

## XÁC ĐỊNH GIÁ TRỊ LC50 CỦA CHÌ ĐỐI VỚI CÁ NGỰA VẼN (*Danio rerio*) Ở GIAI ĐOẠN PHÔI VÀ ẤU TRÙNG

NGUYỄN THỊ NHÂN, NGUYỄN LAI THÀNH, LÊ THU HÀ

Trường Đại học Khoa học Tự nhiên,  
Đại học Quốc gia Hà Nội

Hiện nay, kim loại chì và các hợp chất của chì vẫn được sử dụng rộng rãi trong đời sống con người, chì được làm ống dẫn, vỏ pin, tuýp thuốc, chất phụ gia cho xăng dầu... Do vậy chì được phát tán rộng trong môi trường và là mối đe dọa với môi trường, cũng như đời sống con người. Chì xuất hiện với nồng độ cao trong môi trường sẽ gây ảnh hưởng xấu đến hệ thống hô hấp, quang hợp của thực vật; đối với động vật bao gồm cả con người chì gây ảnh hưởng đến hệ thần kinh trung ương, xương đã được Deni (1993) [3], Martinez et al. (2004) [6], Abdul et al. (2014) [1] đề cập đến. Nhiều nghiên cứu xác định chỉ số LC5 của chì trên các đối tượng cá khác nhau đã được nghiên cứu. Tuy vậy ít có nghiên cứu về sự thay đổi giá trị LC50 chì theo độ tuổi của cá. Do vậy, nghiên cứu này được thực hiện với mục tiêu xác định giá trị LC50 chì của cá ngựa vằn (*Danio rerio*) theo 3 độ tuổi khác nhau, đó là cá 0 ngày tuổi (phôi cá ngựa vằn vừa được thụ tinh), cá 3 ngày tuổi (cá ngựa vằn đã thoát khỏi màng phôi) và cá 10 ngày tuổi (cá ngựa vằn chuyển sang giai đoạn dinh dưỡng ngoài không sử dụng dinh dưỡng từ noãn hoàn).

### I. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

**Vật liệu nghiên cứu:** Cá thí nghiệm là cá ngựa vằn, *Danio rerio*, được nuôi trong Phòng nuôi động vật, Khoa Sinh học, Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội. Các cá đực, cái được lựa chọn, ghép đôi với nhau, cho đẻ trứng. Trứng thu được có thể tiến hành làm thí nghiệm LC50 của cá 0 ngày tuổi hoặc nuôi lớn để làm thí nghiệm LC50 của cá 3 và 10 ngày tuổi. Hóa chất được sử dụng là  $Pb(NO_3)_2$  pha trong nước RO, bảo quản trong điều kiện phòng.

**Thiết kế thí nghiệm:** Các bước thực hiện thí nghiệm được thực hiện theo các hướng dẫn thí nghiệm số 203, 236, 210 của OECD (2013) [7, 8].

Đối với thí nghiệm xác định giá trị LC50 trong 24 giờ: cá 0 ngày tuổi phơi nhiễm Pb trong dải nồng độ 5, 10, 20, 30, 55, 100, 125, 160, 200, 250, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 1200 mg/l, và 1 đối chứng (0 mg/l); cá 3 ngày tuổi được phơi nhiễm trong dải nồng độ 80, 100, 150, 160, 180, 200, 250 mg/l và 1 đối chứng; cá 10 ngày tuổi được phơi nhiễm với dải nồng độ 2, 5, 10, 15, 40, 60, 100, 200 mg/l và 1 lô đối chứng.

Đối với thí nghiệm xác định giá trị LC50 trong 96 giờ: cá 0 ngày tuổi được tiến hành phơi nhiễm trong dải nồng độ 10, 20, 30, 55, 100, 180 mg/l và 1 lô đối chứng; cá 3 ngày tuổi được phơi nhiễm với dải nồng độ Pb 100, 150, 160, 180, 200, 250 mg/l và 1 lô đối chứng; cá 10 ngày tuổi được phơi nhiễm trong dải nồng độ 2, 5, 10, 15, 25, 100 mg Pb/l và 1 lô đối chứng.

Ghi kết quả: sau 24 giờ số lượng cá chết được ghi lại, những cá chết được lấy đi; 50% môi trường thí nghiệm được hút đi và thay thế bằng môi trường mới

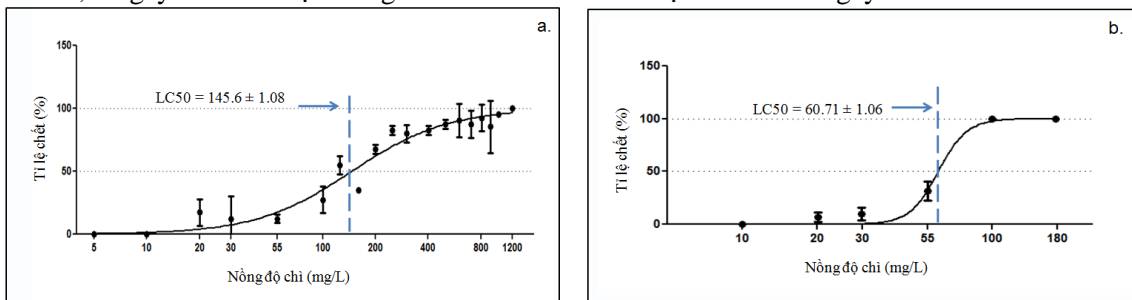
Cá không được cho ăn trong suốt quá trình thí nghiệm. Tại mỗi lô thí nghiệm mật độ cá là 20 cá thể/ 1 giếng 6 ml đối với cá 0 ngày tuổi và 10 cá thể/1 giếng 6 ml đối với cá 3, 10 ngày tuổi. Mỗi thí nghiệm được lặp lại 3 lần.

Điều kiện môi trường thí nghiệm được duy trì trong suốt quá trình thí nghiệm với nhiệt độ  $26\pm 1$  °C và pH 6,5 – 7,5.

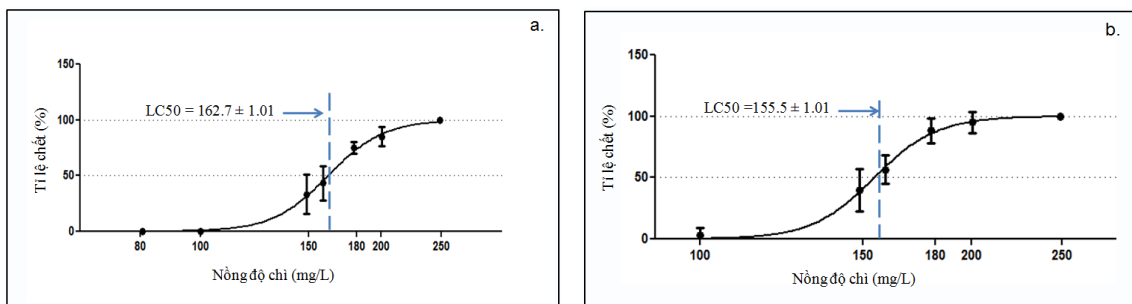
**Xử lý số liệu:** Các số liệu được tính toán và xử lý bằng phần mềm GraphPad Prism 5 theo công thức  $Y = \text{Bottom} + (\text{Top} - \text{Bottom}) / (1 + 10^{((\text{LogEC50} - X) * \text{HillSlope}))})$ .

## II. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

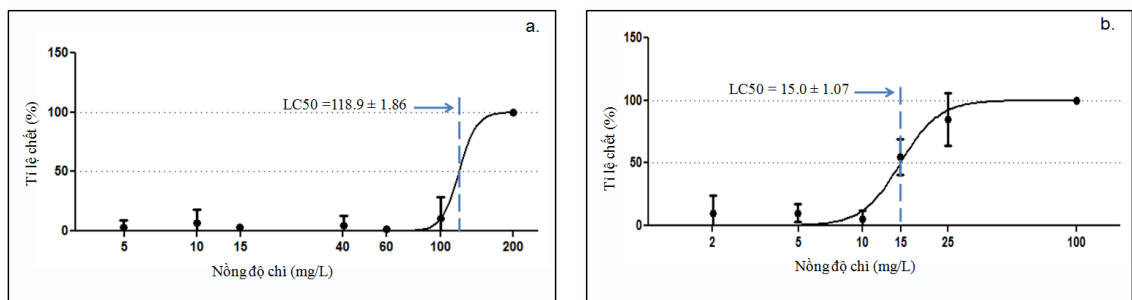
Kết quả thí nghiệm xác định chỉ số LC50 của cá ngựa vằn 0 ngày tuổi được thể hiện trong hình 1, 3 ngày tuổi thể hiện trong hình 2 và hình 3 thể hiện cho cá 10 ngày tuổi.



Hình 1: Tỷ lệ chết của cá ngựa vằn 0 ngày tuổi sau 24 giờ (a) và 96 giờ (b) phơi nhiễm chì



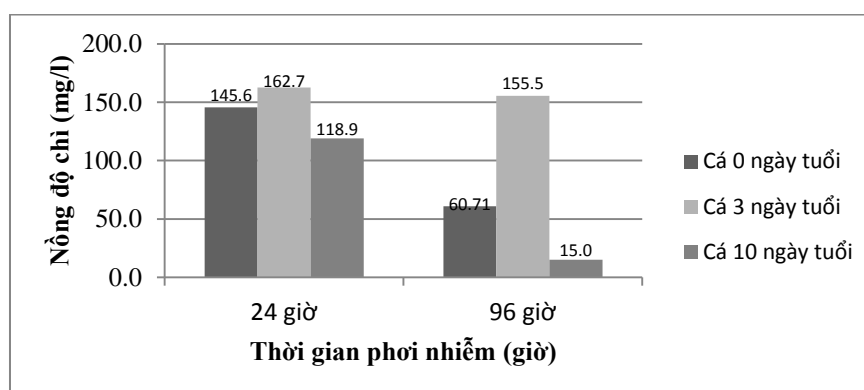
Hình 2: Tỷ lệ chết của cá Danio rerio 3 ngày tuổi sau 24 giờ (a) và 96 giờ (b) phơi nhiễm chì



Hình 3: Tỷ lệ chết của cá Danio rerio 10 ngày tuổi sau 24 giờ (a) và 96 giờ (b) phơi nhiễm chì

Kết quả so sánh giá trị LC50 chì của cá ngựa vằn ở các độ tuổi khác nhau được thể hiện trong hình 4.

Kết quả nghiên cứu cho thấy: ở cá 0 ngày tuổi sau 24 giờ phơi nhiễm nồng độ chì mà tại đó 100% cá chết là 1200 mg/l, gấp 120 lần nồng độ chì mà tại đó có 0% cá chết (10 mg/l) (hình 1). Như vậy, ở giai đoạn 0 ngày tuổi màng phôi vẫn còn nên màng phôi có vai trò trong bảo vệ phôi cá ngựa vằn chống lại chất độc. Giá trị LC50 chì của cá ngựa vằn 0 ngày tuổi sau 24 giờ phơi nhiễm là 145,6 mg/l và 96 giờ phơi nhiễm là 60,71 mg/l. Như vậy LC50-24h cao gấp 2,4 lần giá trị LC50-96h (hình 4). Như vậy yếu tố thời gian phơi nhiễm có ảnh hưởng đến giá trị LC50 ở cá 0 ngày tuổi ( $p < 0,05$ ).



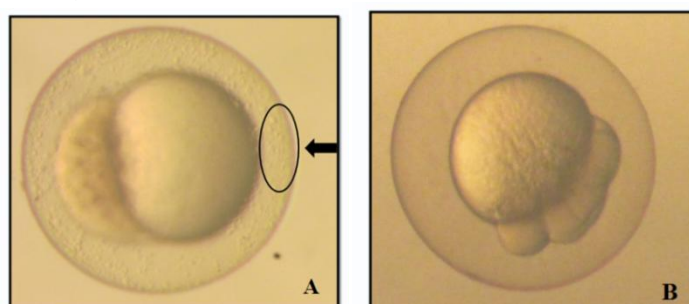
Hình 4: Giá trị LC50 của chì của cá *Danio rerio* với các độ tuổi khác nhau và thời gian phơi nhiễm khác nhau

Kết quả thí nghiệm với cá 3 ngày tuổi cho thấy giá trị LC50 sau 24 giờ (162,7 mg/l) và 96 giờ (155,5 mg/l) đều cao hơn giá trị LC50 của cá 0 ngày tuổi (hình 4). Điều này cho thấy cá 3 ngày tuổi có khả năng chống chịu với Pb tốt hơn cá 0 ngày tuổi. Kết quả thí nghiệm này cũng cho thấy giá trị LC50-24h của cá 3 ngày tuổi cao hơn không đáng kể so với giá trị LC50-96h và không có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ). Như vậy thời gian phơi nhiễm ít ảnh hưởng đến giá trị LC50 trong thí nghiệm với cá 3 ngày tuổi. Như vậy, cùng trong giai đoạn dinh dưỡng trong cá 0 ngày tuổi nhạy cảm với chì hơn cá 3 ngày tuổi.

Trong thí nghiệm với cá 10 ngày tuổi cho thấy: giá trị LC50-24h là 118,9 mg/l cao gấp gần 8 lần giá trị LC50-96h là 15 mg/l. Kết quả này cho thấy thời gian phơi nhiễm ảnh hưởng rất lớn đến giá trị LC50 của cá 10 ngày tuổi ( $p < 0,01$ ). Hình 4 cho thấy giá trị LC50 của cá 10 ngày tuổi thấp hơn so với cá 0 và 3 ngày tuổi. Như vậy ở giai đoạn dinh dưỡng trong cá ngựa vằn ít nhạy cảm hơn so với giai đoạn dinh dưỡng ngoài, điều này cho thấy vai trò bảo vệ của màng phôi.

Kết quả thí nghiệm với cá ngựa vằn 10 ngày tuổi trong nghiên cứu này tương tự như kết quả nghiên cứu của các tác giả khác trên các đối tượng cá khác. Các kết quả nghiên cứu của Abedi Zeynab và cộng sự (2012) [2] trên 2 loài cá *Cyprinus carpio* và *Pangasius Hypophthalmus*; của Gharedaashi Esmail và cộng sự (2012) [4] với loài cá *Ctenopharyngodon idella*; của Gharedaashi Esmail và cộng sự (2013) [5] trên cá *Rutilus frisii kutum* và của Tweel Abdulali cùng cộng sự (2013) [9] với cá *Oreochromis niloticus* đều cho thấy giá trị LC50-24h cao gấp 8 đến 10 lần giá trị LC50-96, giá trị LC50 thay đổi lớn ở các loài cá khác nhau.

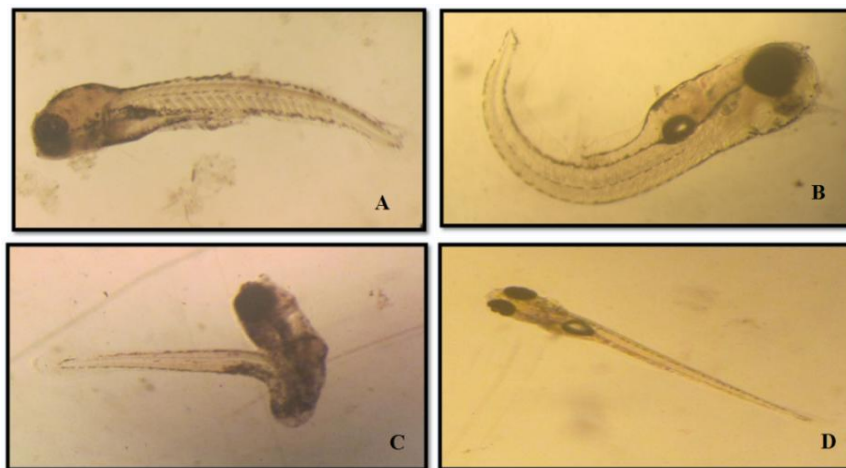
Trong quá trình phơi nhiễm chì, cá ngựa vằn ở cả 3 độ tuổi đều biểu hiện các dị dạng được trình bày trong các hình 5, 6 và 7.



Hình 5: Cá 0 ngày tuổi (A. Cá phơi nhiễm chì sau 2 giờ xuất hiện các chấm sần; B. Đối chứng: trơn nhẵn) (ảnh: Nguyễn Thị Nhân, 2015)



Hình 6. Cá 3 ngày tuổi (A. Cong đuôi; B. Dị dạng mạch máu; C. Hoại tử; D. Đối chứng)  
(ảnh: Nguyễn Thị Nhân, 2015)



Hình 7: Cá 10 ngày tuổi (A, B và C. Dị dạng; D. Đối chứng)  
(ảnh: Nguyễn Thị Nhân, 2015)

### III. KẾT LUẬN

Từ các kết quả thu được có thể rút ra các kết luận sau:

1. Cá ngựa vằn ở giai đoạn dinh dưỡng ngoài (cá 10 ngày tuổi) có giá trị LC50 thấp hơn giai đoạn dinh dưỡng trong (cá 0 và 3 ngày tuổi).
2. Yếu tố thời gian phơi nhiễm ảnh hưởng đến giá trị LC50 của cá ngựa vằn 0 và 10 ngày tuổi, nhưng không ảnh hưởng đến giá trị LC50 của cá 3 ngày tuổi.
3. Ở cả 3 độ tuổi đều thấy xuất hiện các dị dạng ở cá sau khi phơi nhiễm chì.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Abdul Latif, Muhammad Khalid and Muhammad Ali**, 2014. International Journal of Current Engineering and Technology, 4(1): 366-372.
2. **Abedi Zeynab, Khalesi Mohammadkazem, Kohestan Eskandari Sohrab, Rahmani Hossein**, 2012. Iranian Journal of Toxicology 6(18): 672-680.
3. **Deni Greene**, 1993. "Effects of lead on the environment". The journal of The LEAD (Lead Education and Abatement Design) Group Inc. Vol. 1, No. 2.
4. **Gharedaashi Esmail, Nekoubin Hamed, Asgharimoghadam Alireza, Reza Imanpour Mohammad and Taghizade Vahid**, 2012. Journal of Toxicology and Environmental Health Sciences, 4(10): 171-174.
5. **Gharedaashi Esmail, Reza Imanpour Mohammad and Taghizadeh Vahid**, 2013. Journal of Toxicology and Environmental Health Sciences, 5(1): 12-16.
6. **Martinez C. B. R., Nagae M. Y., Zaia C. T. B. V. and Zaia D. A. M.**, 2004. Brazilian Journal of Biology, 64(4): 797-807.
7. **OECD**, 2013, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Test No. 210: Fish, Early-life Stage Toxicity Test.
8. **Tweel Abdulali, Shuhaimi-Othman M. and Ahmad A. K.**, 2013. Journal of Biological Sciences, 13(5): 365-371.

## THE LC50 EVALUATION OF LEAD TO *Danio rerio* IN EMBRYO AND LARVAL STAGES

NGUYEN THI NHAN, NGUYEN LAI THANH, LE THU HA  
SUMMARY

Lead pollution is a heavy metal which is used popular in industry, and negatively impact on environment and public health in the worldwide. Zebrafish, *Danio reio*, is popular model vertebrate in toxicity test. The purpose of present study was to determine the median lethal concentration of lead toxicity (LC50) for zebrafish in different ages and time exposure. The study operation: zebrafish which are 0-day-old, 3-day-old and 10-day-old, expose in different lead concentrations for 24 hour and 96 hour. According to the findings, the LC50 of lead for 24 hour in 0-day-old fish, 3-day-old fish, 10-day-old fish were 145.6, 162.7, 118.9 mg Pb/l, respectively; the LC50 of lead for 96 hour in 0-day-old fish, 3-day-old fish, 10-day-old fish were 60.71, 155.5, 15.0 mg Pb/l, respectively. Besides, the study observed the role of chorion to protect *Danio rerio* embryo under lead impact hour and the appearance of visible abnormalities in zebrafish by lead toxicity.