

**TRƯỜNG ĐẠI HỌC CẦN THƠ
KHOA THỦY SẢN**

NGUYỄN QUANG TRUNG

**ẢNH HƯỞNG CỦA THUỐC TRỪ SÂU HOẠT
CHẤT QUINALPHOS LÊN SINH LÝ, SINH
HÓA VÀ TĂNG TRƯỞNG CỦA CÁ CHÉP
(*Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758)**

**LUẬN ÁN TIẾN SĨ
NGÀNH NUÔI TRỒNG THỦY SẢN**

2013

**TRƯỜNG ĐẠI HỌC CẦN THƠ
KHOA THỦY SẢN**

**ẢNH HƯỞNG CỦA THUỐC TRỪ SÂU HOẠT
CHẤT QUINALPHOS LÊN SINH LÝ, SINH
HÓA VÀ TĂNG TRƯỞNG CỦA CÁ CHÉP
(*Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758)**

**LUẬN ÁN TIẾN SĨ
NGÀNH NUÔI TRỒNG THỦY SẢN**

2013

TÓM TẮT

Nghiên cứu “Ảnh hưởng của thuốc trừ sâu hoạt chất quinalphos lên sinh lý, sinh hóa và tăng trưởng của cá chép (*Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758)” đã được thực hiện tại Bộ môn Dinh dưỡng và Chế biến Thủy sản, Khoa Thủy sản, trường Đại học Cần Thơ và xã Thới Hưng, huyện Cờ Đỏ, thành phố Cần Thơ từ tháng 5 năm 2009 đến tháng 7 năm 2012. Mục tiêu nghiên cứu là tìm hiểu ảnh hưởng của thuốc trừ sâu hoạt chất quinalphos đến sự thay đổi các chỉ tiêu sinh lý (các chỉ tiêu huyết học và sinh lý hô hấp), sinh hóa (hoạt tính các enzyme) và tăng trưởng của cá chép (*Cyprinus carpio*) nuôi ở bể và ruộng lúa. Từ đó có thể sử dụng các chỉ tiêu sinh lý hay sinh hóa như là chỉ thị sinh học để phát hiện thuốc trừ sâu gốc lân hữu cơ trong môi trường nước.

Cá chép thí nghiệm (khối lượng 8-12 g) phải khỏe, tương đối đều cỡ và không có dấu hiệu bệnh. Thí nghiệm được bố trí theo phương pháp hai nhân tố (thí nghiệm về huyết học và sinh hóa) là các nồng độ thuốc dưới ngưỡng gây chết và thời gian (nhịp thu mẫu). Thí nghiệm được bố trí hai trường hợp là một lần tiếp xúc với thuốc (thí nghiệm cấp tính và 28 ngày) và hai lần tiếp xúc với thuốc (thí nghiệm 60 ngày và thí nghiệm ruộng lúa).

Kết quả nghiên cứu cho thấy thuốc trừ sâu hoạt chất quinalphos là một trong những loại thuốc trừ sâu được sử dụng phổ biến trong sản xuất lúa hiện nay. Cá chép là đối tượng nuôi phổ biến nhất trong ruộng lúa. Giá trị LC_{50-96} giờ của thuốc trừ sâu quinalphos lên cá chép là 0,76 mg/L.

Đối với thí nghiệm một lần tiếp xúc với thuốc, số hồng cầu, hàm lượng huyết sắc tố và tỷ lệ huyết cầu của cá chép có xu hướng giảm; thể tích hồng cầu (MCV), khối lượng huyết sắc tố trong hồng cầu (MCH) và nồng độ huyết sắc tố trong hồng cầu (MCHC) có khuynh hướng tăng khi cá tiếp xúc với quinalphos sau 28 ngày. Hoạt tính ChE ở não, cơ, mang và gan bị ức chế đáng kể theo nồng độ thuốc trong 4 ngày đầu trong đó não là cơ quan nhạy cảm nhất. Hoạt tính ChE ở não, cơ, mang và gan có biểu hiện phục hồi rất chậm ở những nồng độ thuốc cao; riêng hoạt tính ChE ở cơ phục hồi không hoàn toàn ở tất cả các nồng độ thuốc sau 28 ngày. Hoạt tính ChE ở não rất nhạy cảm với thuốc trừ sâu hoạt chất quinalphos trong 96 giờ dù ở nồng độ rất thấp (0,0076 mg/L). Sự ức chế hoạt tính ChE làm thay đổi hoạt động bơi lội ở cá như cá bơi mất định hướng, bơi lờ đờ và sau cùng cá chìm xuống đáy bể chết. Ngưỡng ức chế ChE gây chết cá là 95%. Hoạt tính GST thay đổi không có ý nghĩa ở hầu hết các cơ quan khảo sát và GST ở cá chép có thể không được xem là đánh dấu sinh học đối với thuốc trừ sâu quinalphos. Hoạt tính CAT và LPO có thể đóng vai trò nhất định trong các phản ứng chống sự oxy hóa.

Tiêu hao oxy và ngưỡng oxy ở cá chép có khuynh hướng tăng theo nồng độ khi tiếp xúc trực tiếp với thuốc. Khi cá được gây nhiễm thuốc trong 24 giờ thì tiêu hao oxy có xu hướng giảm trong khi ngưỡng oxy có chiều hướng tăng theo nồng độ.

Đối với thí nghiệm hai lần tiếp xúc với thuốc, các chỉ tiêu huyết học có xu hướng biến động tương tự như thí nghiệm một lần tiếp xúc với thuốc. Thuốc trừ sâu hoạt chất quinalphos ức chế đáng kể hoạt tính ChE ở não, cơ, mang và gan trong 1-3 ngày đầu thí nghiệm. Thời gian phục hồi hoàn toàn hoạt tính ChE ít nhất 30 ngày ở bể và 14 ngày ở ruộng. Hoạt tính trypsin and alpha-amylase bị ức chế có ý nghĩa so với đối chứng sau 3 ngày. Thời gian phục hồi hoàn toàn hoạt tính trypsin ít nhất 30 ngày trong khi hoạt tính alpha-amylase phục hồi rất chậm sau 30 ngày trong hai lần tiếp xúc thuốc. Hoạt tính chymotrypsin thì thay đổi không có ý nghĩa trong thời gian thí nghiệm. Sự phục hồi chậm của men ChE và một số men tiêu hóa có thể liên quan đến sự thay đổi các chỉ tiêu huyết học ở cá chép. Hàm lượng quinalphos trong nước nằm dưới mức phát hiện (<LOD) ở ngày 30 (lần tiếp xúc thuốc thứ nhất) và 44 (lần tiếp xúc thuốc thứ hai). Tăng trưởng, tỷ lệ sống FCR và năng suất của cá chép bị ảnh hưởng đáng kể trong điều kiện ở bể và ruộng lúa.

Kết quả nghiên cứu cho thấy có thể sử dụng hoạt tính ChE như là đánh dấu sinh học để phát hiện ra cá bị ảnh hưởng bởi thuốc trừ sâu hoạt chất quinalphos trên đồng ruộng.

ABSTRACT

The studies were conducted at Department of Nutrition and Fisheries Processing, College of Aquaculture and Fisheries, Can Tho University and Thoi Hung, Co Do district, Can Tho city from May 2009 to July 2012. The objective of the study was studying effects of quinalphos insecticide on changes of physiological parameters (haematology and respiratory physiology), biochemical changes (enzyme activities) and growth performances of common carp (*Cyprinus carpio*) cultured in tank and rice-field. Therefore, physiological and biochemical parameters could be used as biomarker to detect organophosphorus insecticide in water.

Common carp (8-12 g) were healthy and have the same size, no sign of disease. This study was designed in two way anova (applied haematological and biochemical experiment) including sub-lethal concentrations of quinalphos and time (sampling time). The study was designed in two cases: one exposing time to insecticide (acute test in 96 hrs and experiment of 28 days) and two exposing time to insecticide (experiment of 60 days and rice-field).

The results indicated that quinalphos was among the most widely used organophosphorus insecticides. Common carp (*Cyprinus carpio*) were the most commonly farmed species in rice fish farming system. The value of LC₅₀-96 hrs. of quinalphos for common carp was 0.76 mg/L.

In experiment of one exposing time to insecticide, erythrocyte, hemoglobin and hematocrit tended to decrease; MCV, MCH and MCHC had a tendency to increase when common carp exposed to quinalphos. The brain, muscle, gill and liver cholinesterase activities were significantly inhibited in all tested concentrations in 96 hours and brain was the most sensitive organ. ChE activity had a sign of recovery so slowly at higher concentrations especially muscle ChE activity had incompletely recovery at all tested concentrations after 28 days. Brain ChE activity was very sensitive to very low concentration of quinalphos (0.0076 mg/L) in 96 hours. ChE inhibition affected to swimming behaviour of fish such as loss of balance, dull swimming and died fish. ChE threshold causing died fish was 95%. Glutathione-S-transferase (GST) was no significant difference and GST enzyme of common carp could not be biomarker for quinalphos insecticide. Catalase (CAT) and lipid-peroxidation could play an certain role for antioxydant reaction.

Oxygen consumption and threshold in common carp increased with increased concentrations for direct exposure. For the contaminated fish in 24 hours, oxygen consumption tended to decrease with increased concentrations; oxygen threshold increased with increased concentrations.

In experiment of two exposing time to insecticide, haematological parameters changed in the same way as in experiment of one exposing time to insecticide. Quinalphos insecticide considerably inhibited the brain, muscle, gill and liver ChE activities from day 1 to day 3 of experiment. ChE activity completely recovered at all organs at least 30 days in tanks and 14 days in rice-field. Trypsin and alpha-amylase activities were significantly inhibited after 3 days as compared to the control. Trypsin activity had a sign of complete recovery at least 30 days; whereas, alpha-amylase activity recovered so slowly after 30 days for both of two exposing time to insecticide. Chymotrypsin had no significant difference during the experiment. Slow recovery of ChE and digestive enzymes could relate to changes of haematological parameters. Concentrations of quinalphos were under the limit of determination (<LOD) at day 30 (the first exposing time) and day 44 (the second exposing time). Growth parameters, survival rate, feed conversion rate (FCR) and yield of common carp were considerably affected in case of tank and rice-field.

The study showed that ChE activity could be used as biomarker to detect fish affected by quinalphos insecticide in rice-field.

LỜI CẢM TẠ

Tôi xin trân trọng và bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc đến PGs.Ts. Đỗ Thị Thanh Hương và Gs.Ts. Patrick Kestemont (Đại học Namur, Bỉ) đã tận tình hướng dẫn khoa học, động viên, giúp đỡ và tạo mọi điều kiện thuận lợi cho tôi hoàn thành luận án này.

Xin gửi lời cảm ơn sâu sắc đến hai thầy hướng dẫn chuyên đề PGs.Ts. Nguyễn Thanh Phương và Ts. Nguyễn Văn Công (Khoa Môi trường và Tài nguyên Thiên nhiên); cùng quý Thầy Cô trong Khoa Thủy sản đã truyền đạt những kiến thức quý báu trong thời gian học tập và nghiên cứu. Xin chân thành cảm ơn Ts. Sylvain Milla (Đại học Namur, Bỉ) đã có những góp ý quý báu về khoa học cho luận văn. Xin chân thành cảm ơn Ts. Lam Mỹ Lan (Khoa Thủy sản) đã có những góp ý quý báu về phương pháp xử lý số liệu.

Tôi xin gửi lời cảm ơn đến Ban Giám đốc Sở Nông nghiệp và PTNT và Ban lãnh đạo Chi cục Thủy sản thành phố Cần Thơ; Ban Giám hiệu, Ban chủ nhiệm Khoa Thủy sản và Bộ môn Dinh dưỡng và Chế biến Thủy sản, Khoa Sau Đại học, Phòng Quản lý Khoa học của trường Đại học Cần Thơ đã tạo điều kiện cho tôi hoàn thành chương trình nghiên cứu sinh.

Xin gửi lời cảm ơn chân thành đến các em Nguyễn Thị Kim Hà, Nguyễn Quốc Thịnh, Trần Minh Phú, Trần Lê Cẩm Tú, Nguyễn Thanh Phong, Nguyễn Văn Toàn (Bộ môn Dinh dưỡng – Chế biến Thủy sản); các em Nguyễn Thúy Quyên (Lớp Liên thông Nuôi trồng Thủy sản K34), Trần Thị Kiều Linh (Lớp Liên thông Nuôi trồng Thủy sản K35), Lê Hồng Phú (Lớp Sinh học biển K33), Huỳnh Thị Xuân Lan (Lớp Sinh học biển K34), Đỗ Văn Vương (Lớp Sinh học biển K34), Ung Vân Thanh (Lớp Sinh học Biển K34), Phan Thị Bé Ngoãn (Lớp Nuôi trồng Thủy sản K34) cùng các đồng nghiệp công tác tại Chi cục Thủy sản Cần Thơ đã hỗ trợ, giúp đỡ tôi rất nhiều trong thời gian thực hiện đề tài.

Xin được cảm ơn Ban chủ nhiệm dự án “Cải thiện giải pháp quản lý và an toàn trong sử dụng hóa chất nhằm phát triển bền vững nghề nuôi thủy sản nước ngọt ở Đồng bằng sông Cửu Long (CUD)” đã hỗ trợ kinh phí cho tôi nghiên cứu.

Cuối cùng xin bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc đến ba mẹ, các chị và người vợ thân yêu của tôi đã luôn động viên, chia sẻ để tôi hoàn thành luận án này.

LỜI CAM KẾT

Tôi xin cam kết luận văn này được hoàn thành dựa trên các kết quả nghiên cứu của tôi và các kết quả của nghiên cứu này chưa được dùng cho bất cứ luận văn nào khác. Các kết quả nghiên cứu của luận văn này được hoàn thành nằm trong khuôn khổ của dự án “Cải thiện giải pháp quản lý và an toàn trong sử dụng hóa chất nhằm phát triển bền vững nghề nuôi thủy sản nước ngọt ở Đồng bằng sông Cửu Long’ (CUD) (Bi). Dự án CUD có quyền sử dụng kết quả của luận văn này để phục vụ cho dự án.

Người hướng dẫn

Tác giả luận văn

PGs.Ts. Đỗ Thị Thanh Hương

Nguyễn Quang Trung

MỤC LỤC

TÓM TẮT	i
ABSTRACT	iii
LỜI CẢM ƠN	v
LỜI CAM KẾT	vi
MỤC LỤC	vii
DANH SÁCH BẢNG	x
DANH SÁCH HÌNH	xi
DANH MỤC TỪ VIẾT TẮT	xiii
CHƯƠNG 1: GIỚI THIỆU	1
1.1 Giới thiệu	1
1.2 Mục tiêu nghiên cứu	2
1.3 Nội dung nghiên cứu	3
1.4 Ý nghĩa của luận án	3
1.5 Điểm mới của luận án	3
CHƯƠNG 2: TỔNG QUAN TÀI LIỆU	5
2.1 Sơ lược về đối tượng thí nghiệm	5
2.2 Sơ lược về tình hình nuôi cá trên ruộng lúa	5
2.2.1 Tình hình nuôi cá trên ruộng lúa trên thế giới	5
2.2.2 Tình hình nuôi cá trên ruộng lúa ở ĐBSCL	6
2.3 Tổng quan về thuốc bảo vệ thực vật	8
2.3.1 Khái niệm	8
2.3.2 Phân loại thuốc trừ sâu	8
2.3.3 Cơ chế tác động của thuốc trừ sâu gốc lân hữu cơ	10
2.3.4 Tổng quan về hóa chất sử dụng	11
2.3.5 Sơ lược về tình hình sử dụng thuốc bảo vệ thực vật	12
2.4 Sơ lược về đánh dấu sinh học và chỉ thị sinh học	13
2.5 Sơ lược về sinh lý máu	14
2.6 Sơ lược về các enzyme	15
2.6.1 Acetylcholinesterase (AChE)	15
2.6.2 Catalase (CAT)	15
2.6.3 Lipid peroxidation (LPO)	16
2.6.4 Glutathione S-transferase (GST)	16
2.6.5 Các enzyme tiêu hóa	16
2.7 Các nghiên cứu về độ độc cấp tính của thuốc trừ sâu lên cá	17
2.8 Các nghiên cứu ảnh hưởng thuốc trừ sâu lên sinh lý ở cá	18
2.8.1 Các nghiên cứu ảnh hưởng thuốc trừ sâu lên các chỉ tiêu huyết học	18

2.8.2 Các nghiên cứu ảnh hưởng thuốc trừ sâu lên sinh lý hô hấp ở cá	19
2.9 Các nghiên cứu ảnh hưởng thuốc trừ sâu lên sinh hóa ở cá.....	21
2.9.1 Các nghiên cứu ảnh hưởng thuốc trừ sâu lên acetylcholinesterase.....	21
2.9.2 Các nghiên cứu ảnh hưởng thuốc trừ sâu đến hoạt tính men CAT.....	23
2.9.3 Các nghiên cứu ảnh hưởng của thuốc trừ sâu đến hoạt tính LPO	23
2.9.4 Các nghiên cứu ảnh hưởng của thuốc trừ sâu đến hoạt tính GST	24
2.9.5 Ảnh hưởng của thuốc trừ sâu đến hoạt tính các men tiêu hóa.....	24
2.10 Các nghiên cứu ảnh hưởng của thuốc trừ sâu lên tăng trưởng ở cá	25
CHƯƠNG 3: PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU.....	27
3.1 Thời gian và địa điểm thực hiện.....	27
3.2 Vật liệu thí nghiệm.....	27
3.3 Sinh vật thí nghiệm	27
3.4 Thuốc thí nghiệm.....	28
3.5 Nguồn nước thí nghiệm.....	29
3.6 Thức ăn.....	29
3.7 Phương pháp nghiên cứu.....	29
3.7.1 Tình hình sử dụng thuốc trừ sâu ở thành phố Cần Thơ.....	29
3.7.2 Xác định giá trị LC ₅₀ -96 giờ của thuốc trừ sâu hoạt chất quinalphos lên cá chép.....	30
3.7.3 Ảnh hưởng của thuốc trừ sâu hoạt chất quinalphos lên sinh lý hô hấp của cá chép	31
3.7.4 Ảnh hưởng của thuốc trừ sâu hoạt chất quinalphos đến độ nhạy cảm và ngưỡng ức chế ChE ở cá chép.....	34
3.7.5 Ảnh hưởng của thuốc trừ sâu hoạt chất quinalphos lên các chỉ tiêu huyết học, hoạt tính ChE, một số enzyme tiêu hóa và tăng trưởng của cá chép nuôi trong bể	36
3.7.6 Ảnh hưởng của thuốc trừ sâu lên hoạt tính men ChE và tăng trưởng của cá chép nuôi trong ruộng lúa	39
3.8 Các phương pháp phân tích mẫu	42
3.8.1 Phương pháp xác định các chỉ tiêu huyết học.....	42
3.8.2 Phương pháp xác định tiêu hao oxy	44
3.8.3 Phương pháp phân tích các chỉ tiêu sinh hóa.....	45
3.8.4 Phương pháp xác định một số chỉ tiêu tăng trưởng	49
3.8.5 Phương pháp xác định các yếu tố môi trường	49
3.8.6 Phương pháp phân tích dư lượng thuốc trừ sâu	50
3.9 Phương pháp xử lý số liệu.....	50
CHƯƠNG IV: KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN	51
4.1 Tình hình sử dụng thuốc trừ sâu ở thành phố Cần Thơ	51
4.1.1 Kết quả nghiên cứu.....	51