Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ
Phần B: Nông nghiệp, Thủy sản và Công nghệ Sinh học
website: sj.ctu.edu.vn

DOI:10.22144/ctu.jvn.2018.044

ẢNH HƯỞNG CỦA CHẾ PHẨM REGENT 800WG ĐẾN HOẠT ĐỘNG PHÂN CHIA VÀ NHIỄM SẮC THỂ TRONG QUÁ TRÌNH NGUYÊN PHÂN Ở TẾ BÀO RỄ HÀNH LÁ - *Allium fistulosum* L.

Nguyễn Thị Thảo[1*] và Nguyễn Thị Ngọc Anh[2]
[1]*Viện Sư phạm Tự nhiên, Trường Đại học Vinh*
[2]*Trường THCS Long Đức, Long Thành, Đồng Nai*
[*] *Người chịu trách nhiệm về bài viết: Nguyễn Thị Thảo (email: nthao124@gmail.com)*

Thông tin chung:
Ngày nhận bài: 21/07/2017
Ngày nhận bài sửa: 06/01/2018
Ngày duyệt đăng: 26/04/2018

Title:
Effects of Regent 800WG on mitosis and mitotic chromosomes in root cells of Allium fistulosum L.

Từ khóa:
Allium fistulosum L, chế phẩm thương mại, nguyên phân, sai hình nhiễm sắc thể, tế bào

Keywords:
Allium fistulosum L, chromosome abnormality, commercial insecticide, cell, mitosis

ABSTRACT

Many studies show that abuse of insecticide in cultivation affect negatively on plant and can cause mutations in organisms (including human) that indirect contact indirectly with insecticide. This study is to investigate cytotoxic and genotoxic effects of a commercial insectiside (Regent 800WG) on root tip of Allium fistulosum L.. Two concentrations of fipronil (0.005% and 0.008%) were used for different periods of time (4 h, 8 h and 24 h). The tested concentrations decreased the mitosis index compared to the control. The result indicated that the different treatments caused diverse types of chromosome abnormalities during mitosis. The chromosome abnormalities were stickiness, disturbance in metaphase, chromosome bridges in anaphase, micronuclei appearing in interphase cells. In addition, there were many abnormal cells after onion roots were treated with 0.005% and 0.008% fipronil.

TÓM TẮT

Nhiều nghiên cứu trên thế giới cho thấy, việc lạm dụng thuốc trừ sâu trong trồng trọt đã ảnh hưởng tiêu cực đến thực vật và có thể gây đột biến cho các sinh vật (kể cả con người) gián tiếp tiếp xúc với thuốc. Trong nghiên cứu này, chế phẩm thương mại Regent 800WG được sử dụng để kiểm tra sự ảnh hưởng của chế phẩm đến nhiễm sắc thể và tế bào rễ hành Allium fistulosum L. trong quá trình nguyên phân. Hai nồng độ của hoạt chất fipronil (0,005% và 0,008%) có trong chế phẩm được sử dụng để xử lý rễ trong các khoảng thời gian (4 giờ, 8 giờ và 24 giờ). Kết quả cho thấy, ở cả hai nồng độ fipronil trong Regent 800WG đều làm giảm chỉ số nguyên phân so với đối chứng âm. Đặc biệt, nhiều dạng sai hình nhiễm sắc thể xuất hiện, bao gồm: dính nhiễm sắc thể, nhiễm sắc thể bị rối loạn ở kì giữa, hình thành cầu nhiễm sắc thể ở kì sau và kì cuối, xuất hiện dị nhân và nhân con, nhiễm sắc thể lang thang. Ngoài ra, nhiều tế bào bị biến dạng cũng được quan sát thấy khi xử lý rễ với Regent 800WG ở cả hai nồng độ trên.

Trích dẫn: Nguyễn Thị Thảo và Nguyễn Thị Ngọc Anh, 2018. Ảnh hưởng của chế phẩm Regent 800WG đến hoạt động phân chia và nhiễm sắc thể trong quá trình nguyên phân ở tế bào rễ hành lá - *Allium fistulosum* L.. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. 54(3B): 94-101.

1 GIỚI THIỆU

Mặc dù thuốc trừ sâu được sử dụng rộng rãi trên thế giới và giúp ích cho ngành nông nghiệp, nhưng dư lượng thuốc còn lại ở trong đất, nước, cũng như trong rau và quả trở thành mối đe dọa đến sức khỏe của con người. Nhiều nghiên cứu cho thấy các chế phẩm thuốc trừ sâu có thể gây đột biến cho các sinh vật gián tiếp tiếp xúc với thuốc và ảnh hưởng đến sức khỏe của con người (như ảnh hưởng đến hệ thần kinh, đường hô hấp, dị tật bẩm sinh, cơ quan sinh sản…). Ở Việt Nam, để phòng trừ dịch hại và bảo vệ cây trồng, việc sử dụng các chế phẩm thuốc trừ sâu vẫn là một biện pháp quan trọng và chủ yếu. Tuy nhiên, điều đáng lo ngại là việc sử dụng thuốc của người dân rất tùy tiện, ít theo khuyến cáo của bất kỳ cơ quan chức năng hoặc chuyên môn nào nên khiến cho việc lạm dụng thuốc càng trở nên nguy hiểm. Nguyên tắc sử dụng thuốc bảo vệ thực vật "4 đúng" (đúng thuốc, đúng thời gian, đúng liều lượng và đúng cách) gần như ít được áp dụng dẫn đến ảnh hưởng xấu đến chất lượng sản phẩm, ô nhiễm môi trường, ảnh hưởng đến sức khỏe của con người, đến nền kinh tế…

Thực vật là đối tượng chịu tác động trực tiếp và bị ảnh hưởng nặng nề nhất dưới tác động của thuốc trừ sâu. Những hóa chất gây rối loạn nhiễm sắc thể ở tế bào thực vật tương ứng cũng gây rối loạn nhiễm sắc thể ở tế bào động vật. Do đó, thực vật là đối tượng được sử dụng phổ biến trong nghiên cứu di truyền tế bào qua đó xem xét ảnh hưởng của chúng đến động vật và con người. Các loài thuộc chi *Allium* là một trong những đối tượng được sử dụng rộng rãi nhất để nghiên cứu ảnh hưởng của hóa chất đến di truyền tế bào (Asita and M. M., 2013). *Allium* cũng là những đối tượng phù hợp để nghiên cứu về ảnh hưởng của các độc tố đến nhiễm sắc thể bởi chúng có một số thuận lợi: (1) Sự sinh trưởng của chúng nhạy cảm với các chất ô nhiễm môi trường; (2) các pha của nguyên phân rõ ràng; (3) số lượng nhiễm sắc thể ổn định; (4) đa dạng về hình dạng nhiễm sắc thể; (5) kiểu nhân ổn định; (6) phản ứng rõ ràng và nhanh khi tiếp xúc với chất ô nhiễm môi trường; (7) sự đứt gãy của nhiễm sắc thể trong điều kiện bình thường ít khi xảy ra. Trong nghiên cứu này, hành lá *Allium fistulosum* L. được sử dụng để nghiên cứu ảnh hưởng của chế phẩm thương mại Regent 800 WG (là loại chế phẩm được người dân xã Nghi Phú thành phố Vinh tỉnh Nghệ An sử dụng phổ biến do có tác dụng đặc trị các loài sâu hại cây trồng) lên hoạt động phân chia và sai hình của nhiễm sắc thể trong quá trình phân bào nguyên nhiễm.

2 VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1 Củ hành

Củ hành lá *Allium fistulosum* L. khỏe mạnh, có kích thước đồng đều được mua tại hộ nông dân tự trồng tại xã Nghi Phú thành phố Vinh, tỉnh Nghệ An.

2.2 Chế phẩm thương mại Regent 800WG

Chế phẩm thương mại Regent 800WG loại gói 1,6 g chứa hoạt chất fipronil (800 g/kg) do công ty Bayer CropScience Co., Ltd - Trung Quốc sản xuất. Hoạt chất fipronil có trong Regent 800WG có khả năng diệt trừ nhiều loại sâu rầy gây hại cho nhiều loại cây trồng phổ biến như lúa, điều, nho, dưa hấu, xoài, cà phê, nhãn, cam, quýt, vải.

2.3 Bố trí thí nghiệm

Chuẩn bị mẫu vật

Các củ hành được loại bỏ hết rễ cũ và ngâm trong nước ấm 60^{o}C trong 3 giờ. Sau đó, hành được chia làm chín phần bằng nhau (mỗi phần 10 củ) và ủ trong môi trường cát (lấy trực tiếp từ sông) cho đến khi rễ dài 0,5 cm. Ba phần được giữ nguyên trong môi trường cát trong thời gian tiếp theo tương ứng 4 giờ, 8 giờ và 24 giờ để làm đối chứng âm, sáu phần còn lại được xử lý bằng Regent 800WG đã được pha loãng sao cho thành phần fipronil đạt 0,008% (là nồng độ theo khuyến cáo của nhà sản xuất) và 0,005% (là nồng độ mà nông dân xã Nghi Phú thường pha theo kinh nghiệm) trong thời gian 4 giờ, 8 giờ và 24 giờ và thu lấy rễ.

Chuẩn bị tiêu bản

Tất cả rễ hành đã chuẩn bị ở bước trên được rửa nhẹ nhàng trong nước sạch nhiều lần và để khô. Những rễ hành nguyên vẹn, thẳng, kích thước 1 đến 1,5 cm được chọn để làm tiêu bản tạm thời. Phương pháp làm tiêu bản tạm thời để quan sát phân bào nguyên nhiễm ở rễ hành được thực hiện dựa theo phương pháp của Matsumoto *et al*., 2006. Tất cả các rễ được xử lý ở các nồng độ khác nhau và thời gian khác nhau đều được cắt ra và cố định trong dung dịch ethanol: axit glacial acetic với tỷ lệ 3: 1 (v/v) trong thời gian 24 giờ ở nhiệt độ phòng. Rửa sạch rễ bằng nước cất, chuyển mẫu vật vào dung dịch HCl 1 N và ủ 10 phút ở 60^{o}C trong tủ ấm. Sau khi xử lý HCl và nhiệt, rễ rất mềm, do vậy, ở bước rửa sạch rễ để loại hết HCl rất nhẹ nhàng và thận trọng. Sau đó, rễ được nhuộm bằng dung dịch thuốc nhuộm aceto-carmin 1% trong thời gian 10 phút ở 30^{o}C. Cuối cùng, rễ được chuyển lên lam kính và đậy lamen. Khi lamen tiếp xúc với rễ, ngay lập tức rễ được dàn

mỏng một phần, lúc này, dùng giấy thấm để cố định vị trí của lamen và dùng đũa thủy tinh là nhẹ và đều trên vị trí có rễ hành để các tế bào phân tán đều trên một mặt phẳng.

2.4 Quan sát tiêu bản và phân tích dữ liệu

Phương pháp quan sát và đếm tế bào trên tiêu bản được thực hiện dựa theo Rank và Nielsen (Rank J and Nielsen MH, 1997): Ở mỗi tiêu bản, dùng vật kính 10X (độ phóng đại 100 lần) để tìm các thị trường có tế bào phân bố đồng đều trên một mặt phẳng, rõ ràng, nguyên vẹn và bắt màu tốt. Những thị trường đó sẽ được chụp lại ở vật kính 40X để phân tích. Để đảm bảo độ tin cậy trong quá trình nghiên cứu, ở tất cả các rễ hành được làm tiêu bản (ở mẫu của mỗi thời điểm / nồng độ fipronil và mẫu đối chứng âm, ít nhất 30 rễ hành được chọn ở các củ hành khác nhau), các thị trường được tìm từ trái qua phải và trên xuống dưới và không quay trở lại để tránh một thị trường hoặc một phần thị trường bị chụp hai lần trở lên.

Những thị trường tế bào tốt nhất trong số những thị trường được chụp lại sẽ được sử dụng để đếm 1.000 tế bào. Trong số 1.000 tế bào quan tâm, số tế bào ở các kì đầu, giữa, sau và cuối, số tế bào có sai hình nhiễm sắc thể (NST), số tế bào bị biến dạng đều được xác định. Ba ngàn tế bào khác nhau được đếm bằng phần mềm Paint. Cụ thể, ảnh chụp sẽ được mở bằng phần mềm Paint, các tế bào được đếm bắt đầu theo hướng từ phải qua trái và trên xuống dưới, những tế bào nào được đếm rồi sẽ được đánh dấu rõ ràng bằng công cụ pencil của phần mềm để tránh hiện tượng một tế bào được đếm nhiều lần.

Dữ liệu tế bào ở các kì được thống kê riêng rẽ và tính các chỉ số ở dưới bằng Excel 2010. Sự khác biệt ý nghĩa thống kê (P = 0,05) giữa các nghiệm thức được kiểm định bằng LSD 1-way ANOVA phần mềm SPSS 20.

Tính các chỉ số

(1)Chỉ số nguyên phân MI được tính theo công thức của Njagi and Gopalan (1981) và Journals et al. (2015)

$$\text{MI (\%)} = \frac{\text{Tổng số tế bào đang phân chia}}{\text{Tổng số tế bào quan sát}} \times 100$$

(2)Tỷ lệ giảm MI được tính theo công thức của Journals et al. (2015)

$$\text{Tỷ lệ giảm MI (\%)} = \frac{\text{MI đối chứng âm} - \text{MI xử lý thuốc}}{\text{MI đối chứng âm}} \times 100$$

(3)Tần số tế bào bị rối loạn nhiễm sắc thể được tính theo công thức của Journals et al. (2015)

$$\text{Tần số tế bào bị rối loạn NST (\%)} = \frac{\text{Tổng số tế bào đang phân chia bị rối loạn NST}}{\text{Tổng số tế bào quan sát}} \times 100$$

(4) Tần số tế bào biến đổi hình dạng

$$\text{Tần số tế bào biến dạng (\%)} = \frac{\text{Tổng số tế bào biến dạng}}{\text{Tổng số tế bào quan sát}} \times 100$$

3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Chỉ số nguyên phân ở tế bào rễ hành sau khi xử lý Regent 800WG có các nồng độ fipronil khác nhau

Chỉ số nguyên phân MI (Mitotic Index) được Champy (1922) đưa ra là tỷ lệ các tế bào đang ở các giai đoạn của quá trình nguyên phân trên tổng tất cả các tế bào trong đơn vị quan tâm. Đây là một tiêu chuẩn quan trọng của sự sinh trưởng của mô MI và còn được xem là một tham số để thiết lập tần số phân chia nguyên nhiễm của tế bào (Asita and M. M., 2013).

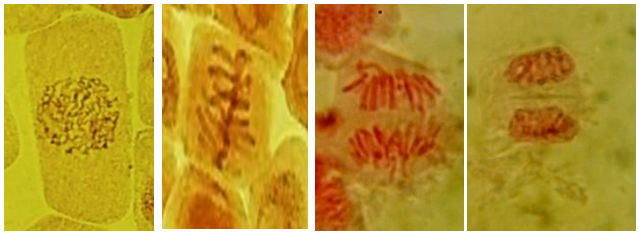
Trong nghiên cứu này, chế phẩm Regent 800WG được pha loãng sao cho dung dịch có nồng độ 0,005% và 0,008% fipronil để xử lý rễ hành ở các thời gian 4 giờ, 8 giờ và 24 giờ. Số lượng tế bào đang phân chia (ở kì đầu, kì giữa, kì sau và kì cuối) (Hình 1) được đếm trong tổng số 1.000 tế bào. Qua phân tích thống kê (Bảng 1, Bảng 2), với sự khác biệt có ý nghĩa (P = 0,05) giữa các nghiệm thức, có thể nhận thấy số tế bào nguyên phân khi xử lý Regent 800WG ở cả hai nồng độ fipronil và ở cả ba thời gian xử lý thuốc đều làm giảm chỉ số MI của tế bào rễ hành so với đối chứng âm. Nhìn chung, mức độ giảm của MI tăng dần theo nồng độ của hoạt chất trừ sâu và theo thời gian xử lý. Nghĩa là nồng độ fipronil càng cao thì chỉ số MI càng giảm, tương tự, thời gian xử lý càng lâu thì chỉ số MI cũng càng giảm, đặc biệt giảm đến 28,08% khi xử lý rễ hành với chế phẩm có nồng độ 0,008% fipronil trong 24 giờ. Điều này xảy ra có thể do các thành phần có trong chế phẩm, đặc biệt hoạt chất trừ sâu đã ức chế quá trình nhân đôi ADN ở pha S trong kì trung gian hoặc đã ngăn chặn các tế bào đi vào giai đoạn phân chia nguyên nhiễm (Sudhakar *et al*., 2001). Hơn nữa, theo Bakare *et al.* (2013), chỉ số MI giảm cũng có thể do ADN của tế bào bị phá hủy và sự bất ổn của hệ gen. LE (LE, 2008) cho rằng chỉ số phân bào có thể bị giảm do: (1) Các chất ức chế tế bào phân chia, (2) trục tế bào hoạt động không bình thường và (3) các nhiễm sắc thể bất thường xuất hiện.

Sự có mặt của các loại thuốc trừ sâu khác nhau làm giảm chỉ số MI ở tế bào rễ hành *Allium cepa* thuộc cùng chi với *Allium fistulosum* L. cũng được nhiều tác giả trên thế giới đề cập. Nghiên cứu của

Asita and Mokhoko (2013) cho thấy, MI của tế bào rễ hành *Allium cepa* giảm khi xử lý rễ hành trong 24 giờ bằng các thuốc trừ sâu QuickPhos (QP) (Aluminium Phosphide, 560 g/kg), Nuvan Profi (NP) (Dichlorvos, 124 g/kg) và *Eriocephalus punctulatus* plant smoke condensate (EPSC) ở các nồng độ (mg/mL) của QP (0,75; 1,5; 3,0), NP (0,064; 0,128; 0,256), EPSC (0,0025; 0,0049; 0,0098). Theo Al-Ahmadi (2013), chỉ số MI của tế bào rễ hành *Allium cepa* cũng giảm đáng kể khi xử lý rễ với hai loại thuốc trừ sâu Kingbo và Azdar 10EC ở các nồng độ 0,625, 1,62 và 2,5 mL/L trong thời gian 8 giờ, 16 giờ và 24 giờ. Khi xử lý rễ hành *Allium cepa* bằng EC_{50} nồng độ 20% trong thời gian 24 giờ, İlbaş *et al*. (2012) cũng có được kết quả tương tự các nghiên cứu trên, chỉ số MI giảm xuống còn 3,72% so với đối chứng âm. Trên một đối tượng thực vật khác là lúa mì *Hordeum vulgare* L. Var. Karan 4, Srivastava *et al*. (2008) đã phát hiện rằng tế bào rễ bị ức chế nguyên phân (giảm MI) khi xử lý rễ bằng 0,005% và 0,5% thuốc trừ sâu alphamethrin (AM) và monocrotophos (MP) trong 6 giờ.

Bảng 1: Số tế bào ở các kì nguyên phân của tế bào rễ hành khi xử lý Regent 800WG có 0,005% và 0,008% fipronil

Kì nguyên phân	Nồng độ fipronil	Thời gian xử lý Regent 800WG (giờ)	Giá trị trung bình số tế bào nguyên phân
Kỳ đầu	0,000	4	228,67
		8	206,67
		24	180,33
	0,005	4	215,33
		8	180,67
		24	167,00
	0,008	4	196,67
		8	164,33
		24	169,00
Kì giữa	0,000	4	11,00
		8	16,33
		24	18,67
	0,005	4	24,33
		8	15,00
		24	17,00
	0,008	4	17,33
		8	12,00
		24	12,00
Kì sau	0,000	4	13,33
		8	10,00
		24	18,00
	0,005	4	8,33
		8	9,00
		24	7,00
	0,008	4	5,00
		8	3,33
		24	4,33
Kì cuối	0,000	4	17,67
		8	14,33
		24	15,33
	0,005	4	15,00
		8	8,33
		24	11,33
	0,008	4	12,67
		8	15,00
		24	19,00



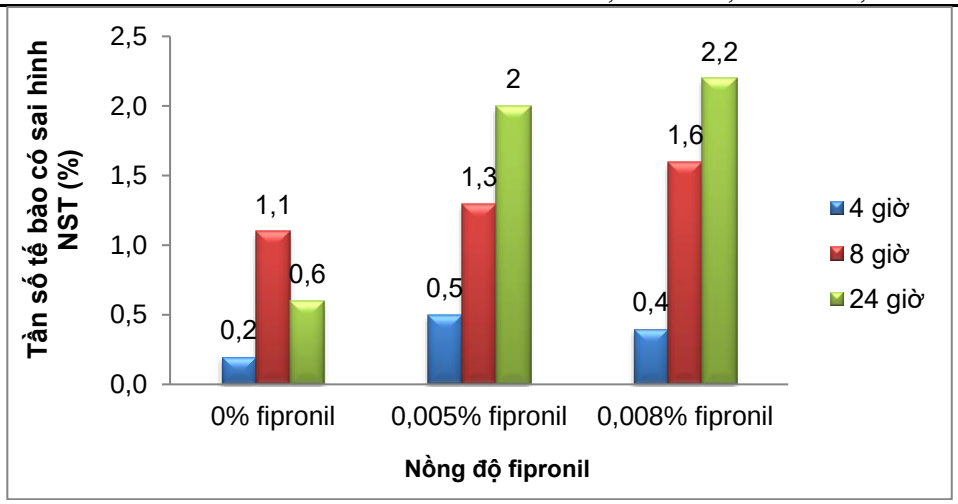
a b c d

Hình 1: Ảnh chụp hiển vi phóng đại 400 lần tế bào đang ở các kỳ của quá trình nguyên phân của rễ hành

a: Kỳ đầu; b: Kỳ giữa; c: Kỳ sau; d: Kỳ cuối

Bảng 2: Chỉ số MI của tế bào rễ hành khác biệt có ý nghĩa thống kê (P = 0,05) khi xử lý Regent 800WG có 0,005% và 0,008% fipronil

Nồng độ fipronil	Thời gian xử lý Regent 800WG (giờ)	Tổng số tế bào	Số tế bào đang phân chia	Chỉ số MI (%)	Độ lệch chuẩn	Tỷ lệ giảm MI (%)
0,000	4	1000	270,67	27,07*	0,71	-
	8	1000	247,33	24,73*	0,50	-
	24	1000	232,33	23,23*	1,05	-
0,005	4	1000	263	26,30*	0,36	2,83
	8	1000	213	21,30*	1,08	13,88
	24	1000	202	20,23*	0,32	13,05
0,008	4	1000	228,81	22,88*	2,69	1,52
	8	1000	204,33	20,43*	0,65	17,39
	24	1000	194,67	19,47	0,68	28,08

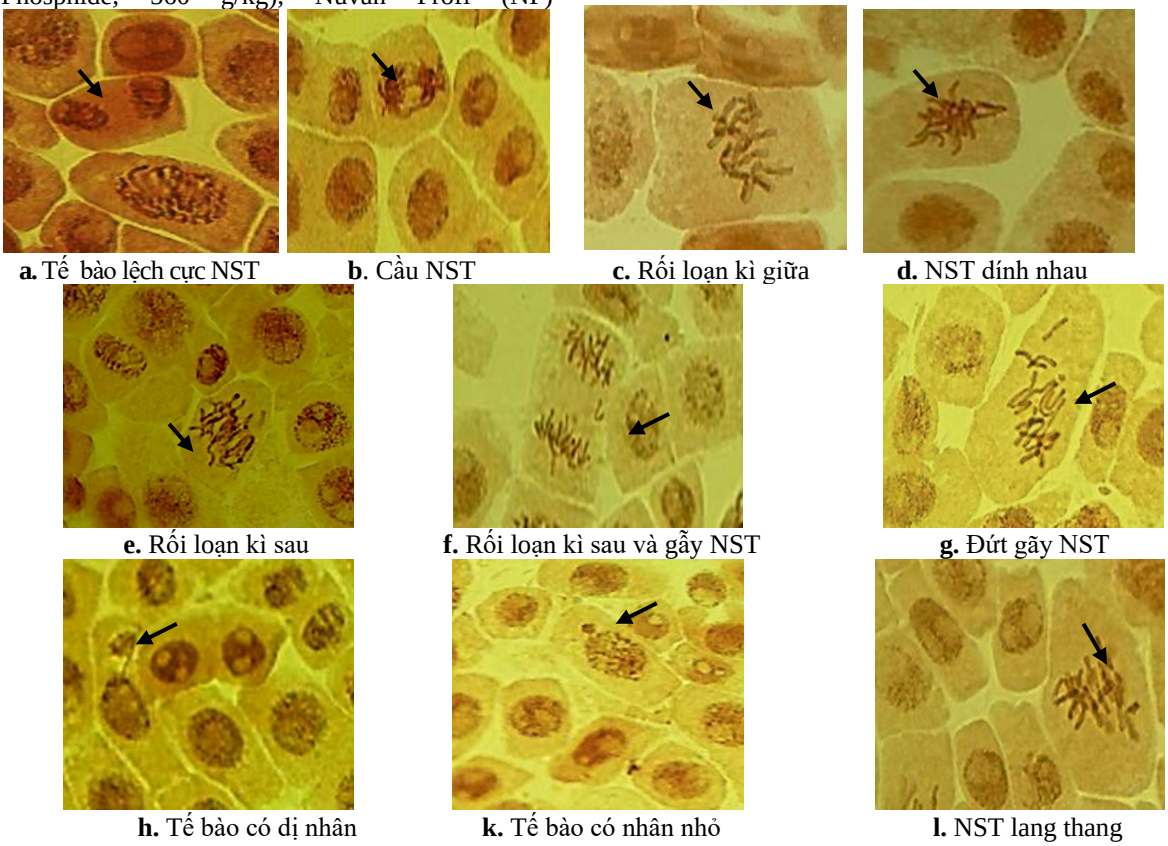


Hình 2: Ảnh hưởng của fipronil nồng độ 0,005% và 0,008% có trong Regent 800WG đến sai hình NST tế bào rễ hành

Kết quả thể hiện ở Hình 2 cho thấy, tần số các tế bào có bất thường về nhiễm sắc thể trong quá trình nguyên phân xảy ra tỷ lệ thuận với sự tăng nồng độ của thuốc trừ sâu. Rất nhiều dạng sai hình NST đã xuất hiện, gồm có dính NST, lệch trục phân chia, hình thành cầu NST ở kì sau, NST bị đứt gãy, hình thành nhân nhỏ, NST lang thang (Hình 3). Những bất thường này của nhiễm sắc thể đều đã được lý giải ở nhiều nghiên cứu trên thế giới: Sự dính nhau của NST (Hình 3 d) có thể do các thành phần trong thuốc trừ sâu đã ảnh hưởng đến tính chất lý hóa của ADN hoặc protein hoặc cả ADN và protein dẫn đến hình thành các phức hợp với nhóm phosphate và ADN trở nên đông đặc hoặc cũng có thể hình thành các liên kết chéo trong và ngoài NST (S. Al-Ahmadi, 2013). Ngoài ra, thuốc trừ sâu cũng có thể làm co xoắn ADN bất thường kéo theo NST đóng xoắn bất thường và có sự đan xen vướng víu vào nhau của các nhiễm sắc tử chị em (Asita and M. M., 2013); sự đứt gãy nhiễm sắc thể (Hình 3 f, g) có thể là hậu quả của hình thành cầu NST ở kì sau. Đồng thời, sự dính nhau giữa các NST cũng có thể dẫn đến chúng bị đứt gãy khi căng ra trong quá trình di chuyển về các cực tế bào ở kì sau (LE, 2008); sự

hình thành cầu NST ở kì sau (Hình 3 b) là một trong những trường hợp thường gặp của bất thường nhiễm sắc thể khi xử lí rễ hành bằng fipronil ở các nồng độ khác nhau; cầu NST có thể được hình thành do sự vỡ NST và tái hợp của chúng (Kaur and Grover, 1985); sự hình thành nhân nhỏ từ nhân lớn (Hình 3 h và k) ở tế bào kì trung gian là do thành phần của chế phẩm tương tác với ADN và cảm ứng phá hủy ADN (Srivastava *et al*., 2008), hoặc có thể do những đoạn nhỏ NST hoặc NST di chuyển chậm trong quá trình vận động nên không có mặt kịp thời để hình thành nhân mới của tế bào con mà tự chúng hình thành nhân nhỏ (Matsumoto *et al*., 2006). Trong nhiều trường hợp, thuốc trừ sâu đã ức chế sự hình thành sợi vi ống của thoi phân bào dẫn đến các NST không có chỗ dính bám và tự do trong tế bào (còn gọi là NST lang thang) (Hình 3) (Srivastava *et al*., 2008).

Sai hình nhiễm sắc thể của tế bào do sự có mặt các chế phẩm thương mại trừ sâu đã được nghiên cứu nhiều trên các đối tượng thực vật đặc biệt là *Allium cepa*. Khi xử lý rễ hành *Allium cepa* với bốn loại chế phẩm QuickPhos (QP) (Aluminium Phosphide, 560 g/kg), Nuvan Profi (NP) (Dichlorvos, 124 g/kg) và *Eriocephalus punctulatus* plant smoke condensate (EPSC) ở các nồng độ (mg/mL) tương ứng GT (12,5; 25; 50), QP (0,75; 1,5; 3,0), NP (0,064; 0,128; 0,256), EPSC (0,0025; 0,0049; 0,0098) trong 24 giờ, Asita và Mokhobo (2013) quan sát thấy xuất hiện các tế bào có NST bị dính, cầu NST ở kì cuối, NST bị đứt gãy, dị nhân và NST lang thang. Đặc biệt, tỷ lệ tế bào có dính NST chiếm đến 74,83% trong tất cả trường hợp bị sai hình NST. Kết quả nghiên cứu của Al-Ahmadi (S. Al-Ahmadi, 2013) trên rễ hành *Allium cepa* cho thấy khi xử lý rễ với hai loại thuốc trừ sâu Kingbo và Azdar 10EC ở các nồng độ 0,625; 1,62 and 2,5 mL/L trong thời gian 8 giờ, 16 giờ và 24 giờ, tế bào xuất hiện NST bị dính nhau, NST lang thang ở kì giữa và kì sau, cầu NST ở kì sau và kì cuối, đuôi NST và nhân nhỏ. Nồng độ thuốc trừ sâu càng cao và thời gian càng lâu thì tần số đột biến càng cao. Theo Srivastava *et al*. (2008), rễ của lúa mì *Hordeum vulgare* L. Var. Karan 4 cũng bị đứt gẫy NST, hình thành cầu NST, hình thành nhân nhỏ ở kì trung gian và dính NST khi có mặt 0,05%, 0,1% và 0,5% thuốc trừ sâu alphamethrin (AM) và monocrotophos (MP) trong 6 giờ.



a. Tế bào lệch cực NST **b**. Cầu NST **c.** Rối loạn kì giữa **d.** NST dính nhau

e. Rối loạn kì sau **f.** Rối loạn kì sau và gẫy NST **g.** Đứt gãy NST

h. Tế bào có dị nhân **k.** Tế bào có nhân nhỏ **l.** NST lang thang

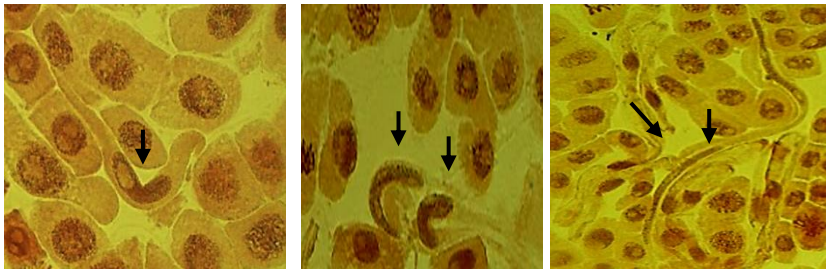
Hình 3: Ảnh chụp hiển vi phóng đại 400 lần tế bào rễ hành mang các dạng sai hình NST khi xử lý rễ bằng Regent 800WG có nồng độ fipronil 0,005% và 0,008%

Kết quả nghiên cứu cũng thể hiện rằng, các tế bào của mẫu đối chứng âm cũng xuất hiện sai hình nhiễm sắc thể với tần số khoảng 0,2-0,6%. Đây là tần số đột biến khá cao so với đột biến tự nhiên. Điều

này có thể là do sự tồn tại của dư lượng thuốc có trong hành củ mua từ hộ dân.

3.2 Sự biến dạng tế bào rễ hành sau khi xử lý Regent 800WG ở các nồng độ fipronil khác nhau

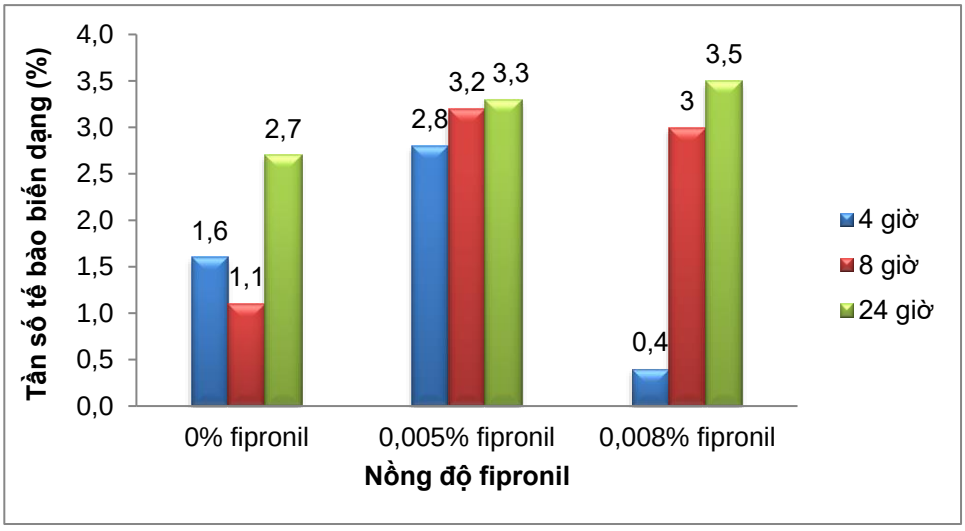
Kết quả nghiên cứu cho thấy rất nhiều tế bào rễ hành bị biến dạng sau khi xử lý Regent 800WG. Các tế bào này có hình dạng dài dài luồn lách giữa các tế bào có hình dạng bình thường dẫn đến tạo thành các kẽ hở không bình thường giữa các tế bào (Hình 4). Điều đặc biệt là nồng độ fipronil càng cao thì tần số tế bào bị biến dạng theo hướng càng dài ra kèm theo là nhân cũng biến dạng theo hình dạng tế bào, đồng thời tần số tế bào biến dạng cũng tăng dần. Ở mẫu đối chứng âm, rễ hành không xử lý với Regent 800WP, nhưng tỷ lệ tế bào cũng bị biến dạng khoảng 1,1% (Hình 5). Với kết quả thu được, có thể rễ hành được ủ trên môi trường cát bị nhiễm hóa chất. Tuy nhiên, thí nghiệm phụ được tiến hành (không đưa số liệu vào) cho thấy không phải do hành được ủ trên môi trường nhiễm hóa chất. Hơn nữa, tần số tế bào bị biến dạng ở các thời gian tương đương nhau, do đó, có thể bản thân hành củ mua về để nghiên cứu vẫn còn dư lượng thuốc trừ sâu trong đó. Kết quả này cũng phù hợp với số liệu ở trên, 0,2 - 1,1% (Hình 2) tế bào rễ hành ở mẫu đối chứng âm xuất hiện sai hình nhiễm sắc thể.



a b c

Hình 4: Ảnh chụp hiển vi phóng đại 400 lần tế bào bị biến dạng theo hướng dài ra khi xử lý rễ bằng Regent 800WG có nồng độ fipronil khác nhau. Mũi tên chỉ các tế bào bị biến dạng

a: Đối chứng âm; b: Mẫu xử lý 0,005% fipronil; c: Mẫu xử lý 0,008% fipronil



Hình 5: Ảnh hưởng của fipronil có nồng độ 0,008% và 0,005% trong Regent 800WG lên tần số biến dạng tế bào của rễ hành

4 KẾT LUẬN

Như vậy, khi xử lý bằng Regent 800WG đã pha loãng với nồng độ fipronil 0,005% và 0,008%, tế bào rễ hành *Allium fistulosum* L. có xu hướng giảm chỉ số nguyên phân tỷ lệ nghịch với nồng độ của fipronil và thời gian xử lý. Đồng thời, sai hình nhiễm sắc thể và hình dạng cũng như nhân của tế bào bị biến dạng tăng tỷ lệ thuận với sự tăng nồng độ và thời gian xử lý fipronil.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Asita, A.O. and Mokhoko, M.M., 2013. Clastogenic and Cytotoxic Effects of Four Pesticides Used to Control Insect Pests of Stored Products on Root Meristems of Allium cepa. Environment and Natural Resources Research, 3(2): 133-145.

Bakare, A.A., Alabi, O.A., Gbadebo, A.M., Ogunsuyi, O.I. and Alimba, C.G., 2013. In Vivo Cytogenotoxicity and Oxidative Stress Induced by Electronic Waste Leachate and Contaminated Well Water. Challenges, 4(2): 169–187.

İlbaş, A.İ., Gönen, U., Yilmaz, S. and Dadandi, M.Y., 2012. Cytotoxicity of Aloe vera gel extracts on Allium cepa root tip cells. Turkish Journal of Botany, 36(3): 263–268.

Journals, I., Njoku, K., Akinola, M. and Tommy, I.O., 2015. Genotoxicity of Industrial Paint Effluent on the Root Meristem of Allium Cepa. IOSR Journal of Environmental Science, 9(2): 11-17.

Kaur, P. and Grover, I.S., 1985. Cytological Effects of Some Organophosphorus Pesticides. Cytologia, 50(1): 199–211.

LE, M., 2008. The effect of three agricultural chemicals on mitotic division and seed protein banding profiles of Vicia faba. International Journal of Agriculture & Biology. 10(5): 499–504.

Matsumoto, S.T., Mantovani, M.S., Malaguttii, M.I.A., Dias, A.L., Fonseca, I.C. and Marin-Morales, M.A., 2006. Genotoxicity and mutagenicity of water contaminated with tannery effluents, as evaluated by the micronucleus test and comet assay using the fish Oreochromis niloticus and chromosome aberrations in onion root-tips. Genetics and Molecular Biology, 29(1): 148–158.

Njagi, G.D.E. and Gopalan, H.N.B., 1981. Mutagenicity Testing of Herbicides, Fungicides and Insecticides. Cytologia, 46: 169–172.

Rank J. and Nielsen M.H., 1997. Allium cepa anaphase-telophase root tip chromosome aberration assay on N-methyl-N-nitrosourea, maleic hydrazide, sodium azide, and ethyl methanesulfonate. Mutation Research. 390(1-2): 121-7.

S. Al-Ahmadi, M., 2013. Effects of organic insecticides, Kingbo and Azdar 10 EC, on mitotic chromosomes in root tip cells of Allium cepa. academicJournals. International Journal of Genetics and Molecular Biology, 5(5): 64–70.

Srivastava, A.K., Singh, P. and Singh, A.K., 2008. Sensitivity of the mitotic cells of barley (Hordeum vulgare L.) to insecticides on various stages of cell cycle. Pesticide Biochemistry and Physiology, 91(3): 186–190.

Sudhakar, R., Gowda, K.N.N. and Venu, G., 2001. Mitotic Abnormalities Induced by Silk Dyeing Industry Effluents in the Cells of Allium cepa. Cytologia, 66(3): 235–239.