KHẢ NĂNG SỬ DỤNG CHOLINESTERASE TRONG THỊT CÁ RÔ (*ANABAS TESTUDINEUS*) ĐỂ ĐÁNH DẤU ẢNH HƯỞNG PHUN THUỐC DIAZAN 60 EC TRÊN RUỘNG LÚA Ở QUẬN BÌNH THỦY, THÀNH PHỐ CẦN THƠ

Nguyễn Văn Công[1] và Ngô Tố Linh[1]

ABSTARCT

Sensitivity of cholinesterase (ChE) of Climbing perch to insecticide diazinon and it's recovery in clean water have been assessed in laboratory. ChE was not only very sensitive to diazinon, it was also long time inhibited. It is indicated that ChE in the species can be potentially used as biomarker of pesticide exposure and effects. This study was carried out on 4 ricefields in Can Tho City to assess the possibility of using muscle ChE in the species as biomarker of exposure and effects of Diazan 60EC application. Results showed that diazinon concentration after 1 hour application varied between 8 and 711µg/L and were below detection limit (0,3µg/L) within 5 days in the ricefields. These applications caused muscle ChE inhibition between 29% and 85%. ChE inhibition was found of dose dependent. Recovery was found after 7 days application. The inhibition remained between 22% and 60% after 2-week application. Negative effects from Diazan 60EC application on ChE may be one of causes of reduction Climbing perch production in the Mekong delta. Muscle ChE in this species can be used as biomarker for diazinon contamination monitoring and it's effects on Climbing perch.

Keywords: Anabas testudineus, cholinesterase, Diazan, biomarker, ricefield

Title: The possibility of using muscle cholinesterase in Climbing perch (Anabas testudineus) as biomarker of effects of Diazan 60EC application on ricefileds at Binh Thuy district, Can Tho city

TÓM TẮT

Nhạy cảm của enzyme cholinesterase (ChE) ở cá rô đồng với thuốc sâu diazinon và khả năng phục hồi sau khi cho ra nước sạch đã được đánh giá trong điều kiện phòng thí nghiệm. ChE không những rất nhạy cảm với diazinon mà còn bị ức chế lâu dài. Qua đó cho thấy ChE ở cá rô có khả năng được sử dụng như chỉ dấu sinh học để đánh giá ảnh hưởng của sử dụng thuốc. Nghiên cứu này được triển khai trên 4 ruộng lúa ở Thành Phố Cần Thơ nhằm đánh giá khả năng sử dụng ChE trong thịt cá rô để đánh dấu ảnh hưởng của phun Diazan 60EC đến cá. Kết quả cho thấy nồng độ diazinon trong nước ở ruộng sau 1 giờ phun dao động từ 8 đến 711µg/L và giảm dưới ngưỡng phát hiện (0,3µg/L) trong 5 ngày sau khi phun. Các nồng độ diazinon này đã làm ức chế ChE trong thịt cá rô từ 29% đến 85%. Tỷ lệ ức chế ChE tăng theo sự gia tăng nồng độ diazinon. Sau 7 ngày ChE mới có khuynh hướng phục hồi nhưng vẫn còn bị ức chế từ 22 đến 60% sau 2 tuần phun thuốc. Tác hại lâu dài của phun Diazan 60EC có thể là một trong những nguyên nhân làm suy giảm sản lượng cá rô đồng ngoài tự nhiên. Có thể sử dụng ChE trong thịt cá rô để quan trắc nước nhiễm bẩn do phun Diazan và ảnh hưởng của nó đến cá rô.

Từ khóa: Anabas testudineus, cholinesterase, Diazan, đánh dấu sinh học, ruộng lúa

[1] Bộ môn Khoa học Môi trường, Khoa Môi trường và Tài nguyên Thiên nhiên,Trường Đại học Cần Thơ

1 GIỚI THIỆU

Thuốc BVTV chứa hoạt chất Diazinon là một trong những loại thuốc BVTV được sử dụng phổ biến trên lúa (Huan *et al*., 1999). Hiện nay nó tồn tại nhiều tên thương mại với nhiều tỷ lệ phối trộn diazinon khác nhau (www.pdd.gov.vn). Hoạt chất này bền vững trong môi trường trung tính, môi trường thường gặp trên ruộng lúa (Tomlin, 1994) gây chết động vật qua ức chế cholinesterase (Tomlin, 1994). Cholinesterase (ChE) là enzyme có chức năng điều hòa hoạt động bình thường của hệ thần kinh (Peakall, 1992). ChE bao gồm acetylcholinesterase (AChE) và butyrylcholinesterase (Key and Fulton, 2002). AChE bị ức chế có liên quan đến sức khỏe của sinh vật (Fulton *et al*., 2001). Nó có trong nhiều loại mô nhưng tập trung nhiều nhất trong não (Peakall, 1992).

Cá rô đồng (*Anabas testudineus*) có giá trị thương phẩm cao, đang là đối tượng được chọn nuôi thâm canh quan trọng ở đồng bằng sông Cửu Long (ĐBSCL). Trong tự nhiên, cá phân bố ở các thủy vực nước ngọt như ao, hồ, kênh, rạch và ruộng lúa (Trương Thủ Khoa và Trần Thị Thanh Hương, 1993). Do đó, loài cá này không thể tránh khỏi những ảnh hưởng do sử dụng hóa chất BVTV trên đồng ruộng. Nồng độ diazinon gây chết 50% cá rô cỡ giống sau 96 giờ (LC50-96h) là 6,55mg/L (Radman *et al*., 2002); các tác giả này cũng cho thấy ảnh hưởng bất lợi của diazinon ở nồng độ thấp hơn LC50-96h lên tế bào gan và thận của cá rô. Mức độ nhạy của của ChE ở cá rô đồng với diazinon và khả năng phục hồi đã được đánh giá trong điều kiện phòng thí nghiệm (Nguyễn Văn Công *et al.*, 2008; Ngô Tố Linh và Nguyễn Văn Công, 2009). Các kết quả này cho thấy ChE ở cá rô đồng rất nhạy cảm với hoạt chất diazinon và sau khi tiếp xúc khoảng 30 ngày ChE vẫn còn bị ức chế. Những phát hiện này cho ChE ở cá rô có thể được sử dụng như chỉ dấu sinh học để đánh giá ảnh hưởng của nhiễm bẩn thuốc BVTV lân hữu cơ đến cá. Vấn đề quan trọng là cần phải thử nghiệm trên thực tế ruộng lúa để có đánh giá cụ thể.

Nghiên cứu này được đặt ra nhằm đánh giá khả năng sử dụng ChE trong thịt cá rô đồng để làm chỉ dấu sinh học chỉ ảnh hưởng của phun Diazan 60EC trên ruộng. Kết quả là bằng chứng làm cơ sở cho khuyến cáo sử dụng hợp lý nông dược trong nông nghiệp và đề nghị phương pháp mới áp dụng để quan trắc môi trường nhiễm bẩn thuốc BVTV.

2 VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1 Địa điểm nghiên cứu

Nghiên cứu được triển khai trên ruộng lúa ở xã Long Hoà - Quận Bình Thủy - Thành Phố Cần Thơ. Số liệu được phân tích tại Phòng thí nghiệm Bộ môn Khoa học Môi trường, Trường Đại học Cần Thơ.

2.2 Hóa Chất

Thuốc BVTV Diazan 60EC chứa 60% trọng lượng hoạt chất diazinon [6-methyl-2-(1- methylethyl)-4-pyrimidinyl] ester và 40% chất phụ gia được sử dụng để nông dân phun cho ruộng lúa thí nghiệm.

Hóa chất $Na_2HPO_4.2H_2O$ (Merck) và $NaH_2PO_4.2H_2O$ (Merck) dùng pha dung dịch đệm pH 7,4 và pH 8; 5,5 dithio-bis 2nitrobenzoic acid (DTNB, Sigma Aldrich, Đức) và acetylcholine iodide (Sigma Aldrich, Đức) dùng để đo ChE; aceton (Trung Quốc) dùng để rửa cối nghiền trước khi nghiền mẫu tiếp theo.

2.3 Sinh vật thí nghiệm

Cá rô đồng (*Anabas testudineus*) cỡ giống được mua từ trại cá giống ở thành phố Cần Thơ. Cá được thuần dưỡng trong bể composite 600L tại phòng thí nghiệm bộ môn Khoa học Môi trường. Hàng ngày cho cá ăn 2 lần (3-5% khối lượng) bằng thức ăn viên và thay nước 1 lần.

2.4 Phương pháp thí nghiệm

Bốn ruộng lúa (R1, R2, R3 và R4) luôn giữ được nước từ 6cm trở lên thuộc 4 nông hộ khác nhau ở Xã Long Hoà - Quận Bình Thủy - Thành phố Cần Thơ được chọn để đánh giá ảnh hưởng của phun Diazan 60EC trong thực tế đến cá rô đồng. Mỗi ruộng đặt 3 lồng (0.8 x 0.8 x 0.5m) ở các điểm khác nhau, mỗi lồng thả 30 cá rô (3,86±0,53g) khỏe mạnh. Cá được cho ăn hàng ngày (3% trọng lượng) bằng thức ăn thương mại dạng viên. Nông dân được cung cấp thuốc Diazan 60EC để phun theo thói quen của họ.

Sau một tuần bố trí cá trên ruộng thì thu mẫu cá lần đầu tiên để có số liệu ChE trước khi phun diazan 60EC. Sau đó cung cấp Diazan 60EC cho nông hộ phun theo thói quen của họ. Mẫu cá tiếp tục được thu vào ngày 1, 3, 5, 7, 9, 13, 15 sau khi phun để theo dõi diễn biến hoạt tính ChE của cá sau khi phun Diazan 60EC cho lúa; mỗi lồng thu 2 cá. Mẫu nước ở từng ruộng được thu trước khi bố trí cá vào ruộng để kiểm tra nồng độ Diazinon trước khi thả cá và 1 giờ sau khi phun để biết nồng độ diazion cá tiếp xúc và 1, 3, 5, 7 ngày sau khi phun để theo dõi diễn biến nồng độ diazinon trên ruộng theo thời gian. Diazinon được phân tích theo phương pháp sắc ký khí (Parfitt, 2000). Mực nước, pH, DO, nhiệt độ được đo 2 ngày/lần vào buổi sáng (7:00) và buổi chiều (14:00).

2.5 Phân tích ChE

Sau khi thu, cá được giết bằng cách cho vào nước đá. Một phần thịt ở phía lưng của mỗi cá được lấy ra cân trọng lượng bằng cân điện tử (Sartorius, Đức) có độ chính xác 0,001g rồi cho vào từng eppendorf riêng biệt đã đặt trên nước đá. Mô thịt được nghiền riêng biệt trong dung dịch đệm 0,1M phosphate pH 7,4 bằng cối nghiền thủy tinh. Thể tích dung dịch đệm cho vào đảm bảo nồng độ thịt nghiền ≤ 30mg/mL. Sau khi trộn đều bằng máy trộn (MS2, IKA, Wilmington, Mỹ), lấy 1mL dung dịch cho vào eppendorf rồi ly tâm ở 4^0C, tốc độ 2000 vòng/phút trong 20 phút bằng máy ly tâm (Sigma, Đức). Sau khi ly tâm, phần trong phía trên của mẫu ly tâm được lấy ra để đo ChE bằng máy so màu quang phổ (U-2800, Hitachi, Nhật) ở bước sóng 412nm trong 200 giây dựa theo phương pháp Ellman *et al*. (1961). Kết quả sẽ được ghi nhận khi hệ số tương quan (r^2) đạt từ 0,9 trở lên.

2.6 Xử lý số liệu

Số liệu được kiểm tra dạng phân phối chuẩn và đồng nhất phương sai trước khi phân tích phương sai (one - way ANOVA) và kiểm định Duncan để so sánh sai

khác ChE theo thời gian thu mẫu. Phần mềm SPSS 10.0 được sử dụng để xử lý thống kê.

3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 KẾT QUẢ

3.1.1 Nhiệt độ, oxy hòa tan (DO), pH và nồng độ diazinon trong nước ở các ruộng trong thời gian thí nghiệm

Mực nước trung bình đo được trên mặt ruộng trong ngày là 16±9cm. pH nước trung bình dao động từ 6,5±0,17 (buổi sáng) đến 6,7±0,19 (buổi chiều) cho cả bốn ruộng. DO tăng từ 2,3±0,82mg/L (buổi sáng) đến 6,1±2,15mg/L (buổi chiều). Tương tự, nhiệt độ cũng tăng từ 26^0C (7:00-8:00) đến 32^0C (14:00-15:00). Trong khi đó, các yếu tố nhiệt độ, pH, DO trong bể bố trí ở ĐCPTN dao động rất ít. pH 7,0-7,2; nhiệt độ $27,4^0$C-$28,1^0$C; DO 7,4-7,5mg/L.

Bảng 1: Kết quả theo dõi nồng độ diazinon trên ruộng trước và sau khi phun

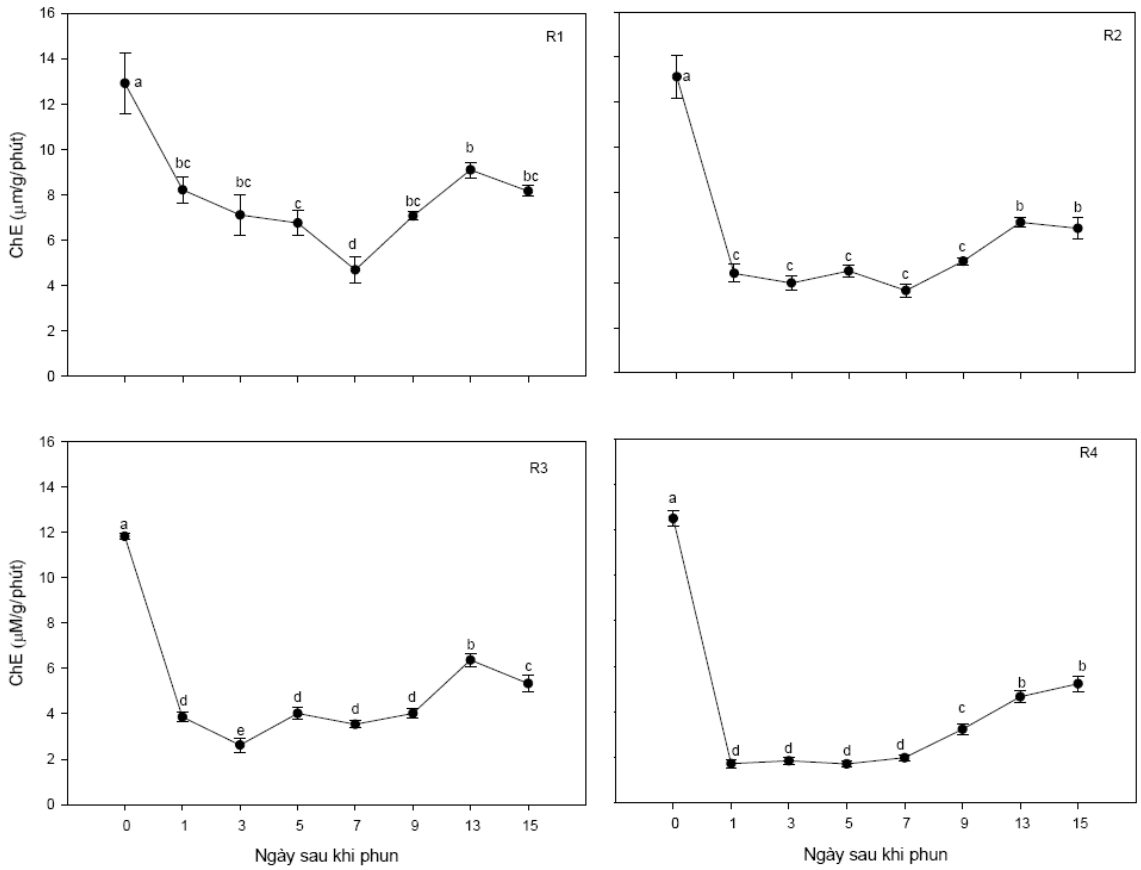
Mẫu	Nồng độ diazinon (µg/L) trong nước					
	Trước phun	1 giờ	1 ngày	3 ngày	5 ngày	7 ngày
R1	< DL	8,05	1,5	< DL	< DL	< DL
R2	< DL	177,7	12,47	< DL	< DL	< DL
R3	< DL	228,9	5	< DL	< DL	< DL
R4	< DL	711	41,13	2,27	< DL	< DL

(DL=0,3µg/L, R1: ruộng 1, R2: ruộng 2, R3: ruộng 3, R4: ruộng 4)

Trước khi phun thuốc, nồng độ hoạt chất diazinon ở tất cả các ruộng đều dưới ngưỡng phát hiện (0,3µg/L). Sau 1 giờ phun, mẫu nước thu ở tất cả các ruộng đều phát hiện tồn tại diazinon; nồng độ cao nhất ở R4 (711µg/L) và thấp nhất ở R1 (8,05µg/L). Diazinon trong nước giảm nhanh theo thời gian, đa số dưới ngưỡng phát hiện ở ngày thứ 3 sau khi phun, trừ R4 ở ngày thứ 5 sau khi phun (Bảng 1).

3.1.2 Hoạt tính ChE ở cá rô trên ruộng trong suốt thời gian thí nghiệm

Trước khi phun thuốc, hoạt tính ChE trong thịt ở các nghiệm thức trên ruộng có giá trị gần nhau (11,82 ± 0,32 đến 14,13 ± 0,96µM/g/phút) và sai khác không có ý nghĩa thống kê ($p>0,05$)). Sau một ngày phun diazan 60EC, ChE của cá ở các ruộng giảm đáng kể (Hình 2) và còn lại lần lượt ở R1, R2, R3 và R4 là 8,22±1,44, 4,41±0,97, 3,86±0,54 và 1,72±0,47µM/g/phút; tương ứng với 64, 34, 32 và 14% so với lần thu mẫu trước khi phun. ChE liên tục giảm và có giá trị thấp nhất vào ngày thứ 7 sau phun thuốc. Sau 7 ngày, ChE có chiều hướng tăng trở lại nhưng không nhiều và vẫn sai khác có ý nghĩa thống kê so với lần thu mẫu đầu tiên. Hoạt tính enzyme vào ngày 13 sau phun Diazan 60EC ở R1, R2, R3 và R4 có giá trị lần lượt là 9,10±0,84, 6,67±0,53, 6,36±0,68, và 4,66±0,60µM/g/phút hay 70, 47, 54 và 37% so với lần thu mẫu đầu tiên. Sau 13 ngày, người dân phun thuốc đợt hai nên ChE tiếp tục giảm. Như vậy đến thời điểm kết thúc thí nghiệm ChE chưa phục hồi hoàn toàn và vẫn còn sai khác có ý nghĩa thống kê so với đối chứng ($p<0,05$).



Hình 1: Hoạt tính ChE ở cá rô (TB±SE, n=6) trước và sau khi phun diazinon trên ruộng và đối chứng trong phòng

Số liệu ở các thời điểm thu mẫu có cùng ít nhất một chữ cái thì sai khác không có ý nghĩa thống kê (p>0,05, Duncan test). R1: Ruộng 1, R2: Ruộng 2, R3: Ruộng 3, R4: Ruộng 4

3.2 THẢO LUẬN

Diazinon được phát hiện trong mẫu nước ở tất cả các ruộng từ 1 giờ đến 3 ngày sau phun. Sự khác nhau về độ diazinon giữa 4 ruộng sau 1 giờ phun có thể do sự khác nhau về liều lượng pha và cách phun thuốc của nông dân. Sự khác nhau về tỷ lệ che phủ cũng ảnh hưởng đến tỷ lệ thuốc rơi xuống nước. Ngoài ra, mực nước trên ruộng khác nhau cũng làm khác nhau về nồng độ giữa bốn ruộng này. Tốc độ giảm nồng độ diazinon khác nhau giữa các ruộng (Bảng 1). Giddings *et al*. (1996) cho thấy nồng độ diazinon trong nước tăng sau khi phun và đạt cao nhất ở ngày thứ 2; Các tác giả ước lượng thời gian bán hủy của diazinon trên ruộng từ 7 đến 13 ngày. Diazinon giảm nhanh trong nghiên cứu này có thể do một vài nguyên nhân sau. Diazinon ít tan trong nước, có hệ số K_{ow} cao (Tomlin, 1994) nên sau khi phun nó sẽ kết hợp với vật chất lơ lững rồi lắng xuống nền đáy. Mặt khác, mực nước dao động trên ruộng (từ 6cm đến 27cm) cũng làm thay đổi nồng độ diazinon trên ruộng. Nồng độ diazinon giảm nhanh ở ruộng lúa có thể do sự hiện diện của loại vi khuẩn có khả năng phân hủy diazinon. Sethunathan and Pathak (1972) phát hiện những ruộng lúa từng phun diazinon sẽ xuất hiện dòng vi khuẩn có khả năng phân hủy loại hoạt chất này nhanh hơn những ruộng ít sử dụng diazinon. Diazinon được bán rất phổ biến ở ĐBSCL với các tên như BASUDIN, DIAZAN và nó là một trong những loại thuốc BVTV được sử dụng phổ biến trong canh tác lúa (Heong *et*

al., 1998; Huan *et al*., 1999). Sự giảm nhanh diazinon trên các ruộng nghiên cứu rất có thể do ruộng đã từng phun diazinon trong canh tác.

Nồng độ diazinon trong nước ở các ruộng khác nhau dẫn đến ChE ở cá rô bố trí trên ruộng cũng khác nhau. Sau khi phun thuốc được 1 ngày, ChE bị ức chế ở R1, R2, R3 và R4 lần lượt là 29, 62, 67 và 85% so với đối chứng phòng thí nghiệm. Nhìn chung ChE của cá càng thấp ở ruộng có nồng độ diazinon càng cao. Kết quả này hoàn toàn tương tự như ở điều kiện phòng thí nghiệm (Hình 1). Hoạt tính enzyme tiếp tục giảm mạnh ở lần thu mẫu kế tiếp theo, sau đó phục hồi dần và vào ngày cuối của đợt thí nghiệm ChE ở R1 đã > 70% so với đối chứng, các ruộng còn lại ChE vẫn còn bị ức chế > 30%. Nhìn chung, ChE ở thịt cá rô không thể phục hồi như ban đầu cho đến khi kết thúc thí nghiệm. Kết quả tương tự đã được phát hiện ở cá lóc *C. striata* sau phun diazinon trên ruộng (Cong *et al*., 2008), ChE trong não cá lóc không thể phục hồi hoàn toàn cho đến khi kết thúc 21 ngày sau khi phun. Trong nghiên cứu này, ở điều kiện phòng thí nghiệm, sau khi tiếp xúc với với diazinon ở nồng độ 66µg/L rồi cho ra nước sạch, ChE ở cá rô phục hồi khoảng 90% sau 23 ngày, còn những nồng độ lớn hơn 66µg/L thì phục hồi rất chậm. Nồng độ diazinon trên ruộng sau 1 giờ phun đa số cao hơn 66µg/L, ngoại trừ ruộng 1 (Bảng 1). Do đó, khả năng để ChE của cá ở tất cả các ruộng phục hồi hoàn toàn là rất ít. Ngoài ra, nhiệt độ trên ruộng dao động rất lớn vào các ngày bố trí, từ 26^0C (7:00 - 8:00) đến 32^0C (14:00 - 15:00) cũng có thể làm tăng ảnh hưởng của diazinon lên ChE. Nguyễn Văn Công *et al.* (2006) phát hiện nhiệt độ tăng sẽ làm tăng mức độ ức chế ChE trong não cá lóc khi tiếp xúc cùng nồng độ diazinon; nguyên nhân có lẽ do nhiệt độ tăng làm tăng trao đổi chất, kéo theo tăng lượng diazinon xâm nhập vào cá. Kết quả nghiên cứu trên cá rô đồng cũng cho thấy khi nhiệt độ tăng từ 20^0C lên 30^0C thì sự ức chế ChE não và thịt của cá rô lên 1,5 lần (Ngô Tố Linh và Nguyễn Văn Công, 2009).

Ở ĐBSCL, tần suất phun thuốc thực tế khoảng 5,7 lần/vụ ở mô hình lúa - cá và 8,2 lần/vụ ở mô hình độc canh lúa (Berg, 2001). Trong 4 ruộng nghiên cứu, chỉ có ruộng R1 thì ChE phục hồi hơn 80% sau 13 ngày phun, còn 3 ruộng R2, R3, và R4 hoạt tính ChE của cá chỉ phục hồi đến gần 50%. Như vậy, sau một lần phun diazan 60EC thì ChE của cá bị ức chế và chưa phục hồi hoàn toàn lại có thể chịu ảnh hưởng lần phun tiếp theo. Do đó, cá trong tự nhiên ở ĐBSCL khi sống trên ruộng sẽ có khả năng tiếp xúc với phun thuốc BVTV nhiều lần và hậu quả có thể làm cho ChE luôn trong tình trạng bị ức chế. Cá hồi sau khi tiếp xúc malathion và diazinon đã giảm tốc độ bơi do gia tăng ức chế ChE (Brewer *et al*., 2001). Khi tiếp xúc với diazinon ở nồng độ gây chết, cá rô đồng, cá lóc *C. punctatus* và cá *Barbodes gonionotus* đều có những biểu hiện thất thường như di chuyển không định hướng, mất thăng bằng và co thắt cơ (Rahman *et al*., 2002). Hành vi này có thể hạn chế sự sống sót khi bị kẻ thù tấn công hoặc cá không thể săn được mồi làm thức ăn hoặc không định hướng được khi bơi. Hoạt tính ChE cá rô trong nghiên cứu này bị ức chế lâu dài là bằng chứng cho thấy sinh lý, sinh hóa của cá không bình thường hay cá không khỏe mạnh.

Dù diazinon đã dưới ngưỡng phát hiện ở ngày thứ 5 sau khi phun trên ruộng nhưng hoạt tính ChE trong thịt vẫn còn ảnh hưởng rõ đến khi kết thúc 13 ngày thí nghiệm. Như vậy, dùng phương pháp hóa học để quan trắc môi trường chỉ phát

hiện diazinon trong giới hạn 3 ngày sau khi phun. Dùng phương pháp sinh học như đo ChE ở cá rô cho thấy rõ ảnh hưởng của phun diazinon kéo dài. Đây cũng là điểm mạnh của việc dùng ChE để đánh dấu ảnh hưởng của ô nhiễm môi trường lên cá rô.

4 KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

4.1 Kết luận

- Nồng độ diazinon trong nước trên ruộng lúa sau khi phun dao động từ 8 đến 711µg/L và nhanh chóng giảm đến mức dưới ngưỡng phát hiện trong vòng 1 tuần.
- Sau một ngày phun, các mức nồng độ này đã làm ức chế ChE trong thịt cá rô từ 29% đến 85% so với đối chứng. Mức độ ức chế gia tăng theo thời gian và sau 7 ngày thì ChE mới có khuynh hướng phục hồi nhưng vẫn còn ức chế từ 22 đến 60% sau 2 tuần phun thuốc.

4.2 Đề nghị

- Hạn chế sử dụng diazinon trên ruộng vì nó gây ảnh hưởng lâu dài và nghiêm trọng đến hoạt tính ChE ở cá rô trong điều kiện phòng thí nghiệm và thực tế đồng ruộng.
- ChE ở cá rô có thể được sử dụng để quan trắc môi trường nhiễm bẩn do phun diazinon và ảnh hưởng của nó đến sinh vật.
- Tiếp tục nghiên cứu ảnh hưởng của hóa chất này lên các chỉ tiêu khác như sinh học khác ở cá rô để dần hoàn thiện đánh giá độc tính diazinon lên loài cá này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Berg H. 2001. Pesticide use in rice and rice-fish farm in the Mekong Delta, Viet Nam, *Crop Protection* 20, 897 - 905.

Brewer S.K., Little E.E., Delonay A.J., Beauvais S.L., Jones S.B., Ellersieck M.R., 2001. Behavioral dysfuntions correlate to altered physiology in rainbow trout (*Oncorynchus mykiss*) exposed to cholinesterase-inhibiting chemicals, *Arch. Environ. Contam. Toxicol* 40, 70 - 76.

Cong N.V., Phuong N.T., Bayley M., 2008. Brain cholinesterase response in the snakehead fish (*Channa striata*) after field exposure to diazinon, *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 71, 314-318.

Dung N.H., Thien T.C., Hong V.H., Loc N.T., Minh D.V., Thau T.D., Nguyen H.T.L., Phong N.T., Son T.T., 1999. Impact of agro-chemical use on productivity and health in Vietnam, Economy and environment program in South East Asia (EEPSA) Research Report series. 1 - 65.

Ellman G.L., Courtney D., Anderdres V.J., Featherstone R.M., 1961. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity, *Biochemistry and Pharmacology* 7, 88 - 95.

Fulton M.H., Key P.B., 2001. Acetylcholinesterase inhibition in estuarine fish and invertebrates as an indicator of Organophosphorus insecticide exposure and effects, *Environmental Toxicology and Chemistry* 20(1), 37 - 45.

Giddings J.M., Biever R.C., Annunziato M.F., Hosmer A.J., 1996. Effects of Diazinon on large outdoor pond microcosms, *Environmental Toxicology and Chemistry* 5(5), 618-629.

Heong K.L., Escalada M.M., Huan N.H., Mai N.H. ., 1998. Use of communication media in changing rice farmers' pest management in the Mekong Delta, Vietnam, *Crop Protection* 17, 413 - 425.

Huan N.H., Mai V., Escalada M.M., Heong K.L., 1999. Changes in rice farmers' pest management in the Mekong Delta, Vietnam, *Crop Protection* 18, 557 - 563.

Key P.B., M.H. Fulton (2002), Characterization of cholinesterase activity in tissues of the grass shrimp (*Palaemonetes pugio*), *Pest Biochem Physiol* 72:186 - 192.

Lê Huy Bá và Lâm Minh Triết, 2005. Sinh thái môi trường ứng dụng, NXB Khoa Học và Kỷ Thuật, trang 263-306.

Ngô Tố Linh và Nguyễn Văn Công, 2009. Ảnh hưởng thuốc trừ sâu chứa hoạt chất diazinon lên hoạt tính enzyme cholinesterase ở cá rô (*Anabas testudineus*): Hiệu ứng của nhiệt độ và oxy hòa tan. *Tạp chí Khoa học Đại học Cần Thơ* 11, 33-40.

Ngô Tố Linh và Nguyễn Văn Công, 2009. Phục hồi enzyme cholinesterase trong thịt cá rô (*Anabas testudineus*) sau khi tiếp xúc với thuốc sâu diazinon. *Tạp chí Khoa học ĐHSP T.P HCM* 16, 87-94.

Nguyễn Sinh Cúc, 2007. Sản xuất nông nghiệp năm 2006 và những vấn đề đặt ra. *Tạp Chí Khoa Học - Công Nghệ của Bộ Nông Nghiệp và Phát Triển Nông Thôn*, kỳ 1/2007, (số 99), 3 - 7.

Nguyễn Văn Công, Nguyễn Tuấn Vũ, Trần Sỹ Nam, 2008. Nhạy cảm của Cholinesterase ở cá rô đồng (*Anabas testudineus*) giống với Diazinon và Fenobucarb. *Tạp chí Khoa học ĐHSP T.P HCM* 14, 69-79.

Nguyễn Văn Công, Trần Sỹ Nam, Phạm Ngọc Thanh Hùng và Nguyễn Thanh Phương, 2006. Ảnh hưởng nhiệt độ và oxy hòa tan lên độc tính Basudin 50EC ở Cá Lóc (*Channa Striata*, Bloch 1793). *Tạp Chí Khoa Học Trường Đại học Cần Thơ*, 1 - 12.

Parfitt C.H., 2000. Pesticide and Industrial Chemical Residues. In Horwitz W, ed, *Official Methods of Analysis of AOAC International*, 17th ed, Vol 1 - Agrochemicals; Contaminants; Drugs. Association of Analytical Communities International, Gaithersburg, MD, USA, pp 22 - 23.

Peakall D., 1992. Animal biomakers as pollution indicators, Chapman and Hall, London, UK.

Rahman M.Z., Hossain Z., Mollah M.F.A., Ahmed G.U., 2002. Effects of Diazinon 60EC on *Anabas testudineus, Channa punctatus* and *Barbodes gonionotus*. Naga, The ICLARM Quartery 25 (2), 8-12.

Sethunathan N., Pathak M.D., 1972. Increased biological hydrolysis of diazinon after repeated application in the rice paddies, *J Agr Food Chem* 20, 586 - 589.

Tomlin C. (ed), 1994. The pesticide manual: Incorporating the Agrochemicals Handbook, 10th, *British Crop Protection Publication*, pp 296 - 297.

Trương Thủ Khoa và Trần Thị Thanh Hương, 1993. Định danh các loài cá nước ngọt đồng bằng sông Cửu Long, Việt Nam, Khoa Thủy Sản, Trường Đại học Cần Thơ.