

## ẢNH HƯỞNG CỦA THUỐC TRỪ SÂU HOẠT CHẤT QUINALPHOS ĐẾN HOẠT TÍNH MEN CHOLINESTERASE VÀ GLUTATHIONE-S-TRANSFERASE CỦA CÁ CHÉP (*CYPRINUS CARPIO*)

Nguyễn Quang Trung<sup>1</sup> và Đỗ Thị Thanh Hương<sup>2</sup>

### ABSTRACT

*Pesticide has been commonly used in rice farming for controlling pests. Residue of pesticide can affect on the aquatic animal health such as fish and crustaceans. The use of enzyme activity in fish, especially common species in rice field for instance common carp, silver barb,.. as bio-indicators for pesticide pollution monitoring is a new research direction. This study was conducted with two experiments. The first experiment was the determination of LC<sub>50-96 hrs.</sub> of quinalphos for fingerling sized common carp (*Cyprinus carpio*). The second experiment was determination of the cholinesterase (ChE) and glutathione-S-transferase (GST) activities of common carp (*Cyprinus carpio*) exposed to quinalphos at different concentrations. The treatments were 0; 0.076; 0.152 và 0.380 mg/l, 6 replicates for each concentration, 15 fish per 60 L-aquarium, and for 28 days. The LC<sub>50-96 hrs.</sub> of quinalphos for common carp was 0.76 mg/L. The brain, muscle and gill ChE activities levels of the fishes were significantly inhibited after 28 days at three tested concentrations if compared to control. The ChE inhibition tend to increase with increased concentrations. Meanwhile, quinalphos had no significant effect ( $p>0.05$ ) on brain, muscle and gill GST activities. The study indicated that ChE activity of common carp can be used to assess level of organophosphate pollution in rice fields.*

**Keywords:** quinalphos, *Cyprinus carpio*, Cholinesterase, glutathione-S-transferase

**Title:** The effects of quinalphos on cholinesterase and glutathione-s-transferase activities in common carp (*Cyprinus carpio*)

### TÓM TẮT

*Thuốc trừ sâu được sử dụng ngày càng phổ biến trong sản xuất lúa để không chế dịch bệnh; và dư lượng của thuốc có thể ảnh hưởng đến sức khỏe thủy sinh vật nhất là cá và giáp xác. Sử dụng hoạt tính của men (enzyme) trong cá nhất là những loài nuôi phổ biến trên ruộng như cá chép, mè vinh, ... để làm chất chỉ thị cho sự ô nhiễm thuốc trừ sâu là xu hướng mới. Nghiên cứu được thực hiện với hai thí nghiệm. Thí nghiệm thứ nhất là xác định giá trị LC<sub>50-96 giờ</sub> của thuốc trừ sâu hoạt chất quinalphos lên cá chép (*Cyprinus carpio*) cỡ giống. Thí nghiệm thứ hai là xác định sự ảnh hưởng của thuốc trừ sâu hoạt chất quinalphos đến những thay đổi hoạt tính men cholinesterase (ChE) và glutathione-S-transferase (GST) của cá chép (*Cyprinus carpio*). Thí nghiệm được thực hiện với 4 nồng độ là 0; 0,076; 0,152 và 0,380 mg/L, mật độ cá thí nghiệm là 15 con/bể kính 60 L nước, mỗi nồng độ được lập lại 3 lần, và thời gian thí nghiệm là 28 ngày. Kết quả thí nghiệm đã xác định được giá trị LC<sub>50-96 giờ</sub> của thuốc trừ sâu hoạt chất quinalphos đối với cá chép là 0,76 mg/L. Quinalphos làm giảm có ý nghĩa thống kê ( $p<0,05$ ) về hoạt tính men cholinesterase (ChE) ở não, cơ và mang ở tất cả các nồng độ thuốc so với đối chứng. Mức độ ức chế hoạt tính ChE tăng theo sự tăng của nồng độ thuốc. Trong khi đó, quinalphos không làm thay đổi có ý nghĩa thống kê ( $p>0,05$ ) về hoạt tính của men*

<sup>1</sup> Chi cục Thủy sản Cần Thơ

<sup>2</sup> Khoa Thủy sản, Trường Đại học Cần Thơ

*glutathione-S-transferase (GST) ở não, cơ và mang của cá trong thời gian thí nghiệm. Mức độ ức chế hoạt tính ChE có thể sử dụng để đánh giá mức độ nhiễm thuốc trừ sâu gốc lân hữu cơ trên đồng ruộng.*

**Từ khóa:** quinalphos, cá chép (*Cyprinus carpio*), Cholinesterase, glutathione-s-transferase

## 1 GIỚI THIỆU

Đồng bằng sông Cửu Long (ĐBSCL) là vùng sản xuất lúa trọng điểm và xuất khẩu gạo hàng đầu của cả nước. Sản lượng lúa ở ĐBSCL là 19.233.980 tấn, chiếm 53,74% tổng sản lượng lúa cả nước (Cục Thống kê TP.Cần Thơ, 2005). Nhằm gia tăng năng suất lúa để duy trì sản lượng cho tiêu thụ và xuất khẩu, việc sử dụng thuốc bảo vệ thực vật (BVTV) trên đồng ruộng ở ĐBSCL cũng gia tăng (Berg, 2001). Theo Ngô Văn Ngọc *et al.* (2001), thuốc trừ sâu được nông dân sử dụng nhiều nhất so với các loại nông dược khác. Nhóm lân hữu cơ là nhóm thuốc trừ sâu quan trọng nhằm kiểm soát sâu bọ, côn trùng, được sử dụng rộng rãi trong nông nghiệp (Rodrigues *et al.*, 2001).

Thuốc trừ sâu hoạt chất quinalphos (gốc lân hữu cơ) có nhiều tên thương phẩm khác nhau như: Quin 25EC, Kinalux 25EC, Methink 25EC, Quintox 25EC,...trong đó Kinalux 25EC là một trong những loại thuốc trừ sâu sử dụng phổ biến hiện nay có hiệu lực cao, trừ nhiều sâu hại như nhện gié, sâu phao, sâu đục bẹ, sâu cuốn lá trên lúa.

Theo báo cáo của Chi cục Thủy sản thành phố Cần Thơ (2011) cho thấy diện tích nuôi cá trong ruộng lúa ở thành phố Cần Thơ năm 2011 là 9.954 ha chiếm 73,5% tổng diện tích nuôi. Sản lượng nuôi đạt 3.256 tấn, bình quân đạt 327 kg/ha. Nuôi cá-lúa góp phần tăng thu nhập, cải thiện đời sống cho nông hộ. Cá chép là đối tượng nuôi phổ biến nhất trong ruộng lúa ở vùng ĐBSCL và Cần Thơ (Nguyễn Văn Hào *et al.*, 2001; Phan Văn Thành, 2008). Cá chép (*Cyprinus carpio*) là loài có giá trị kinh tế, phẩm chất thịt ngon, phân bố rộng trên toàn thế giới như châu Á, châu Âu, một số nước ở châu Mỹ, châu Phi. Cá chép (*Cyprinus carpio*) sống được ở nhiều loại hình thủy vực như sông, suối, ao, hồ, những vùng ngập lụt,...(www.fao.org). Vì vậy, cá chép sống trong ruộng lúa có nhiều cơ hội tiếp xúc với thuốc trừ sâu và có nguy cơ bị ảnh hưởng nhiều nhất. Theo Nguyễn Văn Hào *et al.* (2001), nông dân thường sử dụng thuốc trừ sâu diệt côn trùng vào giai đoạn giữa 30-60 ngày khi cá ở trong ruộng, báo cáo cho thấy một số cá bị chết sau khi người nuôi sử dụng thuốc trừ sâu.

Đa số nồng độ thuốc BVTV tồn tại trong môi trường ở mức dưới ngưỡng gây chết (Murty, 1988), Chebbi *et al.* (2009) cho rằng thuốc trừ sâu quinalphos (gốc lân hữu cơ) được sử dụng khá phổ biến trong canh tác nông nghiệp. Việc nhiễm quinalphos ở các nồng độ dưới ngưỡng gây chết trong hệ sinh thái nông nghiệp là khá phổ biến và ảnh hưởng lớn đến cá chép nuôi trong ruộng.

Thuốc trừ sâu gốc lân hữu cơ có tác dụng ức chế hoạt tính men cholinesterase (ChE) làm tê liệt quá trình dẫn truyền thần kinh (Phạm Văn Biên *et al.*, 2003). Sự ức chế hoạt tính ChE được sử dụng rộng rãi như là đánh dấu sinh học đối với thuốc trừ sâu gốc lân hữu cơ và carbamate (Edward *et al.*, 1991). Trong khi đó, glutathione-S-transferase (GST) đóng vai trò quan trọng trong việc phân giải các độc tố từ các chất bên trong cơ thể. Vì vậy, hoạt tính GST được sử dụng là đánh dấu sinh học khi tiếp xúc với độc chất có ái lực điện tử (Gallagher *et al.*, 1992, trích dẫn Osten, 2005).

Mục tiêu của nghiên cứu nhằm tìm hiểu ảnh hưởng của thuốc trừ sâu hoạt chất quinalphos đến thay đổi hoạt tính men ChE và GST của cá chép (*Cyprinus carpio*) trong điều kiện thí nghiệm.

## 2 PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1 Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện tại Bộ môn Dinh dưỡng và Chế biến Thủy sản, Khoa Thủy sản - Đại học Cần Thơ từ tháng 09/2009 đến tháng 12/2009.

### 2.2 Cá thí nghiệm

Cá chép có khối lượng bình quân  $9,2 \pm 0,7$  g, được thu mua từ trại cá giống ở quận Ninh Kiều, thành phố Cần Thơ. Tiêu chuẩn chọn cá thí nghiệm là cá phải khỏe mạnh, đồng cỡ và không có dấu hiệu bệnh (Câu 2). Cá được thuần dưỡng trong bể composite 2m<sup>3</sup> trước khi bố trí thí nghiệm ít nhất 14 ngày. Cá được bố trí vào các bể và không cho ăn 2 ngày trước khi bố trí thí nghiệm.

### 2.3 Thuốc thí nghiệm

Thuốc trừ sâu hoạt chất quinalphos thuộc gốc lân hữu cơ có tên thương mại là Kinalux 25 EC, được sản xuất bởi Công ty thuốc bảo vệ thực vật An Giang. Kinalux 25EC chứa 25% hoạt chất quinalphos có tên hóa học là 0,0 - diethyl 0 - 2 quinoxalin phosphorothioate.

### 2.4 Nguồn nước thí nghiệm

Sử dụng nguồn nước máy, nước được bơm vào các bể thí nghiệm, sục khí liên tục 48 giờ trước khi bố trí thí nghiệm.

### 2.5 Thức ăn cho cá

Trong thời gian thuần dưỡng cá trong bể composite và trong thí nghiệm xác định hoạt tính men, cho cá ăn thức ăn viên nổi Cargill có hàm lượng đạm 30%, cho ăn 2 lần/ngày theo nhu cầu (cho cá ăn no đến khi cá không ăn nữa).

### 2.6 Bố trí thí nghiệm

#### 2.6.1 Thí nghiệm xác định giá trị LC<sub>50</sub>-96 giờ của quinalphos lên cá chép

Thí nghiệm xác định giá trị LC<sub>50</sub> được tiến hành theo phương pháp nước tĩnh (APHA, 2005). Thí nghiệm được tiến hành qua 2 giai đoạn: Thí nghiệm tìm khoảng nồng độ gây độc của thuốc (thí nghiệm thăm dò) và thí nghiệm xác định giá trị LC<sub>50</sub>.

#### *Thí nghiệm xác định khoảng gây độc*

Thí nghiệm được bố trí với 10 nồng độ là 0; 0,23; 0,33; 0,47; 0,67; 0,96; 1,37; 1,96; 2,80 và 4,0 mg/L. Thí nghiệm được tiến hành trong bể kính 50 lít nước, mỗi bể bố trí 10 cá, có khối lượng 8-10 g. Ghi nhận số cá chết trong 96 giờ và tính toán khoảng gây độc để tiến hành thí nghiệm xác định giá trị LC<sub>50</sub>.

#### *Thí nghiệm xác định giá trị LC<sub>50</sub>*

Thí nghiệm được tiến hành với 7 nghiệm thức là 0; 0,2; 0,5; 0,8; 1,1; 1,5 và 1,8 mg/L. Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với 3 lần lặp lại. Mỗi nghiệm

thức được bố trí 10 cá có khối lượng 8-10 g trong bể kính chứa 50 lít nước. Trong thời gian thí nghiệm, không thay nước, không sục khí và không cho ăn. Ghi nhận số cá chết tại các thời điểm 1; 3; 6; 9; 12; 24; 36; 48; 72 và 96 giờ sau khi bố trí và bắt cá chết ra khỏi bể thí nghiệm để hạn chế sự phân hủy của xác cá ảnh hưởng xấu đến chất lượng nước. Chất lượng môi trường nước bể thí nghiệm được theo dõi bao gồm nhiệt độ, pH, oxy theo dõi 2 lần/ ngày vào buổi sáng lúc 7-8 giờ và buổi chiều lúc 14-15 giờ.

### 2.6.2 Thí nghiệm xác định hoạt tính ChE và GST của cá chép khi tiếp xúc với quinalphos

Thí nghiệm được bố trí 4 nghiệm thức là đối chứng, 10%, 20% và 50% giá trị LC<sub>50</sub>-96 giờ. Mỗi nghiệm thức được lập lại 6 lần và được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên trong bể kính 60 lít nước. Mỗi bể bố trí 15 cá có khối lượng trung bình 9,2±0,7 g.

Thu mẫu não, cơ và mang ở 0 ngày (trước khi tiếp xúc với thuốc), 1 ngày, 4 ngày, 7 ngày, 14 ngày, 21 ngày và 28 ngày sau khi tiếp xúc với thuốc. Mỗi nghiệm thức thu 6 cá. Trong thời gian thí nghiệm, các bể không có sục khí. Cá được cho ăn theo nhu cầu từ ngày thứ 3. Từ ngày thứ 7 tiến hành thay 30% lượng nước trong bể, đến ngày thứ 14 thay nước 100%. Sau đó tiếp tục thay nước 3 ngày/lần đến khi kết thúc thí nghiệm, mỗi lần thay 30%. Các chỉ tiêu môi trường như nhiệt độ, pH, oxy được đo hằng ngày.

## 2.7 Phương pháp phân tích mẫu

### 2.7.1 Phương pháp thu mẫu

Não, cơ và mang cá sau khi thu được đựng trong eppendofit 0,5 ml và được trữ ở -80°C cho đến khi nghiền mẫu. Khi phân tích hoạt tính men, các mẫu não, cơ và mang được giải đông và được nghiền bằng máy nghiền trong 1 ml dung dịch đệm KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>/K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (pH = 7,5). Mẫu được nghiền trong điều kiện lạnh, thêm 0,5 ml dung dịch đệm để duy trì độ lạnh và thêm 0,5 ml dung dịch đệm để tráng máy nghiền. Chuyển dung dịch vừa mới nghiền sang eppendofit 1,5 ml để tiến hành ly tâm ở điều kiện 4°C, vận tốc 10.000 vòng trong 10 phút. Sau đó, hút lấy phần nước trong nổi ở trên và trữ trong eppendofit 0,5 ml ở -80°C cho đến khi phân tích hoạt tính men ChE và GST.

### 2.7.2 Phân tích hoạt tính men cholinesterase (ChE) và glutathione-S- transferase (GST)

Hoạt tính của ChE được xác định theo phương pháp Ellman *et al.* (1961), đo bằng máy so màu quang phổ ở bước sóng 412 nm trong 3 phút. Hoạt tính của GST được xác định theo phương pháp của Habig *et al.* (1974), được đo bằng máy so màu quang phổ ở bước sóng 340 nm trong 3 phút. Hàm lượng protein được xác định bằng phương pháp Lowry *et al.* (1951).

## 2.8 Xử lý thống kê

Giá trị LC<sub>50</sub>-96 giờ được xác định dựa vào phương pháp Probit, tính toán trên phần mềm SPSS 11.5. Các số liệu hoạt tính các men được tính toán bằng chương trình Excel. So sánh trung bình giữa các nghiệm thức được dựa vào phép phân tích phương sai ANOVA (một và hai nhân tố) và phép thử DUNCAN với mức ý nghĩa p<0,05 bằng phần mềm SPSS 11.5.

### 3 KẾT QUẢ

#### 3.1 Các yếu tố môi trường trong thời gian thí nghiệm

Biến động các yếu tố môi trường được trình bày ở bảng 1. Trong thí nghiệm LC<sub>50</sub>, nhiệt độ bình quân ở các bể vào buổi sáng là 26,9 ±0,15°C và buổi chiều là 27,6 ±0,17°C, trong khi nhiệt độ bình quân của thí nghiệm xác định hoạt tính của men (enzyme) là 25,6 ±0,42°C vào buổi sáng và 26,1 ±0,29°C vào buổi chiều. pH tương đối ổn định dao động từ 7,84-7,92 đối với thí nghiệm LC<sub>50</sub> và 7,87-7,89 đối với thí nghiệm xác định hoạt tính men. Biến động hàm lượng oxy ở các bể thí nghiệm không lớn, dao động từ 3,60-3,64 mg/L (thí nghiệm LC<sub>50</sub>) và 3,20-3,44 mg/L (thí nghiệm xác định hoạt tính của enzyme). Nhìn chung, các yếu tố môi trường trong thời gian thí nghiệm là ổn định và gần như đồng nhất giữa các bể, không gây ảnh hưởng đến hoạt tính các men của cá chép.

**Bảng 1: Các yếu tố môi trường trong thời gian thí nghiệm**

Thí nghiệm	pH		Nhiệt độ (°C)		Oxy (mg/L)	
	Sáng	Chiều	Sáng	Chiều	Sáng	Chiều
LC <sub>50</sub>	7,8 ±0,05	7,9 ±0,04	26,9 ±0,2	27,6 ±0,2	3,6 ±0,3	3,6 ±0,3
Hoạt tính enzyme	7,9 ±0,03	7,9 ±0,06	25,6 ±0,4	26,1 ±0,3	3,2 ±0,2	3,4 ±0,2

#### 3.2 Xác định giá trị LC<sub>50</sub>-96 giờ của quinalphos đối với cá chép

Biểu hiện của cá khi mới tiếp xúc với quinalphos cho thấy cá hoạt động mạnh, đặc biệt là đối với nghiệm thức có nồng độ thuốc cao (1,5 và 1,8 mg/L), cá bơi lội nhiều nhưng không theo quy luật so với trước khi bổ trí thuốc. Sau khoảng 1 giờ, cá có biểu hiện bơi lội mất cân bằng, bơi lơ dờ. Biểu hiện cá sắp chết là cá chìm xuống đáy bể, không còn khả năng bơi lội, hô hấp ở mang yếu dần.

Sau 1 giờ thí nghiệm xuất hiện cá chết ở nồng độ 1,8 mg/L, sau 3 giờ xuất hiện cá chết ở nồng độ ≥ 1,5 mg/L, sau 9 giờ có cá chết ở nồng độ ≥ 1,1 mg/L. Sau 12 giờ phát hiện cá chết ở tất cả các nồng độ thuốc ngoại trừ nghiệm thức đối chứng và nồng độ 0,2 mg/L. Nhìn chung nồng độ thuốc càng tăng, cá chết càng sớm và tỷ lệ chết càng cao. Thời gian thí nghiệm càng dài, tỷ lệ cá chết càng cao.

Giá trị LC<sub>50</sub> giảm từ 1,25 mg/l ở 24 giờ xuống 0,83 mg/L ở 48 giờ và 0,76 mg/L ở 72 giờ. Giá trị LC<sub>50</sub> ở thời điểm 96 giờ đối với cá chép trong thí nghiệm là 0,76 mg/L (Bảng 2).

**Bảng 2: Kết quả tỷ lệ chết của cá chép giống**

Quinalphos (mg/L)	Tỷ lệ chết (%) ở các thời điểm khác nhau								
	1 giờ	3 giờ	6 giờ	9 giờ	12 giờ	24 giờ	48 giờ	72 giờ	96 giờ
ĐC	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,5	0	0	0	0	3,3	13,3	23,3	23,3	23,3
0,8	0	0	0	0	0	26,7	46,7	53,3	53,3
1,1	0	0	3,33	3,33	10	36,7	66,7	70	70
1,5	0	23,3	36,4	40	43,3	56,7	80	93,3	93,3
1,8	13,3	83,3	90	90	90	90	90	100	100
LC <sub>50</sub> (mg/L)						1,25	0,83	0,76	0,76

### 3.3 Ảnh hưởng của quinalphos lên hoạt tính men cholinesterase và glutathione-S-transferase

#### 3.3.1 Ảnh hưởng của quinalphos lên hoạt tính men cholinesterase

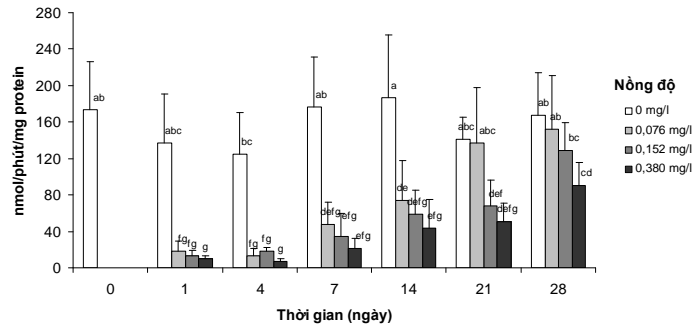
Biến đổi hoạt tính ChE theo nồng độ thuốc và thời gian được trình bày ở bảng 3. Kết quả cho thấy có sự tương tác giữa nồng độ quinalphos và thời gian thí nghiệm lên hoạt tính men ChE ở não. Điều này có nghĩa là quinalphos làm thay đổi hoạt tính men ChE ở não và phụ thuộc vào thời gian. Ảnh hưởng của các nồng độ thuốc đến hoạt tính men ChE ở não theo thời gian được trình bày ở hình 1. Kết quả cho thấy hoạt tính ChE ở não có xu hướng giảm có ý nghĩa ở tất cả các nồng độ thuốc so với đối chứng ( $p < 0,05$ ). Hoạt tính ChE ở não giảm thấp nhất được ghi nhận ở ngày thứ 4 ở các nồng độ 0,076 mg/L; 0,152 mg/L và 0,38 mg/L tương đương mức độ ức chế lần lượt là 90,9%; 89,7% và 95,7%. Hoạt tính ChE ở não có khuynh hướng phục hồi dần sau khi thay nước. Sau 21 ngày thí nghiệm, hoạt tính ChE ở não đối với nồng độ 0,076 mg/L có biểu hiện phục hồi hoàn toàn. Đến ngày thứ 28, hoạt tính ChE ở não đối với nồng độ 0,152 mg/L đã phục hồi hoàn toàn và khác biệt không có ý nghĩa thống kê so với đối chứng ( $p > 0,05$ ). Trong khi đó, ở nồng độ 0,38 mg/L, hoạt tính ChE ở não có dấu hiệu phục hồi không hoàn toàn và khác biệt có ý nghĩa so với đối chứng sau 28 ngày ( $p < 0,05$ ).

**Bảng 3: Ảnh hưởng của các nồng độ quinalphos đến hoạt tính ChE**

Nhân tố	Hoạt tính ChE (nmol/phút/mg protein)		
	Não	Cơ	Mang
<b>Nồng độ (mg/L)</b>			
0 (ĐC)	157,99 ± 49,68 <sup>a</sup>	77,56 ± 33,03 <sup>a</sup>	20,54 ± 15,47 <sup>a</sup>
0,076	74,32 ± 33,99 <sup>b</sup>	26,09 ± 10,86 <sup>b</sup>	8,16 ± 3,35 <sup>b</sup>
0,152	53,81 ± 19,99 <sup>c</sup>	18,12 ± 7,96 <sup>bc</sup>	8,05 ± 3,44 <sup>b</sup>
0,38	35,02 ± 11,69 <sup>d</sup>	12,34 ± 5,64 <sup>c</sup>	5,64 ± 4,92 <sup>b</sup>
<b>Thời gian (ngày)</b>			
0	173,32 ± 52,82 <sup>a</sup>	75,81 ± 42,63 <sup>a</sup>	21,20 ± 14,47 <sup>a</sup>
1	44,75 ± 18,40 <sup>c</sup>	21,26 ± 8,16 <sup>d</sup>	6,55 ± 6,80 <sup>b</sup>
4	41,54 ± 14,95 <sup>c</sup>	17,32 ± 10,64 <sup>d</sup>	4,58 ± 5,56 <sup>b</sup>
7	70,34 ± 28,60 <sup>d</sup>	31,34 ± 8,99 <sup>cd</sup>	7,89 ± 9,93 <sup>b</sup>
14	87,21 ± 36,65 <sup>cd</sup>	37,94 ± 27,10 <sup>bc</sup>	9,91 ± 7,93 <sup>b</sup>
21	99,30 ± 33,31 <sup>c</sup>	43,61 ± 14,24 <sup>bc</sup>	11,39 ± 5,10 <sup>b</sup>
28	134,74 ± 40,32 <sup>b</sup>	50,13 ± 14,71 <sup>b</sup>	22,47 ± 27,04 <sup>a</sup>
<b>P value</b>			
Nồng độ	0,57	0,12	0,58
Ngày	0,27	0,87	0,26
Nồng độ x Ngày	0,57	0,88	0,58

Các giá trị trong bảng thể hiện số trung bình ± độ lệch chuẩn

Các giá trị trong cùng một cột cùng mẫu tự (a,b,c,d,e) khác biệt không có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ )



**Hình 1: Ảnh hưởng của các nồng độ quinaphos lên hoạt tính ChE ở não**

Biến đổi hoạt tính ChE ở cơ theo nồng độ thuốc và thời gian được trình bày ở bảng 3. Kết quả cho thấy không có sự tương tác giữa nồng độ thuốc và thời gian thí nghiệm lên hoạt tính ChE ở cơ tuy nhiên khác biệt có ý nghĩa thống kê về nồng độ thuốc và thời gian thí nghiệm ( $p < 0,05$ ). Hoạt tính men ChE ở cơ cũng có chiều hướng giảm mạnh sau khi cá tiếp xúc với thuốc ( $p < 0,05$ ). Hoạt tính ChE ở cơ bị ức chế ở các nồng độ 0,076 mg/L, 0,152 mg/L và 0,38 mg/L lần lượt là 67%, 76,1% và 84,7%. Hoạt tính ChE ở cơ có biểu hiện phục hồi sau khi thay nước. Tuy nhiên, sự phục hồi hoạt tính ChE ở cơ là không hoàn toàn sau 28 ngày ( $p < 0,05$ ).

Tương tự ở cơ, không có sự tương tác giữa nồng độ thuốc và thời gian lên hoạt tính ChE ở mang nhưng khác biệt có ý nghĩa thống kê về nồng độ thuốc và thời gian thí nghiệm ( $p < 0,05$ ) (Bảng 3). Kết quả thí nghiệm cho thấy hoạt tính ChE ở mang giảm mạnh ở các nồng độ thuốc và khác biệt có ý nghĩa so với đối chứng ( $p < 0,05$ ). Mức độ ức chế hoạt tính ChE ở mang đối với các nồng độ 0,076 mg/L, 0,152 mg/L và 0,38 mg/L lần lượt là 60,7%, 60,4% và 75,3%. Hoạt tính ChE ở mang có dấu hiệu phục hồi dần sau khi thay nước và phục hồi hoàn toàn sau 28 ngày.

**3.3.2 Ảnh hưởng của quinalphos lên hoạt tính glutathione-s-transferase**

Biến đổi hoạt tính GST được trình bày ở bảng 4. Kết quả cho thấy không có sự tương tác giữa nồng độ thuốc và thời gian thí nghiệm lên hoạt tính GST ở não, cơ và mang (Bảng 4). Hoạt tính GST cao nhất được ghi nhận ở não, dao động 136,2-153,9 nmol CDNB/phút/mg protein; ở mang dao động 94,2-111,5 nmol CDNB/phút/mg protein, trong khi đó, hoạt tính GST ở cơ là thấp nhất, dao động 30,6-41,7 nmol CDNB/phút/mg protein.

Hoạt tính GST ở não có xu hướng tăng dần theo thời gian so với thời điểm trước khi tiếp xúc với thuốc, đạt giá trị cao nhất là 158,5 nmol CDNB/phút/mg protein sau 7 ngày, tăng 30% so với thời điểm 0 giờ tuy nhiên sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ). Hoạt tính GST ở mang có xu hướng giảm vào ngày thứ 4 sau đó tăng lên ở ngày 7 sau đó duy trì tương đối ổn định đến khi kết thúc thí nghiệm và sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ). Trong khi đó, hoạt tính GST ở cơ ít biến động sau 28 ngày thí nghiệm ( $p > 0,05$ ), dao động 30,7-37,0 nmol CDNB/phút/mg protein.

**Bảng 4: Ảnh hưởng của các nồng độ quinalphos đến hoạt tính GST**

Nhân tố	Hoạt tính GST (nmol CDNB/phút/mg protein)		
	Não	Cơ	Mang
<b>Nồng độ (mg/L)</b>			
0 (ĐC)	153,88 ± 79,27 <sup>a</sup>	41,71 ± 24,85 <sup>a</sup>	111,51 ± 51,22 <sup>a</sup>
0,076	147,54 ± 51,93 <sup>a</sup>	32,61 ± 18,31 <sup>a</sup>	106,80 ± 60,50 <sup>a</sup>
0,152	136,23 ± 48,70 <sup>a</sup>	30,60 ± 20,58 <sup>a</sup>	100,08 ± 41,14 <sup>a</sup>
0,38	144,66 ± 58,13 <sup>a</sup>	31,42 ± 18,74 <sup>a</sup>	94,15 ± 44,31 <sup>a</sup>
<b>Thời gian (ngày)</b>			
0	121,57 ± 54,86 <sup>a</sup>	36,57 ± 13,65 <sup>a</sup>	107,35 ± 24,75 <sup>a</sup>
1	142,77 ± 69,79 <sup>a</sup>	37,15 ± 16,18 <sup>a</sup>	103,64 ± 48,18 <sup>a</sup>
4	152,02 ± 43,34 <sup>a</sup>	36,97 ± 23,43 <sup>a</sup>	73,90 ± 38,47 <sup>a</sup>
7	158,49 ± 71,95 <sup>a</sup>	30,74 ± 19,01 <sup>a</sup>	104,56 ± 78,18 <sup>a</sup>
14	145,88 ± 65,78 <sup>a</sup>	31,76 ± 26,77 <sup>a</sup>	113,58 ± 67,56 <sup>a</sup>
21	154,70 ± 65,96 <sup>a</sup>	32,99 ± 20,53 <sup>a</sup>	117,67 ± 43,94 <sup>a</sup>
28	127,67 ± 46,32 <sup>a</sup>	36,20 ± 20,63 <sup>a</sup>	106,48 ± 26,05 <sup>a</sup>
<b>P value</b>			
Nồng độ	0,57	0,12	0,58
Ngày	0,27	0,87	0,26
Nồng độ x Ngày	0,57	0,88	0,58

Các giá trị trong bảng thể hiện số trung bình ± độ lệch chuẩn

Các giá trị trong cùng một cột cùng mẫu tự (a) khác biệt không có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ )

#### 4 THẢO LUẬN

Trong thời gian thí nghiệm, các bể không được sục khí nhưng hàm lượng oxy trong bể luôn được duy trì  $\geq 3$  mg/L. Theo Kutty và Saunders (1972) cho rằng cá chép bơi lội bình thường khi hàm lượng oxy 1-2 mg/L (Trích dẫn [www.fao.org](http://www.fao.org)). Tốc độ tăng trưởng của cá chép đạt 100% khi hàm lượng oxy là 4 mg/l và 70-80% khi hàm lượng oxy là 3 mg/L ([www.fao.org](http://www.fao.org)). Do đó, biến động hàm lượng oxy trong các bể thí nghiệm không ảnh hưởng nhiều đến sự phát triển bình thường của cá chép. Giá trị pH trong các thí nghiệm rất ổn định (Bảng 1). pH thích hợp đối với phát triển bình thường của cá chép là 6,5-9 ([www.fao.org](http://www.fao.org)). Nhìn chung, các yếu tố môi trường trong thời gian thí nghiệm là ổn định và gần như đồng nhất giữa các bể, không gây ảnh hưởng đến hoạt tính các men ở cá chép.

Theo Đỗ Thị Thanh Hương (1997) nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ thuốc Basudin (hoạt chất diazinon) khác nhau lên hoạt động của men AChE của cá chép trong bể kính thì ở nồng độ thuốc cao (3,7 mg/L), cá bị co giật không điều khiển được hoạt động cơ thể, di chuyển chậm chạp hoặc mất thăng bằng. Sự ức chế AChE dẫn đến sự tích tụ acetylcholine trong các synapse làm gây độc thần kinh và giảm vận chuyển choline (Mileson *et al.*, 1998). Khi hoạt tính ChE bị ức chế mạnh dẫn đến cá có biểu hiện bơi lội mất thăng bằng, sau đó cá chìm xuống đáy bể, hô hấp ở mang yếu dần và sau cùng là chết.

Kết quả thí nghiệm LC<sub>50</sub> cho thấy hoạt chất quinalphos là loại thuốc có độc tính rất cao ( $< 1$  mg/L) theo phân loại của Koesoemadinata và Djajadirecdja (1976).

Mức độ độc của Basudin 40EC (gốc lân hữu cơ) đối với cá chép, cá mè vinh và cá rô phi gần như tương đương nhau, giá trị LC<sub>50</sub>-96 giờ lần lượt là 3,66 mg/l; 3,69 mg/l và



3,50 mg/l (Đỗ Thị Thanh Hương, 1997). Giá trị  $LC_{50-96}$  giờ của Ekalux EC 25 (hoạt chất quinalphos) lên cá chép (*Cyprinus carpio*) và cá trôi (*Catla catla*) lần lượt là 3,0 mg/L và 4,25 mg/L (Alam và Shafi, 1990). Giá trị  $LC_{50-96}$  giờ của quinalphos đối với cá lóc (*Channa punctatus*) là 0,25 mg/L (Sastri và Siddiqui, 1982).

Hoạt tính AChE bị ức chế trên 70% có nguy cơ dẫn đến tử vong (Zinkl *et al.*, 1991). Tuy nhiên một số loài vẫn còn sống khi mức độ ức chế ChE là 50% tuy nhiên tình trạng này cho thấy sự sống của chúng đang bị đe dọa (Lukde *et al.*, 1975).

Mức độ ức chế ChE được duy trì đến 30 ngày khi tiếp xúc với nhóm lân hữu cơ đối với *Callichthys callichthys* (cá bản địa ở Brazil) (Silva *et al.*, 1993). Cá rô phi *Oreochromis mossambicus* khi tiếp xúc với nồng độ  $LC_{50}$  và nồng độ dưới ngưỡng gây chết thì hoạt tính ChE ở não và mang bị ức chế 90% trong 24 giờ và phục hồi hoàn toàn sau 28 ngày (Venkateswara *et al.*, 2003; trích dẫn Guimaraes *et al.*, 2007).

Nguyễn Trọng Hồng Phúc (2009) nghiên cứu ảnh hưởng của fenobucarb (gốc carbamate) lên hoạt tính men ChE của cá chép *Cyprinus carpio* cho biết fenobucarb từ khi tiếp xúc thuốc đến 4 ngày hoạt tính ChE trong não cá chép bị ảnh hưởng mạnh. Ở nồng độ 10,33 mg/L thì cá bị ức chế đến 89,3% và cá chết khi hoạt tính ChE bị ức chế trên 82%.

Cá chép *Cyprinus carpio* cỡ 2 g tiếp xúc với quinalphos ở nồng độ 1,5  $\mu$ l/L (20%  $LC_{50}$ ) cho thấy hoạt tính men ChE ở bị ức chế sau 14 ngày ở não, cơ, mang và gan lần lượt là 75,3%; 72,5%; 58,3% và 51,2%. Sau thời gian 7 ngày phục hồi bằng thay 100% nước không thuốc, hoạt tính ChE được phục hồi dần ở não là 60,2%, cơ 65,4%, mang 76,3% và gan 82,5% (Chebbi *et al.*, 2009).

Cá chép *Cyprinus carpio* tiếp xúc với thuốc trừ sâu hoạt chất diazinon ở các nồng độ dưới ngưỡng gây chết của diazinon là 0.0036, 0.018 and 0.036 ppb trong thời gian 5, 15 và 30 ngày, cho thấy hoạt tính AChE ở mang không bị ảnh hưởng nhiều ở ngày 5 và 15, mức độ ức chế AChE ở nồng độ 0,0036 và 0,036 ppb lần lượt là 32,5% và 40%. Hoạt tính AChE ở cơ bị ức chế 37,3-55,5% ở tất cả các nồng độ thuốc (Oruc và Usta, 2007) (Câu 3).

Kết quả nghiên cứu phù hợp với các nghiên cứu của Đỗ Thị Thanh Hương (1997), Nguyễn Văn Công *et al.* (2006), Cong *et al.* (2009), Nguyễn Thị Quế Trân (2010), Nguyễn Thị Hồng Nhi (2010) và Đỗ Văn Bức (2010). Các tác giả này có nhận định chung là hoạt tính ChE bị ức chế mạnh sau khi tiếp xúc với thuốc trừ sâu gốc lân hữu cơ trong 96 giờ.

Hoạt tính ChE ở não của cá lóc giống vẫn chưa phục hồi hoàn toàn sau 2 tháng thí nghiệm ở nồng độ 0,079 và 0,35 mg/L. Sự ức chế hoạt tính ChE lâu dài có thể liên quan đến hiệu quả của sự đào thải và chuyển hóa của diazinon (Cong *et al.*, 2009). Trong công thức cấu tạo của quinalphos (gốc lân hữu cơ) có liên kết P=S bền hơn liên kết P=O do đó có thể ảnh hưởng đến sự phục hồi hoạt tính ChE khi tiếp xúc với hoạt chất quinalphos. Rao (2004) cho rằng sự phục hồi sẽ chậm hơn đối với liên kết P=S khi so với liên kết P=O. Vì vậy, sự phục hồi hoàn toàn của AChE ở não trong thời gian 34-36 ngày đối với thuốc trừ sâu gốc lân hữu cơ có liên kết P=S, trong khi đó với liên kết P=O của thuốc monochlorophos, thời gian phục hồi chỉ mất có 22 ngày.

Sự phục hồi men ChE khi tiếp xúc thuốc trừ sâu gốc lân hữu cơ biểu hiện bởi sự tăng hoạt tính trong 96 giờ sau khi chuyển sang môi trường nước sạch tuy nhiên thời gian phục hồi hoàn toàn hoạt tính men ChE trong môi trường sạch là 35 ngày. Thời gian cần thiết cho sự phục hồi men đối với azinphosmethyl và parathion lần lượt là 28 và 33 ngày (Ferrari *et al.*, 2004).

Haluzova *et al.* (2009) cho rằng cá chép giống tiếp xúc với nồng độ dưới ngưỡng gây chết của thuốc trừ sâu Successor® 600 (0,06 mg/L, 0,22 mg/L và 0,60 mg/L) trong 28 ngày, thuốc không ảnh hưởng đến hoạt tính men glutathion-S-transferase (GST) ở gan đối với nồng độ 0,06 mg/L, trong khi đó tính men GST gia tăng có ý nghĩa ( $p < 0.05$ ) ở nồng độ 0,22 mg/L và 0,6 mg/L sau 28 ngày thí nghiệm (Câu 3).

Kết quả thí nghiệm cũng phù hợp với các nghiên cứu của Nguyễn Quang Trung (2010) và Đỗ Văn Bức (2010). Các tác giả này cho rằng quinalphos không ảnh hưởng nhiều đến hoạt tính men GST ở não của cá mè vinh *Barbonymus gonionotus* và cá rô phi *Oreochromis niloticus*. Kết quả nghiên cứu cho thấy hoạt tính GST ở não và mang có khuynh hướng tăng so với đối chứng, chứng tỏ men GST được sản sinh ra để khử độc hydroperoxide, được xem là pha II của quá trình phân giải độc tố. Trong khi đó, hoạt tính GST ở cơ ít biến động, điều này có thể ảnh hưởng đến quá trình phân giải độc chất và thời gian phục hồi hoạt tính GST ở cơ cá chép.

Tóm lại, hoạt tính ChE cao nhất được ghi nhận ở não, kế đến là cơ và thấp nhất là ở mang. Mức độ ức chế hoạt tính ChE tăng theo nồng độ thuốc. Hoạt tính ChE giảm thấp nhất ở ngày thứ 4 sau đó hoạt tính ChE ở não, cơ và mang đều có biểu hiện phục hồi dần. Theo Peakall (1992), hoạt tính ChE rất nhạy cảm với hóa chất bảo vệ thực vật gốc lân hữu cơ và carbamate và đã được đề nghị sử dụng làm đánh dấu sinh học chỉ sự ô nhiễm các hóa chất này (Trích dẫn Nguyễn Văn Công *et al.*, 2006). Trong khi đó, thuốc trừ sâu quinalphos không ảnh hưởng nhiều đến hoạt tính men GST của cá chép (*Cyprinus carpio*).

## 5 KẾT LUẬN VÀ ĐỀ XUẤT

### 5.1 Kết luận

Giá trị  $LC_{50-96}$  giờ của thuốc trừ sâu hoạt chất quinalphos đối với cá chép là 0,76 mg/L. Quinalphos (gốc lân hữu cơ) là thuốc trừ sâu có độc tính rất cao.

Thuốc trừ sâu hoạt chất quinalphos làm giảm đáng kể hoạt tính men ChE ở não, cơ và mang ở tất cả các nồng độ thuốc so với đối chứng ( $p < 0,05$ ). Mức độ ức chế hoạt tính ChE tăng theo sự gia tăng của nồng độ thuốc, có thể ức chế mạnh hoạt tính men ChE của cá ở nồng độ thấp (0,076 mg/L). Có sự tương tác giữa nồng độ thuốc và thời gian thí nghiệm lên hoạt tính ChE ở não.

Quinalphos không làm thay đổi có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ) lên hoạt tính của men GST ở não, cơ và mang.

### 5.2 Đề xuất

Mức độ ức chế hoạt tính ChE có thể sử dụng để đánh giá mức độ nhiễm thuốc trừ sâu gốc lân hữu cơ như thuốc trừ sâu quinalphos.

Hạn chế sử dụng thuốc trừ sâu quinalphos hoặc lựa chọn loại thuốc ít gây độc cho cá (Câu 4).

### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Alam MN, Shafi M., 1990. Toxicity to the fingerling of a carp, *Catla catla*, by the pesticide, Ekalux EC 25. *INDIAN J ANIM RES*; 24 (1). 44-46.
- APHA., 2005. Standard methods for examination of water and waste water. Edited by Eaton A.D, Cleseri L.S, Rice E.W., Greenberg A.E. *Publish Health Assosiation. Washington DC*.
- Chi cục Thủy sản thành phố Cần Thơ, 2011. Báo cáo công tác tháng 12 năm 2011. 6 trang
- Chebbi, S.G. and David, M., 2009. Neurobehavioral responses of the freshwater teleost, *Cyprinus carpio* (linnaeus.) under quinalphos intoxication. *Biotechnology in Animal Husbandry* 25 (3-4), p 241-249.
- Cong Nguyen Van, Nguyen Thanh Phuong, Mark Bayley., 2009. Effects of repeated exposure of diazinon on cholinesterase activity and growth in the snakehead fish (*Channa striata*). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 72, pp: 699– 703.
- Cục Thống kê TP Cần Thơ, 2005. Số liệu kinh tế xã hội Đồng Bằng Sông Cửu Long 2000-2004, tháng 8/2005. 260 trang.
- Đỗ Thị Thanh Hương, 1997. Ảnh hưởng của Basudin 50EC lên sự thay đổi chỉ tiêu sinh lý và huyết học của cá chép, cá rô phi, cá mè vinh. Luận án thạc sĩ ngành nuôi trồng thủy sản, trường Đại học Nha Trang.
- Đỗ Văn Bức, 2010. Ảnh hưởng của thuốc trừ sâu hoạt chất quinalphos (gốc lân hữu cơ) lên một số chỉ tiêu sinh lý, sinh hóa và tăng trưởng của cá rô phi (*Oreochromis niloticus*). Luận văn Thạc sĩ Nuôi trồng thủy sản--Đại học Cần Thơ
- Edwards, C.A., Fisher, S.W., 1991. The use of cholinesterase measurement in assessing the impact of pesticides on terrestrial and aquatic invertebrates. In: Mineau, P. (Ed.), *Cholinesterase Inhibiting Insecticides. Their Impact on Wildlife and the Environment*, Vol. 2. Chemicals in Agriculture. Elsevier, New York, NY, USA, pp. 255–275.
- Ellman, G.L., Courtney, K.D., Andres Jr., V., Featherstone, R.M., 1961. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem.Pharma*, 7, pp. 88–95
- Ferrari, A, Venturino, A and D'Angelo, A.M.P., 2004. Time course of brain cholinesterase inhibition and recovery following acute and subacute azinphosmethyl, parathion and carbaryl exposure in the goldfish (*Carassius auratus*). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 57, pp: 420–425.
- Guimaraes, A.T.B., H.C.S. Assis., W. Boeger., 2007. The effect of trichlorfon on acetylcholinesterase activity and hispathology of cultivated fish *Oreochromis niloticus*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 68, pp: 57– 62.
- Habig, W.H., Pabst, M.J., Jakoby, W.B., 1974. Glutathione S –transferase. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J. Biol. Chem.* 249, 7130-7139.
- Haluzova, I., J. Blahova, L. Smejkalova, K. Kruzikova, M. Havelkova, L. Groch, H. Modra, M. Slais , Z. Svobodova Effects of subchronic exposure to Successor® 600 on common carp *Cyprinus carpio*. *Neuroendocrinology Letters Volume 30 Suppl. 1 2009, p 230-235*
- Koesomadinata, S. and R. Djajadiredja., 1976. Some Aspects on the Regulation of Agriculture use of Pesticide in Indonesia, with Reference to Their Effects on Inland Fishery. IFRI Contribution No. 3, 14p.
- Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L., Randall, R.J., 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem*, 193, pp. 265–275.
- Ludke, L.K., Hill, E.F., Dieter, M.P., 1975. Cholinesterase (ChE) response and related mortality among birds fed ChE inhibitors. *Environ. Contam. Toxicol.* 3, 1–21.
- Mileson, B.E., Chambers, J.E., Chen, W.L., Dettbarn, W., Ehrich, M., Eldefrawi, A.T., Gaylor, D.W., Hamernik, K., Hodgson, E., Karczmar, A.G., Padilla, S., Pope C.N.,

- Richardson, R.J., Saunders, D.R., Sheets, L.P., Sultatos, L.G. , Wallance K.B., 1998. Common mechanism of toxicity: A case study of organophosphorus pesticides. *J Toxic Sci* 41, 8-20.
- Murty, A.S., 1988. Toxicity of pesticides to fish Vol I, II. *Boca Raton, Florida*. 178 and 143 pp.
- Ngô Văn Ngọc, Lê Thanh Hùng và Hakan Berg, 2001. Điều tra về ảnh hưởng của nông dược đã sử dụng trong hệ thống nuôi lúa-cá ở Nhà Bè và Mộc Hóa, Việt Nam. Kỷ yếu Hội thảo Quốc tế canh tác lúa cá. Nhà xuất bản Nông nghiệp. 159 trang.
- Nguyễn Quang Trung, 2010. Ảnh hưởng của thuốc trừ sâu Kinalux 25EC lên các chỉ tiêu sinh lý và sinh hóa của cá mè vinh *Barbonymus gonionotus*. Đề tài nghiên cứu khoa học cấp trường-Đại học Cần Thơ.
- Nguyễn Thị Hồng Nhi, 2010. Ảnh hưởng của thuốc trừ sâu chứa hoạt chất diazinon lên một số chỉ tiêu sinh lý và hoạt tính cholinesterase trên cá tra (*Pangasianodon hypophthalmus*). Luận văn Thạc sĩ Nuôi trồng thủy sản-Đại học Cần Thơ
- Nguyễn Thị Quế Trân, 2010. Ảnh hưởng của thuốc trừ sâu Kinalux 25EC chứa hoạt chất quinalphos lên một số men của cá tra (*Pangasianodon hypophthalmus*). Luận văn Thạc sĩ Nuôi trồng thủy sản-Đại học Cần Thơ.
- Nguyễn Trọng Hồng Phúc, 2009. Ảnh hưởng của Fenobucarb lên các chỉ tiêu huyết học, hoạt tính men cholinesterase (ChE) và tăng trưởng của cá Chép (*Cyprinus carpio*). Luận văn thạc sĩ – trường Đại học Khoa Học Tự Nhiên – TPHCM. 96 trang.
- 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*). Tạp chí nghiên cứu Khoa học – Đại học Cần Thơ 2006: 13-23.
- Nguyễn Văn Hào, Nguyễn Trọng Hiền, Phạm Đình Khôi, Nguyễn Thọ Đan và Don Griffiths, 2001. Những kết quả bước đầu về phát triển hệ thống canh tác lúa-cá ở Tiền Giang. Kỷ yếu Hội thảo Quốc tế canh tác lúa cá. Nhà xuất bản Nông nghiệp. 159 trang.
- Oruc, E. O., D. Usta., 2007. Evaluation of oxidative stress responses and neurotoxicity potential of diazinon in different tissues of *Cyprinus carpio*. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 23 (2007) 48–55
- Osten, J.R., A.O. Arana., L. Guilhermino, A.M.V.M Soares., 2005. In vivo evaluation of three biomarkers in the mosquitofish (*Gambusia yucatana*) exposed to pesticides. *Chemosphere* 58; 627-636.
- Phạm Văn Biên, Bùi Cách Tuyến và Nguyễn Mạnh Chinh, 2003. Cẩm nang thuốc bảo vệ thực vật 2002. Nhà xuất bản Nông nghiệp. 523 trang.
- Phan Văn Thành, 2008. Đánh giá hiệu quả kinh tế và kỹ thuật của mô hình canh tác thủy sản-lúa trên ruộng ở thành phố Cần Thơ. Luận văn Thạc sĩ chuyên ngành nuôi trồng thủy sản.
- Rao, J.V., 2004. Effects of monocrotophos and its analogs in acetylcholinesterase activity's inhibition and its pattern of recovery on euryhaline fish, *Oreochromis mossambicus*. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 59, 217–222.
- Rodrigues, E.L., Ranzani-Paiva, M.J.T., Pacheco, F.J., Veiga, M.L., 2001. Histopathologic lesions in the liver of *Prochilodus lineatus* (Pisces, Prochilodontidae) exposed to a sublethal concentration of the organophosphate insecticide Dipterex 500s (Trichlorfon). *Acta Sci.* 23, 503–505.
- Sastry, K.V , Siddiqui AA (1982). Effect of endosulfan and quinalphos on intestinal absorption of glucose in the freshwater murrel, *Channa punctatus*. *TOXICOL LETT (AMST)*; 12 (4). 289-294.
- Silva, H.C., Medina, H.S.G., Fanta, E., Bacila, M., 1993. Sub-lethal effects of the *Callichthys callichthys* (Pisces, Teleostei). *Comp. Biochem. Physiol.* 105C, 197–201.
- Zinkl, J.G., Lockhard, W.L., Kenny, S.A. and Ward, F.J., 1991. The effects of cholinesterase inhibiting insecticides on fish. In P. Mineau (eds). *Cholinesterase-inhibiting Insecticides*, pp. 233–254.
- Website: <http://www.fao.org>