

## NHẠY CẢM CỦA CHOLINESTERASE Ở CÁ RÔ ĐỒNG (*ANABAS TESTUDINEUS*) GIỐNG VỚI DIAZINON VÀ FENOBU CARB

Nguyễn Văn Công<sup>1</sup>, Nguyễn Tuấn Vũ<sup>2</sup>, Trần Sỹ Nam<sup>3</sup>

### 1 Giới thiệu

Cá rô đồng (CRĐ) (*Anabas testudineus*) là loài cá nước ngọt, phân bố ở nhiều loại hình thủy vực, trong đó ruộng lúa là nơi mà cá luôn xuất hiện. Đồng ruộng ở đồng bằng sông Cửu Long (ĐDBSCL) cũng là nơi mà thuốc bảo vệ thực vật (BVTV) được sử dụng rất nhiều, trung bình 1,8kg hoạt chất/ha/vụ và phun từ 5,7 đến 8,2 lần/vụ (Berg, 2001). Nông dân ĐBSCL có thói quen sử dụng thuốc BVTV cao hơn chỉ dẫn. Do đó CRĐ trong tự nhiên có nhiều nguy cơ bị ảnh hưởng từ việc sử dụng thuốc BVTV trong canh tác lúa.

Thuốc BVTV hoạt chất diazinon và fenobucarb thường được sử dụng phổ biến trong canh tác lúa (Berg, 2001). Diazinon thuộc nhóm lân hữu cơ, có liên kết P=S trong công thức cấu tạo và gây hại cho động vật bằng cơ chế làm giảm hoạt tính enzyme cholinesterase (ChE) (Stenerson, 2004). Fenobucarb là thuốc BVTV nhóm carbamate, cơ chế gây chết động vật cũng giống như diazinon (Stenerson, 2004). Khi ChE bị ức chế đến 70% sẽ làm chết hầu hết các loài thủy sinh vật (Fulton và Key, 2001) và 30% bị ức chế được xem như giới hạn cho phép tối đa cho hầu hết sinh vật (Aprea *et al.*, 2002).

Nghiên cứu độc tính của diazinon đối với CRĐ đã được đánh giá ở nồng độ gây chết và những ảnh hưởng đến mô học, giá trị LD50-96 giờ của diazinon 60EC đối với CRĐ giống là 6,55 mg/l và ở nồng độ 3,75 mg/l, diazinon 60EC đã gây ảnh hưởng đến tế bào gan và thận của CRĐ (Rahman *et al.*, 2002). Trong khi đó cơ chế gây hại cho động vật của diazinon là ức chế hoạt tính ChE thì chưa được được rõ. Nghiên cứu này triển khai nhằm mục đích đánh giá mức độ nhạy cảm của ChE ở CRĐ khi tiếp xúc với diazinon và fenobucarb. Qua đó đánh giá tiềm năng sử dụng ChE ở CRĐ để đánh dấu sinh học và cảnh báo sớm ảnh hưởng của sử dụng hoá chất BVTV lên sinh vật trước khi nó gây ra những ảnh hưởng nghiêm trọng đến các loài thủy sinh vật.

<sup>1</sup> Khoa Môi trường & Tài nguyên Thiên nhiên – Trường ĐH Cần Thơ

<sup>2</sup> Khoa Môi trường & Tài nguyên Thiên nhiên – Trường ĐH Cần Thơ

<sup>3</sup> Khoa Môi trường & Tài nguyên Thiên nhiên – Trường ĐH Cần Thơ

## 2 Phương pháp nghiên cứu

### 2.1 Hoá chất

Hóa chất  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  và  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (Merck) dùng để pha dung dịch đệm pH 7,4 và pH 8. Các hóa chất 5,5 dithio – bis 2 nitrobenzoic acid (DTNB, Sigma Aldrich, Germany), acetylthiocholine iodide (ACTH) (Sigma Aldrich, Germany), butyrylcholine iodide (BUTH) (Sigma Aldrich, Germany) và tetraisopropyl pyrophosphoramidate (iso-OMPA) (Sigma Aldrich, Germany) sử dụng để đo hoạt tính ChE. Aceton (Trung Quốc) và nước cất dùng để rửa dụng cụ nghiên mẫu trước khi sử dụng nghiên mẫu tiếp theo.

Thuốc BVTV Basudin 50EC (diazinon) và Bassa 50EC (fenobucarb) do công ty Bảo vệ Thực vật An Giang sản xuất được sử dụng như nguồn diazinon và fenobucarb cho nghiên cứu này.

### 2.2 Sinh vật thí nghiệm

CRĐ giống ( $5 \pm 1$  gam,  $6,5 \pm 0,7$ cm) được mua từ trại cá giống ở quận Ô môn – Thành phố Cần Thơ, thuần dưỡng 15 - 20 ngày trước khi triển khai thí nghiệm. Cá được thay nước mỗi ngày bằng nước máy, cho ăn bằng thức ăn ở dạng viên.

### 2.3 Bố trí thí nghiệm

#### 2.3.1 Xác định loại Cholinesterase có trong não và thịt CRĐ

Nguyên não của từng CRĐ được nghiền nát trong dung dịch đệm pH 7,4 rồi chia làm 2 phần, phần 1 cho iso-OMPA vào sao cho nồng độ sau cùng của iso-OMPA trong mẫu là 0,001M. Phần còn lại pha loãng bằng dung dịch pH 7,4 sao cho nồng độ não của mẫu có và không có iso-OMPA giống nhau. Các mẫu này sau khi ly tâm sẽ được đo bằng các hoá chất acetylthiocholine iodide (ACTH) và butyrylcholine iodide theo phương pháp Ellman *et al.*, (1961).

#### 2.3.2 Xác định mức độ nhạy cảm của ChE với Diazinon, Fenobucarb trong 48 giờ tiếp xúc

Ba mức nồng độ diazinon (0,025, 0,05, 0,1 mg/l) và 3 mức nồng độ fenobucarb (0,11, 0,23, 1,14 mg/l) và đối chứng được bố trí theo khối hoàn toàn ngẫu nhiên trong bể kính dung tích 30 lít, lập lại 6 lần, mỗi lần lập lại có 15 con CRĐ.

Ở các thời điểm 3, 6, 12, 24, 48 giờ sau khi bố trí, dùng vợt vớt nhẹ 6 CRĐ cho mỗi mức nồng độ (1 cá/bể) và giết ngay bằng nước đá, sau đó lấy nguyên não, một phần thịt để đo hoạt tính ChE.

2.3.3 Xác định mức độ ức chế hoạt tính ChE của Diazinon và Fenobucarb làm cá chết

Bốn nồng độ diazinon (0,05, 0,1, 0,15, 0,2 mg/l), ba nồng độ fenobucarb (11,4, 17,1, 22,7 mg/l) và đối chứng được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên trong bể kiếng dung tích như trên, lần lượt lặp lại 5 lần cho mỗi mức nồng độ. Thí nghiệm được bố trí trong vòng 96 giờ cho diazinon và 24 giờ cho fenobucarb, mỗi bể có 5 CRĐ. Số cá chết ( $\geq 6$  con) ở từng nghiệm thức được đo ChE trong não và thịt. Khi kết thúc thí nghiệm cá còn sống cũng được đo ChE trong não và thịt.

2.3.4 Phân tích hoạt tính ChE

ChE được đo theo phương pháp so màu (Ellman *et al.*, 1961). Quá trình chuẩn bị mẫu, ly tâm, đo và tính toán hoạt tính ChE dựa theo mô tả của Nguyễn Văn Công và cộng sự (2006).

## 2.4 Xử lý số liệu

Phân tích phương sai one-way ANOVA, kiểm định Duncan và Dunnet được áp dụng để so sánh sự khác biệt hoạt tính ChE so với đối chứng và giữa từng nghiệm thức. Số liệu đã kiểm tra phân phối chuẩn và tính đồng nhất về phương sai trước khi áp dụng thống kê.

## 3 Kết quả và thảo luận

### 3.1 Kết quả

#### 3.1.1 Xác định loại ChE trong não

Hoạt tính trường hợp đo bằng ACTH khi có và không có iso-OMPA sai khác không có ý nghĩa ( $p > 0,05$ ). Tương tự, khi đo bằng BUTH cũng không thấy sự khác biệt ( $p > 0,05$ ) khi có và không có chất iso-OMPA. Tuy nhiên hoạt tính đo bằng BUTH thấp hơn đo bằng ACTH rất nhiều, chỉ bằng khoảng 10%.

Số liệu trình bày trung bình  $\pm$  sai số chuẩn,  $n=6$ ) khi đo bằng những hoá chất khác nhau. Acetylcholine iode (ACTH) đo tổng ChE; S-butrylcholine iode (BUTH) đo butrylcholinesterase; iso-OMPA (tetraisopropyl pyrophosphoramide) sử dụng ở nồng độ 0,001M, chất này có tác dụng chuyên biệt gây ức chế butrylcholinesterase. Những cột có ít nhất một chữ cái giống nhau thì sai khác không có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ , Duncan test).

Bảng 3.1.1: Hoạt tính ChE trong não và thịt cá rô giống (không tiếp xúc thuốc) đo bằng những hoá chất khác nhau

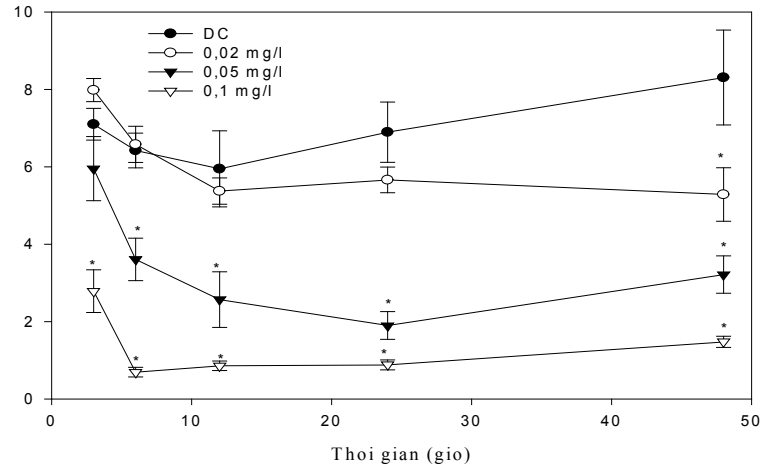
Hoá chất đo mẫu	Hoạt tính ChE ( $\mu\text{mol/g/phút}$ )
ACTH	$8,65 \pm 0,49a$
Iso-OMPA + ACTH	$7,84 \pm 0,34a$
BUTH	$0,86 \pm 0,15b$
Iso-OMPA +BUTH	$0,11 \pm 0,00b$

### 3.1.2. Ảnh hưởng nồng độ dưới ngưỡng gây chết của Diazinon lên hoạt tính ChE ở CRĐ

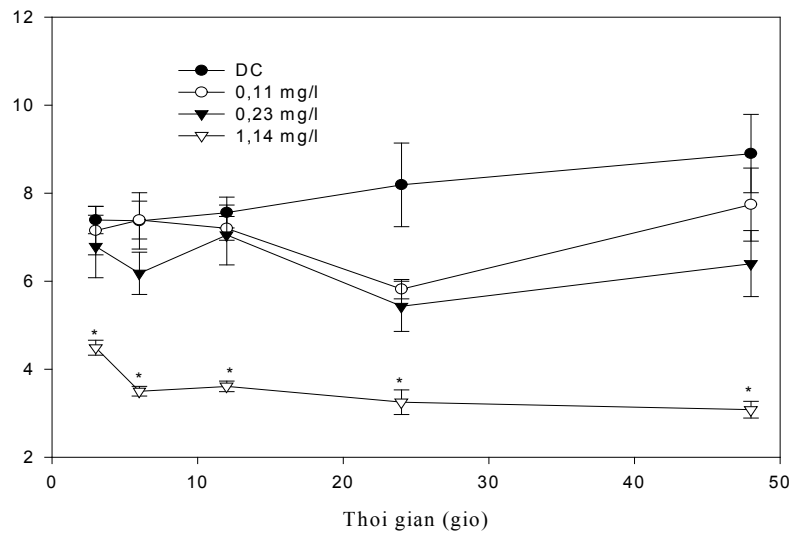
Kết quả cho thấy có ảnh hưởng của diazinon lên hoạt tính ChE, mức độ ảnh hưởng khác nhau theo nồng độ và thời gian tiếp xúc. Sau 3 giờ tiếp xúc, ở nồng độ 0,1mg/l hoạt tính giảm đáng kể (giảm 59%) so với đối chứng ( $p < 0,05$ ). Ở các mức nồng độ 0,05 và 0,025 mg/l, hoạt tính ChE cũng giảm nhưng chưa đến mức sai khác có ý nghĩa so với đối chứng ( $p > 0,05$ ). Sau 6 giờ tiếp xúc đã thấy rõ ảnh hưởng ( $p < 0,05$ ) của diazinon ở nồng độ 0,05 và 0,1 mg/l, hoạt tính ChE ở hai mức nồng độ này lần lượt là  $3,61 \pm 0,55$  và  $0,69 \pm 0,12 \mu\text{mol/g/phút}$ , giá trị này cũng thấp hơn thời điểm lúc 3 giờ. Sau 12 và 24 giờ bố trí, hoạt tính ở nồng độ thấp nhất tuy giá trị có giảm hơn so với thời điểm 6 giờ thu mẫu nhưng vẫn chưa khác biệt có ý nghĩa ( $p > 0,05$ ) so với đối chứng. Sau 48 giờ thí nghiệm, ảnh hưởng của diazinon lên hoạt tính ChE thấy rõ ( $p < 0,05$ ) ở cả tất cả các nồng độ. Các giá trị lần lượt đo được là  $5,29 \pm 0,69 \mu\text{mol/g/phút}$ ;  $3,22 \pm 0,48 \mu\text{mol/g/phút}$  và  $1,48 \pm 0,14 \mu\text{mol/g/phút}$  ở mức nồng độ diazinon tương ứng 0,025, 0,05 và 0,1 mg/l (Hình 3.1.3a).

### 3.1.3. Ảnh hưởng nồng độ dưới ngưỡng gây chết của Fenobucarb lên hoạt tính ChE ở CRĐ

Hoạt tính ChE của CRĐ sau khi tiếp xúc với fenobucarb ở nồng độ dưới ngưỡng gây chết trong 48h được trình bày ở hình 3.1.3b. Sau 3 giờ tiếp xúc với fenobucarb, ChE của CRĐ ở nồng độ cao nhất đã giảm thấp hơn đối chứng ( $p < 0,05$ ), mức độ ức chế khoảng 40%. Ở các nồng độ thấp hơn hoạt tính có giảm nhưng không sai khác có ý nghĩa so với đối chứng ( $p > 0,05$ ) trong suốt các đợt thu mẫu. Ở nồng độ cao nhất, ChE tiếp tục giảm ở thời điểm 6 giờ sau bố trí, tỷ lệ ức chế khoảng 53% và hầu như không có dấu hiệu phục hồi ở các lần thu mẫu tiếp theo.



Hình 3.1.3a: Hoạt tính ChE ( $\mu\text{mol/g/phút}$ , trung bình  $\pm$  SE,  $n=6$ ) trong não cá rô giồng trong thời gian tiếp xúc với diazinon. Dấu (\*) chỉ sai khác so với đối chứng ( $p<0,05$ , Dunnet T test) ở cùng thời gian điểm thu mẫu



Hình 3.1.3b: Hoạt tính ChE ( $\mu\text{mol/g/phút}$ , trung bình  $\pm$  SE,  $n=6$ ) trong não cá rô giồng trong thời gian tiếp xúc với fenobucarb. Dấu (\*) chỉ sai khác so với đối chứng ( $p<0,05$ , Dunnet T test) ở cùng thời điểm thu mẫu

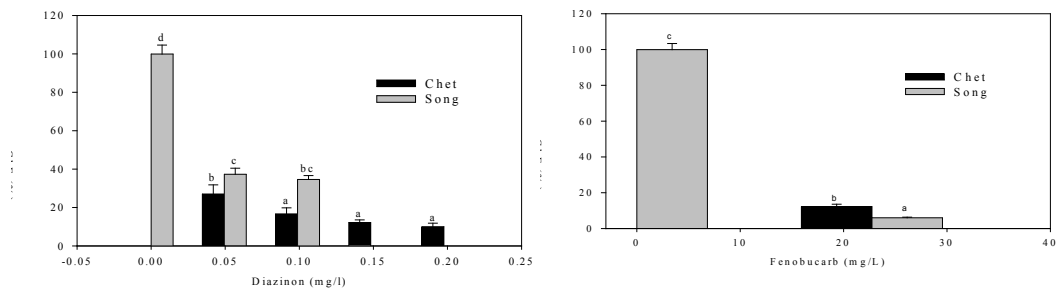
### 3.1.4 Ảnh hưởng nồng độ gây chết của Diazinon và Fenobucarb lên hoạt tính ChE ở CRĐ

#### • Diazinon

Ở tất cả các nghiệm thức hoạt tính ChE ở cá chết đều giảm đáng kể so với đối chứng ( $p < 0,05$ ), hoạt tính còn lại trong não cá sống ở nồng độ 0,05, 0,1, 0,15 và 0,5 mg/l lần lượt là  $27 \pm 4,78\%$ ,  $17 \pm 3,14\%$ ,  $12 \pm 1,4\%$  và  $10 \pm 1,79\%$  so với đối chứng (Hình 3.1.4). Như vậy nồng độ thuốc càng cao thì tỷ lệ ức chế ChE trong não cá càng lớn. ChE trong não cá còn sống sau khi tiếp xúc cũng giảm đáng kể so với đối chứng ( $p < 0,05$ ) nhưng mức độ ức chế ít hơn so với cá chết ở cùng mức nồng độ ( $p < 0,05$ ), hoạt tính ChE còn lại ở nồng độ 0,05 mg/l là  $37 \pm 3,14\%$  và nồng độ 0,1 mg/l là  $35 \pm 2,04\%$ . Như vậy, những cá còn sống sót có hoạt tính ChE trong não bị ức chế ít hơn 70%.

#### • Fenobucarb

Ở nồng độ 22,7mg/l có tỉ lệ cá chết là 64%, ở nồng độ 17,1 mg/l và 14,1 mg/l tỷ lệ chết đều là 12%. Như vậy, chỉ ở nồng độ cao nhất có số lượng cá chết đủ để thống kê ( $> 5$  con/lần lặp lại). Do đó kết quả chỉ trình bày ở nồng độ này và được tóm lược trong hình 3.1.4. Hoạt tính ChE trong não cá chết bị ức chế đến 88% và cá còn sống là 94%.



Hình 3.1.4: Hoạt tính ChE (% , trung bình  $\pm$  SE,  $n \geq 5$ ) trong não cá rô giống đã chết và còn sống sau 96 giờ trong thời gian tiếp xúc với diazinon và fenobucarb. Những cột có ít nhất một chữ cái giống nhau thì sai khác không có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ , Duncan test)

## 3.2. Thảo luận

Có hai loại enzyme acetylcholinesterase (AChE) và butyrylcholinesterase (BChE), người ta thường gọi chung hai loại này là cholinesterase (ChE). Hoá

chất ACTH thủy phân cả hai AChE và BChE (Key and Fulton, 2002). Do đó khi dùng hoá chất này sẽ không phân biệt được AChE hay BChE mà kết quả cho ra là tổng ChE. Hoá chất BUTH chuyên biệt thủy phân BChE (Key and Fulton, 2002) nên khi dùng hoá chất này đo sẽ biết được BChE mà thôi. Hoá chất iso-OMPA có tính chuyên biệt ức chế BChE nên có thể sử dụng nó để ức chế BChE có trong mẫu, rồi sau đó dùng ACTH đo hoạt tính còn lại (Key and Fulton, 2002). Nếu trong mẫu chỉ có AChE thôi thì kết quả trước và sau khi dùng iso-OMPA giống nhau, còn nếu có BChE thì hoạt tính còn lại sẽ thấp hơn hoạt tính ChE tổng cộng. Trong thí nghiệm này, sau khi trộn mẫu với iso-OMPA, hoạt tính còn lại sau khi đo bằng ACTH không sai khác so với hoạt tính ChE tổng cộng (Bảng 3.1.1). Điều này có thể kết luận rằng ChE trong não CRĐ chủ yếu là AChE. Hoạt tính ChE trong não đo bằng BUTH trước và sau khi trộn mẫu với iso-OMPA cũng không sai khác ( $p > 0,05$ ). Kết quả này góp phần khẳng định thêm trong não chủ yếu là AChE. Do đó, dùng ACTH hay Acetyl- $\beta$ -(methyl)thiocholine iodide đo đều cho kết quả tương tự.

Ảnh hưởng của diazinon lên CRĐ thông qua hoạt tính AChE trong não thể hiện rất rõ theo sự gia tăng nồng độ trong giai đoạn cá tiếp xúc thuốc. Nồng độ càng cao, mức độ giảm thấp so với đối chứng càng nhiều (Hình 3.1.3a). Mối liên hệ này có ý nghĩa quan trọng trong việc dùng AChE để quan trắc mức độ ô nhiễm hoá chất trừ sâu diazinon trong thực tế. Trong nghiên cứu này, nồng độ 0,025 mg/l, diazinon làm giảm hoạt tính AChE trong não thấp hơn đối chứng nhưng chỉ phát hiện ở một lần đo tại thời điểm 48 giờ. Có thể nói đây là ngưỡng nồng độ thấp nhất thấy được ảnh hưởng của diazinon đến AChE hay còn gọi là LOEC (Lowest observable effect concentration). Như vậy, đo hoạt tính AChE trong não CRĐ có thể phát hiện môi trường ô nhiễm diazinon ở nồng độ  $\geq 0,025$  mg/l. Tương tự như CRĐ trong thí nghiệm này, ngưỡng nồng độ diazinon thấp nhất gây ức chế hoạt tính ChE trong não ở cá lóc đồng (*Channa striata*) cỡ 40 g/con là 0,016 mg/l (Cong *et al.*, 2006). Dù CRĐ trong thí nghiệm này có kích cỡ nhỏ hơn cá lóc nhưng LOEC cũng cao hơn cá lóc. Có thể nói hoạt tính AChE trong não CRĐ kém nhạy cảm với diazinon hơn cá lóc.

Mức độ giảm hoạt tính AChE còn phụ thuộc vào thời gian tiếp xúc với hoá chất diazinon. Sau 3 giờ thí nghiệm, chỉ ở nồng độ 0,1 mg/l hoạt tính giảm thấp hơn đối chứng ( $p < 0,05$ ). Ở nồng độ 0,05 mg/l, hoạt tính có giảm sau 3 giờ thí nghiệm nhưng không sai khác đáng kể ( $p > 0,05$ ). Mức độ ức chế đạt tối đa ở 24 giờ sau khi bố trí và sau đó gần như có xu hướng phục hồi. Dù hoá chất lân hữu cơ có đặc điểm chung gây chết sinh vật thông qua ức chế AChE (Stenerson, 2004). Tuy nhiên diazinon lại có liên kết P=S trong công thức cấu tạo và dạng này không trực tiếp gây ức chế AChE mà phải được oxy hoá thành dạng P=O



(Stenerson, 2004). Sự oxi hoá chủ yếu nhờ hệ enzyme oxy hoá P450 sản sinh ra phần lớn từ gan của hầu hết động vật. Ở cá, enzyme P450 còn sản sinh ra ở thận, ruột và mang (Anderson and Forlin, 1992). Trong nghiên cứu này dù cho sản phẩm chuyển hoá từ P=S sang P=O của diazinon sau khi xâm nhập vào cơ thể CRĐ không được đo nhưng sự gia tăng mức độ ức chế AChE theo thời gian có lẽ do sự gia tăng xâm nhập diazinon (dạng P=S) vào cơ thể và sau đó tăng sản phẩm P=O trong cơ thể CRĐ.

Không giống như diazinon, fenobucarb chỉ làm giảm khoảng 40% AChE trong não ở nồng độ 1,14 mg/l sau 3 giờ thu mẫu. Trong khi tại thời điểm đó diazinon ở nồng độ 0,1 mg/L đã làm AChE trong não giảm khoảng 60%. Như vậy, dù nồng độ diazinon thấp hơn fenobucarb nhưng gây ức chế AChE nhiều hơn fenobucarb. Nói cách khác, diazinon độc với cá rõ hơn fenobucarb.

Có đến 91,5% CRĐ chết sau khi tiếp xúc với diazinon nồng độ từ 0,05 – 0,2 mg/l, hoạt tính còn lại của những cá này thấp hơn 30% so với đối chứng. Những cá còn sống sót (82%) đều có hoạt tính từ 35-37% đối chứng. Tổng kết số liệu từ nhiều nghiên cứu khác nhau, Fulton and Key (2001) cho rằng hầu hết thủy sinh vật chết khi AChE trong não bị ức chế đến 70%. Như vậy, không ngoại lệ, CRĐ cũng chết sau khi hơn 70% AChE trong não bị ức chế bởi diazinon.

Với kết quả nghiên cứu có được từ nhiều thí nghiệm đã tiến hành, khả năng sử dụng hoạt tính ChE ở CRĐ để chẩn đoán sự tiếp xúc với ô nhiễm lân hữu cơ và carbamate nói chung hay diazinon và fenobucarb nói riêng có được chấp nhận hay không đang còn là câu hỏi. Thuật ngữ “chẩn đoán” ở đây muốn đề cập đến trường hợp chúng ta bắt một con cá rô bất kỳ rồi đo hoạt tính AChE của nó. Từ đó có kết luận gì về môi trường mà cá này đã từng sống. Trong thí nghiệm xem xét mức độ nhạy cảm của AChE ở CRĐ với diazinon hay fenobucarb cho thấy hoạt tính AChE trong não rất nhạy cảm với diazinon và có thể phát hiện sự giảm thấp AChE ở nồng độ 0,025 mg/l sau 48 giờ tiếp xúc. Ngoài ra, nếu xem xét về thời gian thì có thể thấy sự khác biệt sau 3 giờ tiếp xúc ở nồng độ 0,1 mg/l và 6 giờ ở nồng độ 0,05 mg/l. Trong thực tế, thuốc phun thuốc trên đồng ruộng sẽ bay vào không khí, bám vào cây lúa và côn trùng, rơi xuống mặt nước hay đất. Tùy cách thức phun, tuổi lúa và mật độ gieo sạ mà lượng thuốc đến mặt nước hay đất sẽ không giống nhau. Trong một nghiên cứu mô phỏng ảnh hưởng của diazinon và fenobucarb lên tôm càng xanh trên ruộng lúa, Nguyễn Trung Cang (1992) tiến hành trên bề mặt ruộng có trồng lúa và theo dõi nồng độ hai hoạt chất này theo thời gian; Thí nghiệm cho thấy khi phun như liều chỉ dẫn thì sau 3 ngày nồng độ diazinon trong nước còn lại là 0.041mg/l. Nồng độ này vẫn lớn hơn ngưỡng phát



hiện (LOEC = 0.025 mg/l) diazinon gây ảnh hưởng đến AChE CRĐ. Do đó, khả năng dùng hoạt tính AChE trong não CRĐ có thể thấy được ảnh hưởng của diazinon trên đồng ruộng ít nhất là 3 ngày sau khi phun. Tuy nhiên, những thông tin cơ bản về hoạt tính AChE ở cá rô cần được tích lũy đầy đủ để có cơ sở phán đoán đúng hơn. Những thông tin cần quan tâm như ảnh hưởng của tuổi, nhiệt độ. Ngoài ra, cũng cần nghiên cứu thêm ảnh hưởng của các loại hoá chất khác lên hoạt tính AChE. Trong khi đó, khả năng sử dụng AChE để chẩn đoán ô nhiễm fenobucarb trong nước trên đồng ruộng là rất thấp. Nguyên nhân do fenobucarb phân huỷ nhanh trong môi trường, sau khi phun 3 ngày dư lượng trong nước còn lại là 0,137 mg/l (Nguyễn Trung Cang, 1992). Theo kết quả nghiên cứu của chúng tôi thì hoạt tính AChE ở CRĐ chỉ giảm ở nồng độ fenobucarb lớn hơn 1 mg/l. Qua đó cho thấy cần triển khai thí nghiệm trên thực tế đồng ruộng để tiếp tục xem xét ảnh hưởng của việc phun diazinon hay fenobucarb đến hoạt tính AChE của cá rô. Từ đó sẽ có kết quả rõ hơn về khả năng sử dụng AChE để chẩn đoán ô nhiễm hoá chất lân hữu cơ hay carbamate trong nước hay sử dụng hoá chất lân hữu cơ hay carbamate trên đồng ruộng.

#### **4. Kết luận và kiến nghị**

##### **4.1. Kết luận**

Trong não CRĐ chủ yếu là AChE. Enzyme này nhạy cảm với diazinon hơn fenobucarb. Ở nồng độ  $\geq 0,025$  mg/l, diazinon đã làm giảm AChE nhiều hơn bình thường trong khi đó fenobucarb làm giảm AChE ở nồng độ  $\geq 1,14$  mg/l. Diazinon độc với CRĐ hơn fenobucarb, nồng độ 0,05mg/l diazinon đã ức chế 73% AChE. Tất cả những cá chết đều có hoạt tính AChE bị ức chế nhiều hơn 70% so với mức bình thường.

##### **4.2. Kiến nghị**

Cần nghiên cứu thêm ảnh hưởng của các nhân tố khác như tuổi, giới tính, kích cỡ và nhiệt độ lên hoạt tính AChE trong não CRĐ để có thêm thông tin nền giúp cho sử dụng AChE để đánh dấu ô nhiễm hoá chất lân hữu cơ và carbamate trong nước. Basudin là thuốc trừ sâu thuốc độc cao vì vậy cần hạn chế sử dụng hoặc thay thế loại thuốc khác để hạn chế gây hại cho cá rô đồng nói riêng và thủy sinh vật nói chung.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1]. Andersson T., Forlin L. (1992), *Regulation of the cytochrome P450 enzyme system in fish*, Aquatic Toxicology 24:1–20.
- [2]. Aprea C., Colosio C., Mammone T., Minoia C., Maroni M. (2002), *Biological monitoring of pesticide exposure: a review of analytical methods*, Journal of Chromatography 769B:191-219.
- [3]. Berg H. (2001), *Pesticide use in rice and rice-fish farms in the Mekong Delta, Vietnam*, Crop Protection 20:897-905.
- [4]. Cong NV, Phuong NT, Bayley M. (2006), *Sensitivity of brain cholinesterase activity to diazinon (BASUDIN 50EC) and fenobucarb (BASSA 50EC) insecticides in the air-breathing fish Channa striata (Bloch, 1793)*, Environ Toxicol Chem 25:1418-1425.
- [5]. Ellman GL., Courtney D., Anderdres VJ., Featherstone RM. (1961), *A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity*, Biochemistry and Pharmacology 7:88–95.
- [6]. Fulton MH., Key PB. (2001), *Annual review: Acetylcholinesterase inhibition in estuarine fish and invertebrates as an indicator of organophosphorus insecticide exposure and effects*, Environmental Toxicology and Chemistry 20(1):37-45.
- [7]. Key PB. and Fulton MH. (2002), *Characterization of cholinesterase activity in tissues of the grass shrimp (Palaemonetes pugio)*, Pesticide Biochemistry and Physiology 72, 186-192
- [8]. Nguyễn Trung Cang (1992), *Khảo sát độ lưu tồn của một số nông dược lên đất nước và tôm trong hệ thống tôm lúa*, Luận văn tốt nghiệp kỹ sư thủy sản, Đại học Cần Thơ.
- [9]. Rahman MZ., Hossain Z., Mollah MFA., Ahmed GU. (2002), *Effect of Diazinon 60EC on Anabas testudineus, Channa punctatus and Barbodes gonionotus*, Naga, The ICLARM quarterly 25:8-12.
- [10]. Stenersen J. (2004), *Chemical pesticides: Mode of action and toxicology*, CRC Press, Boca Raton.

### **Tóm tắt**

Xác định ảnh hưởng của thuốc trừ sâu chứa hoạt chất fenobucarb và diazinon đến enzyme cholinesterase ở cá rô đồng được thực hiện trong phòng thí nghiệm. Kết quả cho thấy não cá chủ yếu là acetylcholinestrace. Enzyme này nhạy cảm với diazinon hơn fenobucarb. Khi nó bị ức chế quá 70% sẽ làm cá chết. Có thể dùng enzyme này để đánh dấu cá tiếp xúc với nước ô nhiễm diazinon. Kết quả cũng chỉ ra cần phải hạn chế sử dụng thuốc sâu chứa diazinon để giảm ảnh hưởng đến cá rô nói riêng và thủy sinh vật nói chung.

### **Abstract**

#### **Sensitivity of cholinesterase to insecticide diazinon and fenobucarb in climbing perch *Anabas testudineus***

The assessment of the effects of insecticides diazinon and fenobucarb on cholinesterase in climbing perch (*Anabas testudineus*) was carried out in the laboratory condition. Results indicate that brain cholinesterase of this species is mainly acetylcholinesterase. This enzyme is more sensitive to diazinon than fenobucarb. When over 70% of the enzyme is inhibited, climbing perch die. Brain acetylcholinesterase can be used as biomarker to indicate fish exposure to diazinon pollution. The results also demonstrate the need to reduce the use of diazinon in order to avoid negative effects on climbing perch and other aquatic organisms.