

ẢNH HƯỞNG CỦA THUỐC TRỪ SÂU KINALUX 25EC CHỨA HOẠT CHẤT QUINALPHOS LÊN HOẠT TÍNH MEN CHOLINESTERASE (CHE) CÁ TRÁ (*PANGASIANODON HYPOPTHALMUS*) GIỐNG

Nguyễn Thị Quế Trân¹, Đỗ Thị Thanh Hương² và Nguyễn Thanh Phương²

ABSTRACT

The acute toxicity of quinalphos to the catfish juvenile (14.3±1.36 g; 13.05±0.26 cm) was determined using static system for 96 hrs. The median lethal concentration (LC₅₀) of 96 hrs was 0.13 mg.l⁻¹. The experiment to determine the recovery of ChE activity of fish-exposed to four levels of quinalphos concentration including 0%, 10%, 50% and 75% of LC₅₀-96 hrs was conducted in with fish of 14.3 (std±1.36) g in average in 100 l tanks for 28 days. After 24 hours of exposure to quinalphos concentrations 0.1 mg.l⁻¹, the activity of ChE in brain (-84.5%), liver (-84.1%), muscle (-77.7%) and gill (-72.7%) decreased in comparasion with the control treatment. The activity of ChE in collected organs recovered their ativities, which did not differ to those of the control treatment (p<0.05) after 28 days of experiment; excepting for brain ChE ativity at the concentrations of 50% and 75% of the LC₅₀-96 hrs and muscle ChE ativity at the concentration of 75% of LC₅₀-96 hrs. The present study underlines that the benefits to use ChE as a biomarker when the catfish juvenile exposed to organophosphate pesticide like quinalphos as part of an integrated aquaculture management to reach industry sustainability.

Keywords: Biomarker, ChE, Kinalux 25EC, *Pangasianodon hypophthalmus* and quinalphos

Title: *The effect of Kinalux 25EC pesticide to the ability of recovery of ChE activity of catfish juvenile (Pangasianodon hypophthalmus)*

TÓM TẮT

Độc tính tức thời của quinalphos lên cá tra giống kích thước (14,30±1,36 g; 13,05±0,26 cm) được xác định trong bể nước tĩnh trong 96 giờ. Nồng độ gây chết 50% cá trong 96 giờ (LC₅₀-96 giờ) là 0,13 mg/l. Thí nghiệm xác định khả năng hồi phục hoạt tính ChE của cá tra được bố trí ở 4 mức nồng độ quinalphos gồm 0%, 10%, 50% và 75% giá trị LC₅₀-96 giờ được tiến hành với cá có khối lượng trung bình 14,3±1,36 g trong bể 100 l trong 28 ngày. Sau 24 giờ tiếp xúc với quinalphos ở nồng độ 0,1 mg/l thì hoạt tính men ChE giảm ở não (-84,5%), gan (-84,1%), cơ (-77,7%) và mang (-72,7%) so với đối chứng. Hoạt tính men ChE trên các cơ quan khảo sát theo các nồng độ phục hồi đến mức không khác biệt ý nghĩa so với đối chứng (p<0,05) sau 28 ngày thí nghiệm; trừ ChE não ở các nồng độ 50% và 75% giá trị LC₅₀-96 giờ và cơ ở các nồng độ 75% giá trị LC₅₀-96 giờ. Nghiên cứu này cũng nhấn mạnh lợi ích của việc sử dụng ChE như một chỉ thị sinh học đánh giá được cá tra giống tiếp xúc với thuốc trừ sâu gốc lân hữu cơ (ví dụ: quinalphos) nhằm góp phần vào việc quản lý nuôi trồng thủy sản bền vững.

Từ khóa: ChE, chỉ thị sinh học, Kinalux25EC, *Pangasianodon hypophthalmus* và quinalphos

¹ Khoa Nông nghiệp – Thủy sản và Phát triển nông thôn, Cao đẳng Cộng đồng Sóc Trăng

² Khoa Thủy sản, Trường Đại học Cần Thơ

1 GIỚI THIỆU

Đồng bằng sông Cửu Long (ĐBSCL) được xem là vựa lúa lớn nhất của Việt Nam, chiếm hơn 50% diện tích và sản lượng, đóng góp đến 90% sản lượng gạo xuất khẩu (Luu Hoàng Vân, 2010). Tuy nhiên, sản xuất nông nghiệp ở ĐBSCL đang là một trong những nguyên nhân gây ra tình trạng ô nhiễm môi trường từ việc sử dụng thuốc bảo vệ thực vật (BVTV) - vì chất độc hại từ phân bón và thuốc BVTV đi vào môi trường khi sử dụng trong quá trình sản xuất lúa nói riêng và sản xuất nông nghiệp nói chung (Hùng Anh, 2007). Nếu không sử dụng thuốc BVTV thì một nửa mùa màng và năng suất ước tính bị phá hoại (Bộ Y tế, 2009) và vì thế việc sử dụng thuốc BVTV đã không ngừng tăng lên. Hiện tại ở Việt Nam mỗi năm tiêu thụ không dưới 30 ngàn tấn thuốc BVTV (Berg 2001; trích dẫn bởi Nguyễn Văn Công *et al.*, 2006) và tăng gấp 3 lần so với những năm 80 (Bộ Y tế, 2009). Dư lượng thuốc BVTV và phân bón có thể gây ảnh hưởng đến sản xuất thủy sản đặc biệt là những vùng gần hoặc có hệ thống kinh rạch gắn liền với vùng sản xuất nông nghiệp. Trong các đối tượng nuôi thủy sản thì cá tra (*Pangasianodon hypophthalmus*) đang được nuôi phổ biến ở các vùng nước ngọt ĐBSCL và rất gần với các vùng sản xuất nông nghiệp, nhất là sản xuất lúa nên có thể bị ảnh hưởng bởi các độc tố hay dư lượng từ thuốc BVTV. Đa số nồng độ thuốc BVTV tồn tại trong môi trường ở mức dưới ngưỡng gây chết (Murty, 1988; trích dẫn bởi Nguyễn Văn Công *et al.*, 2006) và dư lượng thuốc gây hại cho sinh vật chủ yếu qua tác động lên hệ thần kinh thông qua ức chế hoạt tính men cholinesterase (Tomlin, 1994). Quinalphos là hoạt chất của thuốc trừ sâu gốc lân hữu cơ hiện đang được sử dụng rộng rãi trên rau, trái cây, bông và lúa (Sofian, 2008). Hoạt chất quinalphos có thể hiện diện trong nhiều sản phẩm thương mại khác nhau, trong đó có thuốc Kinalux 25EC. Mức độ độc của thuốc này lên các đối tượng thủy sản, đặc biệt là cá tra vẫn còn nhiều khía cạnh cần được nghiên cứu. Nghiên cứu này nhằm xác định mức độ độc cấp tính (LC_{50} -96 giờ) và khả năng hồi phục hoạt tính của men cholinesterase (ChE) của cá khi tiếp xúc với Kinalux 25EC (hoạt chất quinalphos) từ đó tìm ra các biện pháp hạn chế sự ảnh hưởng của thuốc và phát triển chỉ thị sinh học đánh giá sự hiện diện của thuốc trừ sâu trong ao nuôi cá tra nói riêng và trong môi trường nước nói chung.

2 PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Nghiên cứu được triển khai tại trại thực nghiệm và phòng thí nghiệm Bộ môn Dinh dưỡng và Chế biến Thủy sản – Khoa Thủy sản - Đại học Cần Thơ từ 4/2009 - 8/2010.

2.2 Vật liệu nghiên cứu

2.2.1 Thuốc trừ sâu

Thuốc trừ sâu sử dụng thuốc gốc lân hữu cơ có tên thương mại là **Kinalux 25EC** (chứa hoạt chất Quinalphos) có nồng độ hoạt chất là 250 g/L do Công ty United Phosphorus Ltd sản xuất.

2.2.2 Cá dùng trong thí nghiệm

Cá tra có kích cỡ $14,3 \pm 1,36$ g dùng thí nghiệm sẽ được mua từ Trại sản xuất giống Cần Thơ. Cá mua về sẽ được thuần dưỡng trong bể lớn (kích cỡ 2 m^2) 7 ngày để cá ổn định và quen với điều kiện sống trong bể trước tiến hành thí nghiệm. Trong thời gian thuần hóa và thí nghiệm cá được cho ăn 2 lần/ngày bằng thức ăn viên công nghiệp. Cá chọn thí nghiệm có kích cỡ đồng đều và khỏe mạnh.

Cá ở các kích cỡ 20 g, 50 g, 100 g, 200 g, 300 g dùng trong thí nghiệm xác định hoạt tính ChE theo kích cỡ cá được thu từ trại cá Hiệp Thanh – Thốt Nốt, Cần Thơ. Cá thu về được thuần dưỡng 7 ngày trong bể 500L để cá ổn định và quen với điều kiện sống trong bể thí nghiệm. Trong thời gian thuần hóa cá được cho ăn 2 lần/ngày bằng thức ăn viên công nghiệp. Cá chọn thí nghiệm có kích cỡ đồng đều và khỏe mạnh.

2.3 Phương pháp nghiên cứu

2.3.1 Phương pháp xác định LC_{50} của Kinalux 25EC

Thí nghiệm được tiến hành theo phương pháp nước tĩnh (APHA, 2001) và không thay nước trong thời gian 96 giờ. Thí nghiệm được tiến hành qua hai bước.

Bước 1: thí nghiệm xác định khoảng gây độc (thí nghiệm thăm dò) được tiến hành với 9 mức nồng độ gồm 0; 0,1; 0,5; 1,0; 1,4; 1,7; 2,0; 2,3; 2,6; 2,8; 3,0 và 3,2 mg/L). Thí nghiệm được tiến hành trong bể nhựa có lót nilon, bể có thể tích 60 L (chứa 50 L nước), cá có kích cỡ 14,3 (std=1,36) g/con) và mật độ là 10 con/bể. Trong thời gian thí nghiệm cá chết được ghi nhận vào các mốc thời gian là 6, 9, 12, 24, 48 và 96 giờ. Cá chết được vớt ra khỏi bể để hạn chế ảnh hưởng đến chất lượng nước. Thí nghiệm này xác định nồng độ cao nhất gây chết không quá 10% cá sau 96 giờ và nồng độ thấp nhất gây chết khoảng 90% cá sau 1-2 giờ để làm khoảng nồng độ cho thí nghiệm tiếp theo. Nhiệt độ, pH được theo dõi hàng ngày vào lúc 8 giờ và 14 giờ.

Bước 2: thí nghiệm xác định giá trị LC_{50} được tiến hành dựa vào kết quả ở bước 1, trong giới hạn nồng độ thuốc gây chết cá chia thành 6 mức nồng độ và 1 đối chứng (không có thuốc). Các nghiệm thức được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với 3 lần lặp lại. Mỗi nghiệm thức bố trí 10 cá kích cỡ 14,3 (std=1,36) g/con trong bể 60 L lót nilon và chứa 50 L nước. Theo dõi và ghi nhận số cá chết vào các mốc thời gian là 3, 6, 9, 12, 24, 48, 72 và 96 giờ sau thí nghiệm. Cá chết được vớt ra trong suốt thời gian thí nghiệm. Nhiệt độ, pH được đo hàng ngày vào lúc 8 giờ và 14 giờ.

2.3.2 Xác định khả năng hồi phục hoạt tính ChE của cá tra giống với Kinalux 25EC

Sau khi xác định được giá trị LC_{50-96} giờ thì tiến hành bố trí thí nghiệm xác định khả năng hồi phục hoạt tính ChE của cá tra. Thí nghiệm được bố trí ở 4 mức nồng độ quinalphos gồm 0%, 10%, 50% và 75% giá trị LC_{50-96} giờ-trong bể nhựa lót nilon 100 L chứa 90 L nước. Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với 3 lần lặp lại, mỗi bể bố trí 30 cá khỏe mạnh có kích cỡ 14,3 (std=1,36) g/con. Cá được cho ăn theo nhu cầu từ ngày thứ 4 sau khi tiếp xúc với thuốc. Thay 30% nước trong bể từ ngày thứ 4 và đến ngày thứ 7 thay 100% nước trong bể và sau đó thì mỗi 3 ngày thay 30% lượng nước trong bể đến khi kết thúc thí nghiệm.

Thu 6 cá mỗi nghiệm thức vào các mốc thời gian là 0 giờ, 6 giờ, 24 giờ, 4 ngày, 7 ngày, 10 ngày, 14 ngày, 21 ngày và 28 ngày. Ở mỗi nghiệm thức thu luân phiên ngẫu nhiên 1 bể trong các lần lặp lại để tránh là ảnh hưởng đến cá. Khi thu cá dùng vợt thu nhẹ 6 cá và giết chết ngay bằng nước đá sau đó lấy não, gan, mang và cơ để đo hoạt tính của ChE. Nhiệt độ và pH được theo dõi hàng ngày vào lúc 8 giờ và 14 giờ.

2.3.3 Thay đổi hoạt tính men ChE ở các kích cỡ cá khác nhau

Cá tra có kích cỡ 20 g, 50 g, 100 g, 200 g và 300 g dùng trong thí nghiệm sẽ được thu từ trại cá Hiệp Thanh-Cần Thơ. Cá mua về sẽ được thuần dưỡng 7 ngày trong bể 500 L để cá ổn định và quen với điều kiện sống trong bể thí nghiệm. Trong thời gian thuần hóa cá được cho ăn 2 lần/ngày bằng thức ăn viên công nghiệp. Cá chọn thí nghiệm có kích cỡ đồng đều và khỏe mạnh. Thu 10 cá mỗi kích cỡ và giết chết ngay bằng nước đá sau đó lấy não, gan, mang và cơ để đo hoạt tính của ChE.

2.3.4 Phương pháp phân tích

Nồng độ độc tính cần thiết để giết chết một nửa cá thí nghiệm trong một thời gian nhất định - Giá trị LC_{50} (mg/l) được xác định dựa vào phương pháp Probit (Finney, 1971). Hoạt tính men xúc tác quá trình thủy phân chất dẫn truyền thần kinh Acetylcholine - Cholinesteras (nmoles/min/mg protein) được phân tích theo phương pháp của Ellman *et al.* (1961) có bổ sung.

2.4 Phương pháp xử lý số liệu

Tất cả các số liệu thu được tính toán giá trị trung bình, độ lệch chuẩn (std), sai số chuẩn (SE) và phân tích phương sai tìm sự khác biệt giữa các nghiệm thức (phân tích one-way ANOVA và phép thử Duncan) bằng phần mềm Excel và SPSS.

3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Kết quả

3.1.1 Giá trị LC_{50} -96 giờ của quinalphos đối với cá tra giống

Trong thời gian thí nghiệm thì nhiệt độ chênh lệch trong ngày không quá $1^{\circ}C$. pH dao động trong khoảng 7,0-7,6 và chênh lệch không quá 0,5 đơn vị trong ngày. Hàm lượng oxy hòa tan nằm trong khoảng 2,77-5,40 mg/l. Như vậy, điều kiện môi trường khá đồng đều giữa các nghiệm thức và nằm trong giới hạn thích hợp cho cá tra.

Khi cho thuốc trừ sâu hoạt chất quinalphos vào các bể thí nghiệm thì cá bắt đầu chết nhiều trong 3-6 giờ tiếp xúc và số cá chết tỉ lệ thuận với nồng độ thuốc thí nghiệm từ 0 (đối chứng) đến nồng độ cao nhất là 0,35 mg/l. Kết quả xác định được LC_{50} -96 giờ của quinalphos đối với cá tra giống là 0,133 mg/l.

3.1.2 Ảnh hưởng của Kinalux 25EC đến khả năng hồi phục hoạt tính của men ChE trên cơ, gan, mang và não

Trong thời gian thí nghiệm, nhiệt độ nước trung bình là $26,9^{\circ}C$ (std=0,27) vào buổi sáng và $27,5^{\circ}C$ (std=0,18) vào buổi chiều; và nhiệt độ không khác biệt lớn giữa các nghiệm thức thí nghiệm. Giá trị pH trong cùng một nghiệm thức và giữa các nghiệm thức gần như ổn định giữa buổi sáng là 7,39 (std=0,23) và chiều là 7,78

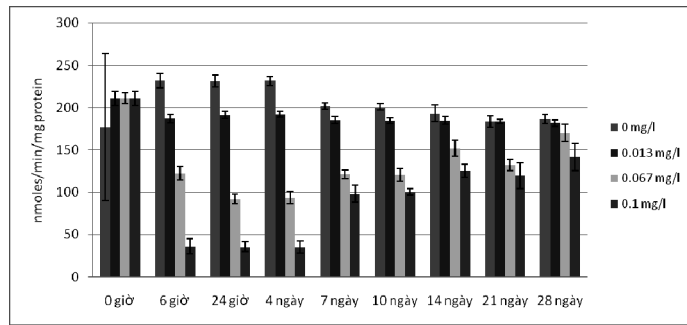
(std=0,29). Oxy hòa tan (DO) cũng không có sự khác biệt giữa các nghiệm thức và có giá trị trung bình là 6,24 mg/L (std=0,74). Như vậy các yếu tố môi trường khá đồng nhất giữa các nghiệm thức.

Hoạt tính ChE trong não: hoạt tính men ChE trong não cá tỉ lệ nghịch với nồng độ và thời gian tiếp xúc thuốc trừ sâu hoạt chất quinalphos (Hình 1a). Hoạt tính ChE trong não bị ức chế ở các nồng độ 0,013 mg/l; 0,067 mg/l và 0,1 mg/l khi tiếp xúc với thuốc sau 6 giờ với mức độ hoạt tính lần lượt là 19,2%; 47,2% và 84,3% và sự ức chế này tăng theo thời gian tiếp xúc với thuốc đến ngày thứ 4 lần lượt là 16,9%, 59,5% và 84,7%. Từ ngày thứ 4 thì bể nuôi bắt đầu thay 30% nước và sau 7 ngày thay 100% nước nên độc tính thuốc trong môi trường giảm làm cho hoạt tính men ChE bắt phục hồi dần nhưng vẫn còn khác biệt có ý nghĩa so với đối chứng ($p < 0,05$). Ngày thứ 14 thì hoạt tính men ChE trong não bắt đầu phục hồi ở nồng độ thấp 0,013 mg/l và sai khác không ý nghĩa so với đối chứng. Tuy nhiên, qua 28 ngày thì các nghiệm thức có nồng độ quinalphos 0,067 mg/l và 0,1 mg/l vẫn còn ở mức ức chế lần lượt là 8,76% và 24,2% và khác biệt so với đối chứng ở mức ý nghĩa ($p < 0,05$) (Hình 1a).

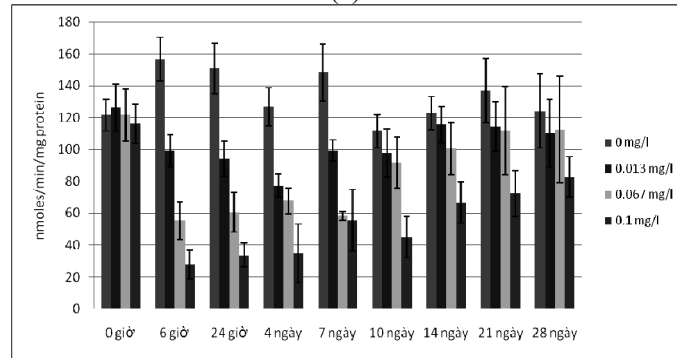
Hoạt tính ChE trong cơ: hoạt tính ChE trong cơ cá giảm mạnh khi tiếp xúc với quinalphos sau 6 giờ (Hình 1b). Ở nồng độ 0,1 mg/l thì tỉ lệ ức chế là 82,2% ($> 70%$) và tình trạng này tiếp tục kéo dài đến ngày thứ 4. Men ChE trong cơ ở các nồng độ 0,013 mg/l và 0,067 mg/l lần lượt phục hồi vào ngày thứ 7, 21 và không khác biệt ý nghĩa với đối chứng. Tuy nhiên, đến ngày thứ 28 thì hoạt tính men ChE ở cơ của nghiệm thức nồng độ 0,1 mg/l vẫn chưa phục hồi hoàn toàn (còn bị ức chế 33,3%) (Hình 1b).

Hoạt tính ChE trong mang: sau 24 giờ tiếp xúc với quinalphos thì hoạt tính men ChE trong mang bắt đầu giảm có ý nghĩa so với đối chứng (Hình 1c). Mức độ ức chế lần lượt ở các nồng độ 0,013 mg/l; 0,067 mg/l và 0,1 mg/l là 44,4%, 54,2% và 72,7%; mức độ ức chế này tiếp tục tăng sau 4 ngày. Sau khi nước thí nghiệm được thay 100% (sau 7 ngày) thì đến ngày thứ 21 sự ức chế men ChE trong mang ở 2 nồng độ 0,013 mg/l và 0,067 mg/l phục hồi ở mức độ an toàn ($< 30%$) và sau ngày thứ 28 mang ở cả 3 nồng độ thí nghiệm không khác biệt ý nghĩa so với đối chứng ($p < 0,05$) (Hình 1c).

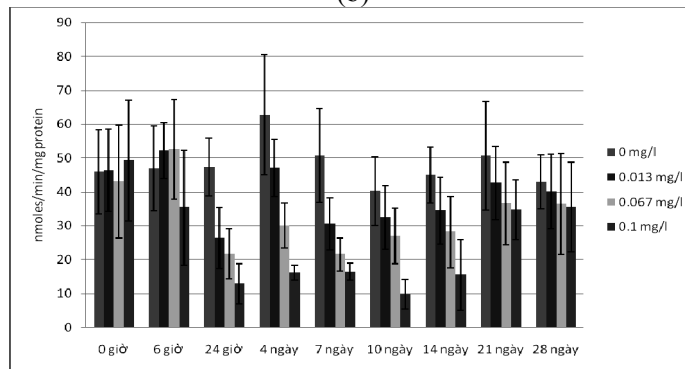
Hoạt tính ChE trong gan: hoạt tính ChE trong gan tuy thấp hơn rất nhiều so với hoạt tính ChE trong não, cơ và mang nhưng vẫn bị ảnh hưởng khi tiếp xúc với thuốc trừ sâu hoạt chất quinalphos (Hình 1d). Men ChE bị ức chế mạnh và kéo dài đến ngày thứ 4 ở các mức độ 78,9%; 76,5% và 79,4% tương ứng ở các nồng độ 0,013 mg/l; 0,067 mg/l và 0,1 mg/l và phục hồi đến mức không khác biệt ý nghĩa so với đối chứng vào ngày thứ 10 ở nồng độ 0,013 mg/l; và ngày thứ 21 đối với 2 nồng độ còn lại (Hình 1d).



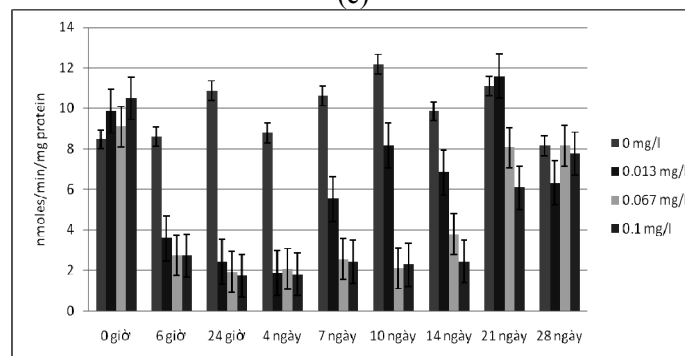
(a)



(b)



(c)

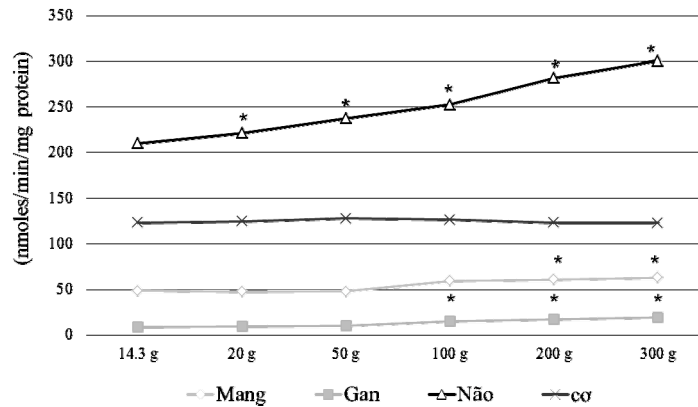


(d)

Hình 1: Hoạt tính men ChE ở (a) Não; (b) Cơ; (c) Mang; (d) Gan

3.1.3 Chỉ thị sinh học của cá tra giống đối với thuốc trừ sâu hoạt chất quinalphos

Theo hình 2, ở cá có kích thước ≤100 g thì hoạt tính men ChE ở mang tuy có tăng ở các kích cỡ 20 g; 50 g; và 100 g nhưng không khác biệt ý nghĩa so với cá 14,3 g (được xem như là đối chứng). Tuy nhiên, hoạt tính men ChE mang ở cá 200 g và 300 g cao hơn có ý nghĩa so với cá 14,3 g (p<0,05). Ở gan thì hoạt tính men ChE ở các kích cỡ 100 g; 200 g và 300 g cao hơn cá 14,3 g. Trong khi đó thì hoạt tính men ChE ở cơ thay đổi nhưng khác nhau không có ý nghĩa so với cá 14,3 g. Tuy nhiên, ở não thì hoạt tính ChE tăng tỉ lệ thuận với sự gia tăng khối lượng cá thí nghiệm, sự gia tăng này có ý nghĩa thống kê (p<0,05).



Hình 2: Hoạt tính men ChE theo kích cỡ cá

(Ghi chú: * khác biệt so với đối chứng ở mức ý nghĩa p<0,05)

Cá tra có kích cỡ 14,3 g/con (std=1,36) thì trung bình hoạt tính ChE khi chưa tiếp xúc với quinalphos của cơ, mang, gan và não lần lượt là 130; 47,6; 9,84; và 206 (nmol/min/mg protein). Sau 6 giờ tiếp xúc với nồng độ thuốc thí nghiệm cao nhất 0,1 mg/l (75% giá trị LC₅₀-96 giờ) thì sự ức chế hoạt tính men ChE ở não (giảm 84,5%); cơ (giảm 82,2%) và sau 24 giờ thì sự ức chế hoạt tính men ChE ở mang (giảm 72,7%) và gan (giảm 84, 1%) so với đối chứng (p<0,05). Ở gan tại thời điểm 24 giờ tiếp xúc thuốc thì ở tất cả các nồng độ thí nghiệm đều bị ức chế trên 70% (Bảng 1).

Như vậy, cá ở kích thước ≤100 g hoạt tính men ChE thay đổi theo hướng tăng nhưng không khác biệt ý nghĩa so với cá thí nghiệm kích cỡ nhỏ (14,3 g/con). Mức độ ức chế men ChE ở trong nghiên cứu này có thể sử dụng như một chỉ thị sinh học khi trong môi trường có nhiễm thuốc trừ sâu gốc lân hữu cơ hoạt chất quinalphos.

Bảng 1: Thời điểm hoạt tính ChE ở các cơ quan cá bắt đầu chịu ảnh hưởng của thuốc trừ sâu quinalphos

Thời gian sau tiếp xúc thuốc	Cơ quan	0,013 mg/l	0,067 mg/l	0,1 mg/l
6 giờ	Não	-	+	++
	Cơ	+	+	++
24 giờ	Mang	+	+	++
	Gan	++	++	++

* Ghi chú: (-) mức ức chế dưới 30%; (+) mức ức chế dưới 70%;(++) mức ức chế trên 70%

3.2 Thảo luận

Fulton and Key (2001) thì ChE có hai loại. Một là, men acetylcholinesterase (AChE) khi men này bị ức chế cao chúng sẽ làm chết các loài sinh vật; do chức năng điều tiết men AChE dẫn chuyển xung thần kinh ở các synapse của hệ thống thần kinh. Vì vậy, AChE có khả năng quyết định chức năng của hệ thống thần kinh và dễ dàng bị ảnh hưởng bởi các thuốc trừ sâu lân hữu cơ và carbamat kể cả động vật sống dưới nước và động vật sống trên cạn; hai là, men butyrylcholinesterase (BChE) khi bị ức chế nhiều vẫn không khả năng làm chết sinh vật.

Mức độ độc của hoạt chất quinalphos khác nhau theo loài cá, giá trị LC₅₀-96 giờ của cá chép (*Cyprinus carpio*) có khối lượng 2 g (std=0,20) là 0,75 µl/l (Chebbi và David, 2009) và với cá *Channa punctatus* là 25 µg/l (Sastry and Abad, 1983). Theo WHO (2004) thì quinalphos có độc tính thuộc nhóm II (độc trung bình). Tuy nhiên, Koesoemadinata and Djajadirectdja (1976) cho rằng độc tính của thuốc BVTV có giá trị LC₅₀<1 mg/l nằm trong nhóm thuốc BVTV có độc tính cao. LC₅₀-96 giờ là 0,133 mg/l thì quinalphos có độc tính rất cao đối với cá tra giống. Theo Das and Mukherjee (1999) thì men ChE trong não cá *Labeo rohita* bị ức chế 75,4% ở nồng độ quinalphos 1,12 mg/l. Sau 1 ngày ở trong tình trạng thiếu oxy thì hoạt tính AChE trong não cá phi (*Oreochromis mossambicus*) giảm (28,8% đến 34,0% so với đối chứng) và sau 3-7 ngày thì hồi phục lại mức trước khi tiếp xúc điều kiện thí nghiệm (Pavlov, 1993). Hoạt tính men AChE trong não cá *Brycon cephalus* khi tiếp xúc với methy parathion bị giảm 69% và có xu hướng tăng nhẹ sau 8 ngày thí nghiệm (Luciana *et al.*, 2005). Bên cạnh, thuốc trừ sâu gốc lân hữu cơ khác như diazinon làm hoạt tính men AChE ở não cá lóc (*Channa striata*) bị ức chế 82% sau 21 ngày gây nhiễm ở nồng độ 0,137 mg/L (std=0,019) trên ruộng lúa (Nguyen Van Cong *et al.*, 2008). So với giáp xác như tôm sú (*Penaeus monodon*) thì sau khi tôm tiếp xúc với thuốc trừ sâu hoạt chất endosulfan và deltamethrin thì hoạt tính AChE ở mang thay đổi không có có ý nghĩa thống kê so với đối chứng (Tu *et al.*, 2009). Như vậy, hoạt tính ChE ở mang của cá nhạy cảm với độc tố của thuốc trừ sâu.

Ở nồng độ 0,9 µ/L endosulfan và 0,07 µg/L deltamethrin thì sau 4 ngày tiếp xúc làm hoạt tính men AChE ở cơ tôm sú (*Penaeus monodon*) bị ức chế lần lượt 30% và 49% (Tu *et al.*, 2009). Hoạt tính men AChE trong cơ cá *Brycon cephalus* gây nhiễm methy parathion bị ức chế gần 64% nhưng cá vẫn sống sót và phục hồi 31% sau 8 ngày thí nghiệm và phục hồi trở lại bình thường sau 8 ngày (Luciana *et al.*, 2005). Men AChE trong cơ cá rô phi (*Oreochromis niloticus*) tiếp xúc với 175 µg/L alachlor thì ở hai tuần đầu tăng và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với đối chứng (p<0,05) và kéo dài đến 4 tuần sau đó; trong khi đó men AChE ở gan lại tăng không đáng kể trong thời gian thí nghiệm. Ở mang thì men AChE tăng ở hai tuần đầu và giảm từ tuần thứ tư; và AChE não tăng đáng kể trong suốt thời gian thí nghiệm (Peebua *et al.*, 2007). Wang *et al.* (2010) nhận thấy hoạt tính men AChE ở cơ và não cá *Carassius auratus* bị ức chế đáng kể bởi thuốc Chlorpyrifos và Isopropcarb và dạng kết hợp của chúng sau khi cá tiếp xúc 2, 5, 10, và 15 ngày.

Hoạt tính men AChE ở não và cơ bị ức chế ở mức thấp hơn gan và mang khi cho cá *Ictalurus punctatus* tiếp xúc với S,S,S-tributyl phosphorotrithioate (David and Janice, 1994). Theo Kabeer *et al.* (1979) thì sự ức chế men AChE ở cá rô phi (*Tilapia mossambica*) khác nhau khi cho cá tiếp xúc với malathion ở nồng độ 2

ppm và theo thứ tự giảm dần từ não, cơ, mang và gan và kết quả này phù hợp với kết quả trong nghiên cứu này. Sự ức chế men AChE ở các cơ quan có thể do sự hiện diện của isozyme ái lực khác nhau với chất nền và chất ức chế. Hơn thế nữa, bản thân thuốc trừ sâu có thể hiện diện với lượng khác nhau trong các cơ quan khác nhau nơi sản xuất ra các chất ức chế hoặc các chất ức chế có thể chuyển hóa với những tỉ lệ khác nhau (Kabeer *et al.*, 1979). Kết quả phân tích chứng tỏ ở cá tra giống sự hiện diện của thuốc trừ sâu quinalphos sau khi cá tiếp xúc trong não là cao nhất.

4 KẾT LUẬN VÀ ĐỀ XUẤT

4.1 Kết luận

Quinalphos rất độc với cá tra giống kích cỡ 14,3 g/con (std=1,36) g và nồng độ gây chết 50% cá sau 96 giờ (LC50-96h) là 0,13 mg/l. Hoạt tính men ChE ở não > cơ > mang > gan; sau khi tiếp xúc với quinalphos 24 giờ thì hoạt tính men ChE bị ức chế ở não (giảm 84,5%) > gan (giảm 84,1%) > cơ (giảm 77,7%) > mang (giảm 72,7%). Men ChE trong các cơ quan ở các nồng độ phục hồi không khác biệt so với đối chứng sau 28 ngày thí nghiệm, trừ ChE não ở các nồng độ 50% và 75% giá trị LC50-96 giờ và cơ ở các nồng độ 75% giá trị LC50-96 giờ. Có thể dùng hoạt tính ChE như là một đánh dấu sinh học chỉ môi trường bị ô nhiễm thuốc trừ sâu gốc lân hữu cơ như quinalphos.

4.2 Đề xuất

Khi đánh giá sự ô nhiễm thuốc trừ sâu gốc lân hữu cơ như quinalphos thì nên phân tích hoạt tính ChE ở mô não, cơ ở thời điểm 6 giờ và mang, gan ở thời điểm 24 giờ. Tiếp tục nghiên cứu sự thay đổi các chỉ tiêu sinh lý của cá tra khi tiếp xúc với quinalphos. Nghiên cứu mở rộng trên nhiều đối tượng tôm, cá,... và trên những loại thuốc khác nhau để có cơ sở cho việc đánh giá độc tính của hóa chất này lên tài nguyên thủy sinh vật.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Bộ y tế, 2009. Ngộ độc thực phẩm do thuốc bảo vệ thực vật.
<http://www.t5g.org.vn/Default.aspx?u=dt&id=20>. Ngày truy cập 19/3/2010.
- Chebbi S. G., and M. David, 2009. Neurobehavioral responses of the freshwater teleost, *Cyprinus carpio* (linnaeus) under quinalphos intoxication.
- Das B. K. and S. C. Mukherjee, 1999. Chronic toxic effects of quinalphos on some biochemical parameters in *Labeo rohita* (Ham.). *Toxicology Letters*, Volume 114, Issues 1-3, pp 11-18.
- David L. Straus and Janice E. Chambers, 1994. Inhibition of acetylcholinesterase and aliesterases of fingerling channel catfish by chlorpyrifos, parathion, and S,S,S-tributyl phosphorotrithioate (DEF). *Aquatic Toxicology*. Volume 33, Issues 3-4, October 1995, Pages 311-324.
- Hùng Anh, 15/01/2007. Ruộng đồng nhiễm độc! [trực tuyến]. Bộ nông nghiệp và phát triển nông thôn.
http://www.agroviet.gov.vn/portal/page?_pageid=35,474292&_dad=portal&_schema=PORTAL&pers_id=474295&item_id=482567&p_details=1, ngày truy cập 19/3/2010.

- Kabeer Ahammad Sahib, D. Sailatha and K. V. Ramana Rao, 1979. Impact of malathion on acetylcholinesterase in the tissues of the fish *Tilapia mossambica* (Peters)—A time course study. *J. Biosci.*, Vol. 2, Number 1, March 1980, pp. 37-41. © Printed in India.
- Koesoemadinata, S. and R. Djajadirectja., 1976. Some aspects on regulation of agricultural use of pesticides in Indonesia, with references to their effects on inland fisheries. *Inland Fisheries Reseach Institute Cont.* 3-14p.
- Luciana Cristina de Almeida, Lucia Helena Aguiar, Gilberto Moraes., 2005. Effect of methyl parathion on muscle and brain acetylcholinesterase activity of matrin (*Brycon cephalus*). *Ciencia Rural, Santa Maria*, Vol.35, No.6, pp 1412-1416.
- Luu Hoàng Vân, 2010. Đầu tư cho vừa lúa Đồng bằng sông Cửu Long. http://e-info.com.vn/vn/index.php?option=com_content&task=view&id=39513&Itemid=50. Truy cập ngày 11/09/2010.
- Nguyen Van Cong, Nguyen Thanh Phuong and Mark Bayley, 2008. Brain cholinesterase response in the snakehead fish (*Channa striata*) after field exposure to diazinon. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 71 (2008) 314– 318.
- Nguyễn Văn Công, Nguyễn Xuân Lộc, Lư Thị Hồng Ly và Nguyễn Thanh Phương, 2006. Ảnh hưởng của basudin 50EC lên hoạt tính enzyme cholinesterase và tăng trọng của cá lóc (*Channa striata*). *Tap chí Nghiên cứu Khoa học 2006, ĐH Cần Thơ*, trang 13-23.
- Pavlov, D.F., 1993. Stress-induced dynamics of fish brain acetylcholinesterase activity. *Institute of Biology of Inland Water, Russian Academy of Sciences.*
- Peebua P., P.Kosiyachinda, P. Pokethitiyook, M. Kruatrachue., 2007. Evaluation of Alachlor Herbicide Impacts on Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) using Biochemical Biomarkers. *Springer Science+Business Media, LLC 2007.*
- Fulton. M.H, P.B. Key., 2001. Annual review: Acetylcholinesterase inhibition in estuarine fish and invertebrates as an indicator of organophosphorus insecticide exposure and effects. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 20: 37-45.
- Sastry K.V and Abad A. Siddiqui., 1983. Some hematological, biochemical, and enzymological parameters of a fresh-water teleost fish, *Channa punctatus*, exposed to sublethal concentrations of quinalphos. *Volume 22, Issue 1, August 1984*, pp: 8-13.
- Sofian M Kanan, 2008. Synthesis of metal nanoclusters doped in porous materials as photocatalysts. *Associate Professor of Chemistry, American University of Sharjah*, pp 18.
- The WHO recommended classification of pesticides by hazard and guidelines to classification 2004.
- Tomlin, C. 1994. *The pesticide manual. Crop Protection Publication.*
- Tu HT, Silvestre F, Scippo ML, Thome JP, Phuong NT, Kestemont P., 2009. Acetylcholinesterase activity as a biomarker of exposure to antibiotics and pesticides in the black tiger shrimp (*Penaeus monodon*). *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 2009 Jul; 72(5):1463-70.
- Vasep, 2010. Xuất khẩu cá tra hồi phục. <http://www.vasep.com.vn/vasep/dailynews.nsf/srch/03C6BEC5579CB072472576A3000B1A66?OpenDocument>. Ngày truy cập 19/3/2010.
- Wang, C., Lu, G. and Cui, J. , 2010. Responses of AChE and GST activities to insecticide coexposure in *Carassius auratus*. *Environmental Toxicology*, n/a. doi: 10.1002/tox.20612.