



DOI:10.22144/ctu.jsi.2019.121

## ĐỘC CẤP TÍNH VÀ ẢNH HƯỞNG CỦA MARSHAL 200SC LÊN HOẠT TÍNH CHOLINESTERASE VÀ SINH TRƯỞNG CÁ RÔ PHI (*Oreochromis niloticus*)

Nguyễn Văn Công<sup>1\*</sup>, Nguyễn Xuân Khuê<sup>1</sup>, Huỳnh Thị Giàu<sup>1</sup>, Nguyễn Đăng Khoa<sup>1</sup>, Huỳnh Công Khánh<sup>1</sup>, Huỳnh Văn Thảo<sup>1</sup>, Nguyễn Thanh Giao<sup>1</sup>, Trần Sỹ Nam<sup>1</sup>, Phạm Quốc Nguyên<sup>2</sup> và Mitsunori Tarao<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Khoa Môi trường và Tài nguyên Thiên nhiên, Trường Đại học Cần Thơ

<sup>2</sup>Khoa Kỹ thuật Công nghệ, Trường Đại học Đồng Tháp

<sup>3</sup>Institute of Agriculture, Tokyo University of Agriculture and Technology

\*Người chịu trách nhiệm về bài viết: Nguyễn Văn Công (email: nvcong@ctu.edu.vn)

### ABSTRACT

Acute toxicity and effects of insecticide Marshal 200SC on cholinesterase (ChE) and growth performances of fingerling *Tilapia* (*Oreochromis niloticus*) were carried out in laboratory conditions. An experiment was conducted in static non-renewed system for estimating LC<sub>50-96h</sub>. Other experiments with three levels of Marshal 200SC (1, 5 and 10%LC<sub>50-96h</sub>) and control were conducted in 50L glass aquaria during 96hrs and in 600L glass fiber tanks during 60 days for examining effects of this insecticide on ChE and growth of this species, respectively. Result showed that Marshal 200SC is very toxic for *Tilapia*, LC<sub>50-96h</sub> is 0.52 ppm (0.1 mg/L of Carbosulfan). At concentrations  $\leq 10\%LC_{50-96h}$ , the insecticide causes significantly short-term effects on brain ChE activity but insignificant effects on growth parameters. Activity of ChE is the most sensitive parameter to Marshal 200SC. At sub-lethal concentrations, it is quickly inhibited within 6 hrs of exposure and fully recovers within 48 hrs. Lowest observed effect concentration of Marshal 200SC for ChE is 0.05ppm (10%LC<sub>50-96h</sub>).

### TÓM TẮT

Xác định LC<sub>50</sub> và tác động của Marshal 200SC lên cholinesterase (ChE) và sinh trưởng cá rô phi (*Oreochromis niloticus*), cỡ giống được triển khai trong điều kiện phòng thí nghiệm. Thí nghiệm xác định LC<sub>50</sub> được bố trí theo phương pháp nước tĩnh, không thay nước. Marshal 200SC ở nồng độ 1, 5 và 10%LC<sub>50-96h</sub> và đối chứng được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên trong bể kính 50L và bể composite 600L để xác định ảnh hưởng của thuốc đến ChE và sinh trưởng của cá. Kết quả cho thấy Marshal 200SC độc cấp tính cao đối với cá rô phi, giá trị LC<sub>50-96h</sub> là 0,52 ppm (carbosulfan 0,1 mg/L). Ở nồng độ  $\leq 10\%LC_{50-96h}$ , thuốc không gây ảnh hưởng lâu dài đến các thông số tăng trưởng. ChE và rô phi rất nhạy cảm với Marshal 200SC. Ở các nồng độ dưới ngưỡng gây chết, hoạt chất này gây ức chế ChE nhanh sau 6 giờ phơi nhiễm nhưng phục hồi hoàn toàn sau 48 giờ. Nồng độ thấp nhất thấy ảnh hưởng đến ChE là 0,05ppm (10%LC<sub>50-96h</sub>).

### Thông tin chung:

Ngày nhận bài: 03/07/2019

Ngày nhận bài sửa: 04/09/2019

Ngày duyệt đăng: 15/10/2019

### Title:

Acute toxicity and effects of Marshal 200SC on cholinesterase activity and growth performances of tilapia (*Oreochromis niloticus*)

### Từ khóa:

Carbosulfan, Cholinesterase, độc học, LC<sub>50</sub>, *Oreochromis niloticus*

### Keywords:

Carbosulfan, Cholinesterase, LC<sub>50</sub>, *Oreochromis niloticus*, toxicology

Trích dẫn: Nguyễn Văn Công, Nguyễn Xuân Khuê, Huỳnh Thị Giàu, Nguyễn Đăng Khoa, Huỳnh Công Khánh, Huỳnh Văn Thảo, Nguyễn Thanh Giao, Trần Sỹ Nam, Phạm Quốc Nguyên và Mitsunori Tarao, 2019. Độc cấp tính và ảnh hưởng của Marshal 200sc lên hoạt tính cholinesterase và sinh trưởng cá rô phi (*Oreochromis niloticus*). Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. 55(Số chuyên đề: Môi trường và Biến đổi khí hậu)(1): 135-141.

## 1 GIỚI THIỆU

Đồng bằng sông Cửu Long (ĐBSCL) là vùng canh tác lúa trọng điểm của Việt Nam. Sản lượng lúa ở ĐBSCL luôn chiếm hơn 50% so với toàn Việt Nam trong khi diện tích ĐBSCL chỉ khoảng 12% diện tích toàn quốc ([www.gso.gov.vn](http://www.gso.gov.vn)). Nhằm gia tăng năng suất lúa để duy trì sản lượng, việc sử dụng thuốc bảo vệ thực vật (BVTV) trên đồng ruộng ở ĐBSCL cũng gia tăng. Theo thống kê của Bộ Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn (2017), danh mục thuốc BVTV được phép sử dụng ở Việt Nam có 1.773 hoạt chất với 4.237 sản phẩm thương mại được phép lưu hành. Marshal 200SC chứa hoạt chất carbosulfan 200g/L và chất phụ gia là một trong những loại thuốc thương mại được sử dụng khá phổ biến trong canh tác lúa ở ĐBSCL để diệt trừ rầy nâu, bọ trĩ, bọ xít, sâu phao đục bẹ, đục thân, sâu năn hại lúa. Carbosulfan thuộc gốc carbamate, có cơ chế gây hại cho sinh vật qua gây ức chế enzyme cholinesterase (Peakall, 1992). Khi enzyme cholinesterase (ChE) bị ức chế sẽ kéo theo nhiều ảnh hưởng nghiêm trọng khác cho sinh vật (Fulton and Key, 2001) và đo enzyme cholinesterase có thể cảnh báo sớm ảnh hưởng tiêu cực của thuốc cho sinh vật (Cong *et al.*, 2006).

Cá rô phi (*Oreochromis niloticus*) là một trong những đối tượng được nuôi với nhiều hình thức khác nhau như nuôi trong vèo, nuôi ao và đặc biệt là nuôi kết hợp trong mô hình lúa – cá ở vùng ĐBSCL. Vì vậy, việc sử dụng Marshal 200SC trong canh tác lúa có thể làm ảnh hưởng đến loài cá này. Báo cáo này sẽ cung cấp thông tin về ảnh hưởng của Marshal 200SC lên tỷ lệ sống, ChE và sinh trưởng của cá rô phi (*Oreochromis niloticus*) trong điều kiện phòng thí nghiệm để làm cơ sở cho dự báo rủi ro hay triển khai trên điều kiện mô hình lúa – cá.

## 2 PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1 Địa điểm và thời gian nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện tại phòng thí nghiệm Khoa Môi trường và Tài nguyên Thiên nhiên, Trường Đại học Cần Thơ từ tháng 1 đến tháng 5 năm 2018.

### 2.2 Sinh vật thí nghiệm

Cá rô phi (4 - 6 gram/con) được mua từ trại cá giống ở quận Ninh Kiều – Thành phố Cần Thơ và được nuôi dưỡng trong bể sợi thủy tinh 600L trong hai tuần cho quen với nước thí nghiệm (nước máy sau khi sục khí 48 giờ). Cá khỏe mạnh, không dị tật, không có dấu hiệu bệnh và đồng cỡ được lựa chọn cho nghiên cứu.

## 2.3 Hóa chất

### 2.3.1 Nguồn độc chất

Thuốc trừ sâu tên thương mại Marshal 200SC, chứa hoạt chất carbosulfan (200g/L) do công ty FMC Corporation (Mỹ) sản xuất được sử dụng để bố trí các thí nghiệm.

### 2.3.2 Hóa chất phân tích ChE

Các hóa chất được dùng để phân tích ChE bao gồm:  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (Merck) và  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (Merck) dùng để pha dung dịch đệm 0,1M phosphate buffer pH=7,4 và 0,1M phosphate buffer pH=8;  $\text{C}_{14}\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_8\text{S}_2$  (5,5'-dithio-bis-2-nitrobenzonic acid) còn gọi là DNTB (Merck) và Acetylcholinesterase iodide (Merck) được sử dụng như cơ chất để đo ChE. Acetone (Trung Quốc) được sử dụng để rửa cối sau khi nghiền mô não của mỗi mẫu cá nhằm tránh ảnh hưởng của các mẫu với nhau.

## 2.4 Phương pháp bố trí thí nghiệm

### 2.4.1 Thí nghiệm xác định $\text{LC}_{50}$ trong 96 giờ của Marshal 200SC đối với cá rô phi

Thí nghiệm triển khai theo phương pháp nước tĩnh và không thay nước (APHA, 1998) qua hai giai đoạn:

#### Thí nghiệm xác định khoảng gây độc

Tám mức nồng độ thuốc Marshal 200SC (0,25; 0,30; 0,40; 0,50; 0,65; 0,90; 1,29 và 1,84 ppm) và đối chứng (nước máy đã sục khí 48 giờ để loại chlor dư) được bố trí trong 96 giờ. Cá được bố trí trong bể composite 60L (chứa 20L dung dịch thuốc), mỗi nồng độ bố trí 10 con cá. Kết quả này được sử dụng để làm cơ sở cho bố trí thí nghiệm xác định  $\text{LC}_{50}$ .

#### Thí nghiệm xác định $\text{LC}_{50}$ -96h

Bốn nồng độ thuốc Marshal 200SC (0,21; 0,42; 0,60 và 0,86 ppm) và thức đối chứng (nước máy) được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với 3 lần lặp lại theo phương pháp nước tĩnh, không thay nước. Mỗi thí nghiệm thức bố trí 10 cá thể trong bể composite 60 lít (chứa 20L dung dịch thuốc). Trong thời gian thí nghiệm, không thay nước và không cho cá ăn và theo dõi ghi nhận số cá chết ở các thời điểm 1, 3, 6, 9, 12, 24, 36, 48, 60, 72, 84 và 96 giờ sau khi bố trí. Khi phát hiện cá chết thì ghi nhận số liệu, rồi dùng vợt vớt ra khỏi bể để tránh ảnh hưởng đến chất lượng nước thí nghiệm do sự phân hủy xác cá chết. Các yếu tố môi trường như pH, DO được đo 2 lần/ngày (7:00 – 8:00 và 14:00 – 15:00) bằng bộ testkit (Sera, Đức), nhiệt độ được đo bằng nhiệt kế rượu.

**2.4.2 Thí nghiệm xác định ảnh hưởng của Marshal 200SC đến enzyme ChE cá rô phi**

Ba nồng độ Marshal 200SC gồm (0,005; 0,025 và 0,05 ppm) tương ứng 1, 5 và 10% LC50-96h và đối chứng được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên trong bể kính 40L (chứa 20L nước) với 3 lần lặp lại. Mỗi lần lặp lại bố trí 20 cá. Thí nghiệm được triển khai trong 96 giờ. Mẫu cá được thu ở các thời điểm: trước khi cho tiếp xúc thuốc, 3, 6, 12, 24, 48, 72 và 96 giờ sau khi cho tiếp xúc thuốc. Mỗi mức nồng độ thu 6 cá (2 cá/lần lặp lại), não của cá được lấy ra cẩn thận để xử lý cho xác định hoạt tính ChE theo phương pháp Ellmanet al. (1961).

Các yếu tố môi trường như pH, DO được đo 2 lần/ngày (7:00 – 8:00 và 14:00 – 15:00) bằng bộ testkit (Sera, Đức), nhiệt độ được đo bằng nhiệt kế rượu.

**2.4.3 Thí nghiệm xác định nồng độ Marshal 200SC gây ảnh hưởng đến sinh trưởng của cá rô phi**

Ba mức nồng độ Marshal 200SC gồm 1%, 5% và 10% của LC50-96h (0,005, 0,025 và 0,05ppm) và đối chứng (nước máy) được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên trong bể composite 600L chứa 300 lít nước, mỗi nồng độ được bố trí lặp lại 3 lần. Cá được thuần dưỡng 14 ngày, sau đó cân khối lượng ban đầu trước khi bố trí, mỗi bể bố trí 30 cá (90 cá cho mỗi nghiệm thức). Các bể thí nghiệm định kỳ 15 ngày cân và thay mới nước chứa Marshal 200SC như nồng độ đã bố trí lần đầu. Trong hai ngày kể từ khi cho thuốc vào, cá ít ăn nên không cho cá ăn nhằm tránh thức ăn làm bẩn nước.

Hàng ngày cho cá ăn lúc 9-10 giờ và 15-16 giờ bằng thức ăn viên (Cargil, mã 7414) đã sấy ở nhiệt độ 60°C đến khi khối lượng không đổi. Lượng thức ăn cho ăn bằng 5% khối lượng cá trong bể và luôn dư để tính lượng thức ăn cá đã sử dụng. Thức ăn được đếm mẫu để tính bình quân số viên trong 1g. Sau khi cá được cho ăn khoảng 45 phút, thức ăn thừa được vớt ra rồi đếm số viên thức ăn còn dư để tính lượng thức ăn mà cá đã sử dụng.

Các thông số môi trường như pH, DO, NO<sub>2</sub><sup>-</sup> và NH<sub>3</sub>/NH<sub>4</sub><sup>+</sup> được đo với chu kỳ 3 ngày/lần, đo vào lúc 7-8 giờ và 14-15 giờ bằng Testkit (Đức).

**2.5 Tính toán kết quả**

Giá trị LC<sub>50</sub>-96h

Giá trị LC50 được ước tính theo phương pháp Probit (Finney, 1971), trong đó nồng độ Marshal 200SC (chứa 200g/L carbosulfan) được chuyển sang logarit thập phân và phân mềm IBM SPSS 13.0 được sử dụng làm công cụ ước tính:

Tỷ lệ chết

$$\text{Tỷ lệ chết (\%)} = \frac{N}{N_0} \times 100$$

Trong đó, N: số cá chết trong từng bể (con/bể); N<sub>0</sub>: số cá bố trí ban đầu (con/bể)

Hoạt tính của ChE

$$HT = \frac{Ax C_v x H_v}{Ex L x S_v x P_s}$$

Trong đó, HT: hoạt tính μM/g/phút; A: Abs mẫu - Abs blank (Abs/phút); C<sub>v</sub>: thể tích cuvet hay tổng thể tích dung dịch đo (mL) = 3 mL; H<sub>v</sub>: thể tích buffer sử dụng để nghiền mẫu (mL); E: hệ số = 13,6; L: chiều dài cuvet (cm) = 1 cm; S<sub>v</sub>: thể tích mẫu sau khi ly tâm lấy đo (mL) = 0,2 mL; P<sub>s</sub>: trọng lượng mẫu lấy nghiền (g)

Tỷ lệ ChE bị ức chế

$$I = 100 - \frac{A}{A_{dc}} \times 100$$

Trong đó, I: tỷ lệ ChE bị ức chế (%); A: hoạt tính ChE đo được từng mẫu (μM/g/phút); A<sub>dc</sub>: trung bình hoạt tính ChE của nghiệm thức đối chứng ở từng thời điểm (μM/g/phút)

Lượng thức ăn tiêu thụ (g/g.ngày)

$$FI = \frac{\sum F_c - \sum F_r}{\sum W \times T}$$

Trong đó, ΣF<sub>c</sub>: tổng lượng thức ăn cho ăn (mg); ΣF<sub>r</sub>: tổng lượng thức ăn thừa (mg); ΣW: tổng khối lượng cá tính đến thời điểm T (gram); T: thời gian thí nghiệm (ngày)

Tốc độ tăng trưởng tương đối

Tốc độ tăng trưởng tương đối (SGR) được tính theo Zhou et al. (2008).

$$SGR = \frac{\ln(W_t) - \ln(W_0)}{T} \times 100 (\%/ngày)$$

Trong đó, SGR: tốc độ tăng trưởng tương đối (%/ngày); W<sub>0</sub>: trung bình khối lượng ban đầu (gram); W<sub>t</sub>: trung bình khối lượng cuối (gram); T: thời gian nuôi (ngày)

Hệ số chuyển hóa thức ăn (FCR)

$$FCR = \frac{\sum F_c - \sum F_r}{\sum W_f - \sum W_i + \sum W_m} \text{ (Zhou et al. 2008)}$$

Trong đó, FCR: hệ số chuyển hóa thức ăn; ΣF<sub>c</sub>: tổng lượng thức ăn cho cá ăn (trọng lượng khô) (gram); ΣF<sub>r</sub>: tổng lượng thức ăn thừa sau khi cho cá ăn (trọng lượng khô) (gram); ΣW<sub>f</sub>: tổng khối lượng cá ở thời điểm khảo sát (gram) (thời điểm t) (trọng lượng tươi); ΣW<sub>i</sub>: tổng khối lượng cá lúc đầu (trọng

lượng tươi) (gram);  $\Sigma W_m$ : tổng khối lượng cá chết (trọng lượng tươi) (gram)

Tăng trọng tuyệt đối (DWG)

$$DWG = \frac{(W_c - W_d)}{t}$$

Trong đó, DWG: tăng trưởng khối lượng theo ngày (mg/ngày);  $W_d$ : khối lượng ban đầu;  $W_c$ : khối lượng cuối; t: thời gian thí nghiệm

### 2.6 Xử lý kết quả

Các số liệu thô về tỷ lệ ức chế hoạt tính ChE, lượng thức ăn tiêu thụ, hệ số chuyển hoá thức ăn, tốc độ tăng trưởng tương đối và tỷ lệ sống được kiểm tra phân phối chuẩn và phương sai trước khi thực hiện các phép thống kê. Số liệu phân phối chuẩn được phân tích phương sai (ANOVA) và so sánh trung bình các chỉ tiêu so với đối chứng bằng kiểm định Dunnett và Duncan thông qua sử dụng IBM SPSS 13.0. Sai khác có ý nghĩa thống kê ở mức 95% ( $p < 0,05$ ).

## 3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 3.1 LC50-96h của Marshal 200SC đối với cá rô phi

Kết quả thí nghiệm xác định khoảng gây độc cho thấy ở nồng độ 0,25 ppm Marshal 200SC đã làm chết 30% cá rô phi và nồng độ  $\geq 0,9$  ppm đã làm chết 100% cá thí nghiệm. Do đó, khoảng gây độc của Marshal 200SC được chọn từ 0,21-0,86 ppm.

#### 3.1.1 Nhiệt độ, pH và oxy hòa tan trong thời gian thí nghiệm

Nhiệt độ trung bình trong thời gian bố trí thí nghiệm là khá đồng nhất giữa các nghiệm thức, dao động trong khoảng 29 – 30°C (buổi sáng) và 29,5 – 31°C (buổi chiều). Hàm lượng DO ở các nghiệm

thức dao động trong khoảng từ 2,0 đến 4,0 mg/L. Theo Đoàn Khắc Đệ (2008), cá rô phi vẫn sống bình thường trong môi trường có oxy hòa tan dưới 1 mg/L. Tuy nhiên, khi DO thấp như thí nghiệm này cá có thể cá phải tăng trao đổi chất dẫn đến hấp thu nhanh thuốc vào cơ thể và gây ảnh hưởng. Kết quả cho thấy pH dao động từ 7 – 8. Nhìn chung, các thông số môi trường theo dõi trong quá trình thí nghiệm gần như đồng nhất giữa các nghiệm thức.

**Bảng 1: Các yếu tố môi trường trong thí nghiệm LC50-96h**

Thông số môi trường được theo dõi	Sáng	Chiều
pH	7,60 – 8,0	7.60 – 8,0
Oxy hòa tan (mg/L)	2 – 4	2 – 4
Nhiệt độ (°C)	29,0-30,0	29,5 – 31,0

#### 3.1.2 Tỷ lệ chết và ước tính LC50 trong 96 giờ của Marshal 200SC đối với cá rô phi

Sau 6 giờ tiếp xúc, cá chết xuất hiện ở tất cả các nghiệm thức chứa Marshal 200SC ngoại trừ ở nghiệm thức đối chứng. Tỷ lệ cá chết tăng dần theo sự gia tăng nồng độ thuốc. Sau 96 giờ, tỷ lệ chết cá rô phi ở nồng độ 0,21 ppm là 30,0%, ở nồng độ 0,86 ppm là 96,7 (Bảng 2). Cá chết tập trung trong khoảng từ 3 đến 48 giờ tiếp xúc với thuốc. Sau 60 giờ tiếp xúc, cá vẫn tiếp tục chết nhưng chậm cho đến kết thúc thí nghiệm.

Từ kết quả tỷ lệ chết, giá trị LC50-96h của Marshal 200SC lên cá rô phi được ước tính là 0,52 ppm (gồm cả chất phụ gia và hoạt chất gây hại), tương đương 0,1 mg/L Carbosulfan. Căn cứ theo cách phân loại độc tính hóa chất của Koesoemadinata and Djajadirecđa (1976), Marshal 200SC thuộc loại cực độc đối với cá rô phi cỡ giống vì giá trị LC50-96 giờ  $< 1$  ppm.

**Bảng 2: Tỷ lệ chết (%) và ước tính LC50 của Marshal 200SC đối với cá rô phi**

Thời gian phơi nhiễm (giờ)	Tỷ lệ cá chết (%) ở các nồng độ thuốc (ppm) khác nhau				LC50 (ppm)	
	Đối chứng	0,21	0,42	0,60		0,86
1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	
3	0,0	0,0	13,3	63,3	76,7	
6	0,0	26,7	26,7	76,7	93,3	
9	0,0	26,7	30,0	80,0	93,3	
12	0,0	26,7	30,0	80,0	93,3	
24	0,0	26,7	30,0	80,0	93,3	
36	0,0	30,0	30,0	80,0	93,3	
48	0,0	30,0	30,0	80,0	96,7	0,54
60	0,0	30,0	30,0	80,0	96,7	
72	0,0	30,0	36,7	80,0	96,7	0,54
84	0,0	30,0	36,7	80,0	96,7	
96	0,0	30,0	40,0	80,0	96,7	0,52

Giá trị LC50-96 giờ của malathion đối với loài cá này là 2 mg/L (Pathiratne and George, 1998), đối với

hoạt chất diazinon là 2,8 mg/L (El-Sherif *et al.*, 2009). Qua đó cho thấy độc cấp tính của carbo-sulfan



đối với cá rô phi cao hơn các hoạt chất như malathion, diazinon vì có giá trị LC<sub>50</sub>-96 giờ là thấp nhất.

**3.2 Tính nhạy cảm của ChE trong não cá rô phi với Marshal 200SC**

**3.2.1 Nhiệt độ, oxy hòa tan và pH nước trong thời gian thí nghiệm**

Kết quả theo dõi cho thấy nhiệt độ trung bình buổi sáng 27,3<sup>0</sup>C±0,1, buổi chiều dao động từ

29,3<sup>0</sup>C±0,1. Hàm lượng oxy hòa tan dao động từ 3,4mg/L±0,4 đến 3,5mg/L±0,6 vào buổi sáng và 3mg/L±0,3 đến 3,1mg/L±0,6.pH của môi trường nước trong thí nghiệm có khoảng dao động nhỏ từ 7,0 - 7,2 (vào buổi sáng) và từ 7,1 - 7,3 (vào buổi chiều) (Bảng 3). Nhìn chung, nhiệt độ, oxy hòa tan và pH trong thí nghiệm không thay đổi lớn và khá đồng nhất giữa các nghiệm thức.

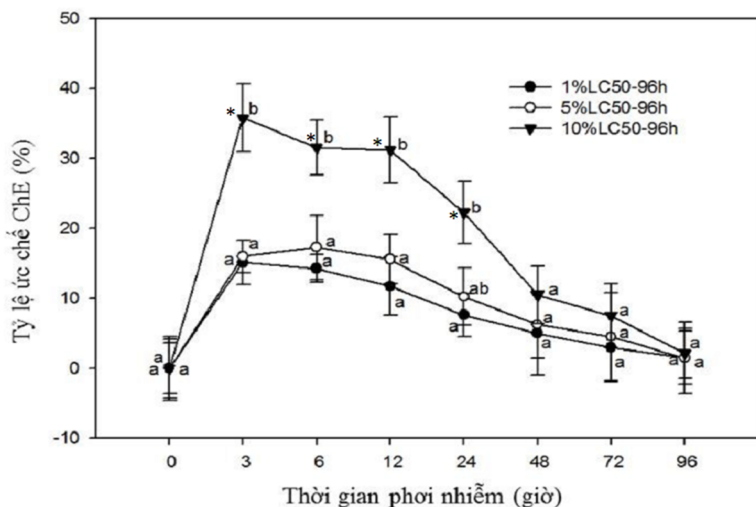
**Bảng 3: Nhiệt độ, oxy hòa tan, pH trong thí nghiệm xác định nhạy cảm của ChE với thuốc Marshal 200SC**

Nghiệm thức	Nhiệt độ (°C)		DO (mg/L)		pH	
	Sáng	Chiều	Sáng	Chiều	Sáng	Chiều
Đối chứng	27,3±0,1	29,3±0,1	3,5±0,6	3,1±0,6	7,0±0,07	7,1±0,08
1%	27,3±0,1	29,4±0,1	3,4±0,4	3,0±0,3	7,2±0,07	7,3±0,09
5%	27,3±0,1	29,4±0,1	3,4±0,7	3,0±0,5	7,2±0,07	7,1±0,07
10%	27,3±0,1	29,3±0,1	3,4±0,5	3,0±0,7	7,1±0,08	7,2±0,07

**3.2.2 Tỷ lệ ức chế hoạt tính ChE**

Sau 3 giờ tiếp xúc với thuốc Marshal 200SC, tỷ lệ ức chế so với đối chứng ở các nồng độ 0,025 và 0,05 ppm (tương đương 5 và 10% LC<sub>50</sub>-96h) là cao nhất và lần lượt là 15,9% và 35,8% (p<0,05). Ở 12 giờ, tỷ lệ ức chế chỉ còn khác biệt so với đối chứng ở nồng độ cao nhất (tỷ lệ ức chế là 31,2%). Kể từ 48

giờ về sau, tỷ lệ ức chế ở tất cả các mức nồng độ 0,005; 0,025; 0,05 ppm không còn khác biệt với nhau và cũng không khác biệt so với đối chứng (p>0,05) (Hình 1). Nhìn chung khi tăng nồng độ, tỷ lệ ức chế ChE tăng và giảm dần sau 6 giờ phơi nhiễm với thuốc. Hay nói cách khác, ChE phục hồi dần sau 6 giờ phơi nhiễm.



**Hình 1: Biểu đồ tỷ lệ ức chế ChE của cá rô phi với Marshal 200SC theo thời gian**

Ghi chú: Trong cùng thời gian phơi nhiễm, giữa các đường có cùng chữ cái thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê (p>0,05, Duncan test) và dấu \* chỉ khác biệt so với đối chứng (p<0,05, Dunnet 2-tail test). Đối chứng có tỷ lệ ức chế là 0 nên không trình bày số liệu.

Marshal 200SC chứa hoạt chất carbosulfan thuộc gốc carbamate. Nhóm này có cơ chế gây ức chế nhanh ChE nhưng không kéo dài (Tomlin,1994). Một số nghiên cứu cũng cho thấy carbamate, fenobucarb cũng gây ức chế nhanh ChE cá lóc (Cong et al., 2006), cá rô đồng (Tam et al.,

2018) nhưng phục hồi hoàn toàn sau 48 giờ phơi nhiễm. Qua đó cho thấy dù thuốc này có độc cấp tính cao nhưng không kéo dài.

Kết quả thí nghiệm này còn cho thấy nồng độ thấp nhất ảnh hưởng (lowest observed effect concentration-LOEC) của Marshal 200SC đến ChE

là 0,05 ppm (10%LC50-96 giờ). Do đó, ChE ở cá rô phi có thể được sử dụng làm thông số chỉ thị cho môi trường nhiễm Marshal 200SC với nồng độ cao hơn 0,05 ppm. Khi lúa mới sạ hoặc trồng ở mật độ thưa thì hệ số che phủ thấp, nên khi phun thuốc thì lượng thuốc rơi xuống đất nhiều. Ngược lại khi mật độ trồng cao, tuổi lúa dài hơn thì hệ số che phủ cao nên lượng thuốc rơi khi phun giảm. Giải sử mực nước ruộng khi phun thuốc là 15cm và tỷ lệ thuốc rơi thuốc rơi xuống nước dao động từ 25 - 75% tùy vào mật độ và tuổi lúa; khi đó nồng độ Marshal 200SC trong ruộng lúa dao động từ 0,133 -0,5 ppm, cao gấp 2,56- 9,62 lần nồng độ 10%LC<sub>50-96h</sub>. Theo kết quả nghiên cứu của Phạm Văn Toàn (2013), Nguyễn Văn Toàn và Nguyễn Văn Công (2018), người dân thường áp dụng thuốc với liều lượng cao hơn so với chỉ dẫn ghi trên nhãn thuốc. Như vậy trên thực tế khi sử dụng thuốc Marshal 200SC cho ruộng lúa, nồng độ thuốc có thể cao hơn nhiều so với tính toán và có nhiều khả năng làm ảnh hưởng nghiêm trọng đến ChE cá rô phi.

### 3.3 Ảnh hưởng của Marshal 200SC lên sinh trưởng của cá rô phi

#### 3.3.1 Nhiệt độ, pH và oxy hòa tan, TAN và NO<sub>2</sub><sup>-</sup> trong thời gian thí nghiệm

Các thông số môi trường trong thời gian thí nghiệm có biến động (Bảng 4). Nhiệt độ dao động từ 26,2°C±0,3 đến 26,1°C±0,3 vào buổi sáng (7-8 giờ), 27,9°C±0,4 đến 28,2°C±0,4 vào buổi chiều. Oxy hòa tan dao động từ 2,8mg/L±0,3 đến 3,2mg/L±0,3 vào buổi sáng và từ 2,5mg/L±0,3 đến 2,8mg/L±0,3 vào buổi chiều. Trong khi pH dao động từ 6,9 đến 7,1 vào buổi sáng và từ 6,8 đến 7,2 vào buổi chiều. Nồng độ NH<sub>3</sub>/NH<sub>4</sub><sup>+</sup> trong các nghiệm thức dao động không lớn giữa các nghiệm thức cũng như giữa hai buổi sáng và chiều trong cùng một ngày, buổi sáng là 1,13±0,07 mg/L và buổi chiều là 1,25±0,08 mg/L. Nồng độ NO<sub>2</sub><sup>-</sup> luôn dưới ngưỡng phát hiện (0,1 mg/L). Các điều kiện này hoàn toàn phù hợp cho cá rô phi sinh sống.

**Bảng 4: Các yếu tố môi trường trong thời gian nuôi sinh trưởng cá rô phi**

Nghiệm thức	Nhiệt độ (°C)	DO (mg/L)	pH	TAN (mg/L)
ĐC	26,2±0,3-28,2±0,4	3,2±0,3-2,8±0,3	7±0,09-6,8±0,1	1,13±0,07-1,25±0,08
1%	26,0±0,3-27,9±0,4	3,0±0,3-2,7±0,3	7±0,07-7±0,1	1,13±0,07-1,25±0,08
5%	26,0±0,3-27,9±0,4	3,2±0,3-2,5±0,3	6,9±0,1-7,1±0,1	1,13±0,07-1,25±0,08
10%	26,1±0,3-27,9±0,4	2,8±0,3-2,7±0,3	7,1±0,1-7,2±0,1	1,13±0,07-1,25±0,08

Ghi chú: Kết quả trình bày biến động trung bình sáng – chiều

#### 3.3.2 Ảnh hưởng của Marshal 200SC lên các thông số sinh trưởng của cá rô phi

Sau 60 ngày, tỷ lệ sống của cá ở nghiệm thức đối chứng là 96,7% và giảm (p<0,05) ở các nghiệm thức có thuốc. Ở nghiệm thức 1, 5 và 10%LC50-

96h, tỷ lệ sống lần lượt là 91,1%; 90,0%; 90,0%. Cá thường chết trong khoảng 5 ngày sau khi cho thuốc vào. Tiêu thụ thức ăn (FI), tốc độ tăng trưởng đặc biệt (SGR), hệ số chuyển hóa thức ăn (FCR) và tăng trọng bình quân ngày (DWG) đều khác biệt không có ý nghĩa (p>0,05) giữa các nghiệm thức (Bảng 5).

**Bảng 5: Ảnh hưởng của Marshal 200SC lên các thông số tăng trưởng của cá rô phi**

Nghiệm thức	TLS (%)	FI (mg/g/ngày)	SGR (%/ngày)	DWG (mg/ngày)	FCR
ĐC	96,7±0,0a	13,4±0,5a	2,6±0,10a	0,24±0,007a	1,025±0,025a
1%	91,1±2,2b	14,1±0,4a	2,5±0,02a	0,24±0,012a	1,080±0,032a
5%	90,0±0,0b	14,3±0,2a	2,5±0,01a	0,23±0,004a	1,089±0,014a
10%	90,0±1,9b	14,3±0,5a	2,7±0,03a	0,25±0,004a	1,064±0,026a

Các giá trị trong cùng cột có cùng chữ cái a, b khác biệt không có ý nghĩa thống kê (p>0,05). Giá trị trình bày ± độ lệch chuẩn

Dù khác biệt không có ý nghĩa nhưng FI có xu hướng tăng dần theo nồng độ Marshal 200SC. Những nghiên cứu trước đây (Arunachalam and Palanichamy, 1982; Nguyễn Văn Công và ctv., 2011) cho thấy cá có thể tăng các hoạt động trao đổi chất sau khi phơi nhiễm với độc chất nên cần phải tiêu thụ thức ăn để bổ sung năng lượng đã mất cho cơ thể, dẫn đến FI có xu hướng tăng.

Các kết quả thí nghiệm trong nghiên cứu này đều cho thấy hoạt chất carbosulfan có trong thuốc Marshall 200SC có hiệu lực nhanh nhưng không kéo dài. Cụ thể, nó gây chết nhanh cá rô phi trong thí nghiệm xác định LC50, gây ức chế nhanh ChE trong 6 giờ đầu, sau đó ChE phục hồi dần nên cá đã trở lại bình thường. Có lẽ đây là lý do không làm ảnh hưởng lâu dài đến sinh lý, sinh hóa của cá rô phi nên không ảnh hưởng đáng kể đến các thông số sinh trưởng của cá.

Qua các thí nghiệm ở nồng độ dưới ngưỡng gây chết, trong các thông số theo dõi (ChE, tỷ lệ sống, FI, FCR, SGR, DWG), thông số ChE bị ảnh hưởng nhiều nhất hay thấy ảnh hưởng rõ nhất. Như vậy, ChE là thông số nhạy cảm với thuốc này nhất hay nói cách khác có thể sử dụng ChE để đánh dấu sinh học chỉ ảnh hưởng của Marshal 200SC ở nồng độ  $\geq 0,05$ ppm hay carbosulfan ở nồng độ  $\geq 0,01$  mg/L đến cá rô phi trong 24 giờ phơi nhiễm.

#### 4 KẾT LUẬN VÀ ĐỀ XUẤT

Thuốc Marshal 200SC có độ độc cấp tính cao đối với cá rô phi, giá trị  $LC_{50}$  - 96 giờ của Marshal 200SC đối với cá rô phi là 0,52 ppm (tương đương 0,1 mg/L hoạt chất carbosulfan).

Ở nồng độ  $\leq 0,05$ ppm, thuốc Marshal 200SC không gây ảnh hưởng đáng kể đến các thông số tăng trưởng như FI, FCR, SGR, DWG và ChE của cá rô phi.

Hoạt tính ChE trong não cá rô phi rất nhạy cảm với Marshal 200SC. Thuốc này gây ức chế ChE nhanh sau 6 giờ phơi nhiễm nhưng phục hồi hoàn toàn sau 48 giờ. Nồng độ thấp nhất thấy ảnh hưởng (LOEC) là 0,05ppm (10% $LC_{50}$ -96 giờ).

Các nghiên cứu tiếp theo cần được thực hiện ở điều kiện thực tế trên đồng ruộng để có kết luận rõ hơn.

#### LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Dự án Nâng cấp Trường Đại học Cần Thơ VN14-P6 bằng nguồn vốn vay ODA từ Chính phủ Nhật Bản.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

APHA (American Publish Health Association), 1998. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 20th edition, Washington, D.C., pp. 8-1 to 8-25.

Arunachalam, S. and Palanichamy, S., 1982. Sublethal effects of carbaryl on surfacing behaviour and food utilization in the air-breathing fish *Macropodus cupanus*. *Physiology and Behavior*, 29 (1): 23-27,

Bộ Nông Nghiệp và Phát triển Nông thôn, 2017. Danh mục thuốc bảo vệ thực vật được phép sử dụng ở Việt Nam. Ban hành kèm theo thông tư số 15/2017/TT-BNNPTNT ngày 14 tháng 8 năm 2017 của Bộ Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn.

Đoàn Khắc Độ, 2008. Kỹ thuật nuôi cá rô phi. NXB Đà Nẵng, 72 trang.

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

El-Sherif, M.S., Ahmed, M.T., El-Danasoury, M.A. and El-Nwishy, N.H.K., 2009. Evaluation of diazinon toxicity on Nile Tilapia fish (*O. niloticus*). *Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 4(4): 169-177.

Finney, D.J., 1971. Probit analysis, Third edition, Cambridge University Press, Euston, London, pp. 20-49.

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

Koesoemadinata, S., and Djajadiredja, R., 1976. Some aspects on the regulation of Agriculture use of Pesticides in Indonesia, with preference to their effects on inland fisheries, IFRI Contribution. 3:1-14.

Tam, N.T., Berg, H., and Cong, N.V., 2018. The combined effect of Bassa 50EC and Vitashield 40EC on the brain acetylcholinesterase activity in climbing perch (*Anabas testudineus*). *Environmental Science and Pollution Research*. 25(17): 17207-17215.

Cong, N.V., Phuong, N.T., and 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). *Environmental Toxicology and Chemistry*. 25(5): 1418-1425.

Nguyễn Văn Công, Nguyễn Thị Quỳnh Trang, Phạm Quốc Nguyên và Võ Ngọc Thanh, 2011. Ảnh hưởng của Cypermethrin lên tỷ lệ sống, tần suất đớp khí trời và sinh trưởng cá rô đồng (*Anabas testudineus*) giai đoạn giống. *Tạp chí khoa học Trường Đại học Cần Thơ*. 19b: 197-208.

Nguyễn Văn Toàn và Nguyễn Văn Công, 2018. Hiện trạng sử dụng thuốc bảo vệ thực vật ở một số vùng canh tác lúa đồng bằng sông Cửu Long. *Tạp chí Tài nguyên và Môi trường*. 5(283): 26-30.

Pathiratne, A. and George, S.G., 1998. Toxicity of malathion to Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* and modulation by other environmental contaminants. *Aquatic Toxicology*. 43(4): 261-271.

Peakall, D., 1992. Animal biomarkers as pollution indicators. Chapman & Hall, London. 107 pages

Phạm Văn Toàn, 2013. Thực trạng sử dụng thuốc bảo vệ thực vật và một số giải pháp giảm thiểu việc sử dụng thuốc không hợp lý trong sản xuất lúa ở ĐBSCL. *Tạp chí khoa học Trường Đại học Cần Thơ*. 28: 47 - 53.

Tomlin, C., 1994. The Pesticide Manual, Crop Protection Publication, pp. 437 - 438.

Zhou, X.X., Wang, Y.B., and Li, W.F., 2008. Effect of feeding Apidaecin on common carp (*Cyprinus carpio*) growth performances and immune function. *Aquaculture*. 279:108-112.