

ĐÁNH GIÁ ẢNH HƯỞNG CỦA ASEN LÊN SỰ PHÁT TRIỂN PHÔI CÁ NGỰA VẦN (*Danio rerio*)

Nguyễn Thị Thương Huyền^{1*}, Trần Thị Trúc Đào², Hoàng Nghĩa Sơn³

¹Trường Đại học Sư phạm thành phố Hồ Chí Minh

²Trường Trung học phổ thông Ernst Thälmann

³Viện Sinh học Nhiệt đới, Viện Hàn lâm KH & CN Việt Nam

TÓM TẮT: Asen (thạch tín) là một trong những nguyên tố kim loại nặng nguy hiểm đối với con người và động vật thủy sinh. Khi tích tụ trong cơ thể, asen gây tác hại nghiêm trọng đến nhiều hệ cơ quan như thần kinh, tuần hoàn, tiêu hóa sinh sản và cả ung thư. Nghiên cứu này nhằm đánh giá tác động của asen (As) lên quá trình phát triển phôi cá Ngựa vằn, *Danio rerio*, ở các giai đoạn phân cắt, phôi nang, phôi vị, phân đốt, hình thành hầu họng và nở (thoát nang). Phôi cá ngựa vằn mới thụ tinh được gây nhiễm As ở 9 nồng độ (20, 50, 80, 110, 140, 170, 200, 230, 260 µg/L và lô đối chứng (0 µg/L) trong môi trường Hank's phôi. Kết quả cho thấy tỷ lệ sống giảm theo sự tăng dần nồng độ As và các giai đoạn của phôi, tuy nhiên, các nồng độ As khảo sát chưa phải là ngưỡng gây chết LC₅₀ của phôi cá ngựa vằn. Tại các nồng độ khảo sát, nhịp tim tăng theo thứ tự các nồng độ khảo sát, đạt cao nhất tại nồng độ 260 µg/L ở giai đoạn nở của phôi (237,73±1,87 nhịp/phút so với 197,60±2,20 nhịp/phút ở lô đối chứng, p < 0,05). As làm giảm tần số quẫy mình của mỗi giai đoạn theo chiều tăng dần nồng độ, thấp nhất ở giai đoạn hầu họng (2,53 nhịp/phút so với 5,50 nhịp/phút ở lô đối chứng, p < 0,05); đồng thời, As làm chậm và làm giảm tỷ lệ nở của phôi (tỷ lệ nở còn 77,78% ở nồng độ 260 µg/L so với 98,86% ở lô đối chứng, sau 72 giờ thụ tinh, p < 0,05).

Từ khóa: Asen, cá ngựa vằn, phôi cá ngựa vằn, nhịp tim, nhịp quẫy mình.

MỞ ĐẦU

Chất thải của các ngành công nghiệp, giao thông vận tải, chăn nuôi... trong những năm gần đây đang là nguyên nhân chính làm cho môi trường sống ngày càng bị ô nhiễm bởi các chất độc hại, đặc biệt là các kim loại nặng (Lê Huy Bá, 2006). Asen là một trong những nguyên tố kim loại nặng nguy hiểm đối với con người và động vật thủy sinh. Các nghiên cứu gần đây cho thấy, hàng triệu cư dân đồng bằng sông Hồng sống trong khu vực sử dụng giếng nước khoan có hàm lượng asen cao hơn 10 µg/L đang có nguy cơ bị nhiễm độc asen mãn tính. Hầu hết các mẫu nước giếng khoan sử dụng cho ăn uống tại xã Chuyên Ngoại đều bị ô nhiễm asen (98,7% mẫu trước lọc và 80,4% mẫu sau lọc), vượt mức cho phép 40 lần (Nguyễn Mạnh Khải và nnk., 2010; Nguyễn Việt Hùng, 2011). Asen được hấp thu vào cơ thể theo đường hô hấp, tiêu hóa hoặc qua da (Lê Huy Bá, 2006). Khi tích tụ trong cơ thể, asen gây tác hại nghiêm trọng đến nhiều hệ cơ quan như thần kinh, tuần hoàn, tiêu hóa, sinh sản và cả ung thư, hay gặp nhất là ung thư da (Kapaj et al., 2006; Heck et al., 2009;

Moon et al., 2013; McCollum et al., 2014).

Hiện nay, về ảnh hưởng của kim loại nặng nói chung và asen nói riêng lên động vật thủy sinh đang được nhiều nhà khoa học trong và ngoài nước nghiên cứu (Li et al., 2009; Nguyễn Thị Thương Huyền và nnk., 2012; Moon et al., 2013; Trần Thị Phương Dung và nnk., 2014; McCollum et al., 2014). Trong đó, cá Ngựa vằn, *Danio rerio*, được sử dụng làm đối tượng thí nghiệm phổ biến vì chúng có nhiều ưu điểm như vòng đời ngắn; dễ nuôi; phôi lớn, trong suốt, phát triển nhanh; kích thước phù hợp cho việc nuôi với số lượng lớn và bộ gen có những tương đồng cao với con người và một số động vật có vú (Kimmel et al., 1995; Lamason et al., 2005; Lawrence, 2007; Westerfield, 2007; Quaipe et al., 2012). Đặc biệt, điều kiện sống của cá ngựa vằn phù hợp với khí hậu ở Việt Nam nên để bố trí thí nghiệm và không cần đến các trang thiết bị phức tạp. Bên cạnh đó, ở Việt Nam, việc đánh giá tác động của asen chủ yếu bằng các phương pháp hóa lí, chưa có sự đánh giá một cách chính xác lên sự phát triển của các động vật thủy sinh, nhất là động vật có xương sống.

Nghiên cứu này nhằm đánh giá tác động của asen (As) lên quá trình phát triển phôi cá ngựa vằn, *Danio rerio*, ở các giai đoạn khác nhau, giúp có cái nhìn tổng quát về tình hình nhiễm kim loại ở nguồn nước đang sử dụng, đồng thời tạo cơ sở cho những nghiên cứu sau này về sự ảnh hưởng của độc tố kim loại nặng trong môi trường thủy sinh.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Cá ngựa vằn bố mẹ được nuôi ổn định điều kiện sống theo chu kì 14 giờ sáng-10 giờ tối (Westerfield, 2007) tại phòng thí nghiệm Giải phẫu, Sinh lí người và Động vật, Khoa Sinh học, Trường Đại học Sư phạm TP HCM. Cá này sẽ được dùng để phối và thu phôi phục vụ cho nghiên cứu.

Môi trường Hanks gồm: CaCl_2 , HCl , KCl , KH_2PO_4 , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, NaCl , Na_2HPO_4 , NaHCO_3 , NaOH (Westerfield, 2007) được sử dụng làm môi trường chính để pha các nồng độ As và dùng cho quá trình nuôi phôi cá Ngựa vằn. Dung dịch As (từ As_2O_3 , sigma) được chuẩn bị ở 09 nồng độ khác nhau: 20, 50, 80, 110, 140, 170, 200, 230, 260 $\mu\text{g/L}$ trong môi trường Hank's phôi và lô đối chứng (0 $\mu\text{g/L}$).

Lý do chọn 9 nồng độ thí nghiệm theo Quy chuẩn kỹ thuật Quốc gia về chất lượng nước mặt bảo vệ đời sống thủy sinh, giá trị asen giới hạn trong thủy vực là 0,02 mg/L (Bộ Tài nguyên và Môi trường, 2015). Theo Nguyễn Mạnh Khải và nnk. (2010), Nguyễn Việt Hùng (2011), khu vực sử dụng giếng nước khoan có hàm lượng asen cao hơn 10 $\mu\text{g/L}$ gây nhiễm độc asen mãn tính. Vì vậy, nghiên cứu này chọn nồng độ As khảo sát đầu là 20 $\mu\text{g/L}$ (0,02 mg/L) và 50 $\mu\text{g/L}$, cách nhau 30 $\mu\text{g/L}$, 7 nồng độ tiếp theo cũng cách đều 30 $\mu\text{g/L}$.

Phương pháp phối cá và thu phôi

Tạo vách ngăn trong suốt giữa bể phối, thả cá đực và cá cái riêng biệt theo tỷ lệ 1:2, tương ứng và ổn định theo chu kì sáng tối, nhiệt độ 28°C, pH duy trì từ 7,0-7,5 (Westerfield, 2007). Cá được để trong tối 10 giờ, sau đó bật đèn và tháo vách ngăn để cá phối, sau 3-5 phút cho phối, thu phôi chuyển vào cốc thủy tinh, đếm và chọn lựa phôi tốt, đưa phôi vào bể ấp

(Westerfield, 2007; Nguyễn Thị Thương Huyền và nnk., 2012).

Phương pháp gây nhiễm phôi với các nồng độ As khảo sát

Chúng tôi chọn những phôi tốt theo hình thái (có sự phát triển bình thường về cấu trúc phôi bì; quan sát dưới kính hiển vi cho thấy các phôi tốt có dạng tròn đều, trong suốt; màng phôi nguyên vẹn; khối noãn hoàng đặc đều, có độ trong đồng nhất tương ứng với các giai đoạn phân chia khác nhau của phôi (Westerfield, 2007; Kimmel et al., 1995) chuyển vào môi trường Hank's phôi trong cốc thủy tinh với thể tích dung dịch 200 mL theo các nồng độ tương ứng của As: 20, 50, 80, 110, 140, 170, 200, 230, 260 $\mu\text{g/L}$ và đối chứng (0 $\mu\text{g/L}$). Sự sống phôi cá được kiểm tra qua mỗi giai đoạn phát triển {phôi nang (sau 3 giờ thụ tinh-hours post fertilization-hpf), phôi vị (5 hpf), phân đốt (10-24 hpf), hầu họng (24-48 hpf) và nở (48-72 hpf)} bằng quan sát hình thái dưới kính hiển vi đảo ngược (Westerfield, 2007; Kimmel et al., 1995). Mỗi nồng độ có 30 phôi/đĩa ấp, và được lặp lại 3 lần. Đánh giá tỷ lệ sống của phôi qua mỗi giai đoạn phân chia.

Phương pháp đếm nhịp tim và số lần quẫy mình

Dùng máy chụp hình (Canon) quay phim hoạt động của các phôi, cài đặt trong 1 phút dưới kính hiển vi đảo ngược ở vật kính X20. Nhịp tim và tần số quẫy mình được đếm trong 1 phút, mỗi nồng độ được thực hiện ngẫu nhiên trên 10 phôi. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần. (Nguyễn Thị Thương Huyền và nnk., 2012).

Phương pháp đánh giá tỷ lệ nở

Đếm số phôi nở trong tổng số phôi sống ở giai đoạn hầu họng, quan sát một số biến đổi bất thường của phôi làm cho phôi không nở được và xác định tỷ lệ nở. (Nguyễn Thị Thương Huyền và nnk., 2012).

Phương pháp xử lí thống kê

Tất cả số liệu của đề tài được xử lí theo các thuật toán xác suất thống kê trên máy vi tính bằng phần mềm Minitab 16, SPSS 20. Các số liệu trung bình được trình bày ở dạng $\bar{X} \pm SE$. Mức ý nghĩa được sử dụng để kiểm định sai

khác có ý nghĩa giữa các công thức là 0,05. Xử lí sai khác về tỷ lệ sống của phôi, nhịp tim, nhịp quẫy mình và tỷ lệ nở bằng phương pháp phân tích phương sai một nhân tố: ANOVA-One Way.

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Ảnh hưởng của As lên tỷ lệ sống phôi

Kết quả bảng 1 cho thấy, tỷ lệ phôi sống ở các lô thí nghiệm đều đạt từ 72,78% trở lên. Như vậy, các nồng độ As khảo sát chưa phải là ngưỡng gây chết LC_{t50} đối với giai đoạn phôi cá ngựa vằn.

Bảng 1. Ảnh hưởng của nồng độ As lên tỷ lệ sống của phôi cá ngựa vằn qua các giai đoạn phát triển

Nồng độ ($\mu\text{g/L}$)	Giai đoạn				
	Phôi nang	Phôi vị	Phân đốt	Hầu họng	Nở
0	100,00 \pm 0,00 ^{a.α}	96,67 \pm 1,34 ^{a.β}	95,00 \pm 1,62 ^{a.γ}	95,00 \pm 1,62 ^{a.γ}	93,89 \pm 1,79 ^{a.γ}
	100,00 \pm 0,00 ^{a.α}	93,33 \pm 1,86 ^{a.β}	88,89 \pm 2,34 ^{ab.γ}	88,89 \pm 2,34 ^{ab.γ}	88,89 \pm 2,34 ^{ab.γ}
20	100,00 \pm 0,00 ^{a.α}	92,78 \pm 1,93 ^{a.β}	87,78 \pm 2,44 ^{ab.γ}	87,78 \pm 2,44 ^{ab.γ}	87,78 \pm 2,44 ^{abc.γ}
	100,00 \pm 0,00 ^{a.α}	92,78 \pm 1,93 ^{ab.β}	85,00 \pm 2,66 ^{bc.γ}	85,00 \pm 2,66 ^{bc.γ}	85,00 \pm 2,66 ^{bcd.γ}
50	100,00 \pm 0,00 ^{a.α}	92,22 \pm 2,00 ^{ab.β}	78,33 \pm 3,07 ^{bc.γ}	78,33 \pm 3,07 ^{bc.γ}	78,33 \pm 3,07 ^{bcd.γ}
	99,44 \pm 0,55 ^{ab.α}	86,67 \pm 2,5 ^{bc.β}	78,33 \pm 3,07 ^{bc.γ}	76,67 \pm 3,15 ^{bcd.γ}	76,67 \pm 3,15 ^{bcd.γ}
80	98,89 \pm 0,78 ^{ab.α}	84,44 \pm 2,70 ^{bc.β}	77,78 \pm 3,10 ^{bc.γ}	76,67 \pm 3,15 ^{bcd.γ}	76,11 \pm 3,18 ^{cd.γ}
	99,44 \pm 0,55 ^{a.α}	84,44 \pm 2,70 ^{bc.β}	77,78 \pm 3,10 ^{bc.γ}	76,11 \pm 3,18 ^{cd.γ}	75,56 \pm 3,20 ^{cd.γ}
110	98,33 \pm 0,95 ^{ab.α}	83,89 \pm 2,74 ^{bc.β}	77,78 \pm 3,10 ^{bc.γ}	75,56 \pm 3,20 ^{cd.γ}	75,56 \pm 3,20 ^{cd.γ}
	95,56 \pm 1,54 ^{b.α}	82,22 \pm 2,85 ^{c.β}	72,78 \pm 3,32 ^{c.γ}	72,78 \pm 3,32 ^{d.γ}	72,78 \pm 3,32 ^{d.γ}
140	95,56 \pm 1,54 ^{b.α}	82,22 \pm 2,85 ^{c.β}	72,78 \pm 3,32 ^{c.γ}	72,78 \pm 3,32 ^{d.γ}	72,78 \pm 3,32 ^{d.γ}
	95,56 \pm 1,54 ^{b.α}	82,22 \pm 2,85 ^{c.β}	72,78 \pm 3,32 ^{c.γ}	72,78 \pm 3,32 ^{d.γ}	72,78 \pm 3,32 ^{d.γ}
170	95,56 \pm 1,54 ^{b.α}	82,22 \pm 2,85 ^{c.β}	72,78 \pm 3,32 ^{c.γ}	72,78 \pm 3,32 ^{d.γ}	72,78 \pm 3,32 ^{d.γ}
	95,56 \pm 1,54 ^{b.α}	82,22 \pm 2,85 ^{c.β}	72,78 \pm 3,32 ^{c.γ}	72,78 \pm 3,32 ^{d.γ}	72,78 \pm 3,32 ^{d.γ}
200	95,56 \pm 1,54 ^{b.α}	82,22 \pm 2,85 ^{c.β}	72,78 \pm 3,32 ^{c.γ}	72,78 \pm 3,32 ^{d.γ}	72,78 \pm 3,32 ^{d.γ}
	95,56 \pm 1,54 ^{b.α}	82,22 \pm 2,85 ^{c.β}	72,78 \pm 3,32 ^{c.γ}	72,78 \pm 3,32 ^{d.γ}	72,78 \pm 3,32 ^{d.γ}
230	95,56 \pm 1,54 ^{b.α}	82,22 \pm 2,85 ^{c.β}	72,78 \pm 3,32 ^{c.γ}	72,78 \pm 3,32 ^{d.γ}	72,78 \pm 3,32 ^{d.γ}
	95,56 \pm 1,54 ^{b.α}	82,22 \pm 2,85 ^{c.β}	72,78 \pm 3,32 ^{c.γ}	72,78 \pm 3,32 ^{d.γ}	72,78 \pm 3,32 ^{d.γ}
260	95,56 \pm 1,54 ^{b.α}	82,22 \pm 2,85 ^{c.β}	72,78 \pm 3,32 ^{c.γ}	72,78 \pm 3,32 ^{d.γ}	72,78 \pm 3,32 ^{d.γ}
	95,56 \pm 1,54 ^{b.α}	82,22 \pm 2,85 ^{c.β}	72,78 \pm 3,32 ^{c.γ}	72,78 \pm 3,32 ^{d.γ}	72,78 \pm 3,32 ^{d.γ}

a, b, c, d: thể hiện sự khác biệt theo cột ở độ tin cậy 95%; α, β, γ: thể hiện sự khác biệt theo hàng ở độ tin cậy 95%.

Trong cùng giai đoạn, tỷ lệ sống của phôi có xu hướng giảm theo sự tăng dần của nồng độ As khảo sát. Giai đoạn phôi nang, tỷ lệ sống ở nồng độ từ 20-110 $\mu\text{g/L}$ vẫn đạt 100% như ở lô đối chứng, bắt đầu từ nồng độ 140-230 $\mu\text{g/L}$ so với lô đối chứng giảm nhẹ từ 0,56-1,67% ($p > 0,05$); tỷ lệ sống ở nồng độ 260 $\mu\text{g/L}$ so với nồng độ 0-110 $\mu\text{g/L}$ giảm 4,44% ($p < 0,05$). Giai đoạn phôi vị: tỷ lệ sống của phôi ở lô đối chứng cao nhất (đạt 96,67%), thấp nhất ở nồng độ 260 $\mu\text{g/L}$ (chỉ còn 82,22%), tỷ lệ sống ở nồng độ 20-110 $\mu\text{g/L}$ so với lô đối chứng giảm ngẫu nhiên (giảm động từ 3,34-4,45%) không có sự khác biệt về mặt thống kê ($p > 0,05$); trong khi tỷ lệ sống từ nồng độ 140-260 $\mu\text{g/L}$ so với

lô đối chứng giảm 10,00%-14,45% ($p < 0,05$). Ở ba giai đoạn cuối (phân đốt, hình thành hầu họng và nở), tỷ lệ sống ở nồng độ 20 $\mu\text{g/L}$ và 50 $\mu\text{g/L}$ so với lô đối chứng giảm từ 6,11-7,22% ($p > 0,05$); trong khi tỷ lệ sống từ nồng độ 80-260 $\mu\text{g/L}$ so với lô đối chứng giảm từ 10,00%-22,22% ($p < 0,05$).

Như vậy, trong các nồng độ khảo sát, As đã ảnh hưởng đến tỷ lệ sống của phôi, đạt cao nhất ở lô đối chứng và thấp nhất ở nồng độ 260 $\mu\text{g/L}$, nhưng vẫn chưa gây chết 50%. Nguyên nhân có thể do: các nồng độ As trong nghiên cứu này chưa đủ cao để gây chết trên 50% số lượng phôi, vì vậy, nếu muốn gây chết trên 50% lượng phôi thí nghiệm cần tăng nồng độ As;

phôi cá ngựa vẫn có thời gian phát triển nhanh nên thời gian phơi nhiễm As chưa đủ để tác động rõ lên sự sống của phôi; trong các giai đoạn này phôi được bảo vệ bởi lớp vỏ chorion dày, giúp bảo vệ cấu trúc bên trong phôi đồng thời làm hạn chế sự xâm nhập và gây hại của As (Kimmel et al., 1995; Creton, 2004); nồng độ As gây nhiễm xâm nhập vào phôi chưa đủ lớn để gây ra rối loạn các quá trình chuyển hóa và quá trình hình thành cơ quan bộ phận, nên không gây chết phôi cá với số lượng lớn. Nghiên cứu của Long et al. (2011) cho thấy, trong các giai đoạn phát triển của phôi cá ngựa vẫn có sự hiện diện của gen *abcc2*-có vai trò quan trọng trong việc chống lại sự xâm nhập của ion kim loại nặng. Do đó, nồng độ As trong nghiên cứu này chưa ảnh hưởng đến sức sống của phôi.

Trong cùng một nồng độ, tỷ lệ sống của phôi giảm dần qua các giai đoạn. Điều này phù hợp với quá trình phát triển tự nhiên của phôi cá ngựa vằn. Ở tất cả các nồng độ, tỷ lệ sống tại giai đoạn phôi nang đều giảm ngẫu nhiên không có ý nghĩa về mặt thống kê ($p > 0,05$); giai đoạn phôi vị, phân đốt tỷ lệ phôi sống giảm nhiều và có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$); giai đoạn phân đốt-nở, tỷ lệ sống giảm không có ý nghĩa về mặt thống kê ($p > 0,05$). Cụ thể tại nồng độ 200 $\mu\text{g/L}$, tỷ lệ phôi sống từ giai đoạn phôi nang đến giai đoạn phôi vị giảm 15%, khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Nguyên nhân có thể do ở giai đoạn đầu của chu kỳ phân chia, số lượng tế bào ít, chỉ cần một tế bào tổn thương hay phân chia bất thường cũng làm chết phôi (Kimmel et al., 1995).

Từ giai đoạn phôi vị đến giai đoạn phân đốt, tỷ lệ sống của phôi giảm 6,66% khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê ($p < 0,05$). Theo nghiên cứu của Kimmel et al. (1995), ở cuối giai đoạn phôi vị, bắt đầu sang giai đoạn phân đốt có sự biệt hóa tế bào và hình thành nên một số cơ quan. Do đó, giai đoạn này dễ xảy ra những biến đổi cấu trúc bên trong, đồng thời lúc này As cũng đã xâm nhập vào với một lượng nhất định nên cũng ảnh hưởng đến sự phát triển của phôi.

Từ giai đoạn hình thành hầu họng đến giai đoạn nở, tỷ lệ sống của phôi giảm so với giai

đoạn phân đốt nhưng sự giảm này là ngẫu nhiên không có ý nghĩa về mặt thống kê ($p > 0,05$). Nguyên nhân có thể do ở giai đoạn này các cơ quan dần hình thành khá đầy đủ và hoàn thiện, ổn định về cấu trúc bên trong phôi. Ngoài ra, nhiệt độ tối ưu cho sự sinh trưởng của cá ngựa vằn là 28,5°C (Kimmel et al., 1995), việc quan sát trên kính hiển vi dưới nhiệt độ của đèn có thể đã phần nào tác động trực tiếp lên phôi làm phôi chết.

Kết quả phân tích trên cho thấy, các nồng độ As khảo sát chưa ảnh hưởng nghiêm trọng đến sự sống ở giai đoạn phôi. Điều này phù hợp với nghiên cứu của Li et al. (2009), cho rằng phôi cá ngựa vằn 4 hfp tiếp xúc với các nồng độ natri arsenite (0-10 mM) đến 120 hfp cho thấy, sự sống và sự phát triển giai đoạn sớm của phôi không bị ảnh hưởng rõ rệt khi tiếp xúc tiếp xúc với nồng độ dưới 0,5 mM.

Ảnh hưởng của As lên hoạt động sinh lí của phôi

Ảnh hưởng của As lên nhịp tim

Trong quá trình phát triển của phôi, tim bắt đầu hình thành ở cuối giai đoạn phân đốt còn khó quan sát, đến giai đoạn hình thành hầu họng và nở, sự hoạt động của tim có thể quan sát rõ dưới kính hiển vi (hình 1).

Ảnh hưởng của As lên hoạt động của tim thể hiện rõ ở các giai đoạn phân đốt, hình thành hầu họng và giai đoạn nở. Kết quả cụ thể được thể hiện ở bảng 2.

Bảng 2 cho thấy, ở cả 3 giai đoạn khảo sát, nhịp tim của phôi thay đổi và biến thiên theo sự tăng dần của nồng độ As và cũng tăng dần qua các giai đoạn khảo sát. Ở giai đoạn phân đốt: nhịp tim ở nồng độ 20 $\mu\text{g/L}$ so với lô đối chứng tăng ngẫu nhiên không có sự khác biệt về mặt thống kê ($p > 0,05$); còn ở nồng độ 50-260 $\mu\text{g/L}$ so lô đối chứng tăng lên từ 16,57-45,8 nhịp/phút, có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Ở giai đoạn hình thành hầu họng và nở: nhịp tim ở các nồng độ 20 $\mu\text{g/L}$, 50 $\mu\text{g/L}$ so với lô đối chứng tăng ngẫu nhiên không có ý nghĩa về mặt thống kê ($p > 0,05$). Còn nhịp tim từ nồng độ 80-260 $\mu\text{g/L}$ so với lô đối chứng tăng lên từ 8,24-20,7 nhịp/phút (ở giai đoạn hầu họng) và từ 11,83-40,1 nhịp/phút (ở giai đoạn nở có ý

nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

Như vậy, As đã ảnh hưởng đến hoạt động của tim và gây ra sự rối loạn nhịp tim. Trong phạm vi các nồng độ As khảo sát và thời gian

phơi nhiễm ngắn của giai đoạn phôi, nồng độ càng lớn sẽ làm nhịp tim của phôi càng tăng. Nhịp tim cao nhất ở nồng độ 260 $\mu\text{g/L}$ và thấp nhất ở lô đối chứng.

Bảng 2. Ảnh hưởng của As lên nhịp tim (nhịp/phút) của phôi ở các giai đoạn

Giai đoạn Nồng độ ($\mu\text{g/L}$)	Phân đốt	Hầu họng	Nở
0	86,70 \pm 1,55 ^{a,β}	174,83 \pm 1,49 ^{a,γ}	197,60 \pm 2,20 ^{a,δ}
20	94,47 \pm 1,18 ^{b,β}	177,87 \pm 1,60 ^{ab,γ}	200,73 \pm 2,01 ^{ab,δ}
50	103,27 \pm 1,39 ^{c,β}	179,57 \pm 1,84 ^{abc,γ}	203,3 \pm 1,62 ^{ab,δ}
80	113,80 \pm 1,98 ^{c,β}	183,07 \pm 1,75 ^{bcd,γ}	209,43 \pm 2,30 ^{bc,δ}
110	121,57 \pm 1,50 ^{d,β}	187,07 \pm 2,25 ^{cde,γ}	212,40 \pm 1,74 ^{c,δ}
140	126,37 \pm 1,56 ^{de,β}	189,67 \pm 1,74 ^{def,γ}	214,20 \pm 1,37 ^{cd,δ}
170	129,73 \pm 1,62 ^{e,β}	191,13 \pm 1,74 ^{ef,γ}	217,03 \pm 1,37 ^{cd,δ}
200	130,17 \pm 1,85 ^{e,β}	193,30 \pm 1,75 ^{ef,γ}	223,07 \pm 2,06 ^{de,δ}
230	131,20 \pm 2,10 ^{e,β}	194,37 \pm 1,31 ^{ef,γ}	229,93 \pm 2,89 ^{ef,δ}
260	132,53 \pm 1,83 ^{e,β}	195,53 \pm 1,71 ^{f,γ}	237,73 \pm 1,87 ^{f,δ}

a, b, c, d, e, f: thể hiện sự khác biệt theo cột ở độ tin cậy 95%; β , γ , δ : thể hiện sự khác biệt theo hàng ở độ tin cậy 95%.

Khi xét trong cùng một nồng độ, nhịp tim tăng theo sự gia tăng của các giai đoạn phát triển: nhịp tim ở giai đoạn phân đốt là thấp nhất, kế đến là giai đoạn hầu họng và ở giai đoạn nở có nhịp tim cao nhất ($p < 0,001$). Nguyên nhân có thể là do ở giai đoạn phân đốt, tim mới được hình thành nên nhịp tim còn chậm; phôi ở giai đoạn phân đốt và hầu họng được bảo vệ bởi lớp màng đệm bên ngoài nên giảm đáng kể áp lực nước lên phần cấu trúc phôi bên trong, do đó, cơ không cần hoạt động nhiều để chống lại áp lực nước từ bên ngoài. Đến giai đoạn hình thành hầu họng, màng bao phôi mỏng dần, cơ thể hình thành nên các cơ quan thô sơ. Do đó, hoạt động của cơ thể tăng lên nhưng hoạt động chưa nhiều, các cơ quan vận động ít, kích thước cơ thể nhỏ nên lượng oxy cung cấp cho hoạt động cơ thể không đòi hỏi nhiều, làm tăng hoạt động tuần hoàn. Giai đoạn nở không còn màng đệm bảo vệ, cá bắt đầu hoàn thiện vây ngực, khả năng vận động tăng, làm tăng hoạt động tuần hoàn (Kimmel et al., 1995; Westerfield, 2007).

Ngoài ra, có thể bị stress bởi tác nhân As, nhịp tim cũng tăng lên. Nhịp tim là một thông số đáng tin cậy đã được sử dụng thành công để định lượng stress sinh lí và stress về sự phát triển trong phôi cá ngựa vằn; nhịp tim cá ngựa vằn sẽ càng ngày càng tăng cao cho đến khi van tim cá hoàn thiện sau 50 ngày thụ tinh; đây cũng là một trong những nguyên nhân giải thích nhịp tim càng ngày càng tăng cao qua các giai đoạn ở phôi cá ngựa vằn (Hallare et al., 2005).

Như vậy, trong phạm vi các nồng độ As khảo sát, phôi cá ngựa vằn khi phơi nhiễm trong môi trường có tồn tại kim loại As đã ảnh hưởng nhất định đến hoạt động của tim, cụ thể làm tăng nhịp tim, và ảnh hưởng càng cao khi phôi phát triển đến các giai đoạn về sau.

Ảnh hưởng của As lên hoạt động quấy mình

Sự quấy mình của cá ngựa vằn diễn ra ở giai đoạn phân đốt và hầu họng. Ảnh hưởng của As lên hoạt động quấy mình được thể hiện ở bảng 3.

Bảng 3. Ảnh hưởng của As lên nhịp quấy mình (nhịp/phút) của phôi ở các giai đoạn

Nồng độ ($\mu\text{g/L}$)	Giai đoạn	
	Phân đốt	Hầu hống
0	7,93 \pm 0,26 ^{a,β}	5,50 \pm 0,21 ^{a,δ}
20	7,93 \pm 0,26 ^{a,β}	4,80 \pm 0,28 ^{ab,δ}
50	6,50 \pm 0,29 ^{bc,β}	4,4 \pm 0,29 ^{abc,δ}
80	6,00 \pm 0,27 ^{bcd,β}	4,00 \pm 0,33 ^{bcd,δ}
110	5,70 \pm 0,31 ^{cd,β}	3,73 \pm 0,31 ^{bcd,δ}
140	5,53 \pm 0,35 ^{cde,β}	3,43 \pm 0,24 ^{cde,δ}
170	5,20 \pm 0,24 ^{cde,β}	3,23 \pm 0,32 ^{cde,δ}
200	4,77 \pm 0,28 ^{def,β}	3,00 \pm 0,29 ^{de,δ}
230	4,33 \pm 0,28 ^{ef,β}	2,73 \pm 0,24 ^{e,δ}
260	3,57 \pm 0,36 ^{f,β}	2,53 \pm 0,21 ^{e,δ}

a, b, c, d, e, f: thể hiện sự khác biệt nhau theo cột ở độ tin cậy 95%; β , δ : thể hiện sự khác biệt nhau theo hàng ở độ tin cậy 95%.

Bảng 3 cho thấy, ở cả 2 giai đoạn khảo sát, số lần quấy mình của phôi thay đổi theo chiều hướng giảm dần theo sự tăng dần của nồng độ As. Ở giai đoạn phân đốt, sự giảm số lần quấy mình theo sự tăng dần nồng độ không có sự khác biệt về mặt thống kê giữa hai nồng độ kế cận nhau ($p > 0,05$). Số lần quấy mình ở nồng độ 20 $\mu\text{g/L}$ so với lô đối chứng giảm ngẫu nhiên không có ý nghĩa về mặt thống kê ($p > 0,05$); số lần quấy mình từ nồng độ 50-260 $\mu\text{g/L}$ so với lô đối chứng giảm giao động từ 1,43-4,36 lần có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Ở giai đoạn hầu hống, số lần quấy mình giảm so với giai đoạn phân đốt. Tương tự như ở giai đoạn phân đốt, số lần quấy mình giảm xuống khi được phơi nhiễm với nồng độ As càng cao và sự giảm này không có sự khác biệt về mặt thống kê giữa hai nồng độ kế cận nhau ($p > 0,05$). Số lần quấy mình ở nồng độ 20 $\mu\text{g/L}$ và 50 $\mu\text{g/L}$ so với lô đối chứng giảm ngẫu nhiên không có ý nghĩa về mặt thống kê ($p > 0,05$); từ nồng độ 80-260 $\mu\text{g/L}$ so với lô đối chứng giảm từ 1,5-2,97 nhịp, có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

Khi xét theo các giai đoạn khác nhau trong cùng một nồng độ khảo sát, kết quả thống kê cho thấy, số lần quấy mình giảm theo sự phát triển của phôi có ý nghĩa thống kê cao ($p < 0,01$). Như vậy, As đã ảnh hưởng đến hoạt động của phôi và làm giảm số lần quấy mình khi nồng độ ngày càng tăng, giai đoạn hầu hống

giảm so với giai đoạn phân đốt. Điều này có thể được giải thích như sau: từ giai đoạn phân đốt phôi đã có thể quấy mình hoạt động, sang giai đoạn hầu hống kích thước phôi lớn nên lúc này phôi vận động khó hơn, khi phát triển đến một kích thước mà lớp vỏ phôi không thể giãn ra thì phôi không thể cử động và lúc này đến giai đoạn nở, phôi thoát ra ngoài. Ở giai đoạn hầu hống màng phôi mỏng dần nên As dễ dàng xâm nhập vào nhiều hơn (Kimmel et al., 1995; Westerfield, 2007).

Như vậy, As đã gây ảnh hưởng lên phôi từ đó tác động đến hoạt động của hệ cơ. Kết quả dẫn đến nồng độ As tích lũy càng cao càng làm giảm hoạt động quấy mình.

Ảnh hưởng của As lên hoạt động nở của phôi

Cuối giai đoạn hầu hống và đầu giai đoạn nở, phôi cá bắt đầu có sự phá vỡ lớp vỏ phôi bên ngoài để thoát ra ngoài môi trường nước. Lúc này chúng không còn được bảo vệ bởi lớp phôi. Quá trình nở không diễn ra cùng một lúc mà theo những thời điểm khác nhau. Kết quả thể hiện ở bảng 4.

Bảng 4 cho thấy, tỷ lệ nở trung bình của phôi ở lô đối chứng và các lô thí nghiệm có sự thay đổi đáng kể. Tỷ lệ nở của phôi tăng dần theo thời gian, điều này hoàn toàn phù hợp với chu kì phát triển tự nhiên của phôi cá (phôi nở trong khoảng thời gian 48-72 hpf) (Westerfield,

2007). Tuy nhiên, ảnh hưởng của As làm giảm tỷ lệ nở của phôi trong cùng một thời điểm, khi phôi được gây nhiễm với nồng độ càng cao, tỷ lệ nở của chúng càng giảm xuống. Tại thời điểm 48 hpf: tỷ lệ nở ở nồng độ 20-140 $\mu\text{g/L}$ so với lô đối chứng giảm ngẫu nhiên không có sự khác biệt về mặt thống kê ($p > 0,05$); còn tỷ lệ nở từ nồng độ 170-260 $\mu\text{g/L}$ so với lô đối chứng giảm từ 13,52%-17,97%, có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Tại thời điểm 56 hpf: tỷ lệ nở từ nồng độ 20-200 $\mu\text{g/L}$ so với lô đối chứng giảm ngẫu nhiên không có sự khác biệt về mặt thống kê ($p > 0,05$); còn tỷ lệ nở ở nồng độ 230, 260 $\mu\text{g/L}$

so với lô đối chứng giảm 17,05%-24,84% có ý nghĩa về mặt thống kê ($p < 0,05$). Tại thời điểm 64 hpf: tỷ lệ nở ở nồng độ 20, 50 $\mu\text{g/L}$ so với lô đối chứng giảm ngẫu nhiên không có sự khác biệt về mặt thống kê ($p > 0,05$); còn tỷ lệ sống ở nồng độ 80-260 $\mu\text{g/L}$ so với lô đối chứng giảm 13,64%-28,32% có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Tại thời điểm 72 hpf: tỷ lệ nở ở nồng độ 20-80 $\mu\text{g/L}$ so với lô đối chứng giảm ngẫu nhiên không có sự khác biệt về mặt thống kê ($p > 0,05$); còn tỷ lệ nở ở nồng độ 110-260 $\mu\text{g/L}$ so với lô đối chứng giảm 8,89%-21,08% có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

Bảng 4. Ảnh hưởng của As lên tỷ lệ (%) nở của phôi qua các mốc thời gian

Nồng độ ($\mu\text{g/L}$)	Mốc thời gian			
	48 hpf	56 hpf	64 hpf	72 hpf
0	22,73 \pm 4,47 ^a	53,41 \pm 5,32 ^a	88,64 \pm 3,38 ^a	98,86 \pm 1,13 ^a
20	18,82 \pm 4,24 ^{ab}	51,76 \pm 5,42 ^{ab}	82,35 \pm 4,13 ^{ab}	97,65 \pm 1,64 ^a
50	16,67 \pm 4,07 ^{abc}	48,81 \pm 5,45 ^{ab}	77,38 \pm 4,56 ^{abc}	95,24 \pm 2,32 ^{ab}
80	15,00 \pm 3,99 ^{abcd}	48,75 \pm 5,5 ^{ab}	75,00 \pm 4,84 ^{bcd}	93,75 \pm 2,71 ^{ab}
110	12,66 \pm 3,74 ^{abcd}	46,84 \pm 5,61 ^{ab}	72,15 \pm 5,04 ^{bcd}	89,87 \pm 3,39 ^{bc}
140	11,84 \pm 3,71 ^{abcd}	42,11 \pm 5,66 ^{abc}	71,05 \pm 5,20 ^{bcd}	88,16 \pm 3,7 ^{bc}
170	9,21 \pm 3,32 ^{bcd}	40,79 \pm 5,64 ^{abc}	68,42 \pm 5,33 ^{cd}	81,58 \pm 4,45 ^c
200	6,96 \pm 3,00 ^{cd}	40,28 \pm 5,78 ^{abc}	66,67 \pm 5,56 ^{cd}	79,17 \pm 4,79 ^c
230	6,06 \pm 2,94 ^{cd}	36,36 \pm 5,92 ^{bc}	62,12 \pm 5,97 ^{cd}	78,79 \pm 5,03 ^c
260	4,76 \pm 2,68 ^d	28,57 \pm 5,69 ^c	60,32 \pm 6,16 ^d	77,78 \pm 5,24 ^c

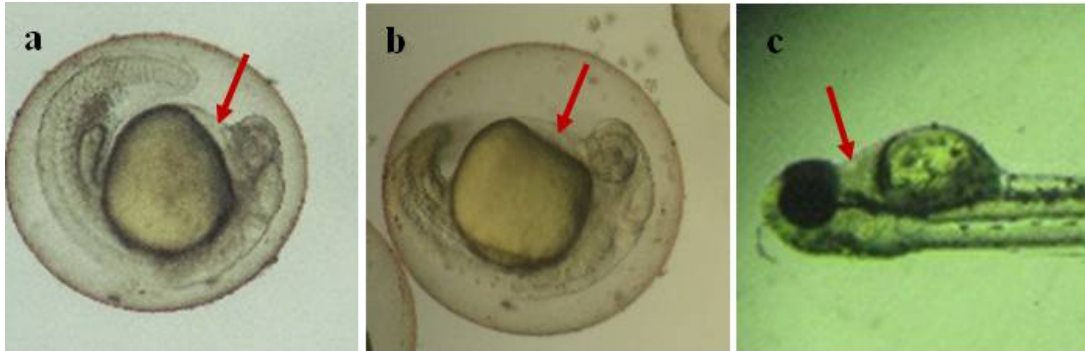
a, b, c, d: thể hiện sự khác biệt nhau theo cột ở độ tin cậy 95%; hpf: hour post fertilization (thời gian sau thụ tinh).

Như vậy, As đã ảnh hưởng đến tỷ lệ nở của phôi. Với lượng tích tụ As càng lớn, tỷ lệ nở của phôi càng giảm. Nguyên nhân có thể là do: (1) As khi tích lũy bên trong phôi làm giảm hoạt động quấy mình, từ đó làm giảm những tác động từ bên trong phôi, kết quả làm giảm tốc độ và tỷ lệ nở của phôi; (2) Phôi cá ngựa vằn khi bị phơi nhiễm As gây ra dị dạng các cơ quan và sự biểu hiện sai lệch các gen có liên quan đến điều hòa quá trình phát triển. Mặt khác, qua quan sát hình thái, chúng tôi ghi nhận thấy cá bị các dị tật như cong vẹo cột sống, cong đuôi, cơ thể ngấn lại khi bị phơi nhiễm ở các nồng độ As khảo sát (hình 2). Nguyên nhân do trong quá trình phát triển đến giai đoạn nở, phôi cá ngựa vằn đã tiết ra enzyme để phá vỡ lớp màng đệm

(chorion) của phôi. Lúc này, lớp màng đệm của phôi liên kết với các mucopolysaccharide trên màng phôi để tăng sự bền vững, từ đó làm chậm quá trình nở. Nếu phôi cá nằm quá lâu trong lớp vỏ sẽ làm dị tật cong vẹo cột sống ở các giai đoạn sau hay chết trong lớp vỏ phôi (Kimmel et al., 1995; Inohaya et al., 1997; Westerfield, 2007; Wei, 2009). Đây cũng là một trong những lí do làm tăng tỷ lệ chết trong giai đoạn này.

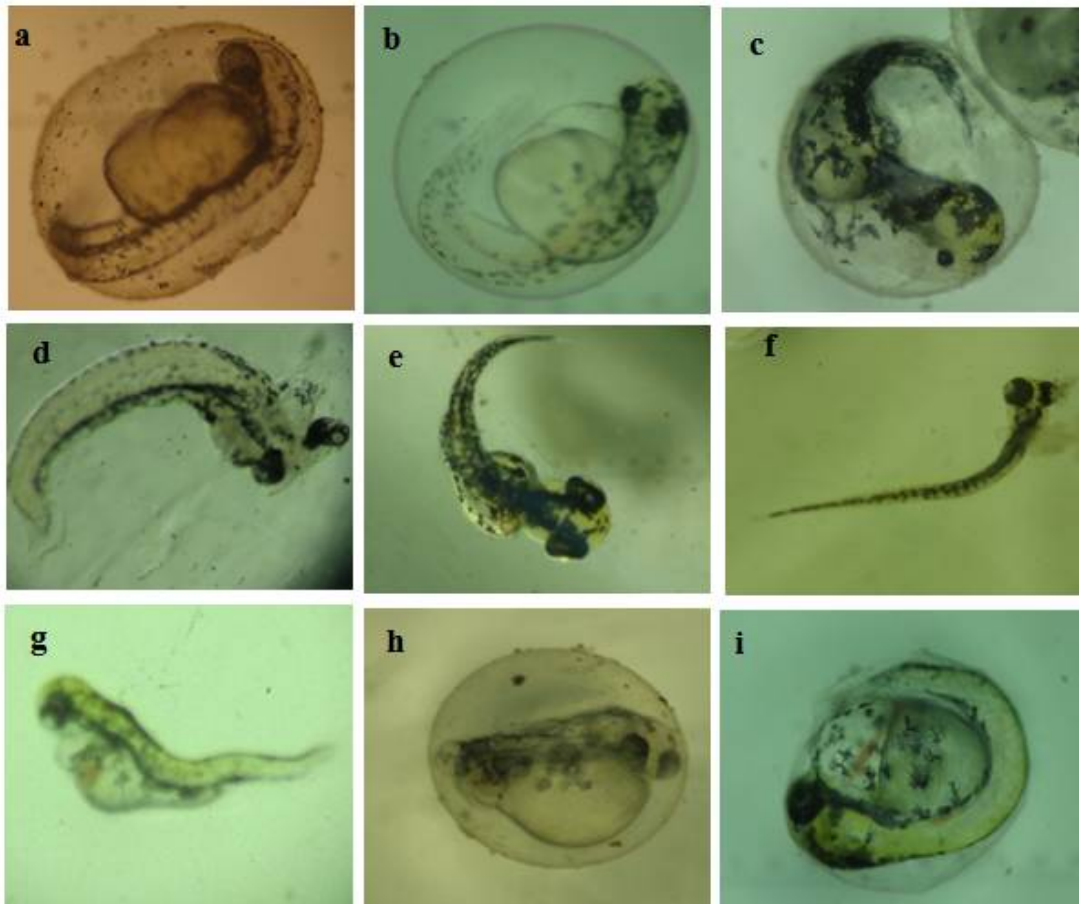
Hiện nay trên thế giới và Việt Nam, đã có nhiều công trình nghiên cứu về sự phát triển của cá ngựa vằn và những ảnh hưởng của độc chất lên sự phát triển của chúng. Tuy nhiên, chưa có công trình nào nghiên cứu về ảnh hưởng của As lên sự sống và các hoạt động sinh lí của phôi cá ngựa vằn trong các giai đoạn phát triển của phôi

một cách tổng thể. Đây là nghiên cứu cơ bản đầu tiên để làm tiền đề cho nghiên cứu tiếp theo về sự tác động của kim loại nặng trên cá ngựa vằn.



Hình 1. Tim ở các giai đoạn của phôi (X20)

a. Giai đoạn phân đốt; b. Giai đoạn hầu họng; c. Giai đoạn nở (mũi tên chỉ vị trí của tim)



Hình 2. Một số dị tật ở giai đoạn phôi (X20)

a, b, c: Phù tim, phù bụng, cơ thể ngắn; d, e, f, g: Vẹo cột sống; h, i-không nở.

KẾT LUẬN

As làm giảm tỷ lệ sống của phôi cá ngựa vằn, *Danio rerio*, qua các giai đoạn phát triển theo thứ tự tăng dần các nồng độ khảo sát.

As ở các nồng độ khảo sát đã tích tụ lại trong bên trong cấu trúc của phôi và gây ra những ảnh hưởng nhất định lên hoạt động sinh lí: nhịp tim tăng theo thứ tự các nồng độ khảo sát; tần số quẫy mình của mỗi giai đoạn giảm theo chiều tăng dần nồng độ khảo sát; làm chậm và làm giảm tỷ lệ nở của phôi. Ở nồng độ cao, phôi xuất hiện một số dị tật như cong vẹo cột sống, phù bụng, phù tim.

Lời cảm ơn: Nhóm tác giả xin chân thành cảm ơn đến Ban chủ nhiệm Khoa Sinh học, các cán bộ ở phòng thí nghiệm Giải phẫu-Sinh lí người và động vật thuộc Trường Đại học Sư phạm Tp. HCM đã tạo mọi điều kiện thực hiện công trình này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Lê Huy Bá, 2006. Độc học môi trường cơ bản. Chương 1, tập 1. Nxb. Đại học Quốc gia Tp. Hồ Chí Minh.
- Bộ Tài nguyên và Môi trường, 2015. Quy chuẩn kỹ thuật Quốc gia về chất lượng nước mặt. QCVN 08-MT: 2015/BTNMT, Hà Nội. Nxb. Lao động.
- Creton R., 2004. The calcium pump of the endoplasmic reticulum plays a role in midline signaling during early zebrafish development. *Brain Res Dev Brain Res*, 151, 33-41. DOI: 10.1016/j.devbrainres.2004.03.016
- Trần Thị Phương Dung, Nguyễn Hiếu, Nguyễn Thị Thương Huyền, 2014. Đánh giá tác động của Chi lên quá trình phát triển phôi cá Ngựa vằn, *Danio rerio* (Hamilton, 1822). *Tạp chí Đại học Sư phạm Tp. HCM*, 61(95): 122-131.
- Hallare A. V., Schirling M., Luckenbach T., Kohler H. -R., Triebkorn R., 2005. Combined effects of temperature and cadmium on developmental parameters and biomarker responses in zebrafish (*Danio rerio*) embryos. *Journal of Thermal Biology*, 30: 7-17. DOI: 10.1016/j.jtherbio.2004.06.002
- Heck J. E., Andrew A. S., Onega T., Rigas J. R., Jackson B. P., Karagas M. R., Duell E. J., 2009. Lung cancer in a U.S. population with low to moderate arsenic exposure. *Environ Health Perspect*, 117: 1718-1723. DOI: 10.1289/ehp.0900566.
- Nguyễn Việt Hùng, 2011. Ô nhiễm asen trong nước giếng khoan dùng cho ăn uống và nguy cơ sức khỏe của người dân xã Chuyên Ngoại, Duy Tiên, Hà Nam Đề tài cấp cơ sở, Trung tâm nghiên cứu Y tế công cộng và sinh thái.
- Nguyễn Thị Thương Huyền, Phan Thanh Huy, Trần Anh Huy, Nguyễn Thị Thu Giang, Lê Thành Long, Nguyễn Tường Anh, 2012. Đánh giá tác động của Cadmium lên quá trình phát triển phôi cá Ngựa vằn (*Danio rerio*). *Tạp chí Đại học Sư phạm Tp. HCM*, 40(74): 123-131.
- Inohaya K., Yasumasu S., Araki K., Naruse K., Yamazaki K., Yasumasu I., Iuchi I., Yamagami K., 1997. Species-dependent migration of fish hatching gland cells that express astacin-like proteases in common. *Dev Growth Differ*, 39(2), 191-197. DOI: 10.1046/j.1440-169X.1997.t01-1-00007.x
- Kapaj S., Peterson H., Liber K., Bhattacharya P., 2006. Human health effects from chronic arsenic poisoning-a review. *J Environ Sci Health A Tox Hazard Subst Environ Eng*, 41, 2399-2428. DOI: 10.1080/10934520600873571.
- Nguyễn Mạnh Khải, Nguyễn Xuân Huân, Lê Thị Ngọc Anh, 2010. Nghiên cứu xử lý Asen trong nước ngầm ở một số vùng nông thôn bằng hydroxit sắt (III). *Tạp chí Khoa học ĐHQGHN, Khoa học Tự nhiên và Công nghệ*, 26: 165-171.
- Kimmel C. B., Ballard W. W., Kimmel S. R., Ullmann B., Schilling T. F., 1995. Stages of embryonic development of the zebrafish. *Dev Dyn*, 203: 253-310. DOI: 10.1002/aja.1002030302.
- Lamason R. L., Mohideen M. A., Mest J. R.,

- Wong A. C., Norton H. L., Aros M. C., Jurynech M. J., Mao X., Humphreville V. R., Humbert J. E., Sinha S., Moore J. L., Jagadeeswaran P., Zhao W., Ning G., Makalowska I., McKeigue P. M., O'Donnell D., Kittles R., Parra E. J., Mangini N. J., Grunwald D. J., Shriver M. D., Canfield V. A., Cheng K. C., 2005. SLC24A5, a putative cation exchanger, affects pigmentation in zebrafish and humans. *Science*, 310(5755): 1782-1786. DOI: 10.1126/science.1116238.
- Lawrence C., 2007. The husbandry of zebrafish (*Danio rerio*): A review. *Aquaculture*, 269: 1-20. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2007.04.077.
- Li D., Lu C., Wang J., Hu W., Cao Z., Sun D., Xia H., Ma X., 2009. Developmental mechanisms of arsenite toxicity in zebrafish (*Danio rerio*) embryos. *Aquat Toxicol*, 91: 229-237. DOI: 10.1016/j.aquatox.2008.11.007
- Long Y., L. Q., Zhong S., Wang Y., Cui Z., 2011. Molecular characterization and functions of zebrafish ABCC2 in cellular efflux of heavy metals. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol*, 153(4): 381-91. DOI: 10.1016/j.cbpc.2011.01.002
- McCollum C. W., Hans C., Shah S., Merchant F. A., Gustafsson J. A., Bondesson M., 2014. Embryonic exposure to sodium arsenite perturbs vascular development in zebrafish. *Aquat Toxicol*, 152(2014): 152-163. DOI: 10.1016/j.aquatox.2014.04.006.
- Moon K. A., Guallar E., Umans J. G., Devereux R. B., Best L. G., Francesconi K. A., Goessler W., Pollak J., Silbergeld E. K., Howard B. V., Navas-Acien A., 2013. Association between exposure to low to moderate arsenic levels and incident cardiovascular disease. A prospective cohort study. *Ann Intern Med*, 159(10): 649-659. DOI: 10.7326/0003-4819-159-10-201311190-00719.
- Quaife N. M., Watson O., Chico T. J., 2012. Zebrafish: an emerging model of vascular development and remodelling. *Curr Opin Pharmacol*, 12: 608-614. DOI: 10.1016/j.coph.2012.06.009
- Wei B. Z. Z., Wenjing T., Xiao H., Yuhui M., Yuliang Z., Zhifang C., 2009. Toxicity of zinc oxide nanoparticles to zebrafish embryo: a physicochemical study of toxicity mechanism. *Nanopart Res*, 12(5): 1645-1654. DOI: 10.1007/s11051-009-9740-9.
- Westerfield M., 2007. Chapter 2, 3, 10: Recipes. In M. Westerfield (Ed.), *The zebrafish book: A guide for the laboratory use of zebrafish (*Danio rerio*)*, 4th ed. University of Oregon Press, Eugene.

EVALUATION OF THE INFLUENCE OF ARSENIC ON EMBRYONIC DEVELOPMENT OF ZEBRAFISH (*Danio rerio*)

Nguyen Thi Thuong Huyen^{1*}, Tran Thi Truc Dao², Hoang Nghia Son³

¹Ho Chi Minh city University of Education

²Ernst Thälmann high school

³Institute of Tropical Biology, VAST

SUMMARY

Arsenic is one of heavy metal elements which is dangerous to human and aquatic animals. Accumulating in the body, arsenic causes serious damage to organ systems such as the nervous system, circulatory system, digestive system, reproductive system, ect and even cancer, skin cancer is the most common type. This study aims to evaluate the influences of Arsenic (As) concentrations on different stages in embryonic development

of zebrafish (*Danio rerio*): blastura, gastrula, segmentation, pharyngula and hatching. After mating, embryos were exposed to As in the examined concentrations: 0, 20, 50, 80, 110, 140, 170, 200, 230, 260 µg/L in the Hank's embryonic medium. It was observed that the survival rate of embryonic zebrafish decreased gradually corresponding to the increasing the concentration of As and the development stages of the embryo. However, examined concentrations of As in this study did not reach the threshold lethal concentration (LC₅₀) of embryos. With the increasing of examined As concentrations, the heartbeat increased linearly, the body turning beat of each stage decreased linearly. The highest heartbeat was 237.73±1.87 beat/min in 260 µg/L concentration while it was 197.60±2.20 beat/min in the control group ($p < 0.05$) in the hatching stage. The lowest body turning was 2.53 beat/min while it was 5.50 beat/min ($p < 0.05$) in the control group in the pharyngula stage. Moreover, the As prolonged the hatching duration and reduced the hatching rate of embryonic zebrafish, after 72 hour fertilization, the hatching rate was 77.78% in 260 µg/L concentration while it was 98.86% in the control group ($p < 0.05$).

Keywords: Aarsenic, zebrafish, embryonic zebrafish, heartbeat, body turning beat.

Citation: Nguyen Thi Thuong Huyen, Tran Thi Truc Dao, Hoang Nghia Son, 2018. Evaluation of the influence of arsenic on embryonic development of zebrafish (*Danio rerio*). Tap chi Sinh hoc, 40(1): 51-61. DOI: 10.15625/0866-7160/v40n1.9818.

**Corresponding author:* huyenntth@hcmup.edu.vn

Received 16 May 2017, accepted 20 December 2017