

NHẠY CẢM CỦA CÁ LÓC (*CHANNA STRIATA*) MỚI NỞ VỚI THUỐC TRỪ SÂU CHỨA HOẠT CHẤT DIAZINON

Nguyễn Văn Công¹, Dương Thị Kiều Ngân¹, và Nguyễn Thanh Phương²

ABSTRACT

Several experiments were conducted to study the effects of Diazinon on snakehead fish *Channa striata* in laboratory conditions following static none-renewable system. Four stages including embryo, larval, finished yolk, and started air-breath were completed randomly exposed to Diazinon (concentration varies from 0.15 – 19.2 mg/L) for assessing negative effects of this insecticide to the species. Results show that these Diazinon concentrations didn't affect on hatching, fitness (except concentration of 19.2mg/L). However, time to finish yolk increased with the increased Diazinon concentrations. Larval size decreases with the increased Diazinon concentration but the significant differences to control treatment ($p < 0.05$) were seen as Diazinon ≥ 2.4 mg/L. The median lethal concentration during 96 hour-exposure for the finished yolk and started air-breath stages were 3.99 and 0.23 mg/L, respectively. Sensitivity of fish to Diazinon can be ranked as: embryo < finished yolk < started air-breath. The results suggested that there is high risk for larvae survival, particularly the started air-breath stage when Diazinon was utilized for rice paddy fields.

Keywords: Diazinon, *Channa striata*, Larvae, sensitivity

Title: Sensitivity of snakehead fish (*Channa striata*) larvae to insecticide Diazinon

TÓM TẮT

Ảnh hưởng của Diazinon lên cá lóc (*Channa striata*) được triển khai trong phòng thí nghiệm theo phương pháp nước tĩnh. Bốn giai đoạn: phôi, mới nở, vừa hết noãn hoàng và bắt đầu đập khi trời được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên trong khoảng nồng độ Diazinon từ 0,15 – 19,2 mg/L để đánh giá ảnh hưởng của độc chất này lên sự phát triển và tỉ lệ sống của cá. Kết quả cho thấy Diazinon không ảnh hưởng tỉ lệ nở, tỉ lệ dị hình (trừ ở nồng độ 19,2mg/L). Thời gian tiêu hết noãn hoàng tăng khi nồng độ Diazinon tăng. Kích cỡ cá giảm dần theo sự gia tăng nồng độ Diazinon nhưng chỉ sai khác có ý nghĩa so với đối chứng ($p < 0,05$) khi nồng độ Diazinon $\geq 2,4$ mg/L. Giá trị LC50-96 giờ của cá giai đoạn vừa hết noãn hoàng và bắt đầu đập khi trời lần lượt là 3,99 và 0,23 mg/L. Mức độ nhạy cảm của cá theo chuỗi: phôi < vừa hết noãn hoàng < bắt đầu đập khi. Qua đó cho thấy khi cá đẻ trên ruộng, giai đoạn bắt đầu đập khi trời có nguy cơ bị ảnh hưởng nghiêm trọng khi phun Diazinon.

Từ khoá: Diazinon, *Channa striata*, cá lòng ròn, nhạy cảm

1 GIỚI THIỆU

Cá lóc (*Channa striata*) là loài bản địa, có giá trị kinh tế, phân bố trong nhiều thủy vực ở Đồng Bằng Sông Cửu Long (ĐBSCL) (Trương Thủ Khoa Khoa và Trần Thị Thu Hương, 1993) và Đông Nam Á (Lee và Ng, 1994). Đây là loài cá hô hấp khí trời bắt buộc (Vivekanandan, 1977), có thể sống ở nhiệt độ từ 11–40°C, pH từ 4,25–9,40 (Lee và Ng, 1994). Cá sinh sản quanh năm (Ali, 1999), khi sinh sản cá thường tìm đến những thủy vực nước cạn, có nhiều giá thể để làm tổ trước khi đẻ (Willey, 1909). Phôi và cá mới nở nổi trên mặt nước và thường mất khoảng 4 ngày mới tiêu hết noãn hoàng (Singh et al., 1988). Mùa mưa là mùa sinh sản tập trung và cá thường sinh sản trên ruộng lúa (Ami Ihat và Lorenzen, 2005) nơi mà thuốc bảo vệ thực vật (BVTV) được sử dụng với lượng rất cao và thường xuyên (Berg, 2001). Trong canh tác lúa ở đồng bằng sông Cửu Long

¹ Bộ môn Môi trường & QLTNTN, Khoa Nông nghiệp và Sinh học ứng dụng, Đại học Cần Thơ

² Bộ môn Sinh học và Bệnh Thủy sản, Khoa Thủy Sản, Đại học Cần Thơ.

(ĐBSCL), nông dân cho rằng sử dụng càng nhiều thuốc bảo vệ thực vật thì sẽ đạt năng suất càng cao (Heong *et al.*, 1998); thuốc BVTV được phun trung bình hơn 1,8 kg hoạt chất/ha/vụ và chia làm 5,7-8,2 lần/vụ (Berg, 2001). Do vậy các loài cá đồng như cá lóc (*C. striata*) sống và sinh sản trên ruộng sẽ có nhiều nguy cơ bị ảnh hưởng.

Diazinon là một trong những hoạt chất của thuốc BVTV thường được sử dụng phổ biến trên ruộng lúa và cả cây trồng ở ĐBSCL (Berg, 2001). Hiện nay có đến 18 tên thương mại chứa cùng hoạt chất Diazinon được bán trên thị trường (www.ppd.gov.vn). Diazinon là thuốc BVTV thuộc nhóm lân hữu cơ, gây hại sinh vật thông qua ức chế enzyme acetylcholinesterase (Stenersen, 2004). Khi enzyme 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).

Độc tính của Diazinon đối với cá lóc đã được đánh giá cho cá cỡ giống và trưởng thành; giá trị LC50-96 giờ đối với cá cỡ giống là 0,23 mg/L (Phạm Quốc Nguyên, 2003) và cá trưởng thành là 0,79 mg/L (Cong *et al.*, 2006). Mức độ nhạy cảm của sinh vật với chất độc thay đổi theo tuổi (Hamm *et al.*, 2001), tình trạng dinh dưỡng, nhiệt độ (Heugens *et al.*, 2001). Ảnh hưởng của Diazinon lên cá lóc giai đoạn giống và trưởng thành đã được nghiên cứu từ nồng độ gây chết (Phạm Quốc Nguyên, 2003, Cong *et al.*, 2006) đến nồng độ dưới ngưỡng gây chết (Cong *et al.*, 2006) nhưng giai đoạn đầu của vòng đời chưa được rõ. Nghiên cứu này nhằm mục đích đánh giá ảnh hưởng của Diazinon lên giai đoạn đầu vòng đời của cá lóc thông qua các nội dung: 1). Ảnh hưởng Diazinon lên cá lóc giai đoạn phôi thông qua đo đặc tỉ lệ nở, tỉ lệ dị hình và tỉ lệ sống, thời gian tiêu hết noãn hoàng và kích cỡ cá; 2). Ảnh hưởng Diazinon lên tỉ lệ chết cá giai đoạn vừa tiêu hết noãn hoàng; 3). Ảnh hưởng Diazinon lên tỉ lệ chết cá giai đoạn bắt đầu đớp khí trời.

2 PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Nghiên cứu được triển khai tại phòng thí nghiệm Bộ môn Môi Trường & Quản lý Tài nguyên Thiên nhiên (MT&QLTNTN) - Đại học Cần Thơ từ tháng 10 năm 2006 đến tháng 01 năm 2007.

2.2 Hoá chất

Diazinon sử dụng là hợp chất thuốc BVTV có tên thương mại là Diazan 60EC, chứa 60% trọng lượng hoạt chất Diazinon [6-methyl-2-(1-methylethyl)-4-pyrimidinyl] ester và 40% chất phụ gia, do Công ty dịch vụ bảo vệ thực vật An Giang sản xuất.

2.3 Sinh vật thí nghiệm

Phôi cá lóc được thu ngoài tự nhiên, mang về phòng thí nghiệm Bộ môn MT&QLTNTN, chứa trong thau nhựa có nước máy đã qua sục khí 24 giờ nhằm loại bỏ chlorine. Phôi được sử dụng cho thí nghiệm xem xét (1) ảnh hưởng Diazinon lên giai đoạn phôi, số phôi còn lại của mỗi ổ cá được thay nước, sục khí hàng ngày cho đến khi nở. Cá nở được sử dụng cho thí nghiệm theo dõi (2) ảnh hưởng Diazinon đến thời gian tiêu hết noãn hoàng, số cá còn dư được thay nước đến khi tiêu hết noãn hoàng. Cá hết noãn hoàng được sử dụng cho thí nghiệm xem xét (3) ảnh hưởng Diazinon lên cá giai đoạn vừa hết noãn hoàng, số còn lại được thay nước hàng ngày và cho ăn trứng nước (*Cladocera* là chủ yếu) cho đến giai đoạn đớp khí. Khi cá đã đớp khí đều (100%) thì sử dụng cho thí nghiệm xem xét (4) ảnh hưởng Diazinon lên cá giai đoạn bắt đầu đớp khí trời.

2.4 Vật liệu nghiên cứu

Đĩa petri thủy tinh có đường kính 10 cm được dùng để bố trí thí nghiệm (1), (2) và (3). Cá bắt đầu đớp khí trời có tập tính bơi lội và hoạt động nhiều nên keo thủy tinh dung tích 10 lít được dùng để bố trí thí nghiệm nhằm hạn chế cá nhảy ra ngoài.

2.5 Bố trí thí nghiệm

Tất cả thí nghiệm bố trí trong điều kiện nhiệt độ nước $25,1 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ (7-8 giờ) và $26,1 \pm 1,3^{\circ}\text{C}$ (14-15 giờ), oxy hòa tan $4,0 \pm 0,5$ mg/L, pH $7,3 \pm 0,3$. Các nồng độ thí nghiệm được pha từ dung dịch mẹ có nồng độ Diazinon 2000 mg/L. Dung dịch mẹ được chuẩn bị bằng cách pha loãng diazan 60EC với nước cất.

2.5.1 Ảnh hưởng Diazinon lên tỉ lệ nở, tỉ lệ dị hình và thời gian tiêu hết noãn hoàng

Phôi cá bình thường được chọn để bố trí thí nghiệm. Năm nồng độ Diazinon: 0,6; 1,2; 2,4; 9,6; 19,2 mg/L và đối chứng được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên, lặp lại 3 lần cho mỗi nồng độ. Mỗi đĩa petri có ít nhất 30 phôi của cùng cặp bố mẹ được bố trí. Cá nở được theo dõi và quan sát bằng kính lúp trong vòng 9 ngày để xem khả năng sống sót và tỉ lệ dị hình của cá. Đến ngày thứ 9, cá được thu và cố định bằng formol 2% sau đó đo chiều dài 30 con cho mỗi mức nồng độ. Chiều dài cá tính từ đầu cho đến chót đuôi.

Để xem xét ảnh hưởng Diazinon lên thời gian tiêu hết noãn hoàng, cá bột mới nở (không dị tật) được chọn để bố trí thí nghiệm. Sáu nghiệm thức: Diazinon 0,6; 1,2; 2,4; 9,6; 19,2 mg/L và đối chứng được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với 20 lần lặp lại, mỗi lần lặp lại có 1 cá mới nở (1 cá/đĩa petri). Thời gian tiêu hết noãn hoàng tính từ lúc bố trí xong thí nghiệm đến khi noãn hoàng không còn (Noãn hoàng không còn ở phần bụng, cá bơi lội bình thường, không nằm ngửa bụng trên mặt nước).

2.5.2 Ảnh hưởng Diazinon lên tỉ lệ chết cá giai đoạn vừa tiêu hết noãn hoàng

Cá vừa tiêu hết noãn hoàng (4 ngày sau khi nở), không dị tật được chọn để bố trí vào 9 mức nồng độ Diazinon (0,6; 1,2; 2,4; 3,93; 4,92; 6,14; 7,68; 9,6 và 19,2 mg/L) và đối chứng. Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với 3 lần lặp lại cho mỗi mức nồng độ, mỗi lần lặp lại có 20 cá. Sau khi bố trí, cá sẽ được theo dõi hàng ngày và ghi nhận số cá chết ở các thời điểm 12, 24, 48, 72 và 96 giờ sau khi bố trí. Những cá chết sẽ được lấy ra khỏi đĩa để hạn chế làm bẩn nước thí nghiệm.

2.5.3 Ảnh hưởng Diazinon lên tỉ lệ chết cá giai đoạn bắt đầu đớp khí trời

Cá mới bắt đầu đớp khí trời (18 ngày tuổi), không dị tật được chọn để thí nghiệm. Các nghiệm thức bao gồm 0,15; 0,18; 0,23; 0,29; 0,36; 0,6; 1,2; 2,4; 9,6 và 19,2 mg Diazinon/l và đối chứng được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên, lặp lại 3 lần, mỗi lần lặp lại có 15 cá /keo thủy tinh 2 lít. Sau khi bố trí, cá sẽ được theo dõi hàng ngày và ghi nhận số cá chết ở các thời điểm 12, 24, 48, 72 và 96 giờ sau khi bố trí. Cá chết sẽ được loại ra khỏi keo để hạn chế làm giảm chất lượng nước thí nghiệm.

2.6 Xử lý kết quả

- Tỉ lệ nở tính theo công thức:

$$\text{TLN} = \frac{N}{P} \times 100 \quad \text{Trong đó: TLN: Tỉ lệ nở (\%), N: Số phôi nở, P: Tổng số phôi bố trí.}$$

- Tỉ lệ dị hình tính theo công thức:

$TLDH = \frac{DH}{N} \times 100$ Trong đó: TLDH: Tỷ lệ dị hình (%), DH: Số cá dị hình, N: Tổng số cá nở.

- Tỷ lệ chết tính theo công thức:

$TLC = \frac{C}{CBT} \times 100$ Trong đó: TLC: Tỷ lệ chết (%), C: Số cá chết, CBT: Tổng số cá bố trí.

Nồng độ gây chết 50% cá thí nghiệm (LC50) ở các thời điểm khác nhau được ước tính bằng phương pháp Probit (Finney, 1971).

Ảnh hưởng Diazinon lên các chỉ tiêu theo dõi so với đối chứng kiểm định bằng phân tích none parametric test (Thống kê phi tham số). Phần mềm SPSS được sử dụng như công cụ để so sánh thống kê.

3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Kết quả

3.1.1 Ảnh hưởng Diazinon lên cá lóc giai đoạn phôi

Tỷ lệ nở ở tất cả nồng độ đạt hơn 90% và khác biệt không có ý nghĩa ($p > 0,05$) giữa các nghiệm thức (nhóm cá bố trí trong Diazinon) so với đối chứng (Bảng 1). Sau khi nở 48 giờ, cá ở 9,6 và 19,2 mg/L bơi lội liên tục, phân bố hầu như khắp mặt đĩa, các nồng độ còn lại và đối chứng không có hiện tượng này.

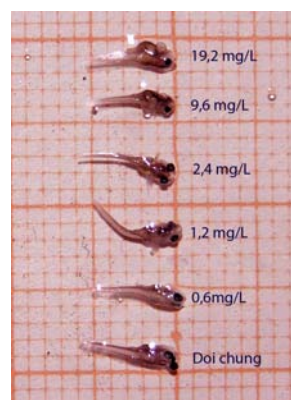
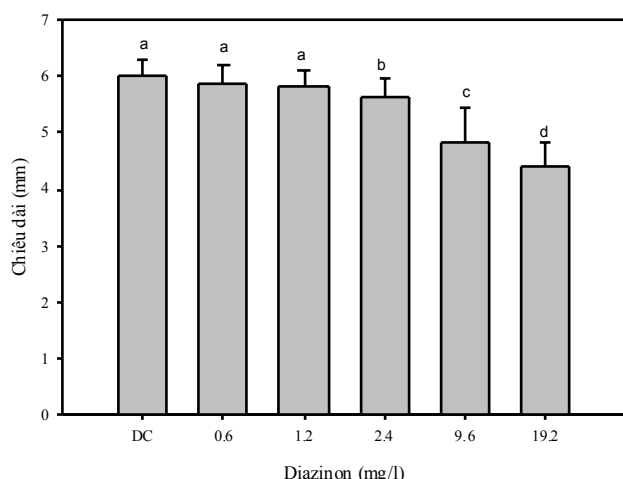
Bảng 1: Ảnh hưởng Diazinon lên một số chỉ tiêu theo dõi trong thí nghiệm phôi

Diazinon (mg/L)	Tỷ lệ nở (%)	Tỷ lệ dị hình (%)	Thời gian hết noãn hoàng (giờ)
ĐC	98,9	1.1	80,5±5,1
0,6	95,5	1.2	84,2±4,7*
1,2	94,2	0	85,7±3,0*
2,4	98,9	3.4	87,5±5,8*
9,6	100,0	0	90,5±7,5*
19,2	94,4	11,8*	Không tiêu hết noãn hoàng

*Trong cùng 1 cột, dấu * chỉ sai khác có ý nghĩa so với đối chứng ($p < 0,05$, Mann-Whitney test)*

Cá dị hình xuất hiện trong tất cả các nghiệm thức nhưng sai khác không có ý nghĩa ($p > 0,05$) giữa các nhóm cá nở trong Diazinon so với đối chứng, trừ nồng độ 19,2 mg/L ($p < 0,05$) (Bảng 1). Tất cả cá dị hình chết trong khoảng 96 giờ sau khi nở. Ở nồng độ 19,2 mg/L, sau 72 giờ nở đa số cá có phần đuôi bị uốn cong về phía đầu; phần bụng phình to (Hình 1A), tất cả cá có hiện tượng này đều chết trước 96 giờ sau khi nở.

Nồng độ Diazinon tăng thời gian tiêu hoá noãn hoàng tăng ($p < 0,05$). Thời gian cần thiết để tiêu hết noãn hoàng của đối chứng là 80,5±5,1 giờ và 90,5±7,5 giờ ở 9,6 mg/L, ở nồng độ 19,2 mg/L, 100% cá không tiêu hết noãn hoàng (Bảng 1) và chết trong khoảng 144 giờ (Bảng 2). Ở nồng độ 9,6 mg/L có 50% cá còn sống sau khi tiêu hết noãn hoàng, 15% chết sau khi tiêu hết noãn hoàng, 20% cá còn sống chưa tiêu hết noãn hoàng và 15% chết chưa tiêu hết noãn hoàng.



(B)

(A) Cá sau 144 giờ nở

Hình 1: Kích thước của cá lóc (TB±SD, n=30) ở các nồng độ Diazinon khác nhau. Các cột theo sau cùng 1 chữ cái (a, b, c hay d) thì sai khác không có ý nghĩa thống kê (p>0.05)

Trong 96 giờ sau khi nở chỉ có cá dị hình chết. Sau 96 giờ tỉ lệ chết tăng nhanh ở nồng độ 9,6 và 19,2 mg/L. Trong khoảng 144 giờ, tỉ lệ chết đạt 100% ở nồng độ 19,2 mg/L. Ở nồng độ 9,6 mg/L tỉ lệ chết tối đa 96,7% khi kết thúc 216 giờ thí nghiệm. Giá trị LC50 ước tính cho thời điểm 144, 168, 192 và 216 giờ lần lượt là 11,34 mg/L, 9,02 mg/L, 6,62 mg/L và 4,69 mg/L (Bảng 2).

Bảng 2: Tỉ lệ cá chết sau khi nở ở nghiệm thức khác nhau

Diazinon (mg/L)	Tỉ lệ chết (%) ở các thời điểm khác nhau									
	12g	24g	48g	72g	96g	120g	144g	168g	192g	216g
ĐC	0	0	0	1,1	1,1	1,1	1,1	1,1	1,1	3,3
0,6	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2	3,6
1,2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3,6
2,4	2,3	3,4	3,4	3,4	3,4	3,4	3,4	3,4	3,4	7,9
9,6	0	0	0	0	0	3,4	25,5*	60*	75,6*	96,7*
19,2	1,2	3,5	7,1	7,1*	11,8*	23,6*	100*	100*	100*	100*
LC50 (mg/L)							11,34	9,02	6,62	4,69

Trong cùng 1 cột, dấu * chỉ sai khác có ý nghĩa so với đối chứng (p<0,05, Mann-Whitney test)

Diazinon làm giảm sự phát triển của cá thể hiện ở thời điểm kết thúc 9 ngày thí nghiệm. Chiều dài bình quân nhóm cá ở đối chứng là 6,01±0,26mm. Kích thước cá có khuynh hướng giảm dần theo sự gia tăng nồng độ Diazinon nhưng sự sai khác này chỉ có ý nghĩa (p<0,05) khi cá ở nghiệm thức có Diazinon ≥ 2,4 mg/L, ở nồng độ 19,2 mg/L, chiều dài bằng 73% đối chứng (Hình 1B).

3.1.2 Ảnh hưởng Diazinon lên tỉ lệ chết của cá giai đoạn vừa tiêu hết noãn hoàng

Nồng độ Diazinon càng tăng, cá chết càng sớm và tỉ lệ chết càng cao. Thời gian thí nghiệm càng dài, tỉ lệ chết càng cao (Bảng 3). Sau 12 giờ thí nghiệm chỉ có cá chết ở nồng độ 19,2 mg/L, sau 24 giờ xuất hiện cá chết ở nồng độ 9,6 mg/L, sau 48 giờ cá chết ở các nồng độ 4,39 mg/L, sau 72 giờ cá chết ở nồng độ 3,4 mg/L và sau 96 giờ xuất hiện cá chết ở tất cả các nồng độ Diazinon và đối chứng. Giá trị LC50 giảm từ 11,39 mg/L ở thời điểm 48 giờ xuống 5,45 mg/L ở 72 giờ và 3,99 mg/L ở 96 giờ (Bảng 3).

Bảng 3: Kết quả theo dõi tỉ lệ chết của cá giai đoạn vừa tiêu hết noãn hoàng

Diazinon (mg/L)	Tỉ lệ chết (%) ở các thời điểm khác nhau				
	12g	24g	48g	72g	96g
ĐC	0	0	0	0	1,67
0,6	0	0	0	0	13,33*
1,2	0	0	0	0	21,67*
2,4	0	0	0	5	36,67*
3,93	0	0	0	18,33*	48,33*
4,39	0	0	1,67	36,67*	98,33*
6,14	0	0	8,33	68,33*	100*
7,68	0	0	8,33	75*	100*
9,6	0	5	21,67*	83,33*	100*
19,2	100*	100*	100*	100*	100*
LC50 (mg/L)			11,39	5,45	3,99

*Trong cùng 1 cột, dấu * chỉ sai khác có ý nghĩa so với đối chứng ($p < 0,05$, Mann-Whitney test)*

3.1.3 Ảnh hưởng Diazinon lên tỉ lệ chết cá giai đoạn cá bắt đầu đớp khí trời

Sau 3 giờ thí nghiệm xuất hiện cá chết ở nồng độ $\geq 2,4$ mg/L, sau 6 giờ có cá chết ở nồng độ $\geq 1,2$ mg/L, sau 9 giờ có cá chết ở nồng độ $\geq 0,45$ mg/L. Trong 12 đến 24 giờ thí nghiệm có cá chết ở nồng độ $\geq 0,23$ mg/L, sau 48 giờ có cá chết ở nồng độ $\geq 0,15$ mg/L, và sau 72 giờ có cá chết ở tất cả các nồng độ và đối chứng. Nhìn chung nồng độ Diazinon tăng, cá chết càng sớm và tỉ lệ chết càng cao. Thời gian thí nghiệm càng dài, tỉ lệ cá chết càng cao. Tỉ lệ cá chết ở nghiệm thức Diazinon đều nhiều hơn đối chứng ($p < 0,05$).

Bảng 4: Kết quả tỉ lệ chết của cá ở giai đoạn cá bắt đầu đớp khí

Diazinon (mg/L)	Tỉ lệ chết (%) ở các thời điểm khác nhau							
	3g	6g	9g	12g	24g	48g	72g	96g
ĐC	0	0	0	0	0	0	2,2	2,2
0,15	0	0	0	0	0	2,2	11,1*	15,6*
0,18	0	0	0	0	0	8,9	26,7*	37,8*
0,23	0	0	0	4,5	8,9	15,6*	31,1*	66,7*
0,29	0	0	0	4,5	15,6*	22,2*	40,0*	71,1*
0,36	0	0	0	13,3*	22,2*	40,0*	53,3*	82,2*
0,45	0	0	17,8*	22,2*	31,1*	55,6*	71,1*	95,6*
0,6	0	0	33,3*	33,3*	40,0*	64,4*	78,8*	100*
1,2	0	31,1*	40*	42,2*	64,4*	82,2*	100*	100*
2,4	8,9*	60*	71*	82,2*	100*	100*	100*	100*
9,6	100*	100*	100*	100*	100*	100*	100*	100*
19,2	100*	100*	100*	100*	100*	100*	100*	100*
LC50 (mg/L)			1,3	1,08	0,70	0,47	0,36	0,23

*Trong cùng 1 cột, dấu * chỉ sai khác có ý nghĩa so với đối chứng ($p < 0,05$, Mann-Whitney test)*

Giá trị LC50 giảm từ 1,3 mg/L ở 9 giờ xuống 1,08 mg/L ở 12 giờ, 0,7 mg/L ở 24 giờ, 0,47 mg/L ở 48 giờ, 0,36 mg/L ở 72 giờ và 0,23 mg/L ở 96 giờ (Bảng 4).

3.1.4 Nhạy cảm của cá lóc với Diazinon ở các giai đoạn khác nhau

Sau 24 và 48 giờ nở trong các nghiệm thức Diazinon, tỉ lệ chết của cá khác biệt không có ý nghĩa so với đối chứng ($p > 0,05$), sau 24 giờ thí nghiệm có 100% cá giai đoạn vừa tiêu hết noãn hoàng chết ở nồng độ 19,2 mg/L, và 15,6% cá giai đoạn bắt đầu đớp khí chết ở nồng độ 0,29 mg/L (Bảng 5). So sánh tỉ lệ chết giữa 3 giai đoạn khác nhau thì giai đoạn

đớp khí trời nhạy cảm nhất với Diazinon, kể đến là giai đoạn vừa tiêu hết noãn hoàng và giai đoạn phôi nở trong Diazinon có sức chịu đựng cao nhất.

Bảng 5: Nhạy cảm của cá lóc với Diazinon ở các giai đoạn khác nhau

Giai đoạn	Nồng độ (mg/L) mà cá chết nhiều hơn đối chứng ($p < 0.05$)			
	24 g	48g	72g	96g
Phôi nở trong Diazinon			19,2 (7,1)	19,2 (11,8)
Tiêu hết noãn hoàng	19,2 (100)	9,6 (21,67)	3,93 (18,33)	0,6 (13,33)
Bắt đầu đớp khí	0,29 (15,6)	0,23 (15,6)	0,15 (11,1)	0,15 (15,6)

Số liệu trong ngoặc đơn là tỉ lệ chết (%)

3.2 Thảo luận

Nghiên cứu này cho thấy Diazinon gây ảnh hưởng đến khả năng tiêu hóa noãn hoàng, chiều dài và tỉ lệ sống của cá lóc. Các giai đoạn bắt đầu đớp khí nhạy cảm với Diazinon hơn các giai đoạn nhỏ hơn, nồng độ Diazinon sau khi phun trên ruộng lúa có khả năng làm chết cá lóc giai đoạn bắt đầu đớp khí.

Trong thí nghiệm từ phôi, Diazinon không ảnh hưởng đến tỉ lệ nở dù ở nồng độ rất cao (Bảng 1) so với nồng độ trong thực tế trên ruộng lúa sau khi phun (Cong *et al.*, 2006). Kết quả này cũng tương tự như Viant *et al.*, (2006) nghiên cứu ảnh hưởng của một số thuốc trừ sâu gốc lân hữu cơ, trong đó có Diazinon lên phôi cá Hồi (*Oncorhynchus tshawutscha*). Giai đoạn chưa nở, phôi được bảo vệ bởi màng trứng (màng chorion) nên hạn chế độc chất hấp thụ độc bên trong (Villalobos *et al.*, 2000). Ở giai đoạn phôi, các cơ quan và chức năng sinh hoá chưa phát triển hoàn thiện nên không làm tăng độc tính hoá chất như Diazinon (Hamm và Hinton, 2000). Cơ chế gây độc của Diazinon cho động vật là ức chế enzyme acetylcholinesterase (Tomlin, 1994). Diazinon có liên kết P=S trong cấu tạo, liên kết này ít gây ức chế đến enzyme acetylcholinesterase trừ khi nó bị oxy hoá thành P=O nhờ enzyme P450 (Rao, 2004; Sparling and Fellers, 2007). Ở giai đoạn phôi, đa số các loài cá có hoạt tính enzyme P450 là thấp nhất (Andersson và Forlin, 1992) nên khả năng P=S bị chuyển hoá thành P=O là ít nhất. Đây có lẽ là nguyên nhân góp phần làm phôi ít bị ảnh hưởng bởi Diazinon nhưng cần có nghiên cứu thêm để làm rõ.

Thời gian tiêu hết noãn hoàng sau khi nở trong các nồng độ Diazinon lâu hơn so với đối chứng ($p < 0,05$) (Bảng 1). Ở nồng độ 19,2 mg/L, noãn hoàng không tiêu hoá hết khi kết thúc 144 giờ thí nghiệm (Hình 1A). Các nghiên cứu trước đây (Hamm *et al.*, 2000; Viant *et al.*, 2006) trên những loài cá khác cũng cho kết quả tương tự, các biến chứng này không thể phục hồi khi cho trở lại môi trường nước sạch. Trong thí nghiệm của chúng tôi thì cá chết trước 144 giờ khi để chúng sống trong thuốc. Cơ chế Diazinon gây ức chế khả năng sử dụng năng lượng từ noãn hoàng chưa được rõ.

Noãn hoàng như nguồn thức ăn dự trữ giúp cá sống và lớn lên, hoàn thiện dần các cơ quan để tự tìm nguồn thức ăn từ môi trường sống. Noãn hoàng không được sử dụng nên kích thước cá con cũng giảm (Hình 1). Kết quả này cũng tương tự như kết quả của nhiều tác giả khác khi nghiên cứu về ảnh hưởng độc chất lên cá giai đoạn phôi (Hamm và Hinton, 2000; Farwell *et al.*, 2006; Frayssse *et al.*, 2006). Hamm và Hinton (2000) nhận thấy có sự giảm kích thước cá *Oryzias latipes* khi nồng độ Diazinon ≥ 5 mg/L.

Giá trị LC50 ở 48, 72 và 96 giờ của cá lóc giai đoạn đớp khí thấp hơn giai đoạn hết noãn hoàng lần lượt là 24, 15 và 17 lần. Ở giai đoạn phôi chúng tôi không tính được LC50-96 giờ nên không so sánh được. Tuy nhiên, LC50 ở 144, 168, 192 và 216 giờ (Bảng 2) luôn cao hơn LC50-96 giờ của cá giai đoạn vừa hết noãn hoàng (Bảng 3) và đớp khí (Bảng 4). Qua đó cho thấy cá tuổi càng lớn, càng miễn cảm với Diazinon. Ngoài ra, dựa vào nồng độ mà ở thời điểm cá chết nhiều hơn đối chứng (Bảng 5) cũng cho phép có kết

lượn tương tự. Các kết quả nghiên cứu trước cho thấy LC50-96 giờ của Diazinon đối với cá lóc cỡ giống là 0,23 mg/L (Phạm Quốc Nguyên, 2003) và cá trưởng thành là 0,79 mg/L (Cong *et al.*, 2006). Như vậy, có thể sắp xếp mức độ mẫn cảm của cá lóc với Diazinon theo thứ tự: giai đoạn cá bắt đầu đớp khí = cá cỡ giống > cá trưởng thành > cá giai đoạn vừa hết noãn hoàng > giai đoạn phôi.

Cá lóc thường sinh sản trên ruộng lúa vào mùa mưa (Amilhat và Lorenzen, 2005), phôi và cá mới nở nổi trên mặt nước (Willey, 1909; Singh *et al.*, 1988). Ruộng lúa ở ĐBSCL là nơi mà thuốc BTVT được phun khoảng 1,8kg hoạt chất/ha/vụ (Berg, 2001); trong đó Diazinon được sử dụng rất phổ biến (Heong *et al.*, 1998; Huan *et al.*, 1999). Nồng độ Diazinon trên ruộng lúa sau 1 giờ phun thuốc BTVT chứa 50% Diazinon phát hiện trong khoảng 0,25–0,59 mg/L (Cong *et al.*, 2006). Nồng độ này cao hơn LC50 của cá giai đoạn đớp khí trời nhưng thấp hơn các giai đoạn khác. Qua đó cho thấy cá giai đoạn đớp khí có nhiều nguy cơ chết khi phun Diazinon trên ruộng lúa, giai đoạn phôi và vừa hết noãn hoàng ít bị ảnh hưởng.

4 KẾT LUẬN VÀ ĐỀ XUẤT

4.1 Kết luận

Diazinon không ảnh hưởng đáng kể đến tỉ lệ nở và tỉ lệ dị hình cá lóc nhưng ức chế khả năng tiêu hoá noãn hoàng của cá sau khi nở. Nồng độ $\geq 0,6$ mg/L, Diazinon đã làm thời gian tiêu hoá noãn hoàng lâu hơn đối chứng ($p < 0,05$) và ức chế hoàn toàn khả năng tiêu hoá noãn hoàng của cá khi nồng độ $\geq 19,2$ mg/L. Diazinon ở nồng độ $\geq 2,4$ mg/L làm giảm kích cỡ cá sau khi hết noãn hoàng ($p < 0,05$). Giai đoạn cá bắt đầu đớp khí nhạy cảm với Diazinon hơn giai đoạn vừa tiêu hết noãn hoàng và phôi. Khi sinh sản trên đồng ruộng, quá trình phát triển cá con có nguy cơ chết do sử dụng thuốc BTVT chứa hoạt chất Diazinon.

4.2 Đề xuất

Hạn chế sử dụng Diazinon trong canh tác lúa là vấn đề cấp bách vì hoá chất này có khả năng gây chết trực tiếp cá lóc giai đoạn đớp khí trời sau khi phun trên ruộng.

Cần tìm hiểu hoạt tính P450 của cá lóc ở các giai đoạn khác nhau để có giải thích rõ về sự nhạy cảm các giai đoạn với Diazinon. Những ảnh hưởng của Diazinon lên hoạt tính cholinesterase ở các giai đoạn đầu vòng đời cá lóc là chủ đề nghiên cứu rất thích thú, từ đó có giải thích rõ hơn về cơ chế ảnh hưởng của Diazinon cho các giai đoạn này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Ali A. B., 1999. Aspects of the reproductive biology of female snakehead (*Channa striata* Bloch) obtained from irrigated rice agroecosystem, Malaysia. *Hydrobiologia* 411: 71-79.
- Amilhat E., K. Lorenzen. 2005. Habitat use, migration pattern and population dynamics of chevron snakehead *Channa striata* in a rainfed rice farming landscape. *Journal of Fish Biology* 67: 23-34.
- Andersson T., L. Forlin. 1992. Regulation of the cytochrome P450 enzyme system in fish. *Aquatic Toxicology* 24: 1-20.
- Aprea C., C. Colosio, T. Mammone, C. Minoia and M. Maroni. 2002. Biological monitoring of pesticide exposure: a review of analytical methods. *Journal of Chromatography B* 769: 191-219.
- Berg H., 2001. Pesticide use in rice and rice-fish farms in the Mekong Delta, Vietnam. *Crop Protection* 20: 897-905.
- Cong NV., N.T. Phuong, M. Bayley. 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: 1418-1425.

- Farwell A., V. Nero, M. Croff, P. Bal, D.G. Dixon. 2006. Modified Japanese Medaka Embryo-Larval Bioassay for Rapid Determination of Developmental Abnormalities. *Archives of Environmental Contaminant and Toxicology* 51: 600–607.
- Finney D.J. 1971. *Probit Analysis*, 3rd ed. Cambridge University Press, Euston, London, UK, pp 20–49.
- Fraysse B., R. Mons, J. Garric. 2006. Development of a zebrafish 4-day embryo-larval bioassay to assess toxicity of chemicals. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 63: 253–267.
- Fulton M.H, P.B. Key. 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.
- Hamm J.T. and D.E. Hinton. 2000. The role of development and duration of exposure to the embryotoxicity of Diazinon. *Aquatic Toxicology* 48: 403–418.
- Hamm JT, B.W. Wilson, D.E. Hinton. 2001. Increasing uptake and bioactivation with development positively modulate Diazinon toxicity in early life stage Medaka (*Oryzias latipes*). *Toxicological Sciences* 61: 304-313.
- Heong K.L, M.M. Escalada, N.H. Huan, and V. Mai. 1998. Use of communication media in changing rice farmers' pest management in the Mekong Delta, Vietnam. *Crop Protection* 17: 413-425.
- Heugans E.H.W., A.J. Hendriks, T. Dekker, N.M. Van Straalen, and W. Admiraal. 2001. A Review of the Effects of Multiple Stressors on Aquatic Organisms and Analysis of Uncertainty Factors for Use in Risk Assessment. *Critical Reviews in Toxicology*, 31(3): 247–284.
- Huan N. H., V. Mai, M.M. Escalada and K.L Heong. 1999. Changing in rice farmer's pest management in the Mekong Delta, Vietnam. *Crop Protection* 18: 557-563.
- Lee P.G, Ng P.K.L. 1994. The systematics and ecology of snakeheads (Pisces: Channidae) in peninsular Malaysia and Singapore. *Hydrologia* 285: 59-74.
- Phạm Quốc Nguyên. 2003. Ảnh hưởng nồng độ dưới ngưỡng gây chết của Basudin 50EC lên tiêu hao oxy, ngưỡng oxy, độ pH và tiêu thụ thức ăn của cá lóc (*Channa striata*) cỡ giống. Luận Văn tốt nghiệp đại học ngành Khoa học môi trường - Đại học Cần Thơ.
- Rao J.V., 2004. Effects of monocrotophos and its analogs in acetylcholinesterase activity's inhibition and its pattern of recovery on euryhaline fish, *Oreochromis mossambicus*. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 59: 217-222.
- Singh B.R, I. Singh, A.P. Mishra, M.S. Prasad. 1988. Development of the air breathing organ in the snake-headed fish, *Channa striatus* (Bloch). *Z. mikrosk.-anat. Forsch Leipzig* 102: 32-344.
- Stenersen J., 2004. *Chemical pesticides: Mode of action and toxicology*. CRC Press, Boca Raton.
- Sparling D.W., G. Fellers. 2007. Comparative toxicity of chlorpyrifos, Diazinon, malathion and their oxon derivatives to larval *Rana boylei*. *Environmental Pollution* 147: 535-539.
- Tomlin C (ed.), 1994. *The Pesticide Manual: Incorporating The Agrochemicals Handbook*. 10th edition. Tomlin C, ed. British Crop Protection Publications, Surrey, UK.
- Trương Thủ Khoa và Trần Thị Thu Hương, 1993. Định loại cá nước ngọt Vùng Đồng Bằng Sông Cửu Long, Việt Nam. Đại học Cần Thơ.
- Viant M.R, C.A. Pincetich, R.S. Tjeerdema. 2006. Metabolic effects of dinoseb, Diazinon and esfenvalerate in eyed eggs and alevins of Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) determined by ¹H NMR metabolomics. *Aquatic Toxicology* 77: 359–371.
- Villalobos S.A., J.T. Hamm, S.J. Teh, D.E. Hinton. 2000. Thiobencarb induced embryotoxicity in the medaka (*Oryzias latipes*): stage specific toxicity and the protective role of the chorion. *Aquatic Toxicology* 48: 309–326.
- Vivekanandan E., 1977. Ontogenetic development of surfacing behaviour in the obligatory air-breathing fish *Channa* (= *Ophiocephalus*) *striatus*. *Physiology and Behavior* 18: 559-562.
- Wiley A., 1909. Observations on the nests, eggs, and larvae of *Ophiocephalus striatus*. *Spolia Zeylanica* 6: 108-123.