



Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ

Số chuyên đề: Môi trường và Biến đổi khí hậu

website: ctujsvn.ctu.edu.vn



DOI:10.22144/ctu.jvn.2023.116

ĐỘC CẤP TÍNH VÀ ẢNH HƯỞNG CỦA CARTAP (PADAN 95SP) ĐẾN ENZYM CHOLINESTERASE VÀ HÔ HẤP CỦA CÁ CHÉP (*Cyprinus carpio*) CỠ GIỐNG

Phạm Quốc Nguyên¹, Trần Thị Minh Thu² và Nguyễn Văn Công^{2*}

¹Khoa Nông nghiệp và Tài nguyên môi trường, Trường Đại học Đồng Tháp

²Khoa Môi trường và Tài nguyên thiên nhiên, Trường Đại học Cần Thơ

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

Thông tin chung:

Ngày nhận bài: 02/02/2023

Ngày nhận bài sửa: 02/03/2023

Ngày duyệt đăng: 13/03/2023

Title:

Acute toxicity and effects of Cartap (Padan 95sp) on the activity of cholinesterase enzyme and respiration of fingerling common carp (*Cyprinus carpio*)

Từ khóa:

Cartap, cholinesterase, *Cyprinus carpio*, độc học, hô hấp, LC50

Keywords:

Cartap, cholinesterase, *Cyprinus carpio*, LC50, respiration, toxicology

ABSTRACT

Cartap is one of the active ingredients of plant protection drugs allowed in Vietnam and is used quite popular in rice cultivation in the Mekong Delta. *Cyprinus carpio* is a common fish species culturing in rice – fish system, so they are often exposed to pesticides used for rice. This study aimed: (1) to determine the value of LC50-96 hours of Cartap on the carp, (2) to check cholinesterase activity in the carp flipped abdomen, muscle convulsion, and death after exposure to the pesticide, (3) to determine the effect of Cartap on oxygen consumption and oxygen threshold of carp. The research showed that the LC50-96 hours of the Cartap active ingredient on the carp was 1.343 ppm. The ChE rate of carp was inhibited by about 30% to contract a fish muscle, and when the cover was inhibited by about 50% to flip fish. Dead fish at lethal concentrations had low inhibition of ChE (50%), and the cause of death could be damaged gills not getting enough oxygen. Cartap hydrochloride tended to increase the respiratory rate of carp. The effects of Cartap on carp gill structure should be investigated in depth to explain why fish exposed to lethal concentrations have low rates of ChE inhibition.

TÓM TẮT

Cartap là một trong những hoạt chất thuốc BTVT được cho phép sử dụng ở Việt Nam và được sử dụng khá phổ biến trong canh tác lúa ở đồng bằng sông Cửu Long. Cá Chép (*Cyprinus Carpio*) là loài được nuôi trong mô hình lúa – cá nên chúng thường xuyên bị phơi nhiễm với thuốc BTVT sử dụng cho lúa. Nghiên cứu nhằm: (1) xác định giá trị LC50-96 giờ của Cartap đối với cá Chép, (2) hoạt tính enzym cholinesterase ở cá Chép bị lật bụng, co cơ và chết sau phơi nhiễm với thuốc ở nồng độ gây chết, (3) xác định ảnh hưởng của thuốc Cartap đến tiêu hao oxy và ngưỡng oxy cá chép. Kết quả nghiên cứu cho thấy, giá trị LC50-96 giờ của hoạt chất Cartap có trong thuốc trừ sâu Padan 95SP đối với cá Chép là 1,343 ppm. Tỷ lệ ChE của cá Chép bị ức chế khoảng 30% làm cá bị co cơ và khi ChE bị ức chế khoảng 50% làm cá lật bụng. Cá chết ở nồng độ gây chết có ChE bị ức chế thấp (50%) và nguyên nhân cá chết có thể do mang cá đã bị tổn thương nên không lấy đủ oxy cho nhu cầu cơ thể. Cartap hydrochloride có xu hướng làm tăng cường độ hô hấp của cá chép. Cần nghiên cứu sâu những ảnh hưởng của Cartap lên cấu trúc mang cá chép để có giải thích vì sao cá phơi nhiễm với thuốc ở nồng độ gây chết có tỷ lệ ức chế ChE thấp.

1. GIỚI THIỆU

Nông nghiệp chiếm một vị trí quan trọng trong kinh tế Việt Nam. Trong trồng trọt, con người đã sử dụng nhiều biện pháp khác nhau để trừ dịch hại, chủ yếu là thuốc bảo vệ thực vật (BVTV) (Hai, 2004). Ở Việt Nam theo ước tính từ năm 1976-1980 bình quân mỗi năm cả nước tiêu thụ 5.100 tấn thuốc BVTV; năm 1985 khoảng 22.000 tấn, năm 1998 trên 40.000 tấn (Hai, 2004). Nhóm thuốc có gốc lân hữu cơ và Carbamate được người dân sử dụng thường xuyên trong canh tác lúa ở đồng bằng sông Cửu Long (ĐBSCL). Kết quả phỏng vấn nông dân trồng lúa cho thấy nhóm lân hữu cơ là Chlorpyrifos ethyl được sử dụng phổ biến trong canh tác lúa ở một số tỉnh ở ĐBSCL như Long An, Đồng Tháp (Toàn & Công, 2018).

Padan 95SP là hoạt chất Cartap hydrochloride thuộc nhóm Carbamate, có cơ chế gây độc cho sinh vật qua ức chế enzyme Cholinesterase (ChE). Khi enzyme bị ức chế sẽ gây tác động lên hô hấp, hoạt động bơi lội, bắt mồi và tập tính của động vật sống trong nước do mất phương hướng, co giật và thậm chí gây tử vong (Peakall, 1992). Trong năm 2020 có 25 tên thuốc thương phẩm chứa hoạt chất Cartap hydrochloride được phép sử dụng (BNNPTNT, 2020).

Cá Chép (*Cyprinus carpio*) là đối tượng nuôi ghép phổ biến nhất trong ruộng lúa ở ĐBSCL đặc biệt là Cần Thơ (Hào & Văn, 2001) nên có nhiều nguy cơ bị ảnh hưởng do sử dụng thuốc Padan 95SP trong canh tác lúa. Tuy nhiên, độc tính cũng như ảnh hưởng của thuốc này lên cá Chép vẫn chưa được rõ. Thông tin về độc cấp tính và mức độ ức chế ChE gây ảnh hưởng bất thường đến cá Chép của Padan 95SP được cung cấp trong nghiên cứu này.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Độc chất sử dụng cho thí nghiệm

Thuốc trừ sâu có tên thương mại Padan 95SP, chứa 950 g/kg hoạt chất Cartap do công ty hóa chất Sumitomo – Nhật Bản sản xuất được sử dụng như nguồn độc chất.

2.2. Sinh vật thí nghiệm

Cá Chép có khối lượng trung bình $5,1 \pm 0,11$ g/con được mua từ trại cá giống Dũng ở đường 3/2, quận Ninh Kiều, thành phố Cần Thơ. Cá được thuần dưỡng trước khi bố trí thí nghiệm trong bể composite 600 L từ 10 đến 15 ngày để quen với điều kiện môi trường, môi trường nuôi thuần dưỡng là nước máy được sục khí 48 giờ và nước được thay hàng ngày. Trong thời gian thuần dưỡng, cá được

cho ăn 2 lần/ngày bằng thức ăn viên nổi có hàm lượng đạm 35%, lượng thức ăn hằng ngày của cá là 3-5% trọng lượng cá. Cá khỏe mạnh, đồng cỡ, và không bị dị tật được chọn cho nghiên cứu.

2.3. Phương pháp bố trí thí nghiệm

2.3.1. Xác định LC50 Padan 95SP trên cá chép

Thí nghiệm thăm dò tìm khoảng gây độc của Padan 95SP trên cá chép

Thí nghiệm nhằm tìm nồng độ cartap hydrochloride (Padan 95SP) gây chết 10 – 90% cá chép thí nghiệm trong 96 giờ. Thí nghiệm được triển khai bằng cách bố trí 9 mức nồng độ 0,13; 0,22; 0,36; 0,60; 1,00; 1,20; 1,40; 1,60; 1,90 và đối chứng. Thí nghiệm này được triển khai theo hệ thống nước tĩnh trong bể kiếng chữ 20 L, mỗi bể bố trí 10 con cá. Ghi nhận số cá chết ở các thời điểm 1, 3, 6, 9, 12, 24, 36, 48, 60, 72, 84 và 96 giờ. Tính toán khoảng gây độc để làm cơ sở xác định giá trị LC50 – 96h.

Thí nghiệm Xác định LC50 Padan 95SP trên cá chép

Sáu nghiệm thức bao gồm đối chứng (nước máy) và 5 mức nồng độ Cartap (1,0; 1,2; 1,4; 1,6 và 1,9 ppm) được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên trong bể kính 40 L, mỗi bể bố trí 10 cá thể với 15 L nước và lặp lại 3 lần. Trong suốt thời gian thí nghiệm, nước không được thay, không sục khí và không cho cá ăn. Theo dõi và ghi nhận số cá chết ở các thời điểm (1, 3, 6, 9, 12, 24, 36, 48, 60, 72, 84 và 96 giờ). Các yếu tố môi trường như nhiệt độ, pH, DO được đo mỗi ngày vào buổi sáng (7 - 8 giờ) và buổi chiều (14 - 15 giờ) bằng máy TOA-DKK (Nhật). Cá chết được vớt ra ngay khỏi bể để tránh ảnh hưởng đến chất lượng nước thí nghiệm do xác chết thối rửa làm giảm oxy hòa tan.

2.3.2. Xác định mức độ Padan 95SP ức chế hoạt tính ChE gây biểu hiện bất thường cho cá chép

Bốn nghiệm thức bao gồm đối chứng và 3 nồng độ cartap có tỷ lệ cá chết trên 50% (1,4; 1,6 và 1,9 ppm) được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên trong bể kính có dung tích 40 L được bố trí 10 cá/bể với 3 lần lặp lại. Trong thời gian 48 giờ thí nghiệm, nước không được thay và không cho cá ăn. Thu mẫu cá có biểu hiện bất thường như bơi lội mất định hướng, lật bụng và cá chết (thu 6 cá thể/biểu hiện/nồng độ), cho vào thùng nước đá để cá chết, mổ lấy não và phân tích ChE. Hoạt tính ChE được đo bằng máy so màu phổ U-2900, HITACHI (Nhật) ở bước sóng 412 nm trong 200 giây dựa theo phương pháp của Ellman et

al. (1961) được hiệu chỉnh bởi Cong et al. (2022). Các yếu tố môi trường như DO, pH và nhiệt độ được đo bằng máy TOA-DKK (Nhật Bản).

2.3.3. *Xác định ảnh hưởng của cartap đến tiêu hao oxy và ngưỡng oxy cá chép*

Xác định ngưỡng oxy

Thí nghiệm được tiến hành với hai nồng độ cartap (1,4, 1,6 ppm) và đối chứng theo phương pháp bình kín, nước tĩnh, không cho cá đớp khí. Mỗi mức nồng độ có 3 lần lặp lại, mỗi lần lặp lại có 5 cá/bình tam giác 1 L có chứa sẵn dung dịch thuốc và nước máy (đối chứng) đã sục khí. Sau khi cho cá vào, để yên cá cho ổn định khoảng 5 phút rồi dùng nút cao su 2 vòi đậy kính lại đảm bảo không có bọt khí xuất hiện. Các bình thí nghiệm được đặt trong cùng một bể nước để đồng nhất nhiệt độ. Nếu quan sát khi thấy 3 trong 5 cá thể cá thí nghiệm chết thì ghi nhận thời gian cá chết và thu mẫu nước vào chai nút mài 125 mL. Sau đó, cố định và phân tích DO theo phương pháp Winkler. Giá trị DO ở thời điểm 3 cá thể cá chết xem như ngưỡng oxy của cá chép. Các cá chết đều được lấy não để phân tích hoạt tính ChE.

Tiêu hao oxy của cá

Nước dùng cho thí nghiệm được sục khí qua đệm để đạt ngưỡng bão hòa oxy hòa tan. Sau khi pha thuốc xong, thu mẫu để xác định DO ban đầu. Sau đó, bố trí theo phương pháp giống với thí nghiệm ngưỡng oxy nhưng trong thời gian thí nghiệm là 30 phút (cá không chết), thu nước trong bình và đo DO bằng phương pháp Winkler. Cá thí nghiệm được cân để xác định khối lượng cho tính toán tiêu hao oxy.

2.4. Tính toán số liệu

Giá trị LC50-96h được ước tính theo phương pháp Probit (Finney, 1971), trong đó nồng độ cartap được chuyển sang logaric thập phân và phần mềm IBM Statistics SPSS 20.0 được sử dụng làm công cụ ước tính.

Hoạt tính ChE: $HT = \frac{Ax C_v x H_v}{Ex Lx S_v x P_s}$

Trong đó:

- HT (hoạt tính): $\mu\text{mol/g/phút}$
- A: Abs mẫu - Abs blank (Abs/phút)
- C_v: thể tích cuvet hay tổng thể tích dung dịch đo (mL) = 3 mL
- H_v: thể tích buffer sử dụng để nghiền mẫu
- E: hệ số = 13,6
- L: chiều dài cuvet (cm) = 1 cm

- S_v: thể tích mẫu sau ly tâm lấy đo (mL) = 0,2 mL

- P_s: trọng lượng mẫu lấy nghiền (gam)

Tỷ lệ ức chế ChE: $TLUC = 100 - 100 \frac{ChEs}{ChEtbdc}$

Trong đó:

- TLUC: tỷ lệ ChE bị ức chế (%)
- ChEs: hoạt tính ChE đo được từng mẫu ($\mu\text{M/g/phút}$)
- ChEtbdc: trung bình hoạt tính ChE của nghiệm thức đối chứng ở từng thời điểm ($\mu\text{M/g/phút}$)

Cường độ hô hấp: $CĐHH = \frac{(DO_1 - DO_2) \times (V_b - V_c)}{W \times T}$

Trong đó:

- CĐHH: cường độ hô hấp ($\text{mgO}_2/\text{kg/giờ}$)
- DO₁: hàm lượng oxy trong nước trước thí nghiệm ban đầu (mg/L)
- DO₂: hàm lượng oxy trong nước sau thời gian thí nghiệm (mg/L)
- V_b: thể tích của bình (L)
- V_c: thể tích của cá (L)
- T: thời gian bố trí thí nghiệm (giờ)
- W: khối lượng cá thí nghiệm trong bình (kg).

2.5. Xử lý số liệu

Số liệu trong thí nghiệm 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 one-way anova 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 version 20.0 (IBM SPSS Statistics V20.0, USA).

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Nồng độ cartap gây chết 50% cá chép

3.1.1. Các thông số môi trường nước

Nhiệt độ dao động từ 25,1±0,3 đến 25,3±0,4°C (7-8 giờ) và từ 26,8±0,2 đến 27,0±0,2°C (14-15 giờ) (Bảng 1). Do hệ thống thí nghiệm được bố trí dưới mái che nên nhiệt độ khá đồng nhất giữa các nghiệm thức. Nhiệt độ trung bình buổi chiều cao hơn nhiệt độ trung bình buổi sáng không quá 2°C.

Giá trị pH buổi sáng dao động từ 6,5±0,25 đến 6,8±0,25 và buổi chiều dao động từ 6,7±0,21 đến 7,0±0,13.

Oxy hòa tan (DO) buổi sáng dao động từ $2,1 \pm 2,06$ đến $3,1 \pm 2,56$ mg/L và buổi chiều là từ khoảng $0,8 \pm 0,71$ đến $1,8 \pm 0,87$ mg/L. Giá trị DO giữa các nghiệm thức trong cùng một thời điểm khảo sát khác biệt không lớn. 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, đây là lý do vì sao ở nghiên cứu này DO của nước vào buổi sáng cao hơn buổi chiều. Đồng thời do các bể không được sục khí nên oxy chủ yếu khuếch tán từ không khí vào bể và bị tiêu hao oxy do hô hấp của cá nên DO ngày càng giảm. Theo Công và Bé (2012), sinh vật sẽ tăng cường độ hô hấp để lấy đủ oxy cho nhu cầu trao đổi chất khi DO giảm. Đây là điều kiện dễ độc chất xâm nhập vào cơ thể và gây độc nhanh hơn.

Nhìn chung, nhiệt độ, pH và DO của nước trong thí nghiệm tương đối ổn định và gần như đồng nhất giữa các nghiệm thức.

3.1.2. Tỷ lệ chết của cá chép theo thời gian

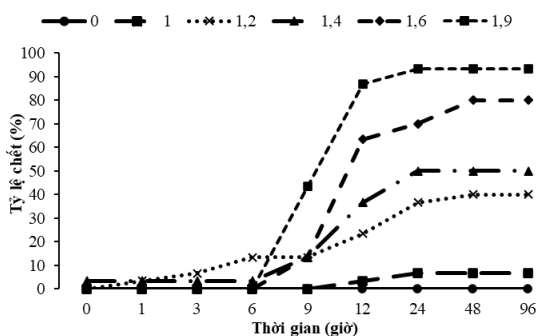
Kết quả cho thấy khi tiếp xúc với thuốc Padan 95SP chứa hoạt chất Cartap sau 9 giờ đầu cá có triệu chứng bơi lội thất thường, đớp khí thường xuyên hơn, có biểu hiện chìm dần xuống đáy bể, có lúc đầu cắm xuống và xoay vòng ở những nồng độ thuốc cao.

Trong 1 giờ đầu sau khi tiến hành thí nghiệm hầu hết các nghiệm thức cá vẫn chưa có dấu hiệu chết trừ nghiệm thức 1,4 ppm đã xuất hiện cá chết với tỷ lệ chết là 3,3%. Đến thời điểm 3 giờ, tỷ lệ chết tăng xuất hiện ở nồng độ 1,2 ppm là 3,3%. Các nồng độ còn lại vẫn chưa xuất hiện cá chết. Sau đó cá chết tăng và đến thời điểm 72 giờ, tỷ lệ cá chết ở nồng độ 1 ppm là 6,7%; nồng độ 1,2 ppm là 40%; nồng độ 1,4 ppm là 50%; nồng độ 1,6 ppm là 80% và nồng độ 1,9 ppm có tỷ lệ cá chết là 93,3% và không thay đổi đến khi kết thúc 96 giờ thí nghiệm. Qua kết quả cho thấy, khả năng gây độc của Cartap đối với cá Chép nhanh và kéo dài.

Bảng 1. Nhiệt độ, pH và DO (trung bình ± st.d) trong thí nghiệm xác định LC50-96h

Cartap (ppm)	Nhiệt độ (°C)		pH		DO (mg/L)	
	Sáng	Chiều	Sáng	Chiều	Sáng	Chiều
Đối chứng	25,1±0,27	26,8±0,35	6,5±0,25	6,7±0,21	2,1±2,60	0,8±0,71
1,0	25,1±0,30	26,8±0,23	6,7±0,19	6,8±0,16	2,6±2,77	1,1±0,60
1,2	25,2±0,25	26,8±0,18	6,7±0,17	6,9±0,17	2,5±2,89	1,3±0,55
1,4	25,2±0,26	26,8±0,32	6,7±0,20	6,9±0,14	2,6±2,70	1,4±0,41
1,6	25,3±0,41	26,9±0,17	6,8±0,20	6,9±0,14	2,8±2,63	1,6±0,63
1,9	25,3±0,42	27,0±0,18	6,8±0,25	7,0±0,13	3,1±2,56	1,8±0,87

Tỷ lệ chết không xuất hiện ở nghiệm thức đối chứng trong suốt 96h thí nghiệm. Các nghiệm thức có thuốc ở nồng độ khác nhau đều có tỷ lệ chết khác nhau (Hình 1).



Hình 1. Tỷ lệ chết (%) của cá chép theo thời gian

3.1.3. Giá trị LC50-96h của Cartap đối với cá chép

Giá trị LC50 là một trong những tiêu chí đánh giá nhanh độc tính của hóa chất, LC50 càng nhỏ thì độc tính càng cao. Từ kết quả tỷ lệ cá chết, giá trị

LC50-96h của Cartap được ước tính là 1,343 ppm. Theo hệ thống phân loại độc tính của hóa chất dựa vào LC50 (Meister & Sine, 1997) thì Cartap là loại thuốc có độc trung bình đối với cá chép.

Giá trị LC50-96 giờ đối với cá chép của Chlorpyrifos là 0,16 mg/L (Halappa & David, 2009), Malathion là 0,82 mg/L, Methyl parathion là 0,85 mg/L (Luciano & Giovanna, 1990). Qua đó cho thấy LC50-96h của Cartap đối với cá Chép cao hơn của Chlorpyrifos, Malathion, Methyl parathion. Do vậy Cartap ít độc đối với cá Chép hơn Chlorpyrifos, Malathion và Methyl parathion.

3.2. Hoạt tính ChE của cá Chép có các biểu hiện bất thường

Trong điều kiện thí nghiệm, nhiệt độ dao động từ $26,3 \pm 1,0$ đến $26,4 \pm 1,1$ °C vào buổi sáng và từ $26,2 \pm 0,9$ đến $26,4 \pm 0,8$ °C vào buổi chiều. Giá trị pH nước dao động rất ít giữa sáng và chiều và khá đồng nhất giữa các nghiệm thức, nằm trong khoảng từ $7,1 \pm 0,11$ đến $7,2 \pm 0,20$. DO giữa các nghiệm thức không có sự khác biệt và dao động từ $0,9 \pm 1,14$ đến

1,2±1,32 mg/L vào buổi sáng; buổi chiều dao động từ 0,11±0,04 đến 0,14±0,04 mg/L (Bảng 2). Nồng độ DO ở các nghiệm thức tương đối thấp và vào buổi chiều thấp hơn buổi sáng là trong thời gian thí nghiệm nước không được sục khí, oxy trong nước chủ yếu là do khuếch tán từ không khí nên nhiệt độ

nước tăng vào buổi chiều đã làm giảm lượng oxy hòa tan vào nước, bên cạnh đó oxy trong nước còn bị tiêu hao do hô hấp của cá. Nồng độ DO ở thí nghiệm này hầu như chưa ảnh hưởng đến tình trạng chết của cá chép thể hiện qua nghiệm thức đối chứng không có cá thể nào chết.

Bảng 2. Nhiệt độ, oxy hòa tan, pH (trung bình±st.d) trong thí nghiệm cơ cơ cá chép

Cartap (ppm)	Nhiệt độ (°C)		pH		DO (mg/L)	
	Sáng	Chiều	Sáng	Chiều	Sáng	Chiều
Đối chứng	26,4±1,05	26,4±0,81	7,1±0,15	7,2±0,20	1,2±1,32	0,13±0,04
1,4	26,3±1,00	26,3±0,97	7,1±0,18	7,2±0,12	1,0±1,12	0,11±0,04
1,6	26,3±1,02	26,3±0,87	7,1±0,16	7,2±0,17	0,9±1,14	0,12±0,04
1,9	26,4±1,04	26,2±0,93	7,1±0,11	7,16±0,08	1,1±1,14	0,14±0,04

Từ kết quả theo dõi thí nghiệm cho thấy, trong khoảng 6 giờ đầu tiếp xúc với Cartap, cá bơi chậm hơn, tập trung chủ yếu ở đáy bể thí nghiệm. Ở những nghiệm thức có thuốc cá gia tăng hô hấp, ít hoạt động hơn. Đến thời điểm 8 giờ thì cá có biểu hiện rõ rệt như: co cơ, lật bụng và chết rải rác ở các nghiệm thức có Cartap. Nghiệm thức đối chứng không xuất hiện cá chết trong suốt 48 giờ thí nghiệm.

Ở nồng độ 1,4 ppm, từ thời điểm 14 giờ đến 21 giờ thì cá bơi giật giật, bơi lặn và xoay vòng, đến 23 giờ thì cá lật bụng (chìm xuống đáy bể, nằm im, không bơi, còn hô hấp) và kéo dài đến 47 giờ thì cá chết. Ở nồng độ 1,6 ppm, từ 14 giờ thì cá có tình trạng con mình (co cơ), 21 giờ cá bị lật bụng và kéo dài đến 47 giờ thì cá chết. Ở nồng độ cao nhất 1,9 ppm, cá khi tiếp xúc với Cartap thì bị cong mình ở thời điểm 9 giờ, đến khi 21 giờ thì cá có tình trạng lật bụng và đến 29 giờ thì cá bị chết. Thời gian gây cá chết trong thí nghiệm này chậm hơn thí nghiệm xác định LC50 có thể do yếu tố pH trong thí nghiệm này cao hơn thí nghiệm xác định LC50. Độc tính của thuốc bảo vệ thực vật lân hữu cơ tăng khi pH giảm (Zou et al., 2018; Soares et al., 2020).

Bảng 3. Hoạt tính ChE của cá chép có biểu hiện bất thường

Biểu hiện	ChE (µM/g/phút) (Trung bình±st.d)	Tỷ lệ ức chế ChE (%)
Bình thường (ĐC)	9,11a ± 2,85	-
Co cơ	6,43b ± 2,56	29,4
Lật bụng	4,08c ± 1,43	55,2
Chết	7,13ab ± 1,98	21,7

Cá có biểu hiện bình thường có hoạt ChE trung bình là 9,11 µM/g/phút (Bảng 3). Khi cá tiếp xúc với thuốc Cartap ở từng nồng độ khác nhau, những cá có biểu hiện co cơ thì trung bình hoạt tính ChE là 6,43 µM/g/phút (# tỷ lệ ức chế 29,4%). Cá có biểu hiện lật bụng trong khoảng 21 giờ đến 23 giờ thì

trung bình hoạt tính ChE là 4,08 µM/g/phút (# tỷ lệ ức chế 55,2%). Cá chết trong khoảng 29 giờ đến 47 giờ thì hoạt tính ChE cao hơn cá có biểu hiện co cơ và lật bụng có hoạt tính trung bình là 7,13 µM/g/phút (# tỷ lệ ức chế 21,7%).

Theo Aprea et al. (2002), khi ChE bị ức chế hơn 30% sẽ gây những biểu hiện bất thường. Trong nghiên cứu này cá có biểu hiện co cơ khi ChE bị ức chế 29,4% và cá bị lật bụng khi ChE bị ức chế 55,2%. Qua đó cho thấy, các biểu hiện bất thường xảy ra khi cá có ChE bị ức chế # 30% trở lên, rất phù hợp với những nghiên cứu trước đây. Tuy nhiên cá chết có ChE bị ức chế 21,7%, thấp hơn ChE bị ức chế ở cá bị co cơ, lật bụng. Theo Fulton and Key (2001) đa số cá chết khi ChE bị ức chế từ 70% trở lên. Cá chết có thể do ChE bị ức chế hoặc do không lấy được oxy vì mang đã bị phá vỡ do thuốc. Trong trường hợp ở nghiên cứu này cá chết có thể do không lấy đủ oxy cho nhu cầu cơ thể. Do đó, nghiên cứu về cấu trúc mang cá sau phơi nhiễm với thuốc là rất cần thiết để có thể giải thích cho rõ hơn tại sao cá chết có ChE bị ức chế thấp.

3.3. Ảnh hưởng thuốc đến ngưỡng oxy, tiêu hao oxy và ChE của cá chép

Nguồn nước dùng trong cả hai thí nghiệm có pH dao động trong khoảng từ 7,0 đến 7,5 và nhiệt độ dao động trong khoảng từ 24,5 đến 25°C. Các chỉ tiêu môi trường đều nằm trong khoảng thích hợp cho cá chép sinh trưởng nên không làm ảnh hưởng đến thí nghiệm.

3.3.1. Ngưỡng oxy của cá

Thời gian gây chết 3/5 cá Chép giảm theo sự gia tăng nồng độ Cartap. Thời gian gây chết 3/5 cá Chép chết ở nghiệm thức đối chứng là 240 phút. Thời gian gây chết 3/5 cá chết ở các nồng độ Cartap 1,4 ppm, 1,6 ppm lần lượt là 170 và 165 phút. Như vậy nồng độ Cartap càng cao thời gian làm 3/5 cá chết càng ngắn.

Kết quả tính toán cho thấy ngưỡng oxy của cá chép ở nghiệm thức đối chứng là $0,85 \pm 0,26$ mg/L. Khi tiếp xúc với Cartap ở nồng độ 1,4 ppm thì ngưỡng oxy giảm còn $0,77 \pm 0,17$ mg/L. Ở nồng độ 1,6 ppm là $1,06 \pm 0,17$ mg/L nhưng khác biệt không có ý nghĩa thống kê so với đối chứng ($p > 0,05$) (Bảng 4). Theo Nakamura (1994) thì cá Chép là loài hô hấp khí trời, do đó việc xác định ngưỡng oxy của cá trong điều kiện không cho hô hấp khí trời không thấy được ảnh hưởng của thuốc vì cá không hô hấp được khí trời sẽ chết dù oxy trong nước cao.

Bảng 4. Giá trị của ngưỡng oxy của cá ở các nghiệm thức khác nhau

Cartap (ppm)	Ngưỡng Oxy (mg/L)		
	Trung bình±st.d	Thấp nhất	Cao nhất
Đối chứng	$0,85 \pm 0,26$	0,56	1,07
1,4	$0,77 \pm 0,17$	0,59	0,93
1,6	$1,06 \pm 0,17$	0,86	1,14

3.3.2. Tiêu hao oxy của cá

Tiêu hao oxy của cá chép ở nghiệm thức đối chứng là $81,23 \pm 7,42$ mgO₂/kg/giờ, ở nghiệm thức 1,4 ppm là $85,72 \pm 5,11$ mgO₂/kg/giờ, ở nghiệm thức 1,6 ppm là $90,74 \pm 15,63$ mgO₂/kg/giờ và khác biệt không có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức (Bảng 5).

Bảng 5. Giá trị tiêu hao oxy của cá ở các nghiệm thức khác nhau

Cartap (ppm)	Tiêu hao Oxy (mgO ₂ /kg/giờ)		
	Trung bình±st.d	Thấp nhất	Cao nhất
Đối chứng	$81,23 \pm 7,42$	75,10	89,48
1,4	$85,72 \pm 5,11$	81,36	91,34
1,6	$90,74 \pm 15,63$	73,19	103,16

Từ kết quả cho thấy, tiêu hao oxy của cá có xu hướng tăng theo sự gia tăng nồng độ thuốc. Chebbi and David (2010) cho thấy tiêu hao oxy của cá chép cũng tăng khi tiếp xúc với lân hữu cơ Quinalphos.

3.3.3. ChE của cá ở các nghiệm thức

Nghiệm thức đối chứng hoạt tính ChE của cá chết có giá trị trung bình là $9,3 \pm 1,0$ μM/g/phút. Sau khi tiếp xúc với thuốc thì hoạt tính ChE cá chết giảm dần theo sự gia tăng nồng độ thuốc cụ thể là: nồng độ 1,4 ppm có hoạt tính ChE trung bình là $8,6 \pm 1,1$ μM/g/phút; nồng độ 1,6 ppm cá chết có hoạt tính ChE là $7,7 \pm 1,6$ μM/g/phút (Bảng 6). Tuy nhiên, tỷ lệ ức chế ChE rất thấp, 7,5% ở nghiệm thức 1,4 ppm

và 17,2% ở nghiệm thức 1,6 ppm. Sự ức chế thấp cho thấy lượng thuốc thâm nhập vào cơ thể cá ít. Điều này phù hợp với ngưỡng oxy không khác biệt giữa các nghiệm thức có thuốc với đối chứng như kết quả ở Bảng 4.

Bảng 6. Hoạt tính ChE của cá ở các nghiệm thức khác nhau trong thí nghiệm xác định ngưỡng oxy

Cartap (ppm)	ChE của cá chết sau khi xác định ngưỡng O ₂	
	Hoạt tính (μM/g/phút)	Tỷ lệ ức chế (%)
Đối chứng	$9,3 \pm 1,0$	-
1,4	$8,6 \pm 1,1$	7,5
1,6	$7,7 \pm 1,6$	17,2

Theo kết quả nghiên cứu hiện tại, nồng độ thuốc càng cao thì hoạt tính ChE của cá chết và cá sống bị ức chế càng nhiều. Nồng độ càng cao thì tỷ lệ cá Chép chết càng tăng và thời gian cá chết càng ngắn.

Theo Tuấn và ctv. (2006), quá trình trao đổi chất của cá có liên quan mật thiết với điều kiện môi trường (DO, nhiệt độ...), khi điều kiện môi trường thay đổi, cá bị tổn thương hoặc bị nhiễm độc đều dẫn đến thay đổi cường độ hô hấp của cá. Khi cá bị nhiễm độc tố thì quá trình trao đổi chất thường tăng lên để đào thải chất độc ra ngoài. Do đó, cường độ hô hấp của cá tăng. Khi cá Chép tiếp xúc ở nồng độ Cartap cao thì dấu hiệu đầu tiên là hoạt động hô hấp của cá bị rối loạn.

Cường độ hô hấp và ngưỡng oxy ở các mức nồng độ 1,4 ppm và 1,6 ppm đều khác biệt không có ý nghĩa thống kê so với đối chứng. Thuốc chưa hoạt chất Cartap ở các mức nồng độ này ảnh hưởng không đáng kể đến hô hấp của cá Chép.

4. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

4.1. Kết luận

Cartap hydrochloride là loại độc trung bình đối với cá Chép cỡ giống, giá trị LC50-96h của Cartap hydrochloride có trong thuốc trừ sâu Padan 95SP đối với cá Chép là 1,343 ppm.

Khi ChE bị ức chế khoảng 30% làm cá Chép bị co cơ và khi ChE bị ức chế khoảng 50% làm cá lật bụng. Cá chết ở nồng độ gây chết có ChE bị ức chế thấp và nguyên nhân chết của cá có thể do mang bị tổn thương nên không lấy đủ oxy cho nhu cầu cơ thể.

Thuốc có xu hướng làm tăng cường độ hô hấp của cá so với đối chứng.

4.2. Kiến nghị

Cần nghiên cứu sâu những ảnh hưởng của Cartap lên cấu trúc mang cá chép để có thể giải thích vì sao cá phơi nhiễm với thuốc ở nồng độ gây chết có tỷ lệ ức chế ChE thấp.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Apra, C., Colosio, C., Mammone, T., Minoia, C., & Maroni, M. (2002). Biological Monitoring of Pesticide Exposure: A Review of Analytical Methods. *J Chromatogr* 769B, 191-219. [https://doi.org/10.1016/S1570-0232\(02\)00044-2](https://doi.org/10.1016/S1570-0232(02)00044-2)
- Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn (BNNPTNT) (2020). *Thông tư 10/2020/TT-BNNPTNT ban hành danh mục thuốc bảo vệ thực vật được phép sử dụng, cấm sử dụng tại Việt Nam*.
- Chebbi, S. G. & David, M. (2010). Respiratory responses and behavioural anomalies of the carp *Cyprinus carpio* under quinalphos intoxication in sublethal doses. *ScienceAsia*, 36, 12–17. <https://doi.org/10.2306/scienceasia1513-1874.2010.36.012>
- Cong, N. V., Giao, N. T., & Hang, B. T. B. (2022). Sensitivity of cholinesterase activity in juvenile giant freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii* de Man, 1879) to organophosphate diazinon. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 238, <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2022.113578>
- Công, N. V. & Bé, N. V. (2012). *Giáo trình Đánh giá rủi ro và tác động môi trường*. NXB ĐHCT, 200 trang.
- Ellman, G. L., Courtney, D., Anderdres, V. J., & Featherstone, R. M. (1961). A New and Rapid Colorimetric Determination of Acetylcholinesterase Activity. *Biochem Pharmacol*, 7, 88–95. [https://doi.org/10.1016/0006-2952\(61\)90145-9](https://doi.org/10.1016/0006-2952(61)90145-9)
- Finney, D. J. (1971). *Probit Analysis, 3rd Ed.* Cambridge University Press, Euston, London, UK: 20-49.
- Fulton, M. H., & Key, P. B. (2001). Acetylcholinesterase inhibition in estuarine fish and invertebrates as an indicator of Organophosphorus insecticide exposure and effects. *Environmental Toxicology and Chemistry, Vol. 20*, No.1. Setac Press. USA, pp 37-45. [https://doi.org/10.1016/0006-2952\(61\)90145-9](https://doi.org/10.1016/0006-2952(61)90145-9)
- Hai, T. V. (2004). *Giáo trình Hóa bảo vệ thực vật*. NXB. Đại Học Cần Thơ.
- Halappa, R. & David, M. (2009). Behavioural Responses of the Freshwater Fish, *Cyprinus carpio* (Linnaeus) Following Sublethal Exposure to Chlorpyrifos. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 9, 233-238. <https://doi.org/10.4194/trjfas.2009.0218>
- Hào, N. V. & Vân, N. S. (2001). *Cá nước ngọt Việt Nam*. Nhà xuất bản Nông nghiệp. 159 trang.
- Luciano, V. & Giovanna, D. A. (1990). A critical review of comparative acute toxicity data on freshwater fish. *Aquatic Toxicology*, 19, 167-204. [https://doi.org/10.1016/0166-445X\(91\)90017-4](https://doi.org/10.1016/0166-445X(91)90017-4)
- Nakamura, K. (1994). Air breathing abilities of the common carp. *Fisheries science*, 60(3), 271-274. <https://doi.org/10.2331/fishsci.60.271>
- Peakall, D. (1992). *Animal Biomarkers as Pollution Indicators*. Chapman & Hall, London, UK. <https://doi.org/10.1007/978-94-011-2346-4>
- Soares, M. P., Jesu, F., Almeida, A. R., Domingues, I., Hayd, L., & Soares, A. M. V. M. (2020). Effects of pH and nitrites on the toxicity of a cypermethrin-based pesticide to shrimps. *Chemosphere*, 241. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.125089>
- Toàn, N. V. & Công, N. V. (2018). Hiện trạng sử dụng thuốc bảo vệ thực vật trong canh tác lúa ở đồng bằng sông Cửu Long. *Tạp chí Tài nguyên và Môi trường*, 5, 26–30.
- Tuấn, N. A., Phú, T. Q., & Yên, D. T. (2006). Ảnh hưởng của Aflatoxin B1 lên sự sinh trưởng và một số chỉ tiêu sinh lý của cá Tra (*Pangasius hypophthalmus*) và cá Ba Sa (*Pangasius bocourti*). *Tạp chí khoa học Trường Đại học Cần Thơ*.
- Zou, X., Xiao X., Zhou, H., Chen, F., Zeng, J, Wang, W., Feng, G., & Huang, X. (2018). Effects of soil acidification on the toxicity of organophosphorus pesticide on *Eisenia fetia* and its mechanism. *Journal of Hazardous Materials*, 359, 365-372. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2018.04.036>

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được Phòng thí nghiệm Độc học Môi trường - Khoa Môi trường và Tài nguyên thiên nhiên – Đại học Cần Thơ hỗ trợ thiết bị để phân tích mẫu.