 0,05$ ) và dao động từ 1,49 – 2,04 μM/g/phút. Ở thời điểm 48 giờ phơi nhiễm, ChE có khuynh hướng tăng so với thời điểm 24 giờ nhưng vẫn còn thấp hơn so với đối chứng ( $p < 0,05$ ) (Hình 3).



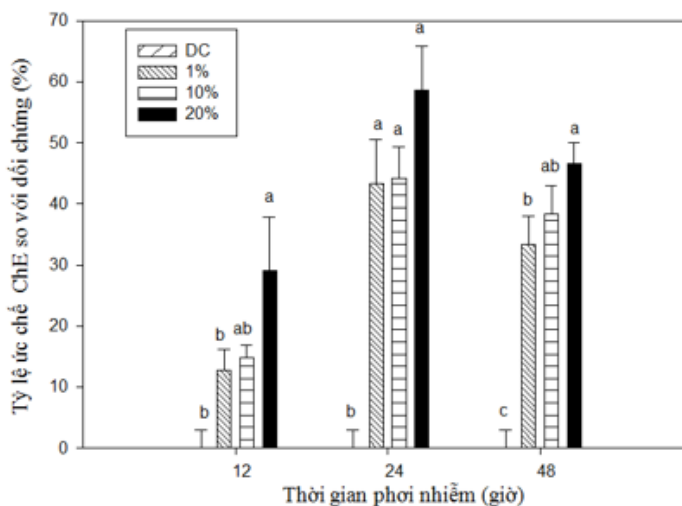
**Hình 3: Hoạt tính ChE trong thịt tôm ở các nghiệm thức quinalphos trong thời gian phơi nhiễm**

(Trong cùng thời gian, các cột theo sau cùng chữ cái thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ , Duncan test))

Thay đổi tỷ lệ ức chế ChE ở các nồng độ quinalphos theo thời gian

Kết quả ảnh hưởng của Quinalphos lên tỷ lệ ức chế ChE trong cơ của tôm càng xanh giữa các

nghiệm thức khá rõ (Hình 4). Tỷ lệ ức chế ChE có xu hướng tăng dần theo nồng độ ở cùng một thời điểm thu mẫu.



**Hình 4: Tỷ lệ ức chế ChE trong thịt tôm càng xanh giai đoạn post theo thời gian tiếp xúc với Quinalphos**

(Trong cùng thời gian, các cột theo sau cùng chữ cái thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ , Duncan test))

Ở thời điểm 12 giờ, tỷ lệ ức chế ChE trong cơ tôm càng xanh ở nghiệm thức 0,007  $\mu\text{g/L}$ , 0,069  $\mu\text{g/L}$  và 0,138  $\mu\text{g/L}$  lần lượt là 12,7%, 14,8% và 29,1%. Tỷ lệ này giữa nghiệm thức 0,007  $\mu\text{g/L}$ , 0,069  $\mu\text{g/L}$  và đối chứng khác biệt không có ý nghĩa ( $p > 0,05$ ). Ở nghiệm thức có nồng độ quinalphos cao nhất tỷ lệ ức chế ChE cao nhất và khác biệt có ý nghĩa ( $p < 0,05$ ) so với đối chứng và nghiệm thức 0,007  $\mu\text{g/L}$ . Ở thời điểm 24 giờ tỷ lệ ức chế ChE tôm càng xanh ở các nghiệm thức có quinalphos đạt cao nhất và lần lượt là 43,3%, 44,1% và 58,6% ở các nghiệm thức 1%, 10% và 20%  $\text{LC}_{50-96}$  giờ. Ở thời điểm 48 giờ, tỷ lệ ức chế ChE tôm càng xanh giảm dần ở tất cả các nghiệm thức; hay nói cách khác hoạt tính ChE đã phục hồi (tăng) dần nhưng vẫn còn khác biệt so với đối chứng ( $p < 0,05$ ).

Hoạt chất quinalphos là thuốc trừ sâu gốc lân hữu cơ, trong cấu trúc phân tử có liên kết P=S (thioxon); gốc này không gây ức chế trực tiếp ChE mà khi thâm nhập vào cơ thể sinh vật sẽ bị chuyển hóa sinh học thành dạng P=O (oxon) mới gây ức chế ChE (Stenerson, 2004). Quá trình chuyển hóa sinh học này diễn ra nhờ hệ thống enzyme cytochrome P450 (Keizer *et al.*, 1993) nên cần thời gian để chuyển hóa từ dạng liên kết P=S sang dạng liên kết P=O, làm ức chế ChE cao nhất ở 24 giờ sau phơi nhiễm. Kết quả nghiên cứu này cũng chỉ ra là quinalphos không làm ảnh hưởng tức thời sau phơi nhiễm mà sẽ gây ảnh hưởng sau đó. Do đó, không thấy ảnh hưởng tức thời không có nghĩa là thuốc ít độc. Ngoài ra, quinalphos còn được phát hiện trong thịt cá chép và cá mè vinh đến ngày thứ 14 sau phơi nhiễm trong khi trong nước đã dưới ngưỡng phát hiện sau 3 ngày (Nguyễn Quốc Thịnh và *ctv.*, 2016). Tồn dư và đào thải quinalphos ở tôm càng xanh cũng có thể sẽ xảy ra và cần được quan tâm nghiên cứu tiếp.

Một số nghiên cứu cho thấy ChE ở tôm kém nhạy cảm với lân hữu cơ. Rompas *et al.* (1989) cho thấy tăng nồng độ fenithrothion lên 50 lần  $\text{LC}_{50-24\text{h}}$  mới làm ức chế 50% ChE ở ấu trùng tôm *Penaeus japonicus*. Tương tự, tăng 300 lần  $\text{LC}_{50-24\text{h}}$  của lân hữu cơ diazinon mới làm ức chế 50% ChE ở cùng loài tôm này. Trong nghiên cứu này, nồng độ quinalphos mới bằng 0,2  $\text{LC}_{50-96\text{h}}$  đã làm ức chế khoảng hơn 50% ChE tôm càng xanh. Giá trị  $\text{LC}_{50}$  của quinalphos đối với tôm càng xanh cũng thấp và nồng độ gây ức chế 50% ChE của tôm cũng thấp. Qua đó cho thấy, tôm càng xanh rất nhạy cảm với lân hữu cơ quinalphos hay quinalphos rất độc đối với tôm càng xanh.

Khi tổng quan thông tin từ nhiều nguồn, Fulton and Key (2001) cho rằng tỷ lệ ức chế ChE thấp hơn 30% sẽ không gây hại cho sinh vật nhưng cao hơn 30% có thể kéo theo những ảnh hưởng bất lợi cho sinh vật như giảm tốc độ bơi lội, khả năng bắt mồi, lẩn tránh kẻ thù... và khi tỷ lệ ức chế lớn hơn 70% sẽ làm cho đa số sinh vật chết. Trong thí nghiệm này, ở 24 giờ tỷ lệ ức chế ChE ở tất cả các nghiệm thức có quinalphos đều vượt hơn 30% nên có thể sẽ gây ảnh hưởng bất lợi đến hoạt động sống của tôm.

Kết quả nghiên cứu cho thấy nồng độ quinalphos trong thực tế đồng ruộng và sông rạch từ các nghiên cứu trước (Phạm Văn Toàn và *ctv.*, 2014; Nguyễn Quốc Thịnh và *ctv.*, 2016) không những đều phát hiện đạt đến mức gây ảnh hưởng nghiêm trọng đến ChE tôm mà còn đến mức có thể gây chết tôm càng xanh giai đoạn post.

## 4 KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

### 4.1 Kết luận

Hoạt chất quinalphos rất độc đối với tôm càng xanh,  $\text{LC}_{50-96\text{h}}$  là 0,69  $\mu\text{g/L}$ . Enzyme cholinesterase ở thịt tôm càng xanh nhạy cảm với hoạt chất quinalphos; tỷ lệ ức chế ChE đạt cao nhất ở thời điểm 24 giờ.

Dù ở nồng độ chỉ bằng 1%  $\text{LC}_{50-96\text{h}}$ , quinalphos đã gây ức chế ChE ở tôm đến mức có thể gây ảnh hưởng bất lợi cho đa số thủy sinh vật.

### 4.2 Kiến nghị

Cần hạn chế sử dụng thuốc bảo vệ thực vật hoạt chất quinalphos trong canh tác nông nghiệp nói chung và canh tác lúa nói riêng và cần có thêm những nghiên cứu đến tôm càng xanh ở giai đoạn giống trong điều kiện phòng thí nghiệm và thực tế để có đánh giá một cách toàn diện hơn về tác động của thuốc BVTV chứa hoạt chất quinalphos đối với tôm càng xanh.

## LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Dự án Nâng cấp Trường Đại học Cần Thơ VN14-P6 bằng nguồn vốn vay ODA từ Chính phủ Nhật Bản.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Ellman, G.L., Courtney D., Anderdres V.J., Featherstone R.M., 1961. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemistry and Pharmacology*, 7: 88-95.
- Finney, D.J., 1971. *Probit Analysis*, 3rd ed. Cambridge University Press, Euston, London, UK, pp 20-49.



- Fulton, M.H. and Key, P.B., 2001. Acetylcholinesterase inhibition in estuarine fish and invertebrates as an indicator of Organophosphorus insecticide exposure and effects. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 20(1): 37-45.
- Joshi, H.C. and Mukhopadhyay, M.K., 1990. Toxicity of Quinalphos and Endosulfan to Different Life-stages of Tiger Prawn (*Penaeus monodon*). *Environmental Conservation*, 17(3): 266-267
- Keizer, J., D'Agostino, G., Nagel, R., Gramenzi, F., Vittozzi, L., 1993. Comparative diazinon toxicity in guppy and zebra fish: Different role of oxidative metabolism. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 12:1243-1250.
- Lê Huy Bá, Lê Thị Như Hoa, Phan Kim Phương, Đoàn Thái Yên và Nguyễn Lê, 2000. *Độc học Môi trường*. NXB Đại học quốc gia TP. HCM, trang 1-40.
- Lê Huy Bá và Lâm Minh Triết, 2005. *Sinh thái môi trường ứng dụng*, NXB Khoa Học và Kỹ Thuật, 263-306.
- Murty, A.S., 1988. *Toxicity of pesticide to fish*, Volume II, CRC Press, InC. Boca Raton, Florida, 143 pages.
- Ngô Tố Linh và Nguyễn Văn Công, 2009. Ảnh hưởng thuốc trừ sâu chứa hoạt chất diazinon lên hoạt tính enzyme cholinesterase ở cá rô đồng (*Anabas testudineus*): Hiệu ứng của nhiệt độ và oxy hòa tan. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, 11a:33-40
- Nguyễn Quốc Thịnh, Trần Minh Phú, Caroline Douny và ctv., 2016. Nồng độ quinalphos trong nước, cá chép (*Cyprinus carpio*) và cá mè vinh trong mô hình lúa cá kết hợp. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, 44: 58-65
- Nguyễn Thanh Phương, Trần Ngọc Hải, Trần Thị Thanh Hiền và Marcy, N. Wilder, 2003. Nguyên lý kỹ thuật sản xuất giống tôm càng xanh. 126 trang.
- Nguyễn Văn Toàn và Nguyễn Văn Công, 2018. Hiện trạng sử dụng thuốc bảo vệ thực vật ở một số vùng canh tác lúa đồng bằng sông Cửu Long. *Tạp chí Tài nguyên và Môi trường*, số 5 (283): 26-30
- Nguyễn Quang Trung và Đỗ Thị Thanh Hương, 2012. Ảnh hưởng của thuốc trừ sâu hoạt chất quinalphos đến hoạt tính men cholinesterase và glutathione-s-transferase của cá chép (*Cyprinus carpio*). *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, 22a: 131-142.
- Phạm Văn Toàn, Nguyễn Phan Nhân và Bùi Thị Nga, 2014. Dư lượng hoạt chất thuốc bảo vệ thực vật quinalphos trong nước trên ruộng lúa và sông rạch ở tỉnh Hậu Giang. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, 33: 109-116
- Pandiammal, S., Manju Bashini, J., Senthilkumaar, P., 2017. Impact of Quinalphos on Neurosecretory Cells of Fresh Water Field Crab, *Spiralothelphusa hydrodroma*. *Journal of Pharmacy*, 7(11): 30-42
- Stenersen, J., 2004. *Chemical pesticides: Mode of action and toxicology*, CRC Presss- Boca Raton, 276 pages.
- Rompas, R.M., Kobayashi, K., Oshima, Y., Imada, N., Yamato, K., and Mitsuyasu, Y., 1989. Relationship between toxicity and acetylcholinesterase inhibition of some thiono- and oxo-form organophosphates in tiger shrimp larvae at different stages. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 55 (4):669-673.