

## ẢNH HƯỞNG CỦA QUINALPHOS LÊN MEN CHOLINESTERASE VÀ TĂNG TRƯỞNG CỦA CÁ MÈ VINH (BARBODES GONIONOTUS)

Trần Thiện Anh<sup>1</sup>, Nguyễn Thị Kim Hà<sup>3</sup>, Nguyễn Quang Trung<sup>2</sup>,  
Đỗ Thị Thanh Hương<sup>3</sup> và Nguyễn Thanh Phương<sup>3</sup>

### ABSTRACT

*Quinalphos is an organophosphate pesticide, which has widely used in rice production in the Mekong Delta. The pesticide is often applied a few times in a rice crop that can give effects on the fishes stocked in the integrated rice–fish system, including silver barb (Barbodes gonionotus). In this study, silver barb was exposed to 4 quinalphos concentrations including 0,0; 0,0856; 0,1712 and 0,428 mg/L to determine changes in ChE activities and five concentrations including 0,0; 0,0856; 0,1875; 0,58 and 0,856 mg/L of quinalphos to determine the growth performance in tank conditions. The results showed that the LC<sub>50-96 hrs</sub> of quinalphos for silver barb was 0,856 mg/L. The brain, muscle and gill ChE activities levels and growth performance of the tested fishes were significantly inhibited at all tested concentrations of quinalphos if compared to control treatment ( $p < 0,05$ ). The ChE activity and growth inhibition tend to increase with the increased concentration of quinalphos. The study indicated that ChE activity of silver barb can be used as bi-indicator to assess the presence of quinalphos in water of rice fields.*

**Keywords:** quinalphos, silver barb, Cholinesterase, growth

**Title:** The effects of quinalphos on cholinesterase activities and growth of silver barb (Barbodes gonionotus)

### TÓM TẮT

*Quinalphos là thuốc trừ sâu gốc lân hữu cơ được sử dụng rộng rãi ở Đồng bằng sông Cửu Long. Thuốc thường được phun một vài lần trong một vụ lúa và có thể ảnh hưởng đến các loài cá nuôi kết hợp trong ruộng lúa, trong đó có cá mè vinh (Barbodes gonionotus). Thí nghiệm được tiến hành với cá mè vinh giống kích cỡ 10-15 g, cá được cho tiếp xúc với 4 nồng độ thuốc quinalphos gồm 0,0; 0,0856; 0,1712 và 0,428 mg/L để xác định những thay đổi hoạt tính men cholinesterase (ChE) của cá và với 5 nồng độ quinalphos gồm 0,0; 0,0856; 0,1875; 0,58 và 0,856 mg/L để xác định mức độ ảnh hưởng của thuốc lên tăng trưởng của cá mè vinh. Kết quả thí nghiệm cho thấy giá trị LC<sub>50-96 giờ</sub> của quinalphos đối với cá mè vinh là 0,856 mg/L; quinalphos làm giảm có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ) về tăng trưởng và hoạt tính ChE ở não, cơ và mang ở tất cả các nồng độ thuốc so với đối chứng, mức độ ức chế tăng trưởng và hoạt tính ChE tăng theo sự tăng của nồng độ thuốc. Mức độ ức chế hoạt tính ChE có thể sử dụng để đánh giá mức độ nhiễm thuốc trừ sâu gốc lân hữu cơ trong môi trường nước ruộng lúa.*

**Từ khóa:** quinalphos, cá mè vinh, Cholinesterase, tăng trưởng

<sup>1</sup> 1/570 Vĩnh An – Vĩnh Trạch – TP Bạc Liêu – Bạc Liêu

<sup>2</sup> Chi Cục Thủy sản Cần Thơ, TP. Cần Thơ

<sup>3</sup> Khoa Thủy Sản, Trường Đại học Cần Thơ

## 1 GIỚI THIỆU

Cá mè vinh (*Barbodes gonionotus*) là loài khá phổ biến và có giá trị kinh tế tại đồng bằng sông Cửu Long (ĐBSCL); cá sống ở nhiều loại hình thủy vực khác nhau như sông, ao, hồ, kênh, mương vườn, ruộng,... (Trương Thủ Khoa và Trần Thị Thu Hương, 1993). Cá mè vinh cũng là loài được thả nuôi nhiều trong các mô hình canh tác cá – lúa (cá – lúa kết hợp hay cá – lúa luân canh). Hiện nay, thuốc trừ sâu đang được sử dụng nhiều trong canh tác lúa và là một trong những giải pháp kỹ thuật quan trọng để ngăn ngừa sâu hại lúa. Theo Bộ Nông nghiệp & Phát triển Nông thôn (2009) ở Việt Nam thì thuốc bảo vệ thực vật (BVTV) có đến 2.515 tên thương mại với 847 hoạt chất khác nhau được phép lưu hành; trong đó thuốc trừ sâu gốc lân hữu cơ và carbamate được nông dân sử dụng nhiều nhất (Berg, 2001; Heong, 1998).

Quinalphos là loại thuốc BVTV gốc lân hữu cơ, thuốc có công dụng là diệt trừ sâu hại trên cây ăn quả và ruộng lúa (Tomlin, 1994; Huan *et al.*, 1999). Hiện trên thị trường có 18 tên thương mại chứa hoạt chất quinalphos với nhiều tỷ lệ hoạt chất khác nhau (Bộ NN&PTNT, 2010). Giống như đặc tính chung của thuốc BVTV gốc lân hữu cơ, quinalphos gây hại cho sinh vật chủ yếu tác động lên hệ thần kinh thông qua ức chế hoạt tính men cholinesterase (ChE) của sinh vật (Tomlin, 1994); khi men ChE bị ức chế đến 70% sẽ làm chết hầu hết các loài thủy sinh vật (Fulton và Key, 2001) và ức chế 30% được xem như ngưỡng giới hạn cho phép không ảnh hưởng đến sức khỏe của hầu hết sinh vật (Aprea *et al.*, 2002). Trong thực tế, đa số thuốc BVTV tồn tại trong môi trường ở nồng độ dưới ngưỡng gây chết (Murty, 1988) nên có nguy cơ gây ảnh hưởng đến sinh vật. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm mục đích tìm hiểu khả năng ảnh hưởng của quinalphos lên hoạt tính men cholinesterase (ChE) và tốc độ tăng trưởng của cá mè vinh (*Barbodes gonionotus*) từ nồng độ gây chết (LC50) đến nồng độ dưới ngưỡng gây chết để có thể ứng dụng trong quản lý hệ thống nuôi cá-lúa hợp lý và tìm ra chỉ thị đánh giá sự tồn lưu của thuốc trong môi trường nước.

## 2 PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1 Thời gian và địa điểm nghiên cứu

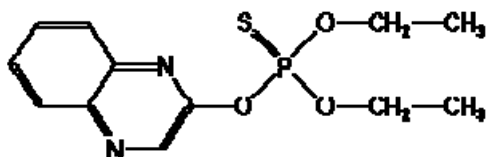
Nghiên cứu được thực hiện tại Bộ môn Dinh dưỡng và Chế biến Thủy sản, Khoa Thủy sản - Đại học Cần Thơ từ tháng 10/2010 đến tháng 6/2011.

### 2.2 Cá thí nghiệm

Cá mè vinh có kích cỡ 10-15 g được mua từ trại cá giống ở quận Ô Môn, thành phố Cần Thơ; cá được thuần dưỡng trong bể composite 2 m<sup>3</sup> trước khi bố trí thí nghiệm khoảng 14 ngày.

### 2.3 Thuốc thí nghiệm

Thuốc trừ sâu Kinalux 25 EC được Công ty thuốc bảo vệ thực vật An Giang sản xuất. Kinalux 25EC chứa 25% hoạt chất quinalphos có tên hóa học là 0,0-diethyl 0-2 quinoxalin phosphorothioate. Công thức phân tử là: C<sub>12</sub>H<sub>15</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>PS. Công thức cấu tạo:



## 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 dùng cho thí nghiệm.

## 2.5 Thức ăn cho cá

Trong thời gian thuần dưỡng cá trong bể composite và trong thời gian thí nghiệm thì cho cá ăn thức ăn viên nổi Cargill có hàm lượng đạm 30%; cho cá ăn 2 lần/ngày theo nhu cầu (đến khi cá ngừng ăn).

## 2.6 Bố trí thí nghiệm

### 2.6.1 Xác định giá trị $LC_{50-96}$ giờ của quinalphos lên cá mè vinh

Thí nghiệm được tiến hành theo phương pháp nước tĩnh (APHA, 2005) và tiến hành qua 2 giai đoạn là thí nghiệm tìm khoảng nồng độ gây độc của thuốc (thí nghiệm thăm dò) và thí nghiệm xác định giá trị  $LC_{50}$ .

*Thí nghiệm xác định khoảng gây độc:* thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với 10 mức nồng độ quinalphos (0; 0,025; 0,05; 0,1; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1,0 và 1,2 mg/L) pha từ kinalux 25EC. Thí nghiệm được tiến hành trong bể kính 50 lít nước; mỗi bể 10 cá có kích cỡ  $12,8 \pm 2,4$ g. Ghi nhận số cá chết trong 96 giờ để xác định nồng độ cao nhất gây chết 10% và nồng độ thấp nhất gây chết 90% và từ đó tiến hành thí nghiệm xác định giá trị  $LC_{50}$ .

*Thí nghiệm xác định giá trị  $LC_{50}$ :* thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với 7 mức nồng độ quinalphos (0,0; 0,4; 0,6; 0,8; 1,0; 1,2 và 1,4 mg/L) dựa vào thí nghiệm tìm khoảng nồng độ gây độc. Mỗi nghiệm thức được bố trí 10 cá có khối lượng  $12,8 \pm 2,4$  g trong bể kính 50 lít nước và 3 lần lặp lại. Trong thời gian thí nghiệm, không thay nước, không sục khí và không cho ăn và theo dõi 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 thí nghiệm. Cá chết trong thời gian thí nghiệm được vớt để tránh làm bẩn môi trường thí nghiệm. Các giá trị pH, nhiệt độ nước, oxy hòa tan được theo dõi 2 lần mỗi ngày lúc 7–8 giờ và 14–15 giờ trong quá trình thí nghiệm.

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

Thí nghiệm được thực hiện hoàn toàn ngẫu nhiên trong bể kính 50L với 4 nghiệm thức là đối chứng, 10%, 20% và 50% giá trị  $LC_{50-96}$  giờ tương đương các nồng độ là 0,0856 mg/L, 0,1712 mg/L và 0,428 mg/L. Mỗi bể thả 15 cá có khối lượng trung bình  $13,4 \pm 2,2$  g và mỗi nghiệm thức được lặp lại 6 lần.

Sau khi cho cá vào bể để cá ổn định khoảng 3 ngày thì cho thuốc vào bể và tiến hành thu mẫu não, cơ và mang ở các thời điểm ngày 0 (trước khi cho cá tiếp xúc với thuốc), 1 ngày, 4 ngày, 7 ngày, 14 ngày, 21 ngày và 28 ngày sau khi tiếp xúc với thuốc. Mỗi bể thu 1 cá tương đương 6 cá mỗi nghiệm thức/lần thu mẫu. Các chỉ tiêu môi trường như nhiệt độ nước, pH, oxy hòa tan được đo hằng ngày. Trong thời gian thí nghiệm không sục khí; từ khi bắt đầu thí nghiệm đến ngày thứ 6 chỉ rút

cần nếu có từ ngày thứ 7 tiến hành thay 30% lượng nước trong bể và 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%. Khi bắt đầu thí nghiệm đến ngày thứ 3 không cho cá ăn, sau đó mỗi ngày cho cá ăn thức ăn Cargill 30% đậm theo nhu cầu.

### 2.6.3 Thí nghiệm ảnh hưởng của quinalphos lên tăng trưởng của cá mè vinh.

Thí nghiệm hoàn toàn ngẫu nhiên với 5 nghiệm thức gồm 10% LC<sub>50</sub>-96 giờ (0,0856 mg/L); LC<sub>10</sub> 96 giờ (0,58 mg/L); LC<sub>50</sub> 96 giờ (0,856 mg/L); nồng độ chỉ dẫn (0,1875 mg/L) và nghiệm thức đối chứng và mỗi nghiệm thức lặp lại 3 lần. Thời gian thí nghiệm 90 ngày. Hoạt chất quinalphos cho vào bể 3 lần vào ngày thứ nhất, ngày thứ 30 và ngày thứ 60 từ khi bắt đầu thí nghiệm. Trong thời gian thí nghiệm không thay nước bể nuôi vào các ngày 0-4, 30-34 và 60-64; ngoài thời gian này thì thay 20-30% mỗi ngày. Cho cá ăn 2 lần/ngày vào lúc 7-8 giờ và 14-15 giờ, cho ăn theo nhu cầu, thức ăn dư vớt ra khỏi bể. Thu mẫu cá vào các thời điểm 0, 30, 60 và 90 ngày (những thời điểm trước khi cho thuốc vào bể). Các yếu tố môi trường như oxy hòa tan, nhiệt độ nước, pH đo 2 lần/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 trữ ở -80°C cho đến khi nghiên. Phân tích hoạt tính men thì 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 giữ độ lạnh và thêm 0,5 mL dung dịch đệm để tráng máy nghiền. Chuyển dung dịch vừa nghiền sang eppendofit 1,5 mL để tiến hành ly tâm ở điều kiện 4°C với vận tốc 10.000 vòng trong 10 phút; 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.

### 2.7.2 Phân tích hoạt tính men cholinesterase (ChE)

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. Hàm lượng protein được xác định bằng phương pháp Lowry *et al.* (1951).

### 2.7.3 Tăng trưởng của cá

Xác định khối lượng bằng cách cân cá vào các thời điểm 0, 30, 60 và 90 ngày thí nghiệm trước khi cho quinalphos vào bể.

## 2.8 Xử lý thống kê

Giá trị LC<sub>50</sub>-96 giờ được xác định dựa vào phương pháp Probit sử dụng phần mềm SPSS 16.0. Các số liệu hoạt tính men ChE, tăng trưởng, hệ số thức ăn,... được tính các giá trị trung bình và độ lệch chuẩn bằng chương trình Excel. So sánh trung bình giữa các nghiệm thức được dựa vào phép phân tích phương sai ANOVA và phép thử DUNCAN với mức ý nghĩa  $p < 0,05$  bằng phần mềm SPSS 16.0.

### 3 KẾT QUẢ

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

Các yếu tố môi trường trong thí nghiệm xác định giá trị LC<sub>50</sub>, hoạt tính men ChE và tăng trưởng được trình bày trong Bảng 1. Nhiệt độ, pH, oxy hòa tan giữa các bể trong cùng thí nghiệm khá đồng nhất, chênh lệch trong ngày không quá 1°C. pH khá ổn định và dao động trong khoảng 6,96–7,36. Biến động oxy ở các thí nghiệm không lớn, dao động 3,2–3,23 mg/L (thí nghiệm LC<sub>50</sub>); 3,27–3,35 mg/L (thí nghiệm xác định ChE) và 6,14–6,18 mg/L (thí nghiệm tăng trưởng); oxy trong nước cao là do các bể có sục khí. Nhìn chung, các yếu tố môi trường không ảnh hưởng đến các chỉ tiêu sinh lý – sinh hóa và tăng trưởng của cá thí nghiệm.

**Bảng 1:** Các yếu tố môi trường trong thời gian thí nghiệm xác định giá trị LC<sub>50</sub>, hoạt tính men ChE và tăng trưởng

Thí nghiệm	pH		Nhiệt độ (°C)		Oxy (mg/L)	
	Sáng	Chiều	Sáng	Chiều	Sáng	Chiều
LC <sub>50</sub>	7,26 ±0,18	7,36 ±0,11	26,6 ±0,2	27,8 ±0,3	3,23±0,44	3,2 ±0,31
Hoạt tính men ChE	7,26 ±0,14	7,19 ±0,12	28,6 ±0,6	29,6 ±0,4	3,27 ±0,53	3,35 ±0,47
Tăng Trưởng	6,96 ±0,17	6,91± 0,14	25,9± 0,5	26,9± 0,6	6,14± 0,47	6,18 ±0,41

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

Khi cho quinalphos vào bể thí nghiệm thì cá bắt đầu chết lúc 6 giờ và kéo dài đến 96 giờ sau khi tiếp xúc với thuốc và số cá chết càng tăng ở nồng độ thuốc cao. Khi cá mới tiếp xúc với quinalphos thì cá hoạt động mạnh, tăng hô hấp, bơi lội không định hướng (nồng độ 1,2–1,4 mg/L); cá sau đó bơi lội yếu dần, lơ lờ và mất cân bằng và từ từ chìm xuống đáy bể; trong khi cá ở nghiệm thức đối chứng hoạt động bơi lội bình thường.

**Bảng 2:** Các giá trị LC<sub>50</sub> của cá mè vinh giống với quinalphos

Thời gian	24 giờ	48 giờ	72 giờ	96 giờ
LC <sub>50</sub>	1,245 mg/L	0,947 mg/L	0,881 mg/L	0,856 mg/L

#### 3.3 Ảnh hưởng của quinalphos lên hoạt tính men cholinesterase (ChE)

Bảng 3 cho thấy tỷ lệ cá chết (%) gia tăng theo nồng độ quinalphos; ở nồng độ 0,428 mg/L; 0,1712 mg/L và 0,0856 mg/L tỷ lệ chết lần lượt là 17,8%, 11,1% và 2,22% nhưng không có cá chết ở nghiệm thức đối chứng.

**Bảng 3:** Tỷ lệ chết (%) trung bình của cá mè vinh trong thí nghiệm xác định ChE

Nồng độ thuốc (mg/L)	Tỷ lệ chết (%) (trung bình và độ lệch chuẩn)
0,00	0
0,0856	2,22±0,52
0,1712	11,1±0,75
0,428	17,8±0,52

##### 3.3.1 Ảnh hưởng của quinalphos lên hoạt tính men cholinesterase (ChE) ở não

Bảng 3 cho thấy hoạt tính ChE ở não giảm rất rõ theo sự gia tăng nồng độ quinalphos; hoạt tính ChE giảm có ý nghĩa thống kê so với đối chứng (p<0,05) vào

1 ngày cá tiếp xúc với quinalphos; hoạt tính ChE tiếp tục giảm thấp nhất ở ngày thứ 4 sau khi tiếp xúc với thuốc; hoạt tính ChE thấp nhất là 10,8 nmole/phút/mg protein (tương đương 10,6% cá nghiệm thức đối chứng). Ở thời điểm 7 ngày thì hoạt tính ChE bắt đầu phục hồi dần cho đến ngày thứ 21 thì phục hồi hoàn toàn ở nồng độ thuốc 0,0856 mg/L và đến ngày thứ 28 thì phục hồi 67,8% ở nồng độ 0,1712 mg/L và 60,5% ở nồng độ 0,428 mg/L.

**Bảng 3: Hoạt tính men ChE não theo thời gian và nồng độ quinalphos**

Thời gian sau xử lý thuốc	Hoạt tính ChE ở não (nmol/phút/mg protein)			
	Đối chứng	0,0856 mg/L	0,1712 mg/L	0,428 mg/L
Ngày 0	105±42,8 <sup>aA</sup>	108±30,2 <sup>aA</sup>	100±26,29 <sup>aA</sup>	114±28,4 <sup>aA</sup>
1 ngày	107±66,1 <sup>aA</sup>	34,2±4,55 <sup>bB</sup>	28,3±6,07 <sup>bB</sup>	18,1±3,69 <sup>bB</sup>
4 ngày	102±40,5 <sup>aA</sup>	26,5±6,93 <sup>bB</sup>	20,6±9,61 <sup>bB</sup>	10,8±6,73 <sup>bB</sup>
7 ngày	107±19,7 <sup>aA</sup>	36,2±9,85 <sup>bB</sup>	24,7±6,15 <sup>bBC</sup>	12,1±2,09 <sup>bC</sup>
14 ngày	86,4±12,9 <sup>aA</sup>	43,3±12,3 <sup>bB</sup>	33,7±3,91 <sup>bB</sup>	19,9±6,22 <sup>bC</sup>
21 ngày	107±9,51 <sup>aA</sup>	92,4±17,2 <sup>aA</sup>	64,4±9,91 <sup>cB</sup>	57,0±9,56 <sup>cB</sup>
28 ngày	87,6±10,8 <sup>aA</sup>	87,4±10,3 <sup>cA</sup>	59,4±11,2 <sup>cB</sup>	52,9±7,21 <sup>cB</sup>

Số liệu trình bày trung bình ± độ lệch chuẩn,

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

### 3.3.2 Ảnh hưởng của quinalphos lên hoạt tính men cholinesterase (ChE) ở cơ

Thay đổi hoạt tính của ChE ở cơ theo nồng độ thuốc và thời gian được trình bày ở bảng 4; hoạt tính ChE giảm có ý nghĩa thống kê so với đối chứng ( $p<0,05$ ) ở tất cả các nồng độ quinalphos sau 1 ngày tiếp xúc. Ngày thứ 4 sau tiếp xúc thì ChE giảm thấp nhất ở nồng độ 0,1712 và 0,428 mg/L lần lượt là 2,14 nmole/phút/mg protein (tương đương 12% đối chứng) và 1,8 nmole/phút/mg protein (tương đương 10,1% đối chứng). Ngày thứ 7 thì hoạt tính ChE tiếp tục giảm thấp nhất ở nồng độ 0,0856 mg/L là 3,46 nmole/phút/mg protein (tương đương 19,1% đối chứng) nhưng các nồng độ khác thì hoạt tính ChE chỉ mới bắt đầu phục hồi. Ngày thứ 28 thì hoạt tính ChE phục hồi không hoàn toàn, còn khác có ý nghĩa thống kê so với đối chứng ( $p>0,05$ ).

**Bảng 4: Hoạt tính men ChE ở cơ theo thời gian và nồng độ quinalphos**

Thời gian tiếp xúc thuốc	Hoạt tính ChE ở cơ (nmol/phút/mg protein)			
	Đối chứng	0,0856 mg/l	0,1712 mg/l	0,428 mg/l
0 ngày	20,9±13,7 <sup>aA</sup>	17,3±7,61 <sup>aA</sup>	13,6±5,24 <sup>aA</sup>	15,4±6,42 <sup>aA</sup>
1 ngày	19,1±3,40 <sup>aA</sup>	7,95±3,72 <sup>bB</sup>	6,75±3,33 <sup>bdB</sup>	4,54±1,54 <sup>bB</sup>
4 ngày	17,8±8,91 <sup>aA</sup>	5,89±3,83 <sup>bB</sup>	2,14±1,34 <sup>cB</sup>	1,80±0,66 <sup>bB</sup>
7 ngày	18,1±2,26 <sup>aA</sup>	3,46±0,89 <sup>bB</sup>	2,76±1,25 <sup>cB</sup>	2,51±0,90 <sup>bB</sup>
14 ngày	21,6±1,64 <sup>aA</sup>	5,86±1,61 <sup>bB</sup>	4,02±0,94 <sup>bC</sup>	2,61±0,73 <sup>bC</sup>
21 ngày	19,1±2,33 <sup>aA</sup>	5,20±1,09 <sup>bB</sup>	3,04±0,49 <sup>cC</sup>	2,41±0,99 <sup>bC</sup>
28 ngày	14,9±1,33 <sup>aA</sup>	7,67±3,44 <sup>bB</sup>	7,53±2,75 <sup>dB</sup>	4,36±1,28 <sup>bC</sup>

Số liệu trình bày trung bình ± độ lệch chuẩn,

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

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

3.3.3 Ảnh hưởng của quinalphos lên hoạt tính men cholinesterase (ChE) ở mang

Tương tự ở não và cơ, hoạt tính ChE ở mang giảm có ý nghĩa thống kê so với đối chứng ( $p < 0,05$ ) sau khi tiếp xúc với quinalphos 1 ngày. Bảng 5 cho thấy hoạt tính ChE giảm thấp nhất vào ngày thứ 4 tiếp xúc với thuốc ở các nồng độ 0,0856; 0,1712 và 0,428 mg/L lần lượt là 1,9 (tương đương 26,4% so với đối chứng); 1,65 (tương đương 22,9% đối chứng) và 0,97 nmole/phút/mg protein (tương đương 13,5% đối chứng). Sau 7 ngày tiếp xúc với quinalphos thì hoạt tính ChE bắt đầu phục hồi. Ngày thứ 28 thì ChE phục hồi hoàn toàn ở nồng độ 0,0856 và 0,1712 mg/L nhưng ở nồng độ 0,428 mg/L thì khả năng phục hồi chậm (tương đương 38,3% đối chứng) và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với đối chứng ( $p < 0,05$ ).

**Bảng 5: Hoạt tính men ChE mang theo thời gian và nồng độ quinalphos**

Thời gian sau xử lý thuốc	Hoạt tính ChE ở mang (nmol/phút/mg protein)			
	Đối chứng	0,0856 mg/L	0,1712 mg/L	0,428 mg/L
0 ngày	9,36 ± 3,69 <sup>aA</sup>	6,97 ± 2,66 <sup>aA</sup>	7,08 ± 1,06 <sup>aA</sup>	9,20 ± 2,07 <sup>aA</sup>
1 ngày	11,8 ± 2,59 <sup>aA</sup>	2,53 ± 0,68 <sup>bB</sup>	1,75 ± 0,47 <sup>bB</sup>	1,37 ± 0,78 <sup>bcB</sup>
4 ngày	7,19 ± 2,19 <sup>aA</sup>	1,90 ± 1,30 <sup>bB</sup>	1,65 ± 1,70 <sup>bB</sup>	0,97 ± 0,33 <sup>bB</sup>
7 ngày	9,85 ± 2,46 <sup>aA</sup>	2,34 ± 1,32 <sup>bB</sup>	1,96 ± 0,64 <sup>bB</sup>	2,02 ± 0,57 <sup>bcB</sup>
14 ngày	10,2 ± 2,71 <sup>aA</sup>	4,92 ± 0,93 <sup>caB</sup>	2,86 ± 1,15 <sup>bc</sup>	2,72 ± 1,39 <sup>cC</sup>
21 ngày	7,98 ± 3,28 <sup>aA</sup>	4,54 ± 1,61 <sup>cB</sup>	2,73 ± 1,14 <sup>bB</sup>	2,09 ± 1,21 <sup>bcB</sup>
28 ngày	7,15 ± 1,14 <sup>aA</sup>	6,94 ± 2,43 <sup>aA</sup>	6,64 ± 2,96 <sup>aA</sup>	2,74 ± 0,81 <sup>cB</sup>

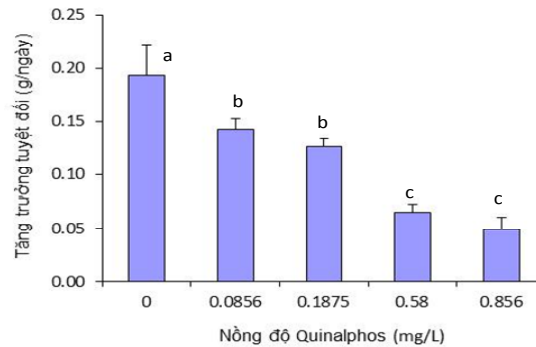
Số liệu trình bày trung bình ± độ lệch chuẩn

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

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

3.4 Ảnh hưởng của quinalphos lên tăng trưởng tuyệt đối (DWG) của cá

Hình 1 cho thấy tốc độ tăng trưởng của cá giảm có ý nghĩa thống kê so với đối chứng ( $p < 0,05$ ) khi tiếp xúc với quinalphos; tốc độ tăng trưởng tuyệt đối của cá ở nghiệm thức đối chứng là 0,19 g/ngày cao hơn có ý nghĩa thống kê so với các nghiệm thức 0,0856; 0,1875; 0,58 và 0,856 mg/L lần lượt là 0,143 g/ngày; 0,126 g/ngày; 0,065 g/ngày và 0,049 g/ngày. Tăng trưởng cá càng thấp ở nồng độ quinalphos càng cao.



**Hình 1: Tăng trưởng tuyệt đối (DWG) của cá ở các nồng độ quinalphos khác nhau**

#### 4 THẢO LUẬN

Giá trị pH trong các thí nghiệm tương đối ổn định và nằm trong khoảng thích hợp phát triển của cá mè vinh là 6,5–9 (www.fao.org). Theo Tomlin (1994) thì ở giá trị pH trong khoảng 6–9 là điều kiện mà quinalphos tồn tại lâu nhất. Nhiệt độ chênh lệch trong ngày thấp vào buổi sáng và cao vào buổi chiều là do các thí nghiệm được bố trí trong nhà có mái che. Thời gian thí nghiệm xác định LC<sub>50</sub> và hoạt tính men ChE thì các bể không được sục khí nhưng vẫn được si phong hàng ngày nên hàm lượng oxy hòa tan luôn được duy trì lớn hơn 3 mg/L. Ở thí nghiệm tăng trưởng thì hàm lượng oxy hòa tan dao động rất nhỏ và được duy trì trong khoảng 6,1 mg/L do bể được sục khí; tốc độ tăng trưởng của cá mè vinh đạt 100% khi hàm lượng oxy là 4 mg/L và 70-80% khi hàm lượng oxy là 3 mg/L (www.fao.org). Nhìn chung, các yếu tố môi trường gồm pH, nhiệt độ và oxy hòa tan gần như đồng nhất giữa các nghiệm thức của từng thí nghiệm và nằm trong giới hạn thích hợp về sinh lý, sinh trưởng của cá mè vinh.

Kết quả xác định LC<sub>50</sub> cho thấy hoạt chất quinalphos thuộc nhóm có độc tính rất cao (nhỏ hơn 1 mg/L) dựa theo phân loại của Koesoemadinata và Djajadiredja (1976). Mức độ độc của quinalphos khác nhau đối với loài cá khác nhau, giá trị LC<sub>50</sub>-96 giờ của cá chép (*Cyprinus carpio*) là 0,76 mg/L (Nguyễn Quang Trung, 2009), cá *Channa punctatus* là 25ng/L (Sastry and Abab, 1983), cá rô phi là 0,84 mg/L (Đỗ Văn Bức, 2010). So với các loại thuốc trừ sâu khác như basudin 40 EC (gốc lân hữu cơ) thì độc tính đối với cá chép, cá mè vinh và cá rô phi gần như tương đương nhau; các 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, 1998); giá trị LC<sub>50</sub>-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) và giá trị LC<sub>50</sub>-96 giờ của quinalphos đối với cá lóc (*Channa punctatus*) là 0,25 mg/L (Sastry và Siddiqui, 1982). Kết quả này cũng cho thấy cá mè vinh rất nhạy cảm với độc tính của quinalphos.

Hoạt tính men ChE ở não, cơ và mang cá mè vinh bị ức chế rất cao từ 1–4 ngày sau khi tiếp xúc với quinalphos. Khi AChE bị ức chế 30% được xem là mức giới hạn thấp nhất cho phép không ảnh hưởng đến sinh vật (Aprea *et al.*, 2002). Trong thí nghiệm này, sau 1 ngày cá mè vinh tiếp xúc với thuốc thì hoạt tính men ChE bị ức chế vượt quá giới hạn thấp nhất không ảnh hưởng đến cá ở tất cả các nghiệm thức có quinalphos. Theo Kamel and Hoppin (2004) thì để giải độc hoàn toàn thuốc trừ sâu gốc lân hữu cơ cần 3 đến 4 tháng. Kết quả thí nghiệm này tương tự nghiên cứu của Đỗ Thị Thanh Hương (1998), tác giả cho rằng cá mè vinh tiếp xúc với basudin (hoạt chất diazinon) sau 96 giờ thì hoạt tính men ChE ở các nồng độ 0,18; 0,4 và 3,7 mg/L lần lượt là 27,2%; 22,9% và 12%. Nghiên cứu ảnh hưởng của kinalux (hoạt chất quinalphos) lên hoạt tính ChE mang cá chép của Nguyễn Quang Trung (2010) cho thấy sau 4 ngày tiếp xúc với thuốc, hoạt tính men ChE giảm thấp nhất ở các nồng độ 0,0076; 0,152 và 0,38 mg/L lần lượt là 2,91; 2,41 và 1,43 nmole/phút/mg protein. Theo kết quả nghiên cứu của Nguyễn Thị Quế Trân (2010) cho thấy cá tra sau 6 giờ tiếp xúc với 0,1 mg/L quinalphos (75% giá trị LC<sub>50</sub>) thì ức chế hoạt tính men ChE não là 84,5%; cơ là 82,2% và sau 24 giờ thì ức chế ChE mang là 72,7% và gan là 84,1% so với đối chứng. 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). David and Janice (1994) nhận thấy hoạt tính của men ChE ở não và cơ bị ức chế ở mức thấp hơn gan và mang khi cho cá nheo Mỹ (*Ictalurus punctatus*) tiếp xúc với S,S,S-tributylphosphorotrithioate. Theo Silva (1993) thì mức độ ức chế ChE được duy trì đến 30 ngày khi tiếp xúc với thuốc BTVT gốc lân hữu cơ methyl parathion (nồng độ dưới ngưỡng gây chết).

Các nghiên cứu cho thấy sự ức chế hoạt tính men ChE khác nhau ở các cơ quan khác nhau có thể do sự hiện diện của isozyme ái lực khác nhau với chất nền và chất ức chế và bản thân hóa chất có thể hiện diện khác nhau trong các cơ quan khác nhau (nơi sản xuất ra chất ức chế hoặc các chất ức chế chuyển hóa với tỷ lệ khác nhau) (Kabeer *et al.*, 1979). Hơn nữa, trong công thức cấu tạo của hoạt chất quinalphos (gốc lân hữu cơ) có liên kết P=S (Tomlin, 1994) 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 hoàn toàn hoạt tính ChE 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 thì thời gian phục hồi mất 22 ngày.

Tăng trưởng của cá càng thấp khi nồng độ quinalphos càng cao phù hợp với kết quả nghiên cứu của Đỗ Thị Thanh Hương (1998), tác giả này cho rằng diazinon (Basudin 40EC) làm giảm tăng trưởng của cá mè vinh, cá chép và cá rô phi và tốc độ tăng trưởng càng giảm theo sự gia tăng nồng độ. Nguyễn Văn Công *et al.* (2006) cho biết khi cho cá lóc (*Channa striata*) tiếp xúc với diazinon 4 ngày ở nồng độ 0,35 mg/L, sau đó chuyển vào nước sạch 40 ngày thì tốc độ tăng trưởng của cá bị ức chế 50% và 60 ngày 33% so với đối chứng. Tương tự, Hồ Thị Thanh Tuyền (1999) cho rằng basudin 40EC cũng làm giảm tăng trọng của cá trê vàng dù ở nồng độ thấp nhất (nồng độ an toàn và chỉ dẫn). Arunachalam and Palanichamy (1982) đã phát hiện cá *Macropodus cupanus* tương tự như cá mè vinh là giảm tăng trưởng khi sống trong nồng độ carbaryl (carbamate) dưới ngưỡng gây chết trong 26 ngày.

Nghiên cứu này cho thấy hoạt tính ChE cá mè vinh rất nhạy cảm với quinalphos ở nồng độ thấp (0,0856 mg/L) vì thế đo hoạt tính ChE cá mè vinh (*Barbodes gonionotus*) có thể xác định cá đã sống trong môi trường có tồn tại quinalphos.

## 5 KẾT LUẬN

### 5.1 Kết luận

Giá trị LC<sub>50-96</sub> giờ của thuốc trừ sâu hoạt chất quinalphos đối với cá mè vinh (*Barbodes gonionotus*) là 0,856 mg/L.

Hoạt chất quinalphos ảnh hưởng mạnh đến cá mè vinh; hoạt chất này làm giảm đáng kể hoạt tính ChE ở não, cơ và mang ở tất cả các nồng độ; mức độ ức chế hoạt tính ChE tăng theo sự gia tăng của nồng độ thuốc và hoạt tính men ChE phục hồi hoàn toàn ở não (nồng độ 0,0856 mg/L), mang (0,0856 và 0,1712 mg/L) sau 28 ngày. Bên cạnh, thuốc còn làm giảm sinh trưởng và tỷ lệ sống của cá.

Quinalphos đã ức chế rõ rệt tốc độ tăng trưởng của cá mè vinh ở tất cả các nồng độ.

## 5.2 Đề nghị

Có thể xem hoạt tính ChE là một đánh dấu sinh học chỉ sự ô nhiễm hóa chất thuốc BVTV gốc lân hữu cơ như quinalphos.

Thí nghiệm với thời gian dài hơn nhằm xác định khả năng phục hồi hoàn toàn hoạt tính men ChE ở cơ cá mè vinh bị ảnh hưởng bởi quinalphos.

## 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.
- Aprea C; C. Colosio; T. Mammone; C. minoia; M. Maroni, 2002. Biological monitoring of pesticide exposure : areview of analytical methods, *Journal of Chromatogryphy B* 769, pp 191 – 219.
- Arunachalam, S., and Palanichamy, S., 1982. Sublethal effects of carbaryl on surfacing begaviour and food utilization in the air-breathing fish, *Macropodus cupanus*. *Physiology and Behavior* 29, 23-27
- Berg Hakan 2001. Pesticide use in rice and rice-fish farms in the Mekong Delta, Vietnam, *Crop Protection*, 20, pp. 897 – 905.
- Bộ Nông Nghiệp và Phát triển Nông thôn, 2010. Danh mục thuốc Bảo Vệ Thực Vật.
- 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.
- David, L.S. and E.C Janice, 1994. Inhibition of acetylcholinesterase and aliesterases of fingerling channel catfish by chlorpyrifos, parathion, and S,S,S-tributyl phosphorotrithioate (DEF). *Aquatic Toxicology*, 33: 311-324.
- Đỗ Thị Thanh Hương, 1998. 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 lên một số chỉ tiêu sinh lý, sinh hóa và tăng trưởng của cá rô phi (*Oreochromis niloticus*). Luận văn Thạc sỹ Nuôi Trồng Thủy Sản – Đại học Cần Thơ.
- 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.
- Fulton M.H and Peter B. Key, 2001. Acetylcholinesterase inhibition in estuarine fish and invertebrates as an indicator of Organophosphorus insecticide exposure and effects, *Enviroinmental Toxicology and Chemistry*, vol, 20, (No. 1) Setac Press, pp 37 – 45.
- Heong K.L., Escalada M.M., Huan N.H. and Mai V., 1998. Use of communication media in changing rice farmers pest management in the Mekong Delta, Vietnam, *Crop protection*, 17 (5), pp. 413-425
- Hồ Thị Thanh Tuyền, 1999. Tìm hiểu ảnh hưởng của thuốc trừ sâu Basudin 50EC và Regent 800WG lên cá lóc, sặc rằn và trê vàng. Luận văn tốt nghiệp kỹ sư thủy sản. Đại học Cần Thơ.
- Huan N.H., V. Mai, M.M. Escalada, K.L. Heong, 1999. Changes in rice farmers' pest management in the Mekomh Delta, Vietnam, *Crop Protection*, 18, pp. 557 – 563.
- Koesomadinata, S. and R. Djajadiredja., 1976. Some Aspects on the Regulation of Agriculture use of Pesticide in Indonesia, reference to Their Effects on Inland Fishery. IFRI Contribution N0.3, 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.

- Murty A.S., 1988. Toxicity of pesticide to fish, Volume II, CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida, pp 143.
- 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 khoa học – Trường Đại học Cần Thơ, trang 13 – 23.
- Nguyễn Quang Trung, 2010. Ảnh hưởng của thuốc trừ sâu Kinalus 25EC lên chỉ tiêu sinh lý và sinh hóa của cá chép. Đề tài nghiên cứu khoa học cấp trường – Đại học Cần Thơ.
- Nguyễn Thị Quế Trân, 2010. Ảnh hưởng của thuốc trừ sâu Kinalus 25EC chứa hoạt chất quinalphos lên mật số men của cá tra (*Pangasianodon hypophthalmus*). Luận văn Thạc sỹ Nuôi Trồng Thủy Sản – Đại học Cần Thơ.
- Sastry KV, Siddiqui A.A. 1982. Effect of endosulfan and quinalphos on intestinal absorption of glucose in the freshwater, *Channa punctatus*. TOXICOL LETT (AMST); 12 (4). 289 – 294.
- Silva, H.C., Medina, H.G., Fanta, E., and Bacila, M., 1993. Sublethal effect of folidol 600 (methyl parathion) on *Callichthys* (Pisces : Teleostei). Comp. Biochem. Physiol., 105 (2), 197 – 201.
- Trương Thủ Khoa và Trần Thị Thu Hương, 1993. Định danh các loài cá nước ngọt ở ĐBSCL, NXB Khoa học Kỹ thuật.
- Tomlin C., 1994. The pesticide manual : Incorporating the agrochemicals handbook. Pp 890 – 893. Website: <http://www.fao.org>