



ẢNH HƯỞNG CỦA THUỐC BẢO VỆ THỰC VẬT FENOBUCARB ĐẾN CHOLINESTERASE Ở CÁ LÓC (*CHANNA STRIATA*) TRONG RUỘNG LÚA

Võ Thị Yến Lam¹ và Nguyễn Văn Công²

¹ Văn phòng UBND tỉnh Tiền Giang

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

Thông tin chung:

Ngày nhận: 12/10/2012

Ngày chấp nhận: 22/03/2013

Title:

Effects of insecticide Fenobucarb to cholinesterase of Snakehead fish (*Channa striata*) in ricefield condition

Từ khóa:

Channa striata, Fenobucarb, Cholinesterase, ruộng lúa

Keywords:

Channa striata, Fenobucarb, Cholinesterase, Ricefield

ABSTRACT

Insecticide Fenobucarb is often used on ricefield in the Mekong Delta where is one of preferred habitats for snakehead fish (*Channa striata*). Therefore, this species is high risk of exposure to using this insecticide. This research aims at assessing effects of using insecticide Fenobucarb on ricefield for snakehead fish. The results showed that water concentration of Fenobucarb on ricefield varies from 14 to 291 μ g/L after one hour spraying and almost below detection limit (0,05 μ g/L) one day post application. No fish died under using Fenobucarb but cholinesterase (ChE) inhibition was seen upto 24% after one day exposure and completely recovery at day five after spraying. The study showed that using Fenobucarb on ricefield is negligible effects for snakehead fish. Enzyme ChE in this species can be used as biomarker for assessing Fenobucarb exposure in ricefield condition.

TÓM TẮT

Thuốc sâu hoạt chất Fenobucarb được sử dụng phổ biến để diệt rầy ở ruộng lúa. Cá Lóc (*Channa striata*) thường xuyên sinh sống ở đồng ruộng. Do đó, cá có nhiều nguy cơ bị ảnh hưởng từ sử dụng thuốc. Nghiên cứu này nhằm đánh giá ảnh hưởng của sử dụng thuốc bảo vệ thực vật hoạt chất Fenobucarb cho lúa đến cá Lóc. Kết quả cho thấy nồng độ Fenobucarb trên ruộng sau khi phun 1 giờ dao động từ 0,014 đến 0,291 mg/L và hầu hết giảm xuống dưới ngưỡng phát hiện (0,00005 mg/L) sau 1 ngày phun thuốc. Phun thuốc không làm chết cá nhưng gây ức chế ChE đến 24% sau 1 ngày phun và phục hồi hoàn toàn sau 5 ngày. Qua các kết quả trên cho thấy sử dụng Fenobucarb cho lúa ít ảnh hưởng đến cá Lóc; có thể sử dụng enzyme ChE ở cá Lóc để đánh dấu phơi nhiễm Fenobucarb ở điều kiện thực tế đồng ruộng.

1 GIỚI THIỆU

Đồng bằng sông Cửu Long (ĐBSCL) chiếm khoảng 12% diện tích quốc gia nhưng hàng năm cung cấp hơn 50% sản lượng lúa, gạo cả nước. Để đảm bảo được sản lượng, gia tăng diện tích và mức độ thâm canh đã không ngừng

được thực hiện. Kết quả kéo theo tăng sử dụng phân bón và hóa chất bảo vệ thực vật (BVTV). Trong những năm gần đây bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá và rầy nâu xuất hiện lặp đi, lặp lại nên thuốc BVTV bị lạm dụng nghiêm trọng. Theo Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn

(NN&PTNT) (2008), nông dân ở các tỉnh ĐBSCL sử dụng trên 260.000 chai thuốc trừ rầy để phòng, trị rầy. Năm 2010, có 14 hoạt chất với 356 tên thương mại được phép sử dụng để diệt rầy trên lúa (Bộ NN&PTNT, 2010). Hiện nay, hoạt chất Fenobucarb được sử dụng phổ biến trong canh tác lúa ở ĐBSCL. Hiện nay có 32 tên thương mại thuốc chứa hoạt chất Fenobucarb bán trên thị trường (www.ppd.gov.vn). Hoạt chất này được sử dụng thường xuyên để trừ rầy nâu (Phạm Hoàng Giang, 2010). Fenobucarb thuộc nhóm carbamate, gây độc qua cơ chế làm giảm hoạt tính enzyme Cholinesterase (ChE) (Stenersen, 2004). Do đó, đo ChE có thể dùng để đánh giá sự nhiễm độc ở sinh vật (Peakall, 1992).

Cá Lóc (*Channa striata*) sống ở nhiều dạng thủy vực trong đó có ruộng lúa (Trương Thủ Khoa và Trần Thị Thu Hương, 1993). Do đó, cá Lóc có nhiều nguy cơ phơi nhiễm với sử dụng Fenobucarb. Nghiên cứu này được đặt ra nhằm đánh giá ảnh hưởng sử dụng thuốc BVTV Fenobucarb cho lúa đến ChE cá Lóc. Kết quả làm cơ sở cho sử dụng ChE trong đánh giá nhiễm độc và rủi ro cho cá dưới áp lực sử dụng Fenobucarb trong canh tác lúa.

2 PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Địa điểm nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện tại phòng thí nghiệm Khoa Môi trường và Tài nguyên Thiên nhiên - Đại học Cần Thơ và ruộng trồng lúa tại ấp Thạnh Lợi A1, xã Tân Long, huyện Phụng Hiệp, tỉnh Hậu Giang từ tháng 8/2010 đến tháng 4/2011.

2.2 Hóa Chất

Các hóa chất $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (Merck), $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (Merck), $\text{C}_{14}\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_8\text{S}_2$ (Merck) và Acetylcholinesterase iodide (Merck) được dùng để phân tích ChE. Acetone (Trung Quốc) được sử dụng để rửa cối sau khi nghiền mỗi lần.

Thuốc trừ sâu có tên thương mại Jetan 50EC, chứa 50% hoạt chất Fenobucarb (2-(1-methylpropyl) phenyl methylcarbamate) do Công ty Cổ phần Bảo vệ thực vật An Giang sản xuất được dùng để phun cho lúa.

2.3 Sinh vật thí nghiệm

Cá Lóc (*C. striata*) lòng ròng sau khi ương khoảng 2,5 tháng (4,5 - 5 g/con) được sử dụng để bố trí thí nghiệm.

2.4 Phương pháp bố trí thí nghiệm

Ba ruộng đang trồng lúa ở ấp Thạnh Lợi A1 - xã Tân Long - huyện Phụng Hiệp, tỉnh Hậu Giang có bờ bao quanh (cao 30 - 35 cm, rộng 25 - 30 cm) được chọn để theo dõi ảnh hưởng của phun thuốc BVTV Jectan 50EC đến ChE cá Lóc. Diện tích của ruộng 1, 2 và 3 lần lượt là 1.120 m², 3.500 m² và 2.500m². Mật độ lúa sạ của ruộng 1, 2 và 3 lần lượt là 22, 25 và 25 kg/1000 m²). Ruộng 1 có ba mặt giáp vườn cây ăn quả, mặt còn lại giáp ruộng 2 bằng bờ bao. Ruộng 2 và ruộng 3 có ba mặt giáp ruộng của nông hộ khác và mặt còn lại là bờ bao ranh giới giữa 2 ruộng.

Sau khi sạ được 29 ngày (lúa đã được dặm xong), ba lồng (0,5x0,4x0,9 m) bằng lưới kẽm được đặt theo đường chéo của mỗi ruộng. Mỗi lồng thả 24 cá. Sau một tuần cung cấp thuốc Jetan 50EC cho nông dân phun theo thói quen của họ. Thuốc được phun ở thời điểm lúa 36 ngày tuổi sau khi sạ. Các ruộng chỉ được phun 1 lần trong thời gian thí nghiệm.

Mẫu nước được thu quanh các lồng cá (bên ngoài) ở thời điểm: trước khi thả cá, sau khi phun 1 giờ và 1, 3, 5, 7 ngày để phân tích nồng độ hoạt chất Fenobucarb. Fenobucarb được phân tích tại Trung tâm Kỹ thuật Đo lường chất lượng 3 (QUATEST 3) - Thành phố Hồ Chí Minh bằng phương pháp sắc ký.

Mẫu cá được thu tại các thời điểm: 1 ngày trước khi phun thuốc và 1, 3, 5, 7 ngày sau khi phun để phân tích ChE. Mỗi lần thu 6 cá ở mỗi ruộng (2 cá/lồng). Sau khi bắt cá ra khỏi lồng, cá được đưa vào nước đá để làm chết nhanh; xong mổ lấy não cho vào từng eppendofit rồi đưa vào Nitơ lỏng trước khi chuyển về phòng thí nghiệm xử lý và phân tích ChE. ChE được phân tích dựa theo phương pháp so màu quang phổ (Ellman *et al*, 1961).

Mức nước, nhiệt độ, oxy hòa tan và pH được đo 2 ngày/lần trong khoảng 7:00 - 7:30 và 14:00-14:30 tại 03 điểm gần nơi đặt lồng cá trên mỗi ruộng.

3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Nhiệt độ, pH, DO và mực nước trong thời gian thí nghiệm

Trung bình nhiệt độ trong ngày trên các ruộng thay đổi từ 26,7 - 31,5°C; buổi sáng từ 26,5°C ± 0,3 đến 26,8 °C ± 0,2 và buổi chiều từ 31,2 °C ± 0,1 đến 31,5 °C ± 0,1 (Bảng 1). Nhiệt độ trên các ruộng lúa ĐBSCL có thể ở mức 24-25 °C vào lúc 6 - 7 giờ và đạt 34°C vào lúc 14 - 15 giờ (Vromant *et al.*, 2001). Như vậy, sự biến động nhiệt độ trên ruộng thí nghiệm trong

nghiên cứu này nằm trong sự khoảng biến động nhiệt độ phổ biến của các ruộng lúa ở ĐBSCL. Khoảng nhiệt độ từ 26,5 - 31,5 °C của các ruộng thí nghiệm rất thích hợp cho hoạt động sống của cá Lóc đồng (Lee và Ng., 1994). Tuy nhiên, cá Lóc sẽ tăng hoạt động trao đổi chất khi nhiệt độ tăng (Qin *et al.*, 1997). Sự gia tăng nhiệt độ từ sáng đến chiều có thể sẽ làm tăng trao đổi chất ở cá, dẫn đến tăng sự xâm nhập fenobucab và ảnh hưởng của phun Jectan 50EC đến ChE cá Lóc.

Bảng 1: Nhiệt độ, pH, DO và mực nước trên ruộng thí nghiệm

Thông số	Ruộng 1		Ruộng 2		Ruộng 3	
	Sáng	Chiều	Sáng	Chiều	Sáng	Chiều
Nhiệt độ (°C)	26,7±0,26	31,2±0,11	26,8±0,24	31,5±0,12	26,5±0,25	31,4±0,19
pH	6,72±0,03	6,7±0,03	6,68±0,02	6,65±0,02	6,63±0,02	6,66±0,03
DO (mg/L)	3,66±0,04	5,24±0,02	3,59±0,05	5,12±0,03	3,73±0,05	5,19±0,03
Mực nước (cm)	10,6±0,18	10,5±0,13	9,96±0,23	10,1±0,21	10,1±0,25	10,3±0,25

(Số liệu trình bày: trung bình ± SE, n=18)

Ở ruộng 1, ruộng 2 và ruộng 3 pH vào buổi sáng lần lượt là 6,72 ± 0,03, 6,68 ± 0,02 và 6,63 ± 0,02; buổi chiều lần lượt là 6,7 ± 0,03, 6,65 ± 0,02 và 6,66 ± 0,03 (Bảng 1). Chênh lệch giữa giá trị pH thấp nhất và cao nhất không quá 0,07 đơn vị và không có sự khác biệt lớn giữa các lần đo đạc cũng như giữa các vị trí đo đạc. Theo Lee và Ng. (1994), cá Lóc có khả năng chịu đựng được khoảng pH rộng từ 4,25 - 9,4. Do đó, giá trị pH trên ruộng rất thích hợp cho cá Lóc đồng sinh sống.

DO ở cả 3 ruộng thí nghiệm trong cùng thời điểm đo đạc chênh lệch tối đa khoảng 0,4 mg/L. Tuy nhiên, DO giữa sáng và chiều có sự biến động lớn hơn, chênh lệch ở các ruộng thí nghiệm dao động từ 1,47 mg/L - 1,58 mg/L (Bảng 1). Vào buổi chiều, DO trên ruộng luôn cao hơn so với buổi sáng. Lượng DO trên ruộng được cung cấp chủ yếu là do quang hợp của thủy sinh vật và một phần do sự khuếch tán oxy vào trong nước. Cá Lóc đồng là loài hô hấp khí trời bắt buộc nên khi DO trong nước giảm thấp thì cá sẽ tăng cường hô hấp bằng khí trời. Mặt khác, Fenobucarb có tác động tiếp xúc, vị độc nhưng không xông hơi nên hoạt động hô

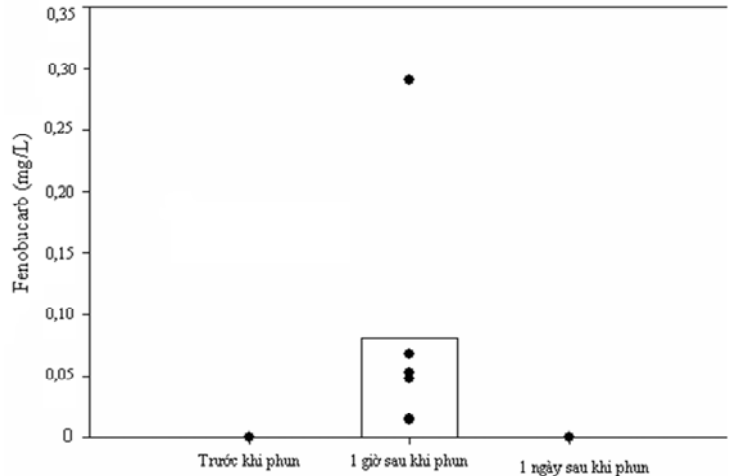
hấp khí trời của cá thí nghiệm có thể làm lượng chất độc xâm nhập vào cơ thể chậm hơn trường hợp cá chỉ hô hấp trong nước.

Mực nước luôn biến động trong suốt thời gian thí nghiệm. Trung bình mực nước trên các ruộng thí nghiệm dao động trong ngày từ 8,5 - 12,5 cm, chênh lệch tối đa 3,5 cm (Bảng 1). Sự bốc hơi nước là một trong những nguyên nhân ảnh hưởng đến sự thay đổi mực nước trên ruộng. Buổi chiều có thể xảy ra sự bốc hơi nhiều hơn vào buổi sáng do nhiệt độ cao hơn. Mực nước dao động trên ruộng sẽ ảnh hưởng đến nồng độ Fenobucarb sau khi phun do sự pha loãng.

3.2 Nồng độ Fenobucarb trong nước thu ở các ruộng nghiên cứu

Trước khi phun thuốc nồng độ Fenobucarb ở tất cả các ruộng thí nghiệm đều dưới ngưỡng phát hiện (0,00005 mg/L). Sau khi phun 1 giờ Fenobucarb đều được phát hiện ở các ruộng với nồng độ dao động từ 0,014 - 0,291 mg/L, trung bình 0,081 mg/L. Sau 1 ngày phun Fenobucarb hầu hết các điểm thu mẫu đều dưới ngưỡng phát hiện (Hình 1).

Hình 1: Sự biến động nồng độ Fenobucarb trên ruộng thí nghiệm theo thời gian



Ở tất cả các ruộng thí nghiệm, thuốc trừ rầy Zetan 50EC được phun theo liều chỉ dẫn (1-1,5 lít/ha) nhưng theo ghi nhận thực tế thì liều lượng ở các bình phun khác nhau khoảng 3% - 10%. Đây là một trong những nguyên nhân làm nồng độ Fenobucarb không giống nhau trên ruộng. Ngoài ra, mật độ lúa cũng không đều, dao động từ 80 - 120 cây lúa/m² cũng làm ảnh hưởng đến tỷ lệ rơi của thuốc xuống nước. Mực nước đo đạc được tại thời điểm phun thuốc chênh lệch nhau từ 2,5 - 3,5 cm cũng là một trong những yếu tố tác động đến sự dao động nồng độ Fenobucarb. Thời gian 1 giờ sau phun là tương đối ngắn để có sự lưu thông nước giữa các vị trí trên ruộng nên vị trí có nồng độ Fenobucarb cao nhất chỉ mang tính cục bộ.

Fenobucarb có độ hòa tan trong nước là 610 mg/L (30 °C), có hệ số K_{ow} là 2,79 và K_{oc} là

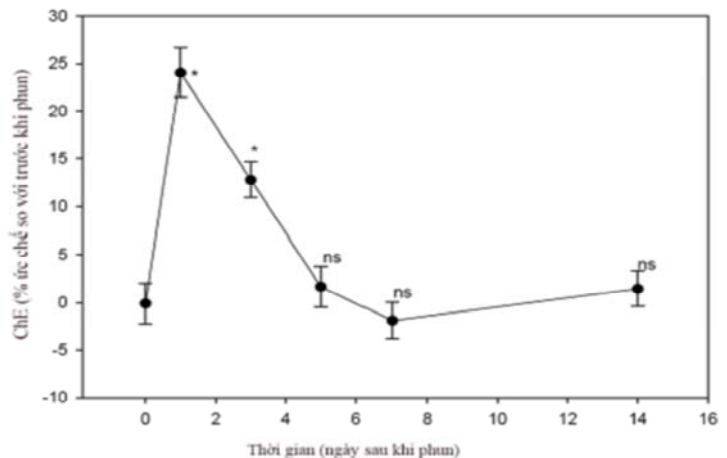
1.068, bền vững với ánh sáng (Tomlin, 1994). Do đặc tính lý hóa này nên sau khi sử dụng Fenobucarb nhanh chóng kết hợp với các chất lơ lửng có trong ruộng do khuấy động khi phun rồi lắng xuống nền đáy. Đây là một trong những nguyên nhân làm cho nồng độ Fenobucarb giảm nhanh chóng sau 1 ngày phun. Ngoài ra sự rò rỉ nước vào ruộng khi triều cường (tăng từ 2,5 - 3 cm) cũng là nguyên nhân làm giảm nồng độ Fenobucarb trên ruộng.

3.3 Hoạt tính ChE ở cá Lóc trong thời gian thí nghiệm trên ruộng

Trước khi phun thuốc, trung bình hoạt tính ChE của cá ở các ruộng thí nghiệm là 7,31 ± 0,29 μM/g/phút (TB ± SE). Sau khi phun thuốc 1 ngày thì tỷ lệ ức chế ChE là 24,2% (Hình 2) và sai khác có ý nghĩa so với thời điểm trước phun thuốc ($p < 0,05$).

Hình 2: Hoạt tính ChE (TB±SE, n=18) của cá trên ruộng trong 14 ngày theo dõi

Số liệu có theo sau dấu sao "*" chỉ sai khác có ý nghĩa thống kê so với trước khi phun thuốc ($p < 0,05$) và theo sau "ns" chỉ sai khác không có ý nghĩa thống kê so với trước khi phun thuốc, Dunnett Test)



Ở ngày thứ 3 sau khi phun thuốc ChE đã phục hồi nhưng vẫn còn khác biệt so với thời điểm trước phun thuốc; tỷ lệ ức chế ChE là 13%. Từ ngày thứ 5 sau khi phun thuốc ChE không còn khác biệt so với trước khi phun và tỷ lệ phục hồi đã trên 98% (tỷ lệ ức chế thấp hơn 2%).

Sau 1 ngày phun thuốc hầu hết các điểm thu mẫu đều không phát hiện được nồng độ Fenobucarb trong nước ruộng nhưng hoạt tính ChE vẫn còn sai khác có ý nghĩa sau 3 ngày. Trong điều kiện phòng thí nghiệm, sau khi phơi nhiễm với Fenobucarb ở nồng độ từ 0,036 - 0,72 mg/L trong 2 ngày và cho ra nước sạch thì ChE ở tất cả các nghiệm thức đều không còn khác biệt so với đối chứng (Võ Thị Yến Lam, 2011).

Nồng độ Fenobucarb trung bình trên các ruộng thí nghiệm là 0,081 mg/L, bằng 2,2% giá trị LC50- 96 giờ. Nồng độ này cao hơn giá trị LOEC (0,036 mg/L) (Võ Thị Yến Lam, 2011). Tỷ lệ ức chế ChE sau 1 ngày tiếp xúc Fenobucarb ở nồng độ 1% và 5% LC50-96 giờ trong phòng thí nghiệm là 11% và 30%. Tỷ lệ ức chế ChE của cá Lóc đồng trên ruộng sau 1 ngày phơi nhiễm dao động từ 20% đến 28%. Như vậy, kết quả thí nghiệm trên ruộng phù hợp với kết quả thí nghiệm nhạy cảm đã thực hiện trong phòng thí nghiệm. Tuy nhiên, tỷ lệ ức chế ở nồng độ 2,2% LC50-96 giờ trên ruộng trung bình là 24,2% trong khi ở nồng độ 5% LC50-96 giờ trong phòng thí nghiệm, ChE bị ức chế 30%. Như vậy, ChE của cá Lóc đồng trên ruộng có xu hướng bị ức chế cao hơn so với trong phòng thí nghiệm. Sự chênh lệch nhiệt độ cao hơn ở ruộng lúa so với trong phòng thí nghiệm có thể là nguyên nhân gia tăng độc tính của Fenobucarb. Đa số sinh vật sẽ tăng hoạt động trao đổi chất khi nhiệt độ tăng (Lerman *et al.*, 2004). Trong môi trường nước ô nhiễm, độc chất có thể được hấp thụ vào cơ thể nhiều hơn do sự gia tăng tốc độ trao đổi chất (Jensen *et al.*, 1993). Nghiên cứu của Cong *et al.* (2006) và Ngô Tố Linh (2008) cũng cho thấy độc tính của Diazinon trên cá Lóc và cá Rô đồng tương quan thuận với nhiệt độ.

Mặc dù, sau 3 ngày phun thuốc hoạt tính ChE trên ruộng vẫn còn thấp hơn trước khi phun nhưng tỷ lệ ức chế ChE ở tất cả các thời điểm thu mẫu đều không vượt quá 30% so với trước khi phun. Thuốc BVTV gốc Carbamate đã được xem như là thuốc BVTV ít gây hại với các loài cá so với các loại thuốc trừ sâu khác đang được sử dụng hiện nay (Post, 1987). Trong nhiên cứu này cũng cho kết quả tương tự.

Cá Lóc đồng là loài phổ biến ở ĐBSCL và Châu Á, có giá trị kinh tế và phân bố ở nhiều dạng thủy vực khác nhau (Trương Thủ Khoa và Trần Thị Thu Hương, 1994). Mùa mưa là mùa sinh sản tập trung và cá thường sinh sản trên ruộng lúa (Amihat và Lorenzen, 2005) do đó, cá Lóc đồng giai đoạn giống có nhiều nguy cơ bị tác động bởi thuốc BVTV phun trên ruộng. Kết quả phân tích nồng độ Fenobucarb trên ruộng cho thấy nếu dùng biện pháp hóa học chỉ có thể phát hiện nồng độ Fenobucarb sau 1 ngày phun với nồng độ rất thấp. Dùng phương pháp sinh học như đo đặc hoạt tính ChE có thể thấy tác động của Fenobucarb trong khoảng 3 ngày.

4 KẾT LUẬN VÀ ĐỀ XUẤT

4.1 Kết luận

– Nồng độ Fenobucarb trên ruộng sau một giờ phun Jetan 50EC dao động từ 0,014 - 0,291 mg/L và nhanh chóng giảm dưới ngưỡng phát hiện sau 1 ngày phun.

– ChE trong não cá Lóc bị ức chế cao nhất sau một ngày phun Jetan 50EC cho ruộng có lúa, tỷ lệ ức chế trung bình là 24,2% và phục hồi hoàn toàn sau 5 ngày phun thuốc.

– Đo enzyme ChE có thể đánh dấu cá Lóc đã nhiễm độc Fenobucarb do phun Jetan 50EC cho lúa.

4.2 Đề xuất

– Cần nghiên cứu ảnh hưởng của phối trộn hoạt chất Fenobucarb với các hóa chất bảo vệ thực vật khác để đánh giá tác động tổng hợp của phun thuốc bảo vệ thực vật lên enzyme ChE.

– Cần nghiên cứu các tác động của Fenobucarb lên các giai đoạn trong vòng đời

của cá để đánh giá đầy đủ hơn tác động của Fenobucarb lên cá Lóc đồng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn (2008), Tình hình phòng chống rầy nâu và các biện pháp tạm thời các biện pháp phòng trừ bệnh lùn sọc đen hại lúa.
2. Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn (2010), Thông tư số 17/2010/TT-BNNPTNT ngày 26 tháng 3 năm 2010 của Bộ trưởng Nông nghiệp và Phát triển nông thôn hướng dẫn tạm thời các biện pháp phòng trừ bệnh lùn sọc đen hại lúa.
3. Lê Huy Bá, Lâm Minh Triết (2005), Sinh thái môi trường ứng dụng, Nhà xuất bản Khoa học Kỹ thuật, Xuất bản lần thứ 2.
4. Ngô Tố Linh (2008), Nghiên cứu ảnh hưởng của thuốc trừ sâu Diazinon lên enzyme Cholinesterase ở cá Rô đồng (*Anabas testudineus*), Luận văn tốt nghiệp thạc sĩ Khoa học Môi trường, Đại học Cần Thơ.
5. Phạm Hoàng Giang (2010), Khảo sát hiện trạng sử dụng thuốc bảo vệ thực vật trong canh tác lúa ở Hậu Giang
6. Trương Thủ Khoa, Trần Thị Thu Hương (1993), Định loại cá nước ngọt vùng đồng bằng sông Cửu Long, Việt Nam, Đại học Cần Thơ.
7. Võ Thị Yến Lam (2011), Sử dụng enzyme Cholinesterase ở cá Lóc đồng (*Channa striata*) cỡ giống để đánh dấu nhiễm độc Fenobucarb phun cho lúa ở Hậu Giang. Luận văn tốt nghiệp thạc sĩ Khoa học Môi trường, Đại học Cần Thơ
8. Amilhat, E., K. Lorenzen (2005), Habitat use, migration pattern and population dynamics of chevron snakehead *Channa striata* in a rainfed rice farming landscape, *J. Fish Biol.* 67, pp. 23–34.
9. Cong, N.V., N.T. Phuong, M. Bayley (2006), Sensitivity of brain Cholinesterase activity to Diazinon (Basudin 50 EC) and Fenobucarb (Bassa 50EC) insecticides in the air-breathing fish *Channa striata* (Bloch, 1793), *Environmental Toxicology and Chemistry* 25 (5), pp.1418-1425.
10. Das, D. (2005), Biochemistry, Bimal Kumar Dhur of Academic Publisher, 12th Edition
11. Drauz, K., H. Waldmann (2002), Enzyme catalysis in organic synthesis, Second Edition Wiley-VCH, Weinheim.
12. Ellman G.L., D. Courtney, V.J. Anderdres, R.M. Featherstone (1961), A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity, *Biochem Pharmacol* 7. pp.88-95.
13. Finlayson, B.J., R.A. Rudnicki (1985), Storage and handling as sources of error in measuring fish acetylcholinesterase activity, *Bull Environ Contam Toxicol* 35, pp. 790-795.
14. Jensen, F.B., M. Nikinmaa, R.E. Weber (1993), Environmental perturbations of oxygen transport in teleost fishes: causes, consequences and compensations, In: J. Cliff Rankin and Frank B. Jensen (ed), *Fish Physiology*, Chapman and Hall.
15. Lee, P.G., Ng. P.K.L. (1994), The systematics and ecology of snakeheads (Pisces: *Channidae*) in peninsular Malaysia and Singapore, *Hydrobiologia* 285, pp. 59-74.
16. Lermen, C.L.L., R. Lappe, M. Crestani, V.P. Vieira, C.R. Gioda, M.R.C Schetinger, B. Baldissarotto, G. Moraes, V.M. Morsch (2004), Effect of different temperature regimes on metabolic and blood parameters of silver catfish *Rhamdia quelen*. *Aquaculture* 239, pp. 497-507.
17. Ludke, J.L., E.F. Hill, M.P. Dieter (1975), Cholinesterase response and related mortality among birds fed ChE inhibitors, *Ach. Environ. Contam. Toxicol* 3, pp. 1-21.
18. Peakall, D.B. (1992), Animal biomarker as pollution indications, Chapman and Hall, London.
19. Post, G (1987), Textbook of Fish health, Copyright by T.F.H Publications Inc, pp 265-266.
20. Phillips, T.A., R.C. Summerfelt, G.J. Atchison (2002), Environmental, biological and Methodological factors affecting ChE activity in Walleye (*Stizostedion vitreum*). *Environmental Contamination and Toxicology* 43, pp. 75-80.
21. Qin, J., X. He, A.W. Fast (1997), A bioenergetics model for an air-breathing fish, *Channa striatus*. *Environmental Biology of Fishes* 50, pp. 309–318.
22. Stenersen, J. (2004), Chemical pesticides: Mode of action and toxicology, CRC Press- Boca Raton.
23. Tomlin, C. (1994), The Pesticide Manual, Crop Protection Publication, pp. 437-438.
24. Tsokos, M. (2006), Forensic pathology Reviews, Volume 4, Humana Press Inc.

25. Vromant, N., N.T.H .Chau, F.Ollevier (2001), The effect of rice seeding rate and fish stocking on the floodwater ecology of the trench of a concurrent, direct-seeded rice-fish system, *Hydrobiologia* 547, pp.105-117.
26. Zinkl, J.G., P.J.Shea, R.J. Nakamoto, J.Callman (1987), Technical and biological considerations for the analysis of brain ChE from rainbow trout, *Trans Am Fish Soc* 116, pp. 570-573.