

NGHIÊN CỨU TÁC ĐỘNG CỦA BUTACHLOR LÊN HỆ THỐNG CHỐNG OXY HÓA VÀ CÁC CHỈ SỐ HÓA SINH Ở TÔM RẢO ĐẤT (*METAPENAEUS ENSIS*)

HOÀNG THỊ KIM HỒNG, NGUYỄN THỊ ANH ĐÀO
Trường Đại học Khoa học, Đại học Huế

Butachlor là loại thuốc diệt cỏ, thuộc hợp chất acetamide, được phép sử dụng tại Việt Nam. Butachlor ít độc cho người nhưng độc với tôm cá. Hiện nay, ảnh hưởng của thuốc Butachlor lên khả năng chống chịu, sinh trưởng và phát triển của tôm là vấn đề chưa được biết đến. Chúng tôi triển khai nghiên cứu này nhằm góp phần đánh giá tác động của Butachlor lên hệ thống enzyme chống oxy hóa và một số chỉ số hóa sinh ở các bộ phận và lứa tuổi khác nhau của Tôm rảo đất, làm cơ sở khoa học cho việc đề xuất các biện pháp sử dụng thuốc Butachlor một cách hợp lý, tránh tác động nguy hại đến sự sinh trưởng và phát triển của Tôm rảo đất.

I. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Tôm rảo đất (*Metapenaeus ensis*) ở 3 giai đoạn sinh trưởng khác nhau: tôm post (P20), tôm post sau 1 tháng nuôi, tôm trưởng thành. Trọng lượng tôm khác nhau theo từng giai đoạn sinh trưởng. Mẫu tôm thu tại Trung tâm Khuyến ngư, Trung tâm giống và các ao nuôi trên địa bàn tỉnh Thừa Thiên Huế. Trong nghiên cứu này, chúng tôi sử dụng Butachlor ở 3 nồng độ: 0,94 ppm; 1,88 ppm và 3,75 ppm.

Chọn các cá thể tôm tương đồng về trọng lượng, nuôi song song trong cùng một điều kiện. Đầu tiên ổn định tôm trong khoảng 24 giờ để tôm thích nghi với môi trường sống mới, pha thuốc Butachlor với ba nồng độ như trên vào môi trường nước cho tôm sinh sống trong khoảng 24 giờ, sau đó thu mẫu để nghiên cứu. Phương pháp xử lý mẫu để xác định hàm lượng protein, hàm lượng GSH, hoạt độ SOD, C-ase, P-ase và chỉ số LP ... được xác định theo phương pháp đã trình bày trước đây của tác giả Phan Văn Trí và cs., 2008. Mỗi thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Kết quả thí nghiệm được xử lý thống kê để tính giá trị trung bình và phân tích LSD với $p < 0,05$ bằng chương trình SAS.

II. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

1. Hoạt độ các enzyme chống oxy hóa và chỉ số hóa sinh ở Tôm rảo đất

Kết quả thăm dò về hoạt độ các enzyme chống oxy hóa và chỉ số hóa sinh ở Tôm rảo đất trong điều kiện thường, không có tác động của Butachlor được trình bày ở Bảng 1.

Kết quả ở Bảng 1 cho thấy ở tất cả các giai đoạn sinh trưởng của Tôm rảo đất trong điều kiện sinh lý bình thường luôn luôn có sự hiện diện của hệ thống chống oxy hóa và quá trình peroxide hóa lipid. Tuy nhiên, hoạt độ các enzyme chống oxy hóa và chỉ số LP có sự sai khác. Nhìn chung, hàm lượng protein t hay đổi trong khoảng 8,02-10,97g/100g mẫu. Qua các giai đoạn sinh trưởng khác nhau, hàm lượng này không có sự sai khác rõ rệt. Hàm lượng protein đạt giá trị cao nhất ở tôm post và phần đầu của tôm sau 1 tháng nhưng lại thấp nhất ở phần đầu của tôm trưởng thành. Chỉ số LP đạt giá trị cao nhất ở giai đoạn tôm post, nhưng lại có giá trị thấp nhất ở phần thân của Tôm rảo đất trưởng thành (8,32 nM MDA/g mẫu tươi). Hoạt độ enzym SOD dao động trong khoảng 3,19 - 5,75 U/mg protein ở Tôm rảo đất. Hoạt độ enzym SOD đạt giá trị cao nhất ở tôm post và thấp nhất ở phần thân của tôm trưởng thành.

Bảng 1

Hoạt độ các enzyme chống oxy hóa và chỉ số hóa sinh ở Tôm rảo đất trong điều kiện không có tác động của Butachlor

Giai đoạn	Bộ phận	Hàm lượng protein (g/100g mẫu tươi)	Chỉ số LP (nM MDA/g mẫu)	Hàm lượng GSH (μM/g mẫu)	Hoạt độ SOD		Hoạt độ C-ase		Hoạt độ P-ase	
					U/g mẫu tươi	U/mg protein	U/g mẫu tươi	U/mg protein	U/g mẫu tươi	U/mg protein
Post	Nguyên con	10,13 ^b	17,35 ^a	1,28 ^c	478,84 ^a	5,63 ^b	8,50 ^a	0,09 ^a	14,65 ^c	0,12 ^c
Sau 1 tháng	Đầu	10,97 ^a	16,63 ^b	2,27 ^b	296,27 ^c	4,13 ^c	3,18 ^d	0,04 ^c	13,37 ^c	0,13 ^c
	Thân	8,71 ^c	9,98 ^c	2,61 ^a	259,26 ^d	3,62 ^d	4,16 ^b	0,05 ^b	23,03 ^b	0,27 ^b
Trưởng thành	Đầu	8,02e ^e	17,21 ^a	1,01 ^d	444,44 ^b	5,75 ^a	3,14 ^d	0,04 ^c	22,56 ^b	0,27 ^b
	Thân	8,32 ^d	8,32 ^d	0,83 ^e	264,96 ^d	3,19 ^e	4,02 ^c	0,05 ^b	47,62 ^a	0,58 ^a
LSD		0,46	0,14	0,85	13,75	0,70	0,08	0,01	3,42	0,06

Chú thích: Các chữ cái khác nhau trên cùng một cột chỉ ra sự sai khác có ý nghĩa thống kê của trung bình mẫu với p<0,05 (Duncan's test).

2. Ảnh hưởng của Butachlor lên các chỉ số hóa sinh ở Tôm rảo đất

Bảng 2

Các chỉ số hóa sinh của Tôm rảo đất dưới tác động của Butachlor

Giai đoạn	Bộ phận	Nồng độ	Hàm lượng protein (g/100 g mẫu tươi)	Chỉ số LP (nM MDA/g mẫu)	Hàm lượng GSH (μM/g mẫu)
Post (P20)	Nguyên con	B1	7,89 ^m	21,48 ^c	0,99 ^h
		B2	7,51 ⁿ	24,95 ^b	0,85 ^{hi}
		B3	4,62 ^o	25,60 ^a	0,62 ^k
		Đ/C	10,13 ^b	17,35 ^d	1,28 ^f
Tôm sau 1 tháng	Phần đầu	B1	8,96 ^g	10,27 ^f	2,23 ^d
		B2	9,94 ^c	7,52 ⁱ	2,39 ^{cd}
		B3	9,02 ^g	6,58 ^l	2,49 ^{bc}
		Đ/C	10,97 ^a	16,63 ^c	2,27 ^d
	Phần thân	B1	8,59 ⁱ	6,51 ^l	2,67 ^{ba}
		B2	8,62 ⁱ	4,99 ^{lm}	2,67 ^{ba}
		B3	7,87 ^m	5,42 ^k	2,81 ^a
		Đ/C	8,71 ^h	9,98 ^f	2,61 ^b
Tôm trưởng thành	Phần đầu	B1	8,43 ^j	9,91 ^f	0,76 ^{ijk}
		B2	9,21 ^f	8,46 ^h	1,10 ^{fg}
		B3	8,38 ^{kj}	4,77 ^m	1,47 ^c
		Đ/C	8,02 ^l	17,21 ^d	1,01 ^{gh}
	Phần thân	B1	9,15 ^f	8,89 ^g	0,64 ^{jk}
		B2	9,38 ^e	5,35 ^{lk}	1,18 ^{fg}
		B3	9,60 ^d	2,60 ⁿ	1,22 ^f
		Đ/C	8,32 ^k	8,32 ^h	0,83 ^{hij}

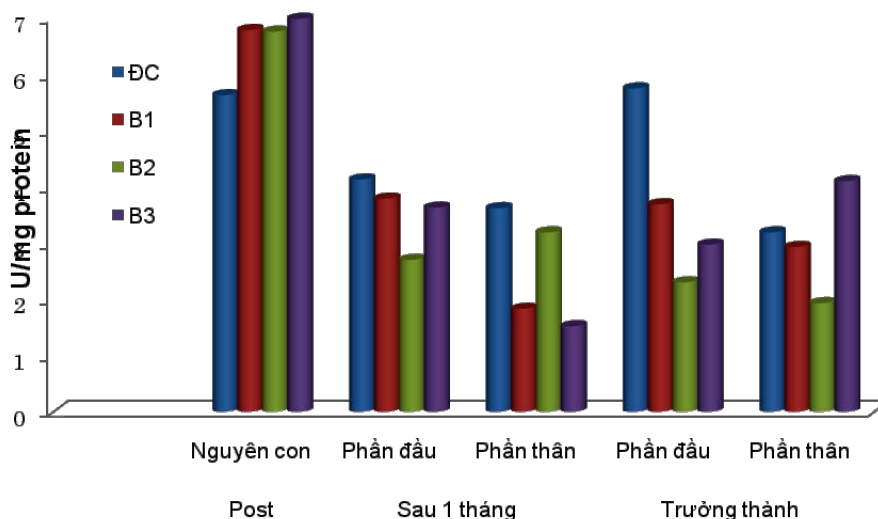
Chú thích: Đ/C: Đối chứng; B1: 0,94 ppm; B2: 1,88 ppm; B3: 3,75 ppm. Các chữ cái khác nhau trong cùng một cột chỉ sự sai khác có ý nghĩa thống kê của trung bình mẫu với p < 0,05.

Kết quả về sự thay đổi hoạt độ enzyme chống oxy hóa dưới tác dụng của Butachlor ở nồng độ 3,6 ppm và 1,8 ppm sau 24 giờ xử lý được trình bày ở Bảng 2. Từ kết quả thu được, chúng

tôi nhận thấy ở giai đoạn tôm post do cơ thể tôm còn non yếu và khá nhạy cảm với các tác động của Butachlor nên hầu hết các chỉ tiêu nghiên cứu ở Tôm rảo đất đều tăng lên so với mẫu đối chứng. Ở giai đoạn tôm sau 1 tháng nuôi thì sự tăng giảm hoạt độ các enzyme chống oxy hóa và các chỉ số hóa sinh đã có sự khác nhau giữa các bộ phận nghiên cứu. Phần lớn các chỉ tiêu nghiên cứu như chỉ số LP, hàm lượng protein và hoạt độ các enzyme chống oxy hóa đều giảm so với mẫu đối chứng dưới tác động của Butachlor, trong khi đó hàm lượng GSH có xu hướng tăng lên. Điều này cho thấy ở các bộ phận nghiên cứu của Tôm rảo đất đã có cơ chế phối hợp hoạt động của hệ thống chống oxy hóa, một khi hoạt độ các enzyme chống oxy hóa giảm xuống do tác động độc hại của thuốc thì hàm lượng chất chống oxy hóa phải tăng lên để cân bằng và bảo vệ cơ thể.

3. Tác động của Butachlor đối với sự biến động hoạt độ enzyme của Tôm rảo đất

3.1. Sự biến động hoạt độ enzyme SOD

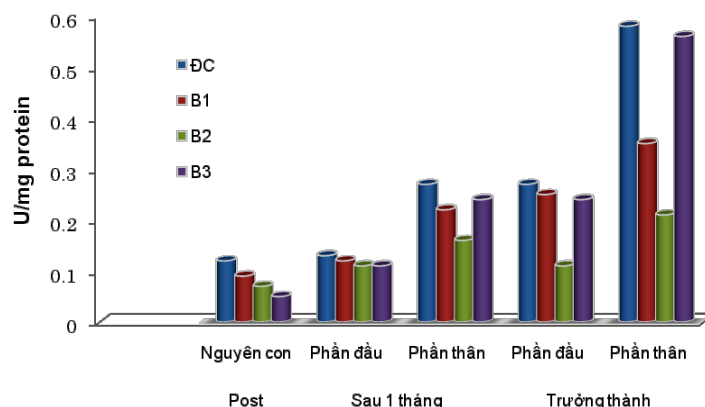


Hình 1: Hoạt độ enzyme SOD ở Tôm rảo đất dưới tác động của Butachlor

Dưới tác động của Butachlor, hoạt độ enzyme SOD của Tôm rảo đất có sự thay đổi rõ rệt như tình bày ở Hình 1: Ở giai đoạn tôm Post, Butachlor tác động làm tăng hoạt độ của enzyme SOD nhưng mức độ tăng này là không nhiều và đặc biệt ở nồng độ Butachlor cao, hoạt độ SOD tăng ít. Sự tăng hoạt độ SOD ở các nồng độ thuốc khác nhau không mang tính quy luật. Ở giai đoạn tôm sau 1 tháng nuôi, hoạt độ enzyme SOD có xu hướng bị giảm dần, tuy nhiên mức độ giảm là không đáng kể. Ở giai đoạn trưởng thành, ngoại trừ ở phần thân, hoạt độ enzyme SOD tăng lên. Đặc biệt, ở phần đầu của tôm hoạt độ của enzyme SOD bị giảm gần như một nửa. Sự tăng giảm hoạt độ không phụ thuộc vào nồng độ thuốc cao hay thấp. Dưới ảnh hưởng của Butachlor, hoạt độ SOD tăng lên không đáng kể ở giai đoạn tôm giống (post). Điều đó cho thấy ở giai đoạn còn non, cơ thể tôm giống khá nhạy cảm nên khi chịu tác động của các hoạt chất độc hại, enzyme SOD đã kịp thời phản ứng để loại bỏ các gốc O_2^{\bullet} sinh ra nhằm bảo vệ cơ thể khi bị stress oxy hóa. Điều này đã được chứng minh trong nghiên cứu của Placer và cs. (1966), ông cho rằng enzyme SOD là chỉ thị phản ứng tốt nhất của xử lý với ô nhiễm do stress oxy hóa [3].

3.2. Sự biến động hoạt độ enzyme P-ase

Tác động của Butachlor đã làm cho hoạt độ enzyme P-ase có nhiều biến động. Kết quả thu được ở Hình 2 cho thấy sự biến động hoạt độ enzyme P-ase ở Tôm rảo đất phụ thuộc vào nồng độ của Butachlor. Butachlor với bản chất là thuốc diệt cỏ đã tác động làm giảm hoạt độ enzyme P-ase nhưng ở mức độ nhẹ hơn. Trong một số trường hợp, Butachlor có tác động nhưng không làm thay đổi hoạt độ enzyme P-ase.

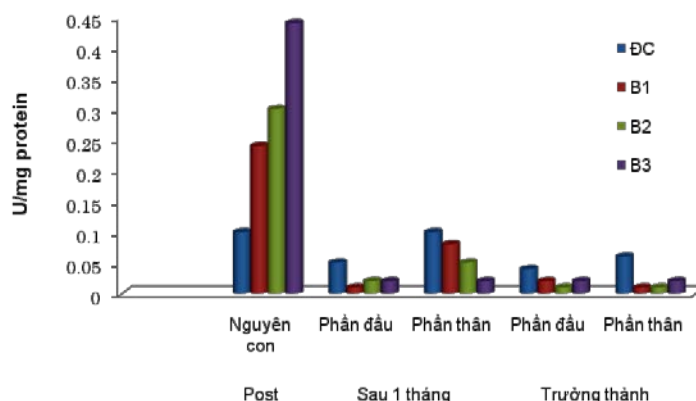


Hình 2: Hoạt độ enzyme P-ase ở Tôm rảo đất dưới tác động của Butachlor

3.3. Sự biến động hoạt độ enzyme C-ase

Enzyme C-ase đã bị biến đổi hoạt độ dưới tác động của Butachlor ở cả 3 giai đoạn sinh trưởng của Tôm rảo đất. Tuy nhiên, sự biến động của chỉ tiêu này chỉ thể hiện rõ ở giai đoạn tôm post, hoạt độ enzyme C-ase dao động trong khoảng rộng so với 2 giai đoạn sinh trưởng tiếp theo (0,09-0,56U/mg protein). Sự dao động này diễn ra theo chiều hướng tăng hoạt độ cùng với sự gia tăng hoạt độ của hai enzyme P-ase và SOD nhằm bảo vệ cơ thể (Hình 3).

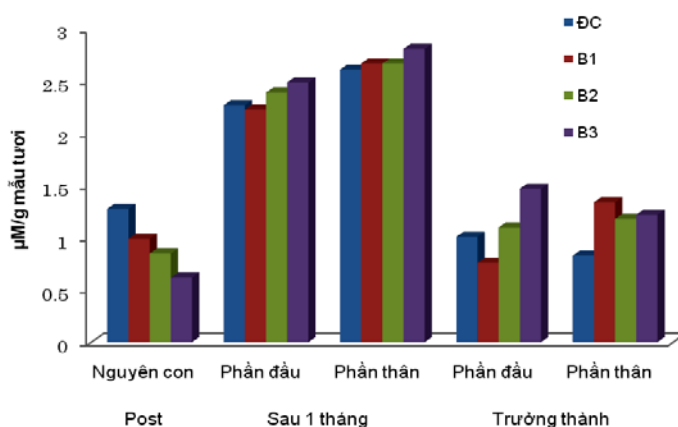
Ở 2 giai đoạn tôm sau 1 tháng và tôm trưởng thành, trong cả hai phần của Tôm rảo đất đều ít có sự biến động hoặc sự biến động là không đáng kể và có xu hướng giảm, khoảng biến động tương đối hẹp từ 0,01 - 0,06 U/mg protein. Sự giảm hoạt độ của enzyme này có thể do Butachlor đã làm hủy hoại protein enzyme hoặc làm chúng mất hoạt tính [2].



Hình 3: Hoạt độ enzyme C-ase ở Tôm rảo đất dưới tác động của Butachlor

3.4. Hàm lượng GSH

Các kết quả thu được ở Hình 4 cho thấy Butachlor đã gây ra sự biến đổi theo cùng hướng ở cả ba giai đoạn sinh trưởng, sự tác động của thuốc mang tính quy luật. Ở giai đoạn tằm Post, hàm lượng GSH giảm ở cả ba nồng độ thuốc, đặc biệt ở nồng độ cao, hàm lượng GSH giảm nhiều nhất. Ở giai đoạn tằm sau 1 tháng, hàm lượng GSH tăng nhưng không nhiều ở cả hai bộ phận nghiên cứu. Ở giai đoạn tằm trưởng thành, Butachlor gây ra tác động trái ngược nhau. Butachlor tác động làm cho phần lớn hàm lượng GSH ở cả hai bộ phận đầu và thân giảm ở nồng độ thấp nhưng lại tăng ở nồng độ cao. Kết quả của chúng tôi phù hợp với nghiên cứu của Zhang và cs. (2004).

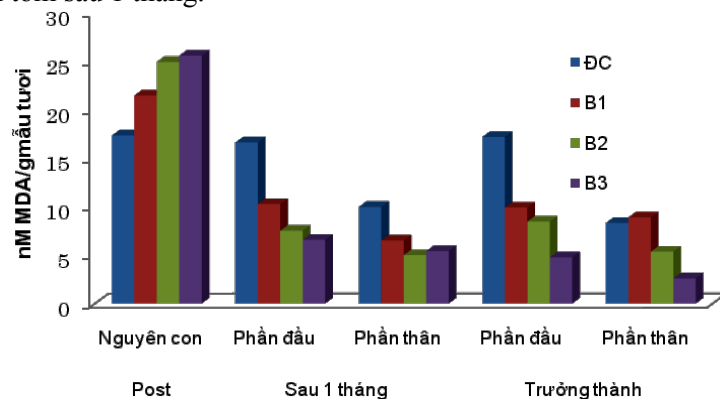


Hình 4: Hàm lượng GSH ở Tằm rảo đất dưới tác động của Butachlor

Kết quả của nghiên cứu này cho thấy trong quá trình stress oxy hóa, hàm lượng GSH có thể tăng lên nhờ các con đường trao đổi chất như là một cơ chế thích nghi để tự bảo vệ. Tuy nhiên, khi stress oxy hóa mạnh mẽ, có thể dẫn đến loại bỏ hàm lượng GSH, kết quả là làm cho cơ chế thích nghi bị hỏng. Sự suy giảm GSH có thể đã làm giảm sút khả năng bắt gốc tự do của tế bào. Như vậy, tác động độc hại của Butachlor đã gây ra nhiều biến động về hàm lượng GSH ở cả ba giai đoạn sinh trưởng của Tằm rảo đất và tác động này thể hiện rõ ở giai đoạn tằm post.

3.5. Chỉ số LP

Xu hướng biến thiên chung của chỉ số LP là tăng cao ở giai đoạn tằm post, giảm tương đối mạnh ở giai đoạn tằm sau 1 tháng.



Hình 5: Chỉ số LP ở Tằm rảo đất dưới tác động của Butachlor

Nhìn chung, sự biến động chỉ số LP ở Tôm rảo đất trưởng thành tùy thuộc vào nồng độ của Butachlor, chỉ số LP tăng lên ở giai đoạn tôm post và giảm xuống ở giai đoạn tôm sau 1 tháng trên cả 2 bộ phận. Ở giai đoạn trưởng thành, chỉ số LP tăng ở phần đầu, nhưng ở phần thân thì sự biến thiên không phụ thuộc vào nồng độ Butachlor. Hình 5 cho thấy Butachlor đã tác động và gây ra nhiều biến đổi ở chỉ số LP. Chỉ số này thường tăng ở giai đoạn tôm post và ở nồng độ thuốc cao thì mức độ tăng càng lớn. Điều này có thể do Butachlor đã tác động gây ra tình trạng tổn thương màng tế bào làm cho chỉ số LP tăng cao.

III. KẾT LUẬN

Khi chưa xử lý thuốc Butachlor, hoạt độ của ba enzyme chống oxy hóa SOD, C-ase, P-ase của Tôm rảo đất đều cao ở cả ba giai đoạn nghiên cứu. Khi xử lý Butachlor thì ở giai đoạn tôm Post (P20) có sự phối hợp hoạt động giữa các yếu tố chống oxy hóa, như khi hàm lượng GSH giảm xuống thì hoạt độ của hai enzym SOD và C-ase tăng lên. Trong trường hợp này, hoạt độ enzym SOD tăng lên phụ thuộc vào nồng độ của Butachlor. Tác động của Butachlor lên phần thân của tôm sau 1 tháng tuổi có sự biến đổi trái ngược giữa hoạt độ enzym SOD và giá trị chỉ số LP, hoạt độ enzym SOD tăng lên và giá trị chỉ số LP giảm xuống. Những biến đổi trên giúp tôm tăng cường khả năng chống chịu với ảnh hưởng của Butachlor để duy trì sự sống.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Công ty Cổ phần Sát trùng Việt Nam, 2007: *Sổ tay sử dụng nông dược*. NXB. Nông nghiệp, Tp. Hồ Chí Minh.
2. Matkovic B., 1977: *Comp. Biochemistry Physiology*, 56B: 31-34.
3. Placer Z.A., Cushman L., Johnson B.C., 1966: *Analyt Biochem*, 16: 359-364.
4. Trung tâm Khoa học tự nhiên và Công nghệ Quốc gia, 2000: *Động vật chí Việt Nam, Tôm biển*. NXB. KH & KT, Hà Nội.
5. Zhang J.F., Shen H., Wang X.R., Wu J.C., Xue Y.Q., 2004: *Chemosphere*, 55(2): 167-174.

STUDY ON THE EFFECTS OF BUTACHLOR ON ANTIOXIDANT SYSTEM AND BIOCHEMICAL CHARACTERISTICS OF SHRIMP (*METAPENAEUS ENSIS*)

HOANG THI KIM HONG, NGUYEN THI ANH DAO

SUMMARY

Pesticides such as butachlor have been widely used in agricultural production. Residues of butachlor are one of the causes of aquatic environmental contamination that could affect organisms, especially fish and shrimp. In this paper, we report the effects of butachlor in different concentrations on the antioxidant system and biochemical characteristics at different developmental stages of *Metapenaeus ensis* after 24 hours of treatment. Research results showed that under normal conditions, the antioxidant enzyme existed and the lipid peroxide (LP) was always detected in the shrimp. In the presence of butachlor, there was activated coordination among the members of antioxidants system during the developmental stage of shrimp at Post (20) stage in which GSH content decreased while the activity of SOD and C-ase enzymes increased to protect shrimp. Effects of butachlor on the body of the shrimp after 1 month was caused an opposed change on the activities of SOD and lipid peroxide (LP) enzymes. In the presence of butachlor, the activity of SOD enzyme increased while the LP activity decreased in surviving shrimps.