

ĐỘC TÍNH TRẦM TÍCH KẾT HỢP KIM LOẠI (Cu^{2+} , Pb^{2+}) LÊN PHÔI, ẤU TRÙNG HÀU *CRASSOSTREA GIGAS*: TRẦM TÍCH TẠI CỬA SÔNG SOÀI RẠP, SÔNG SÀI GÒN – ĐỒNG NAI

NGUYỄN VĂN PHƯƠNG¹, NGUYỄN XUÂN TÙNG¹, MAI HƯƠNG², NGUYỄN THỊ HUỆ³

¹ Viện Khoa học Công nghệ và Quản lý Môi trường, Trường Đại học Công nghiệp Thành phố Hồ Chí Minh

² Trường Đại học Khoa học và Công nghệ Hà Nội, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

³ Viện Công nghệ Môi trường, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

* Tác giả liên hệ: nvphccb@gmail.com

DOIs: <https://doi.org/10.46242/jstih.v59i05.4604>

Tóm tắt. Kim loại nặng trong trầm tích tác động bất lợi cho sinh vật đáy. Những tác động đó hiếm khi có thể được dự đoán từ tổng nồng độ kim loại do ảnh hưởng của các dạng tồn tại trong trầm tích là khác nhau. Để đánh giá bất lợi tiềm ẩn do chất ô nhiễm Cu, Pb trong trầm tích, mô hình thử nghiệm độc tính dung dịch lắng trầm tích bổ sung (Cu^{2+} , Pb^{2+}) lên phôi, ấu trùng hàu *Crassostrea gigas* đã được thực hiện. Mô hình được thực hiện theo 3 giai đoạn: (i) Điều chế mẫu trầm tích được thêm chuẩn (Cu^{2+} , Pb^{2+}); (ii) Điều chế các dung dịch lắng từ các mẫu trầm tích đã thêm chuẩn (Cu^{2+} , Pb^{2+}) và (iii) Thử nghiệm độc tính phôi, ấu trùng *Crassostrea gigas* bằng dung dịch lắng. Các thông số như tỉ lệ thụ tinh, tỉ lệ bất thường của phôi, ấu trùng và EC_{50} được xác định. Kết quả cho thấy độc chất khi tiếp xúc với tinh trùng, trứng, cả tinh trùng và trứng cho EC_{50} là 0,024; 0,063; 0,034mg/L đối với Cu và 4,7; 14,0, 5,5 mg/L đối với Pb; Tỉ lệ ấu trùng không phát triển sau 24 giờ cho EC_{50} là 0,015 mg/L cho Cu và 2,88 mg/L cho Pb. Kết quả cho thấy độc tính Cu cao hơn Pb và trứng ít nhạy cảm hơn so với tinh trùng. Kết quả nghiên cứu có thể sử dụng để dự báo mức độ nhạy cảm của Cu, Pb trong trầm tích vùng cửa sông Soài Rạp lên phôi, ấu trùng hàu *Crassostrea gigas*.
Từ khóa: *Crassostrea gigas*, Cu và Pb, độc tính, Sài Gòn – Đồng Nai, trầm tích.

1. GIỚI THIỆU

Cửa sông Soài Rạp thuộc hệ thống sông Sài Gòn - Đồng Nai đang chịu nhiều tác động của các hoạt động công nghiệp, đô thị hóa dẫn đến khả năng ô nhiễm cao, trong đó Cu, Pb là đáng quan ngại [1]. Đồng là một nguyên tố vi lượng cần thiết ở mức độ rất nhỏ cho các chức năng sinh học của các sinh vật [2]. Tuy nhiên, dư thừa đồng gây trở ngại với các chức năng sinh học quan trọng và tác động lên sự phát triển của phôi, khả năng thụ tinh của trứng và tinh trùng [3]. Chì là một kim loại nặng cực kỳ độc hại làm xáo trộn các quá trình sinh lý khác nhau và không giống như các kim loại khác, chẳng hạn như kẽm, đồng và mangan, vì nó có thể gây độc hại ở nồng độ rất thấp [4]. Tuy nhiên, sẽ rất khó khăn để có thể được dự đoán tác động tiềm ẩn từ tổng nồng độ kim loại vì nó bị ảnh hưởng bởi các dạng tồn tại của kim loại trong trầm tích cũng như hóa sinh, sinh lý và hành vi của sinh vật đáy [5].

Các thử nghiệm về độc tính các chất gây ô nhiễm kim loại trong trầm tích đã được sử dụng để đánh giá các rủi ro về môi trường. Thử nghiệm độc chất sử dụng dung dịch lắng trầm tích kết hợp kim loại nặng đã được thực hiện để minh chứng các tác động của chúng lên sinh vật đáy [6, 7]. Giai đoạn đầu đời (sự thụ tinh của trứng, tinh trùng và sự phát triển của ấu trùng) của động vật không xương nhạy cảm cao với các tác nhân ô nhiễm so với giai đoạn trưởng thành và do đó giai đoạn này thường được dùng để thử nghiệm đánh giá độc tính sinh học, trong đó, hàu *Crassostrea gigas* được công nhận là nhạy cảm [8, 9]. Nhiều thử nghiệm độc tính đã được thực hiện khi dung dịch lắng của trầm tích tiếp xúc phôi, ấu trùng hàu [6].

Dung dịch lắng được thu từ mẫu trầm tích bổ sung chuẩn được ngâm chiết với dung dịch lỏng theo một tỉ lệ, được làm đồng nhất, để lắng, dung dịch nằm trên được sử dụng trong thí nghiệm độc tính [10]. Một loạt mẫu dung dịch lắng với khoảng nồng độ chất ô nhiễm bổ sung với trầm tích sẽ được thử nghiệm, kết quả thử nghiệm là các thông số LC_{50} ; EC_{50} của hóa chất chuẩn bổ sung vào trầm tích được xác định. Đối với các thí nghiệm độc tính cho sinh vật 2 mảnh vỏ vùng cửa sông, dung dịch lỏng được thay bằng nước muối biển/trầm tích tỉ lệ là 4:1, thời gian cân bằng 12 giờ [11]. Mẫu trầm tích bổ sung chuẩn có thể được bổ sung một hoặc nhiều chất gây ô nhiễm cần quan tâm để tạo ra các kịch bản liên quan. Các đặc tính hấp phụ của trầm tích phải được khảo sát trước khi thực hiện điều chế trầm tích bổ sung chuẩn sao cho mẫu trầm tích

có các đặc tính trầm tích giống với trầm tích bị ô nhiễm tự nhiên [12]. Các đặc tính hấp phụ của trầm tích như thời gian để đạt cân bằng hấp phụ, nồng độ kim loại tối đa sử dụng để kết hợp, phải được biết, trước khi thực hiện công đoạn chuẩn bị mẫu trầm tích bổ sung kim loại nặng cho thử nghiệm độc tính.

Ô nhiễm kim loại nặng trong trầm tích có khả năng ảnh hưởng đến hệ sinh vật do tính độc và hành vi của chúng [13], trong đó, hàu *Crassostrea gigas* đang được nuôi phổ biến vùng cửa sông Soài Rạp và có tầm quan trọng về kinh tế vùng. Giao tử hàu được giải phóng trực tiếp vào nước biển và tiếp xúc với tất cả các chất ô nhiễm môi trường trong quá trình sinh sản, điều này tạo ra khả năng làm gián đoạn quá trình thụ tinh. Tuy nhiên, các nghiên cứu về ảnh hưởng chất ô nhiễm (Cu, Pb), cụ thể trong trầm tích lên quá trình thụ tinh và phát triển hàu *Crassostrea gigas* còn rất thiếu thông tin. Do đó, nghiên cứu thử nghiệm độc tính dung dịch lắng của trầm tích bổ sung chuẩn (Cu^{2+} , Pb^{2+}) lên phôi, ấu trùng hàu *Crassostrea gigas* vùng cửa sông Soài Rạp đã được thực hiện.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Phương pháp thu mẫu hiện trường

2.1.1 Phương pháp thu mẫu

Mẫu trầm tích tham chiếu sử dụng trong nghiên cứu dựa trên hướng dẫn của Fathallah, mẫu ở vị trí ít hay không ô nhiễm Cu, Pb [6]. Sau khi khảo sát sơ bộ, mẫu trầm tích được lấy ở một bãi bồi vùng cửa sông Soài Rạp có tọa độ ($10^{\circ}24'58.46''\text{N}$, $106^{\circ}48'30.871''\text{E}$) là nơi có mức ô nhiễm Cu, Pb thấp dựa vào kết quả nghiên cứu trước đó [1]. Mẫu trầm tích được lấy tại vị trí cách mép bờ khoảng 15 – 25 m, với chiều sâu lấy mẫu từ 0 – 10 cm [14]. Dụng cụ lấy bằng nhựa, với lượng mẫu cần lấy là 20 lít/mẫu. Mẫu trầm tích sau khi lấy được cho qua sàng bằng nhựa có kích cỡ 1 mm (press seiveing). Mẫu được làm cho đồng nhất và sau đó được bảo quản riêng cho từng mục đích của nghiên cứu. Mẫu sau xử lý được bảo quản trong túi polyetylen (PE) kín và tránh ánh sáng. Sau đó được bảo quản lạnh 4°C và vận chuyển nhanh về phòng thí nghiệm cho phân tích và sử dụng cho các thí nghiệm tiếp theo [6].

2.1.2 Phương pháp phân tích

Xác định độ âm của trầm tích theo phương pháp ASTM D 2216, pH của nước nằm ở trên theo ASTM D1293, độ mặn theo TCVN 6194 : 1996, TOC theo Walkley Black TCVN 8941-2011.

Mẫu trầm tích được phân hủy theo hướng dẫn TCVN 6649-2000, cân 1-2 gam mẫu đại diện (trọng lượng ướt) được phá hủy bằng HNO_3 và H_2O_2 . Lọc và định mức thành 100 mL bằng HNO_3 5% và bảo quản trong tủ lạnh đến khi phân tích. Phân tích Cu, Pb bằng ICP-OES theo TCVN 6665-2011.

2.1.3 Hóa chất, dụng cụ

Các hóa chất sử dụng trong thí nghiệm là $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$, NaOH, HNO_3 loại tinh khiết phân tích của Merck. Nồng độ dung dịch lưu trữ là 1000mg/L cho Cu^{2+} và 10g/L cho Pb^{2+} . Các dụng cụ phải được làm sạch trước khi sử dụng bằng HNO_3 1M ít nhất 24 giờ và sau đó xả sạch bằng nước khử khoáng. Điều chế nước biển nhân tạo theo Dana R. Kester để có độ mặn 35 ± 2 ‰, pha trước ít nhất 24 giờ khi sử dụng và sục khí liên tục khi chuẩn bị và sử dụng [15]. Yêu cầu môi trường nước biển cho thí nghiệm độc tính phôi ấu trùng hàu là độ mặn của nước muối từ 28-36 ‰, độ pH từ 6,0 đến 8,5 hàm lượng oxy hoà tan khi bắt đầu thử nghiệm phải lớn hơn $6\text{mgO}_2/\text{L}$ [16]

2.2 Bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm được mô phỏng theo ASTM D 4646 – 16 [17, 18].

2.2.1 Chuẩn bị trầm tích bổ sung chuẩn (Cu^{2+} , Pb^{2+}) và dung dịch lắng

Trầm tích tươi được rửa bằng nước muối nhân tạo 3 lần, lắng gạn [19, 18]. Mẫu sau rửa có thể sử dụng để tiến hành kết hợp Cu^{2+} , Pb^{2+} . Quy trình chuẩn bị mẫu trầm tích hấp phụ chuẩn Cu, Pb và dung dịch lắng được tiến hành theo mô tả chi tiết trong nghiên cứu trước đó [20]. Cụ thể, 15,0 g trầm tích (đã qui đổi về cân khô) cho vào bình tam giác 250 mL, được cân bằng với 150 mL dung dịch Cu^{2+} (hay Pb^{2+}) ở các nồng độ từ 0,0 đến 80,7 mg/L (hay 0,0 đến 5000 mg/L cho Pb^{2+}). Các bình hình nón được lắc bằng máy lắc GFL3015 ở khoảng 150 vòng / phút, ở nhiệt độ phòng (27°C) trong 24 giờ, đây là thời gian quá đủ để đạt đến trạng thái cân bằng ở nhiệt độ phòng dựa trên các thí nghiệm sơ bộ. pH được điều chỉnh về $7,0 \pm 0,3$ và giữ không điều chỉnh trong quá trình thí nghiệm. Sau kết thúc, lắng 15 phút, gạn và ly tâm (máy ly tâm DLAB DM0636) ở tốc độ 1200 vòng / phút trong 15 phút [21] và nước ở trên trầm tích được tách ra (axit hóa pH < 2) đưa đi phân tích Cu^{2+} (hay Pb^{2+}) bằng ICP – OES và trầm tích được gạn, chuẩn bị dung dịch lắng.

ĐỘC TÍNH TRÂM TÍCH KẾT HỢP...

Dung dịch lắng điều chế từ trầm tích ở thí nghiệm trên đã được lắng (máy lắng GFL3015, 150 vòng/phút) trong nước muối nhân tạo trong bình nón thủy tinh với tỷ lệ 1:4 (trầm tích/nước) trong 12 giờ, ở nhiệt độ phòng (27°C), thời gian đủ để quá trình đạt cân bằng theo các thí nghiệm sơ bộ. Sau kết thúc, lắng 15 phút, gạn. Các mẫu chất lỏng được lấy để phân tích Cu (hay Pb), phần lớn dung dịch lắng còn lại dùng cho thử nghiệm độc tính trong vòng 24 giờ.

2.2.2 Chuẩn bị sinh vật thử nghiệm

– Chuẩn bị phôi

Hầu bố mẹ thu mua từ các trại nuôi hầu vùng vịnh Gành Rái, Vũng Tàu. Tất cả hầu sử dụng trong khoảng 3 ngày [22]. Sử dụng phương pháp tước để lấy trứng và tinh trùng hầu bố mẹ. Dùng tay mở vỏ hầu tách hai vỏ ra bên ngoài, sau khi đã mở nắp vỏ hầu bố mẹ, dùng ống nhỏ giọt sạch hút một mẫu nhỏ từ tuyến sinh dục hầu cho vào cốc nhỏ có chứa nước biển, quan sát dưới kính hiển vi để xác định tinh trùng hay trứng. Tinh trùng được xem bằng kính hiển vi Steindoref ở vật kính 40X, tinh trùng nhỏ, di chuyển nhanh (tinh trùng mạnh). Trứng dùng vật kính 10X. [23]. Trứng và tinh trùng của 1 con được lựa chọn cho vào 2 cốc 250 mL riêng với 200 mL nước biển nhân tạo. Mật độ trứng được xác định (huyền phù trứng đã pha loãng 100 lần bằng nước biển nhân tạo) từ ba lần đếm (sử dụng buồng đếm sinh vật phù du *The Gridded Sedgewick Rafter*) [24], sau đó, bổ sung nước biển để đạt 6000 trứng/mL [25]. Tương tự cho tinh trùng, đếm (sử dụng buồng đếm hồng cầu *Haemocytometer*) và bổ sung nước biển sao cho huyền phù tinh trùng đạt 2 triệu tinh trùng/mL [26, 16].

❖ Quá trình thụ tinh

– Trong vòng 30 phút kể từ khi thu được trứng và tinh trùng, trứng (hay trứng có tiếp xúc chất ô nhiễm) nên được thụ tinh với tinh trùng (hay tinh trùng có tiếp xúc chất ô nhiễm). Trứng được thụ tinh với tinh trùng với tỷ lệ 1:10 trong nước biển có lọc và mật độ 30 - 35 phôi/mL [24], để đảm bảo quá trình thụ tinh xảy ra bình thường. Hai giờ sau khi thụ tinh, sử dụng buồng đếm quan sát bằng kính hiển vi Steindoref ở 10X, 40X để xác định phôi bất thường.

2.2.3 Thí nghiệm độc tính dung dịch lắng lắng trầm tích bổ sung chuẩn Cu^{2+} , Pb^{2+} lên quá trình thụ tinh
Thử nghiệm độc tính dung dịch lắng theo mô hình của Salem Fathallan [6], kết hợp mô hình ASTM E 1706 - 05 [27, 7] và mô hình trình bày theo Gamain et al, 2015 và [22]. Thử nghiệm độc tính được thực hiện trên các giếng Microwell 24 well loại 3 mL (loại polystyrene). Các bước trong tiến trình bao gồm: (i) Chuẩn bị tinh trùng tiếp xúc: Pha nhanh huyền phù tinh trùng có mật độ 5000 tinh trùng /mL. Lấy 1,0 mL (5000 tinh trùng) thêm vào lần lượt các lọ chứa 10,0 mL dung dịch lắng ở các nồng độ bổ sung Cu^{2+} (hay Pb^{2+}). (ii) Chuẩn bị trứng tiếp xúc: pha nhanh huyền phù trứng có mật độ 600 trứng /mL. Lấy 1,0 mL (600 trứng) thêm vào lần lượt trong các lọ có chứa 10,0 mL dung dịch lắng ở các nồng độ bổ sung Cu^{2+} (hay Pb^{2+}). Sau 30 phút tiếp xúc, lần lượt tiến hành các thí nghiệm sau: (1) Độc tính lên tinh trùng: 1,0 mL dung huyền phù tinh trùng bị gây độc (5000 tinh trùng) được thêm vào 10,0 mL dung dịch chứa 600 trứng chưa tiếp xúc hóa chất. Sau đó, lấy 2 mL cho vào mỗi giếng, 3-5 giếng; (2) Độc tính lên trứng: 1,0 mL dung dịch có 5 000 tinh trùng chưa tiếp xúc dung dịch lắng được thêm vào 10 mL dung dịch chứa 600 trứng tiếp xúc dung dịch lắng, lắc nhẹ, lấy mỗi 2 mL cho vào mỗi giếng, 3-5 giếng; (3) Độc tính lên trứng và tinh trùng cùng lúc: 1,0 mL tinh trùng (5000 tinh trùng) và 1mL tế bào trứng (khoảng 600 trứng) cùng tiếp xúc với 10,0 mL các dung dịch lắng, lắc nhẹ, lấy 2mL cho vào mỗi giếng, 3-5 giếng; (4) Thí nghiệm kiểm soát: 1,0 mL tinh trùng chưa tiếp xúc dung dịch lắng (5000 tinh trùng) và 10,0 mL dung dịch các tế bào trứng chứa 600 trứng chưa tiếp xúc hóa chất, lắc nhẹ, lấy 2 mL cho vào mỗi giếng, 3-5 giếng.

Các thí nghiệm được ủ trong 2 giờ ở $24 \pm 1^\circ\text{C}$ (C. gigas), sau đó, 100 μL dung dịch formalin đậm 40% đã được thêm vào mỗi giếng và 1mL được lấy từ mỗi giếng đã được kiểm tra dưới kính hiển vi Steindoref ở 40X bằng buồng đếm sinh vật phù du *The Gridded Sedgewick Rafter* để đếm phôi thụ tinh hay không thụ tinh.

2.2.4 Thí nghiệm độc tính dung dịch lắng trầm tích bổ sung chuẩn Cu^{2+} , Pb^{2+} lên quá trình phát triển phôi
Lấy 10,0 mL huyền phù trứng trong cốc (6.000 trứng/mL) cho vào bình định mức 100 mL có chứa một ít nước muối nhân tạo, bổ sung tiếp 0,3 mL huyền phù tinh trùng từ cốc (2 triệu tinh trùng/mL) (600.000 tinh trùng) và cuối cùng định mức thành 100 mL bằng nước muối nhân tạo (600 trứng/mL). Chuyển sang cốc 250 mL để có bề mặt thoáng tốt.

Sau 2 giờ, huyền phù đã thụ tinh, lấy 1,0 mL thêm vào trong các cốc có chứa 10,0 mL dung dịch lắng ở các nồng độ khác nhau (còn khoảng 60 trứng/mL). Lắc đều và chia ra 3-5 giếng dung tích 2 mL/giếng [28]. Phôi được ủ ở 24°C trong 24 ± 2 giờ tiếp xúc với tỉ lệ ngày đêm là 14:10, không sục khí. Sau 24 giờ, 100 μL

dung dịch formalin đậm 40% đã được thêm vào mỗi giếng và 1,0 mL được lấy từ mỗi giếng đã được kiểm tra số ấu trùng bình thường và bất thường dưới kính hiển vi STEINDOREF ở 40X bằng buồng đếm sinh vật phù du *The Gridded Sedgewick Rafter*. Thí nghiệm kiểm soát là không sử dụng dung dịch lắng (dung dịch nước muối nhân tạo).

2.3 Phân tích dữ liệu thí nghiệm

2.3.1 Tính toán EC₅₀

2.3.1.1 Tính số trứng, tinh trùng

Đếm số lượng trứng trong buồng đếm sinh vật phù du *The Gridded Sedgewick Rafter 1mL*, tính ra được số trứng/ 1mL. Đếm số lượng tinh trùng trong buồng đếm hồng cầu *Haemocytometer*, tính ra được số tinh trùng/ 1mL.

2.3.1.2 Tính số phôi bất thường

Để tính toán tỷ lệ thụ tinh, tế bào trứng không thụ tinh được ghi nhận dưới kính hiển vi. EC₅₀ là nồng độ độc tố gây ra 50% thụ tinh không thành công hoặc phát triển của ấu trùng bất thường được tính. “Bất bình thường” bao gồm những trứng không thụ tinh và những con đã chết ở giai đoạn phát triển sớm hoặc bị biến dạng [25]

Nhận diện phôi thụ tinh hay không thụ tinh: hai giờ sau khi thụ tinh, phần lớn phôi sẽ ở giai đoạn 16 tế bào và một số phôi giai đoạn 32 tế bào, một hình dạng đồng nhất bao gồm các tế bào sẫm màu. Phôi không thụ tinh bao gồm các tế bào mở rộng hoặc thuôn dài, xuất hiện gần như riêng biệt [16].

Nhận diện ấu trùng phát triển bình thường trong 24 giờ là thành ấu trùng có vỏ bảo vệ hình chữ D, có thể nhìn thấy các vỏ có khớp nối, tính ấu trùng bình thường được cho là những ấu trùng sở hữu hai mảnh vỏ hình chữ D hoàn toàn, có thể bất thường ở một mức độ nào đó. Sự phát triển bất thường được đặc trưng bởi các phôi chết ở giai đoạn đầu hoặc ấu trùng phát triển nhưng không đạt đến giai đoạn hình chữ D do sự phát triển kém, có thể được đếm cả ấu trùng không đạt đến giai đoạn hình chữ D, mặc dù chúng có thể là các loại bình thường hoặc các giai đoạn ấu trùng sớm khác.

$$\text{Tỷ lệ phôi, ấu trùng bất thường (\%)} = \frac{\text{Số bất thường}}{(\text{Số bất thường} + \text{số bình thường})} 100$$

EC₅₀ được định nghĩa ở đây là nồng độ chất độc gây ảnh hưởng 50% sự thụ tinh và phát triển của phôi, ấu trùng, được tính dựa vào probit [29] và phần mềm Data Analysis trong Excell. Trong thí nghiệm này, ít nhất ba cặp hậu bố mẹ khác nhau đã được sử dụng và ba lần lặp lại được thực hiện cho từng điều kiện và cho mỗi cặp bố mẹ và thử nghiệm kiểm soát phải dưới 20% ấu trùng bất thường [30].

2.3.2 Xử lý số liệu

Các số liệu thu thập được xử lý bằng Exel. Các thí nghiệm và phân tích đều được lặp lại 3 lần. SPSS 20.0 được sử dụng để xác định tính đồng nhất của phương sai để xác định sự sai khác các giá trị trung bình giữa các thí nghiệm với $p < 0,05$ bằng Tukey's test *post hoc* khi $\text{Sig} > 0.05$ hoặc Tamhane khi $\text{Sig} < 0.05$.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Đặc tính hóa lý mẫu trầm tích tham chiếu

Kết quả phân tích mẫu trầm tích trong nghiên cứu, Bảng 1, cho thấy mức độ ô nhiễm do Cu, Pb trong trầm tích là dưới ngưỡng cho phép theo QCVN 43:2012/BTNMT (108 mg/kg cho Cu và 112 mg/kg cho Pb) và theo ERL (34 & 46,7 mg / kg) [31]. Như vậy, mẫu trầm tích được thu thập tại cửa sông Soài rập là một địa điểm không bị ô nhiễm và có thể sử dụng để khảo sát tiếp tục như mẫu trầm tích tham chiếu [32].

Bảng 1. Hàm lượng Cu, Pb, TOC, độ mặn và pH trong trầm tích của cửa sông Soài rập

	pH	Cu (mg/kg)	Pb (mg/kg)	TOC (%)	Độ mặn (‰)
Giá trị trung bình	7,1	21,41	28,62	2,78	20
SD	0,1	0,02	0,02	0,22	2

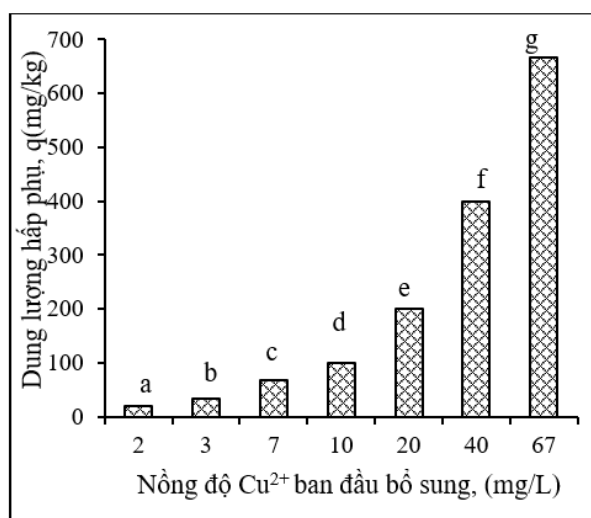
3.2 Kết quả chuẩn bị mẫu trầm tích thêm chuẩn Cu²⁺, Pb²⁺ và dung dịch lắng

Kết quả thí nghiệm cho thấy, khi nồng độ ban đầu C₀ của Cu²⁺ dao động trong khoảng (2 – 66,7 mg/L), Cu²⁺ kết hợp với trầm tích dao động (20 – 665 mg/kg) (Hình 1a). Kết quả nghiên cứu này phù hợp với nghiên cứu trước đó [20]. Theo Strom và cộng sự khi chuẩn bị mẫu trầm tích kết hợp Cu²⁺ sử dụng trong

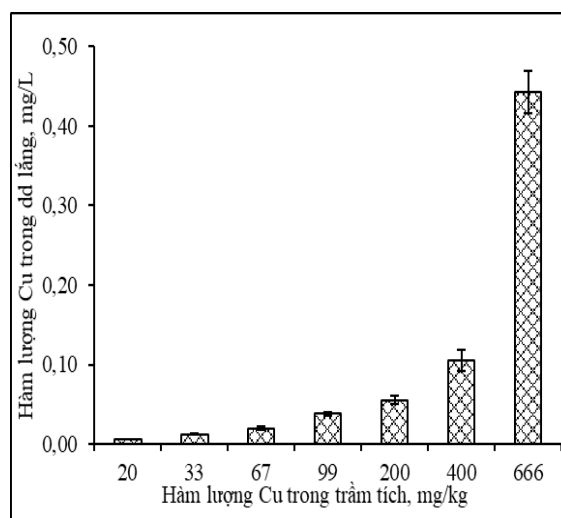
ĐỘC TÍNH TRÂM TÍCH KẾT HỢP...

thử nghiệm sinh học động vật không xương sống cũng có dãy hàm lượng 0 đến 2000mg/kg [33]. Điều này cho thấy mẫu độc chất Cu^{2+} kết hợp với trầm tích tại vùng cửa sông Soài Rạp bảo đảm cho thử nghiệm độc tính lên phôi, ấu trùng hàu. Dung dịch lắng thu được có nồng độ Cu^{2+} dao động 0 – 0,443 mg/L (Hình 1b). Đây là khoảng nồng độ phù hợp với nghiên cứu thử nghiệm độc chất của Cu^{2+} lên phôi ấu trùng hàu Thái Bình Dương theo các nghiên cứu trước đó [30, 34, 22].

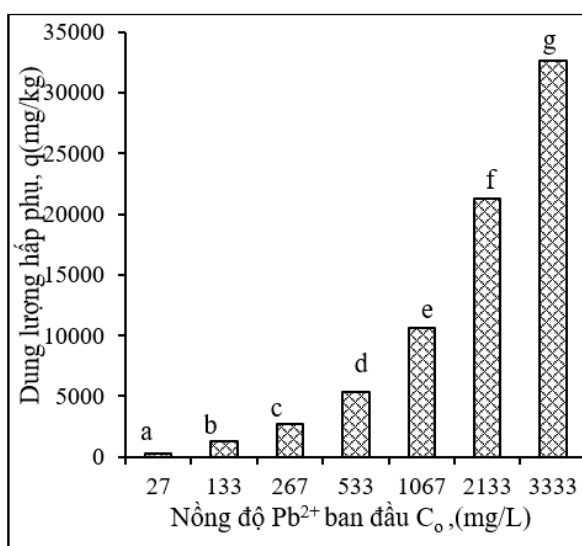
Kết quả thực nghiệm cho thấy, với nồng độ C_0 dao động trong khoảng (27 – 3333 mg/L), Pb kết hợp với trầm tích dao động (270 – 32645 mg/kg), (Hình 1c). Kết quả thu được phù hợp với nghiên cứu trước đó [20]. Dãy nồng độ dung dịch lắng trầm tích kết hợp Pb^{2+} dao động 0,03-34 mg/L (Hình 1c), phù hợp với các nghiên cứu về độc tính là khác biệt có ý nghĩa thống kê theo phân tích ANOVA. Điều này cho thấy kết quả chuẩn bị mẫu trầm tích kết hợp với Pb^{2+} tại vùng cửa sông Soài Rạp đảm bảo khoảng khảo sát cho thử nghiệm khảo sát độc tính lên phôi ấu trùng hàu bằng dung dịch lắng.



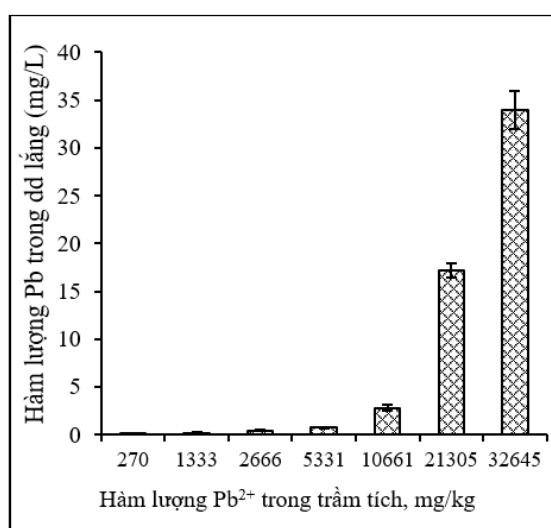
Hình 1a. Biểu diễn dung lượng hấp phụ của trầm tích theo nồng độ đầu của Cu^{2+} , mg/L



Hình 1b. Mối liên hệ giữa Cu trong dung dịch lắng và trong trầm tích



Hình 1c. Biểu diễn dung lượng hấp phụ của trầm tích theo nồng độ đầu của Pb^{2+}

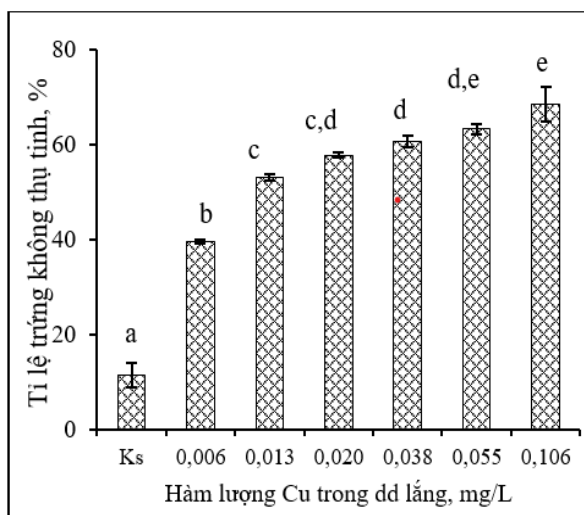


Hình 1d. Mối liên hệ giữa Pb trong dung dịch lắng và trong trầm tích

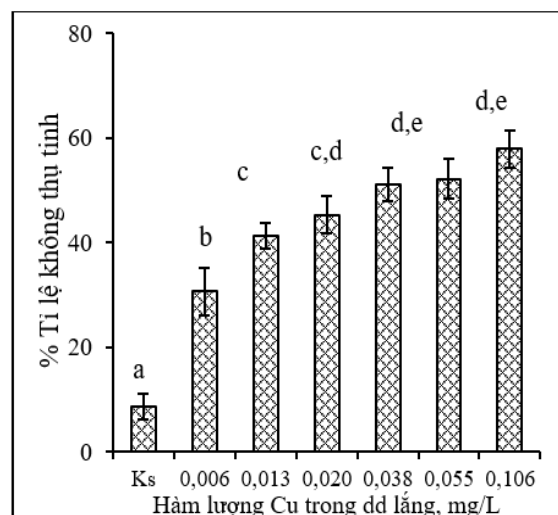
Hình 1. Biểu diễn dung lượng hấp phụ của trầm tích theo nồng độ đầu của Cu^{2+} , Pb^{2+}
Các chữ a,b,c,d,e,f,g cho thấy sự khác biệt có ý nghĩa thống kê.

3.3 Kết quả thử nghiệm độc tính dung dịch lắng Cu^{2+} lên phôi, ấu trùng hàu

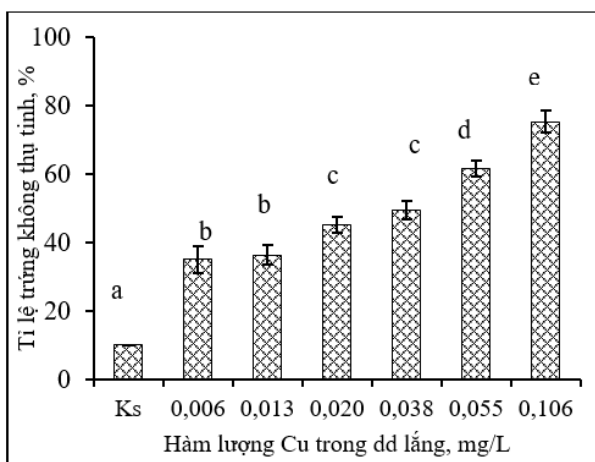
Kết quả thử nghiệm độc tính dung dịch lắng trầm tích bổ sung chuẩn Cu^{2+} được thể hiện trong Hình 2a, cho thấy tỉ lệ trứng không thụ tinh tăng có ý nghĩa theo hàm lượng Cu trong dung dịch lắng, ở các nồng độ Cu như 0,000; 0,006; 0,038; 0,106 mg/L và tỉ lệ không thụ tinh tương ứng là 0; 30; 55; 62 %, Kết quả tính toán giá trị làm 50% không thụ tinh EC_{50} là 0,025 mg/L, (Bảng 2). Kết quả trong nghiên cứu này cao hơn nghiên cứu của Mai và cộng sự, (EC_{50} là 0,020 mg/L) [22], điều này có thể được lý giải do dung dịch lắng từ trầm tích có thể chứa một lượng chất hữu cơ hòa tan làm giảm độc tính của Cu^{2+} [36, 33].



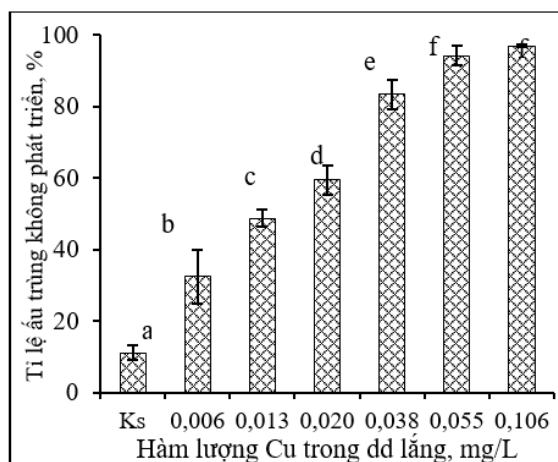
a. Tinh trùng tiếp xúc dung dịch lắng Cu



b. Trứng tiếp xúc dung dịch lắng Cu



c. Trứng và tinh trùng cùng tiếp xúc dung dịch lắng Cu



d. Ấu trùng hàu khi tiếp xúc dung dịch lắng Cu

Hình 2. Tỉ lệ (%) không thụ tinh và bất thường khi tiếp xúc dung dịch lắng độc chất Cu^{2+} của phôi ấu trùng hàu, các chữ khác nhau cho thấy sự khác biệt có ý nghĩa thống kê

Đối với thử nghiệm trứng tiếp xúc dung dịch lắng Cu được trình bày trong Hình 2b. Kết quả cho thấy tỉ lệ trứng không thụ tinh tăng theo nồng độ Cu trong dung dịch lắng cho thấy tỉ lệ trứng không thụ tinh dao động 0 – 54 %, ở các giá trị hàm lượng Cu trong dung dịch lắng 0,00; 0,006; 0,013 và 0,038 mg/L cho tỉ lệ không thụ tinh khác biệt có ý nghĩa thống kê. Ước tính giá trị làm 50% không thụ tinh EC_{50} là 0,063 mg/L (Bảng 2). Kết quả nghiên cứu là tương đồng so với ước tính theo nghiên cứu của Mai Hương và cộng sự là 0,057 mg/L dao động từ 0,037 – 0,088 mg/L [22].

Khi trứng và tinh trùng cùng tiếp xúc với dung dịch lắng của Cu được trình bày trong Hình 2c. Kết quả thu được cho thấy tỉ lệ trứng không thụ tinh dao động 0 – 73%, ở các giá trị hàm lượng Cu trong dung dịch lắng 0,00; 0,006; 0,020; 0,055 và 0,106 mg/L cho tỉ lệ không thụ tinh khác biệt có ý nghĩa thống kê. Ước tính giá trị làm 50% không thụ tinh EC_{50} là 0,034 mg/L (Bảng 2).

ĐỘ TÍNH TRÂM TÍCH KẾT HỢP...

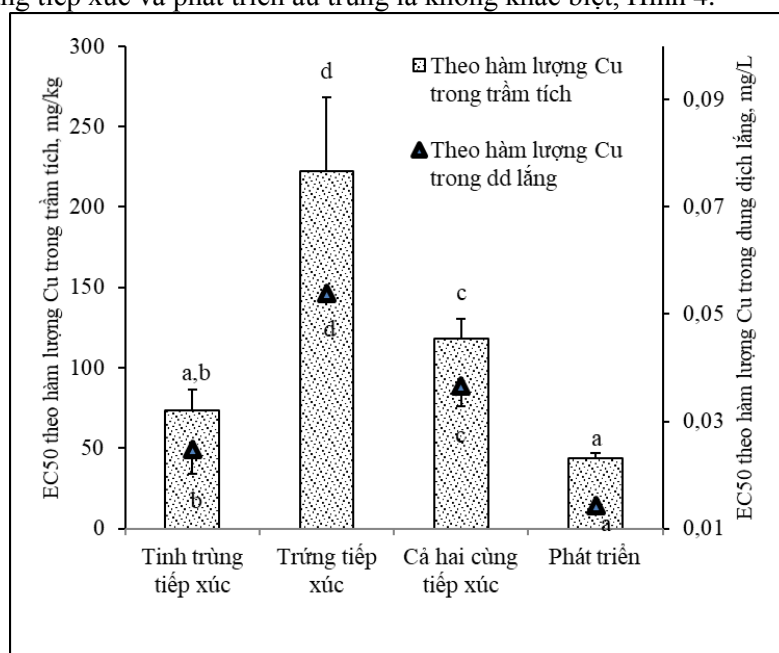
Đối với thử nghiệm sự phát triển của ấu trùng cho thấy tỉ lệ ấu trùng không phát triển dao động 0– 93%, (Hình 2d). Ở các hàm lượng Cu 0,000; 0,006; 0,013; 0,020; 0,038 và 0,055 mg/L cho giá trị tỉ lệ phôi không thụ tinh là khác biệt có ý nghĩa thống kê. Ước tính giá trị EC₅₀ là 0,015 mg/L (Bảng 2). Kết quả nghiên cứu là tương đồng với nghiên cứu của Mai và cộng sự, ước tính giá trị làm 50% phôi không phát triển hình chữ D, EC₅₀ là 0,012 mg/L (dao động 0,011– 0,014 mg/L) [22].

Bảng 2. Kết quả tính toán EC₅₀ (mg/L) của độc tính dung dịch lắng Cu

	Đơn vị tính Cu	EC ₅₀	Khoảng dao động
Tinh trùng tiếp xúc	Theo dung dịch lắng mg/L	0,025	0,020 – 0,029
	Theo hàm lượng trâm tích mg/kg	74	60 - 86
Trứng tiếp xúc	Theo dung dịch lắng mg/L	0,063	0,054 – 0,075
	Theo hàm lượng trâm tích mg/kg	222	177 - 269
Trứng và tinh trùng cùng tiếp xúc	Theo dung dịch lắng mg/L	0,037	0,034 – 0,041
	Theo hàm lượng trâm tích mg/kg	118	111 - 132
Phát triển (Chữ D)	Theo dung dịch lắng mg/L	0,014	0,013 – 0,015
	Theo hàm lượng trâm tích mg/kg	44	41 - 47

Đánh giá mức độ nhạy cảm của phôi, ấu trùng hàu, Hình 3, cho thấy quá trình phát triển của ấu trùng là rất nhạy cảm với độc tính Cu, kể đến là tinh trùng và cuối cùng là trứng, kết luận này cũng tương đồng với nghiên cứu của Mai và cộng sự, được diễn giải do lớp vỏ của trứng có thể hoạt động như một hàng rào bảo vệ chống lại kim loại hoặc các chất gây ô nhiễm khác tấn công [22].

Kết quả phân tích ANOVA để xác định sự khác biệt các giá trị trung bình EC₅₀ của 4 dạng tiếp xúc ($p < 0,05$) trên SPSS 20 cho thấy giá trị EC₅₀ của trứng là khác biệt có ý nghĩa thống kê so với 3 dạng còn lại, trong khi tinh trùng tiếp xúc và phát triển ấu trùng là không khác biệt, Hình 4.



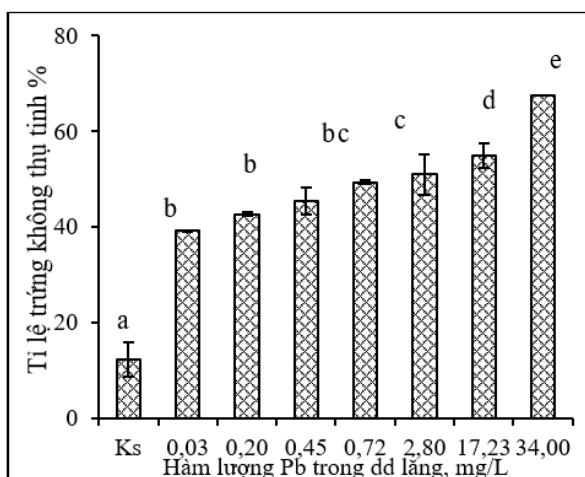
Hình 3. Biểu đồ biểu diễn giá trị EC₅₀ của Cu lên phôi, ấu trùng hàu, các chữ khác nhau cho thấy sự khác biệt có ý nghĩa thống kê

3.4 Kết quả thử nghiệm độc tính dung dịch lắng Pb²⁺ lên quá trình sinh sản và phát triển của phôi ấu trùng hàu

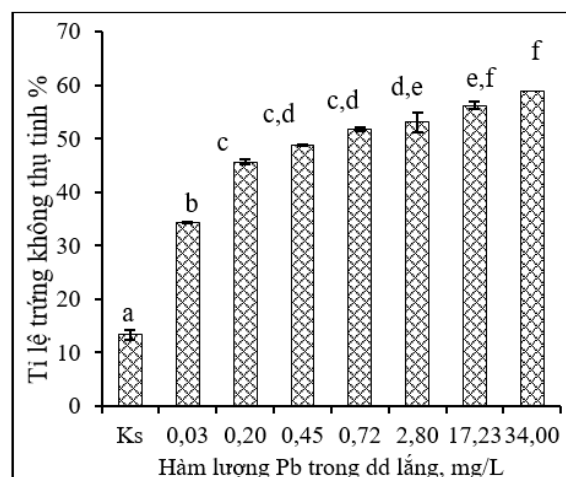
Kết quả thử nghiệm độc chất dung dịch lắng trâm tích bổ sung chuẩn Pb²⁺ được trình bày trong Hình 4a. Kết quả nghiên cứu cho thấy tỉ lệ trứng không thụ tinh dao động 0 – 63%, ở các giá trị hàm lượng Pb trong dung dịch lắng 0,00; 0,03; 0,72; 17,03 và 34,00 mg/L cho tỉ lệ không thụ tinh khác biệt có ý nghĩa thống kê. Ước tính giá trị làm 50% không thụ tinh, EC₅₀ là 4,7 mg/L (Bảng 3).

Trong thử nghiệm khi cho trứng tiếp xúc thì tỉ lệ phôi không thụ tinh dao động 0-53%, ở các giá trị hàm lượng Pb trong dung dịch lắng 0,00; 0,03; 0,20; 2,80 và 34,00 mg/L cho tỉ lệ không thụ tinh khác biệt có ý nghĩa thống kê (Hình 4b). Ước tính giá trị làm 50% không thụ tinh, EC_{50} là 10,9 mg/L (hay tương ứng 18822 mg/kg) (Bảng 3).

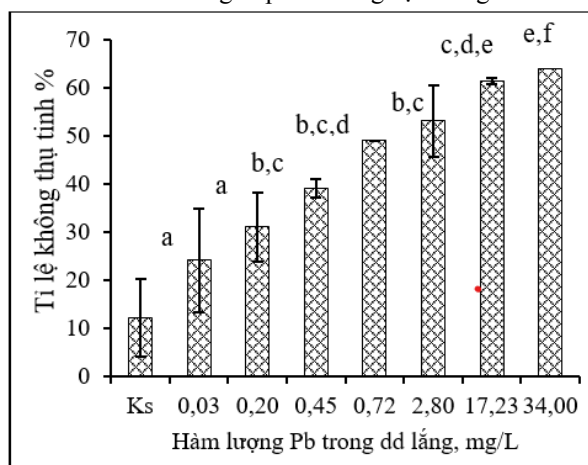
Khi cho cả trứng và tinh trùng cùng tiếp xúc, kết quả thu được cho thấy tỉ lệ không thụ tinh dao động 0 - 59%, ở các giá trị hàm lượng Pb trong dung dịch lắng 0,00; 0,20; 17,03 mg/L cho tỉ lệ không thụ tinh khác biệt có ý nghĩa thống kê (Hình 4c). Ước tính giá trị làm 50% không thụ tinh EC_{50} là 5,5 mg/L (tương ứng 12350 mg/kg) (Bảng 3).



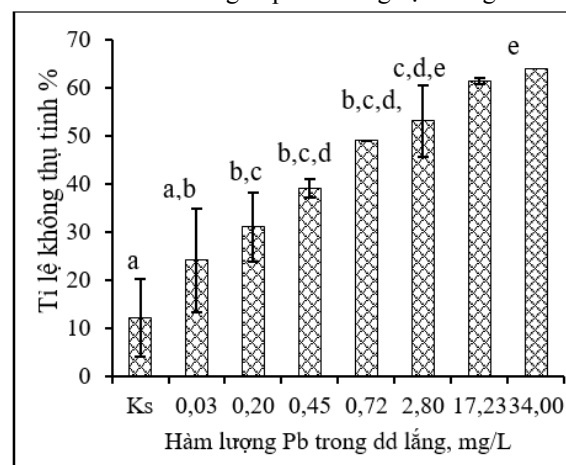
a. Tinh trùng tiếp xúc dung dịch lắng Pb



b. Trứng tiếp xúc dung dịch lắng Pb



c. Trứng và tinh trùng cùng tiếp xúc dung dịch lắng của Pb



d. Phát triển của ấu trùng hàu khi tiếp xúc dung dịch lắng của Pb

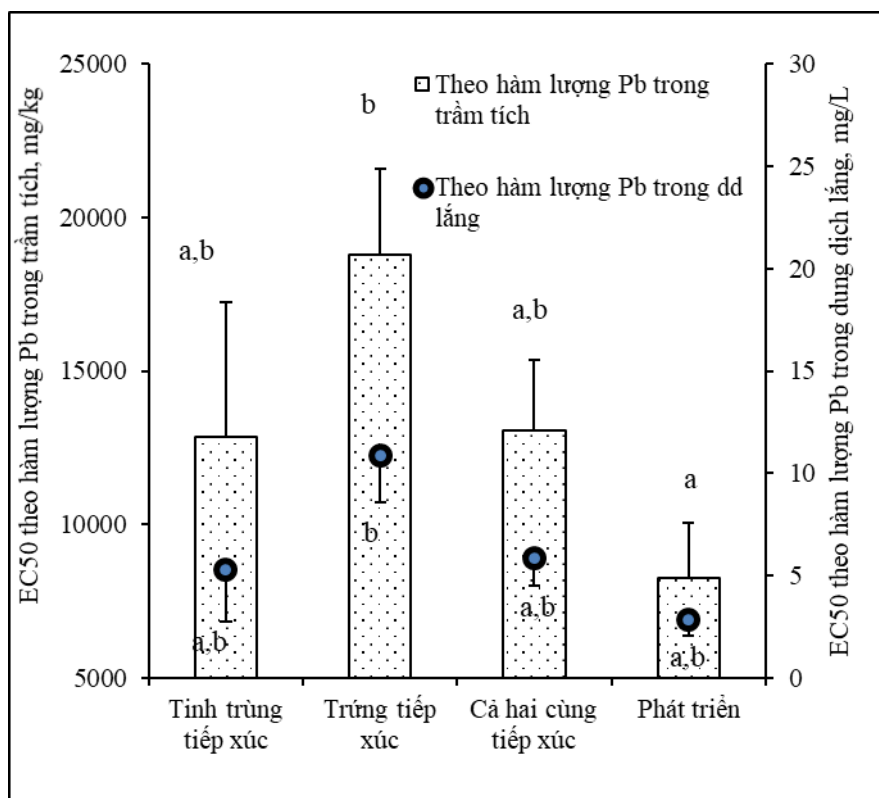
Hình 4. Tỉ lệ (%) bất thường khi tiếp xúc dung dịch lắng độc chất Pb^{2+} của phôi ấu trùng hàu, các chữ khác nhau cho thấy sự khác biệt có ý nghĩa thống kê

Quá trình thử nghiệm cho thấy hình dạng phôi phát triển sau 24 giờ hình thành nhiều biến dị, nhiều ấu trùng tử vong và phân hủy. Hàm lượng Pb trong dung dịch lắng ở mức thấp nhất 0,03 mg/L có tỉ lệ ấu trùng bất thường là 8%, ước tính giá trị làm 50% phôi không phát triển thành chữ D, EC_{50} là 2,9 mg/L (dao động 1,6 -3,6) (Hình 4d, Bảng 3). Kết quả nghiên cứu cho thấy giá trị EC_{50} cao hơn nghiên cứu của Xie là 0,660 mg/L (dao động 0,453~ 1,062 mg/L), điều này giải thích có thể có một số chất có trong dung dịch lắng làm giảm độc tính Pb như chất hữu cơ hay cặn lơ lửng [36, 33], diễn giải này cũng phù hợp với Edward, [37], Pb và Cu có khả năng tạo phức đáng kể với axit humic trong môi trường biển. So với nghiên cứu của Calabrese và cộng sự [38] về độc tính Pb lên phôi ấu trùng hàu (*Crassostrea virginica*) cho kết quả LC_{50} là 2,45 mg/L (dao động 2,2 – 3,6 mg/L) là tương đồng với kết quả nghiên cứu.

ĐỘC TÍNH TRÂM TÍCH KẾT HỢP...

Bảng 3. Kết quả tính toán EC₅₀ (mg/L) của độc tính dung dịch lắng Pb²⁺

Dạng thử nghiệm	Đơn vị tính	EC ₅₀	Khoảng dao động
Tinh trùng tiếp xúc	Theo dung dịch lắng mg/L	4,7	2,9 – 7,9
	Theo hàm lượng trầm tích mg/kg	12079	8489 - 17267
Trứng tiếp xúc	Theo dung dịch lắng mg/L	10,9	8,7 – 13,2
	Theo hàm lượng trầm tích mg/kg	18782	16094 - 21689
Trứng và tinh trùng cùng tiếp xúc	Theo dung dịch lắng mg/L	5,5	5,0 – 7,4
	Theo hàm lượng trầm tích mg/kg	12350	11808 - 15708
Phát triển (Chữ D)	Theo dung dịch lắng mg/L	2,9	1,6 – 3,6
	Theo hàm lượng trầm tích mg/kg	8247	6333 - 9900



Hình 5. Biểu đồ biểu diễn giá trị EC₅₀ của Pb lên phôi, ấu trùng hàu, các chữ khác nhau cho thấy sự khác biệt có ý nghĩa thống kê

Kết quả phân tích ANOVA để xác định sự khác biệt các giá trị trung bình EC₅₀ của 4 dạng tiếp xúc ($p < 0,05$) trên SPSS 20 cho thấy các giá trị EC₅₀ của trứng tiếp xúc độc chất là khác biệt có ý nghĩa thống kê, Hình 5, còn 3 dạng tiếp xúc còn lại sự khác biệt không có ý nghĩa, điều đó cho thấy khả năng chịu tác động nhiều hơn của tinh trùng có thể đã ảnh hưởng đến dạng cả 2 cùng tiếp xúc, trong khi thử nghiệm phát triển có thể do nhiễm độc của ấu trùng [3].

Kết quả nghiên cứu cho thấy độc tính của Cu cao hơn rất nhiều so với Pb ở từng thí nghiệm cho phôi và ấu trùng, kết quả nghiên cứu phù hợp với các nghiên cứu trước [34, 35]. Qua 3 kết quả thử nghiệm khảo sát khả năng thụ tinh cho thấy các kết quả EC₅₀ trong nghiên cứu đều cao hơn so với các nghiên cứu trước cũng đã được lý giải theo Strom [36, 33] và dựa vào EC₅₀ cũng cho thấy độc tính Cu, Pb lên ấu trùng < tinh trùng < trứng, được lý giải do tinh trùng nhạy cảm hơn trứng được diễn giải theo Fitzpatrick và cộng sự là do việc tinh trùng tiếp xúc với kim loại có thể ảnh hưởng đến hoạt động ty thể, làm giảm tốc độ bơi của tinh trùng, tốc độ bơi của tinh trùng và tỷ lệ thụ tinh của tinh trùng khi tiếp xúc với kim loại là nhạy cảm hơn trứng [3]. Tuy nhiên, ngay sau khi thụ tinh, trứng bắt đầu hoạt động trao đổi chất, thể hiện qua những thay đổi đáng kể trong thẩm thấu ion qua màng tế bào, việc phát triển phôi là hoạt động trao đổi chất và những

thay đổi nhỏ trong hoạt động của enzyme có thể làm giảm sự sống ấu trùng [3], do đó EC₅₀ của sự phát triển ấu trùng hầu như sau 24 giờ là rất thấp. Hơn nữa, theo Mai và cộng sự, thì mức độ tổn thương DNA tăng và tỷ lệ thuận với phần trăm của ấu trùng D bất thường [39, 35]. Lý giải tương tự cũng được tìm thấy trong nghiên cứu Mai và cộng sự cho rằng tổn thương AND lên tinh trùng và ấu trùng hầu như so với trứng tiếp xúc chất ô nhiễm [40]

4. KẾT LUẬN

Kết quả nghiên cứu cho thấy dung dịch lắng có dãy mẫu từ 0 đến 0,106 mg/L đối với Cu và 0 đến 34 mg/L đối với Pb; độc tính phôi khi cho dung dịch lắng từ trầm tích bờ sông Cu²⁺ tiếp xúc với tinh trùng cho EC₅₀ là 0,025 mg/L (dao động 0,020 -0,029 mg/L), tiếp xúc với trứng cho EC₅₀ là 0,063 mg/L (dao động 0,054 – 0,075 mg/L) và cùng tiếp xúc cả tinh trùng và trứng cho EC₅₀ là 0,037 mg/L (dao động 0,034 -0,041 mg/L) và đối với Pb tương ứng là 4,7 mg/L (dao động 2,9 -7,9 mg/L), 10,9 mg/L (dao động 8,7 -13,2 mg/L), 5,5 mg/L (dao động 5,0 -7,4 mg/L); Tỷ lệ ấu trùng chết cho EC₅₀ là 0,017 mg/L (dao động 0,013 – 0,017 mg/L) cho Cu và 2,9 mg/L (dao động 1,7-3,6 mg/L) cho Pb. Kết quả cũng cho thấy trứng là ít nhạy cảm hơn so với tinh trùng khi tiếp xúc với dung dịch lắng trầm tích kết hợp Cu²⁺, Pb²⁺. Những dữ liệu này sẽ rất hữu ích để dự báo mức độ nhạy cảm phôi, ấu trùng hầu (*Crassostrea gigas*) khi tiếp xúc với Cu, Pb trong trầm tích vùng cửa sông Sài Gòn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Nguyễn Văn Phương; Mai Hương; Nguyễn Thị Huệ, "Đánh giá ô nhiễm kim loại (Cu, Pb, Cr) và As trong trầm tích cửa sông Sài Gòn, hệ thống sông Sài Gòn- Đồng Nai," *Tạp chí Môi trường*, 25-30, 2018.
- [2] G. Stefania, C. Stoica, G. G. Vasile, M. Nita-Lazar and S. Elena, "Metals Toxic Effects in Aquatic Ecosystems: Modulators of Water Quality," in *Water Quality*, DOI: 10.5772/65744, 1-33. 2017.
- [3] J. Fitzpatrick, S. Nadella, C. Bucking, S. Balshine and C. Wood, "The relative sensitivity of sperm, eggs and embryos to copper in the blue mussel (*Mytilus trossulus*)," *Comparative Biochemistry and Physiology*, Part C 147, 441–449, 2008.
- [4] H. Ning-jing, H. Peng, Z. Hui, Z. Ai-mei, L. Ji-hua and Z. Jun, "Anthropogenic Pb input into Bohai Bay, China: Evidence from stable Pb isotopic compositions in sediments," *Continental Shelf Research*, 109, 188–197, 2015.
- [5] M. H. Paller and A. S. Knox, "Bioavailability of Metals in Contaminated Sediments," in *E3S Web of Conferences 1, 02001*, 2013.
- [6] S. Fathallan, "Toxicity of Chemically Spiked Sediment to the Carpet Shell Clam *Ruditapes decussatus* Embryos and Larvae," *Soil and Sediment Contamination*, 23, 641–655, 2014.
- [7] EPA, "Methods for Measuring the Toxicity and Bioaccumulation of Sediment-associated Contaminants with Freshwater Invertebrates," U.S. Environmental Protection Agency, Washington, D.C, 2000.
- [8] C. D. Poi, L. Evariste, A. Serpentine, M. P. Halm-Lemeille, L. Jean-Marc and K. Costil, "Toxicity of five antidepressant drugs on embryo–larval development and metamorphosis success in the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*," *Environmental Science and Pollution Research*, 21(23), 13302-14., 2014.
- [9] O. Geffard, A. Geffard, E. His and H. Budzinski, "Assessment of the bioavailability and toxicity of sediment-associated polycyclic aromatic hydrocarbons and heavy metals applied to *Crassostrea gigas* embryos and larvae," *Mar Pollut Bull*, 46(4), 481-90., 2003.
- [10] H. J. Haring, M. E. Smith, J. M. Lazorchak, P. A. Crocker, A. Euresi, M. C. Wratschko and M. C. Schaub, "Comparison of Bulk Sediment and Sediment Elutriate Toxicity Testing Methods," *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 58, 676–683, 2010.
- [11] C. M. Hutchins, P. R. Teasdale, S. Y. Lee and S. L. Simpson, "Influence of sediment metal spiking procedures on copper bioavailability and toxicity in the estuarine bivalve *Indoauriella lamprelli*," *Environmental Toxicology and Chemistry*, 28(9), 1885-92, 2009.
- [12] S. L. Simpson and G. E. Batley, "Predicting Metal Toxicity in Sediments: A Critique of Current Approaches," *Integrated Environmental Assessment and Management*, 3(1),18-31, 2007.
- [13] C. K. Jain, "Adsorption of zinc onto bed sediments of the River Ganga: adsorption models and kinetics," *Hydrological Sciences-Journal-des Sciences Hydrologiques*,. 42(5), 2001.
- [14] O. EPA, "Sediment Sampling Guide and Methodologies," 2001.

- [15] D. R. Kester, I. W. Duedall, D. N. Connors and R. M. Pytkowicz, "Preparation of artificial seawater," *Limnology and Oceanography*, 12, 176–179, 1967.
- [16] L. Dean and T. John, "Oyster embryo-larval bioassay," *ICES Techniques in Marine Environmental Sciences*, 54, 0-34, 2013.
- [17] J. Fan, G. Zhao and J. Sun, "Binary Component Sorption of Cadmium, and Copper Ions onto Yangtze River Sediments with Different Particle Sizes," *Sustainability*, 9, 2009, 2017.
- [18] X. Q. Lu, R. L. Bibby, R. B. Ford and J. G. Webster-Brown, "Creating metal-spiked bed sediments: A case study from Orewa estuary, New Zealand," *Environmental Toxicology and Chemistry*, 27(10), 2088–2096, 2008.
- [19] L. Bat and D. Raffaelli, "Sediment toxicity testing: a bioassay approach using the amphipod *Corophium volutator* and the polychaete *Arenicola marina*," *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 226, 217–239, 1998.
- [20] V. P. Nguyen, H. Mai, T. H. Nguyen and H. A. Le, "Preparation of Cu²⁺ and Pb²⁺ spiked sediment for sediment toxicity tests: a case study from Soai Rap estuary in Sai Gon - Dong Nai river system," *Vietnamese Environment*, 10(2), 129-137, 2018.
- [21] J. Thain, "Use of the oyster *Crassostrea gigas* embryo bioassay on water and sediment elutriate samples from the German Bight," *Marine Ecology Progress Series*, 91, 211-213, 1992.
- [22] H. Mai, J. Brune, J. Cachot and B. Morin, "Toxic effects of copper and cadmium on fertilization potency of gametes of Pacific oyster (*Crassostrea gigas*)," *Journal of Xenobiotics* 3, 23-25, 2013.
- [23] L. V. Thắng, Đ. Q. Thuần and Đ. V. Sơn, *Giao trình mô đun cho đẻ và ấp trứng, sản xuất giống và nuôi hậu Thái Bình dương*, Hà Nội: Bộ Nông Nghiệp Và Phát Triển Nông Thôn, 2014.
- [24] P. M. C. & J. D. Morgan, "Sediment Bioassays with Oyster Larvae," *Bull. Environ. Contam. Toxicol*, 31, 438-444, 1983.
- [25] J. Thain, "Biological effects of contaminants: Oyster (*Crassostrea gigas*) embryo bioassay," Copenhagen, Denmark., 1991.
- [26] H. Mai, B. Morin, P. Pardon, P. Gonzalez, H. Budzinski and J. Cachot, "Environmental concentrations of irgarol, diuron and S-metolachlor induce deleterious effects on gametes and embryos of the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*," *Marine Environmental Research*, 89:1-8, 2013.
- [27] ASTM E1367, "Standard test method for measuring the toxic of sediment - associated contaminants with estuarine and marine invertebrates," 2003.
- [28] H. L. Phelps and K. A. Warner, "Estuarine Sediment Bioassay with Oyster Pediveliger Larvae (*Crassostrea gigas*)," *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 44:197-204, 1990.
- [29] US. EPA, "Methods for Assessing the Toxicity of Sediment-associated Contaminants with Estuarine and Marine Amphipods," USEPA's Office of Science and Technology, 1994.
- [30] P. Gamain, J. Cachot, P. Gonzalez and B. Morin, "Combined effects of pollutants and salinity on embryo-larval development of the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*," *Marine Environmental Research*, 13, 31-38, 2016.
- [31] E. R. Long, D. O. Macdonald, S. I. Smith and C. Fred D, "Incidence of Adverse Biological Effects Within Ranges of Chemical concentrations in Marine and Estuarine sediments," *Environmental Management*, 19, 81-97, 1995.
- [32] ASTM E 1706, "Standard Test Method for Measuring the Toxicity of Sediment-Associated Contaminants with Freshwater Invertebrates," E 1706 – 05 ASTM, 2005.
- [33] D. Strom, S. L. Simpson, G. E. Batley and D. F. Jolley, "The influence of sediment particle size and organic carbon on toxicity of copper to benthic invertebrates in oxic/suboxic surface sediments," *Environmental Toxicology and Chemistry*, 30(7), 1599–1610, 2011.
- [34] E. His, I. Heyvang, O. Geffard and X. d. Montaudouin, "A comparison between oyster (*Crassostrea gigas*) and sea urchin (*Paracentrotus lividus*) larval bioassays for toxicological studies," *Water Research*, 33(7), 1706-1718., 1999.
- [35] J. Xie, X. Sun, D. Yang and R. Cao, "Combined toxicity of cadmium and lead on early life stages of the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*," *ISJ - Invertebrate Survival Journal*, 14, 210-220, 2017.
- [36] J. I. Lorenzo, O. C. Nieto and R. Beiras, "Effect of humic acids on speciation and toxicity of copper to *Paracentrotus lividus* larvae in seawater," *Aquatic Toxicology*, 58, 27–41, 2002.
- [37] M. Edward, "4 Lead," *Fish Physiology*, 31(Part B), 185-236, 2011.

- [38] A. Calabrese, D. A. Nelson, R. S. Collier and J. R. MacInnes, "The toxicity of heavy metals to embryos of the American oyster *Crassostrea virginica*," *Marine Biology*, 18(3), 162-166., 1973.
- [39] H. Mai, J. Cachot, J. Brune, O. Geffard, A. Belles, H. Budzinski and B. Morin, "Embryotoxic and genotoxic effects of heavy metals and pesticides on early life stages of Pacific oyster (*Crassostrea gigas*)," *Marine Pollution Bulletin*, 64, 2663–2670, 2012.
- [40] H. Mai, J. Cachot, C. Clérandeau, C. Martin, N. Mazzela and P. Gonzalez, "An environmentally realistic pesticide and copper mixture impacts embryonic development and DNA integrity of the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*," *Environmental Science and Pollution Research*, 27, 3600–3611, 2020.

TOXICITY OF (Cu²⁺, Pb²⁺) SPIKED SEDIMENT ON EMBRYOS AND LARVAE OF *CRASSOSTREA GIGAS* : SEDIMENT IN SOAI RAP ESTUARY, SAIGON- DONGNAI RIVER

NGUYEN VAN PHUONG¹, NGUYEN XUAN TONG¹, MAI HUONG², NGUYEN THI HUE³

¹ *Institute for Environmental Science, Engineering and Management, Industrial University of Ho Chi Minh City*

² *Hanoi University of Science and Technology, Vietnam Academy of Science and Technology*

³ *Institute of Environmental Technology, Vietnam Academy of Science and Technology*

*Corresponding: nvphccb@gmail.com

Abstracts. Heavy metals in sediments adversely affect to the benthic organisms. Such effects can rarely be predicted from data based on total concentrations of metals in sediments because the influence of their chemical species in the sediments is different. To assess the potential adverse effects of Cu and Pb pollutants in the sediment, the toxicity test model was used, in which the eluent solution of the Cu²⁺, Pb²⁺ spiked sediments were exposed with the *Crassostrea gigas* oyster embryo, larvae. The model is carried out in 3 stages: (i) Preparation of (Cu²⁺, Pb²⁺) spiked sediment samples; (ii) Preparation of eluent solutions from standard spiked sediment samples and (iii) Toxicity test on *Crassostrea gigas* embryos and larvae by eluent solutions. Parameters such as failure embryo rate, larval abnormality rate and EC₅₀ values were determined. The results showed that the EC₅₀ values of sperm, egg, both sperm and egg were estimated to be 0.024; 0.063; 0.034mg L⁻¹ for Cu and 4.7; 14.0, 5.5 mg L⁻¹ for Pb; The rate of abnormal larvae after 24 hours was 0.015 mg/L for Cu and 2.88 mg L⁻¹ for Pb. The results suggested that Cu toxicity was higher than Pb and eggs were less susceptible than sperm. The research results can be used to predict the sensitivity levels of Cu and Pb in Soai Rap estuary sediments on embryos and larvae of *Crassostrea gigas* oysters.

Key words: *Crassostrea gigas*, Cu and Pb, toxicity, Saigon – Dong Nai, sediment.

Ngày gửi bài: 14/02/2022

Ngày chấp nhận đăng: 06/05/2022