

ẢNH HƯỞNG CHLORMEQUAT CHLORIDE LÊN KHẢ NĂNG SINH SẢN, CHỈ SỐ SINH TRƯỞNG CỦA RUỒI GIẤM

Nguyễn Trọng Tuệ^{1,✉}, Nguyễn Thị Thu Nga²

¹Trường Đại học Y Hà Nội

²Bệnh viện Nhi Trung Ương

*Chlormequat Chloride (CCC) là chất điều hòa sinh trưởng thực vật được sử dụng rộng rãi nhằm nâng cao năng suất và giá trị nông sản. Tuy nhiên, việc lạm dụng CCC có thể gây tác động tiêu cực đến sức khỏe con người. Trong nghiên cứu này, chúng tôi sử dụng mô hình ruồi giấm (*Drosophila melanogaster*) để đánh giá ảnh hưởng của CCC lên khả năng sinh sản và một số chỉ số sinh trưởng của chúng. Kết quả cho thấy CCC làm giảm khả năng sinh sản, kéo dài thời gian phát triển nhưng không ảnh hưởng đến tỷ lệ sống sót và chiều cao đóng kén. Ngoài ra, nghiên cứu này cũng cho thấy CCC gây thoái hóa thần kinh trên tế bào não của ruồi giấm thông qua cơ chế đứt gãy DNA. Như vậy, mô hình ruồi giấm có thể được sử dụng trong nghiên cứu sàng lọc độc chất, góp phần làm sáng tỏ cơ chế tương tác giữa độc chất và cơ thể, đồng thời cung cấp nền tảng cho các nghiên cứu tiếp theo trên mô hình động vật bậc cao hơn.*

Từ khoá: Chlormequat Chloride, *Drosophila melanogaster*, tế bào thần kinh ruồi giấm.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Trong những năm gần đây, ngành trồng trọt đã và đang chịu ảnh hưởng nặng nề bởi biến đổi khí hậu, rõ rệt nhất là tình trạng hạn hán và sâu bệnh, gây áp lực lớn cho ngành nông nghiệp nói riêng và nền kinh tế Việt Nam nói chung. Để cải thiện tình trạng này, người nông dân gia tăng sử dụng các loại thuốc điều hòa sinh trưởng thực vật, nhằm thay đổi cấu trúc cây, tăng khả năng chống chịu của cây đối với điều kiện môi trường khắc nghiệt, giảm rụng lá, ngăn rụng quả sớm để đảm bảo năng suất cây trồng...^{1,2} Tuy nhiên, việc sử dụng thuốc điều hòa sinh trưởng ngày càng phổ biến, thậm chí có thể không tuân thủ đúng quy trình như sử dụng quá liều, không đảm bảo thời gian cách ly hoặc không trang bị đầy đủ đồ bảo hộ, dẫn đến

nguy cơ tồn dư hóa chất trong nông sản và ảnh hưởng đến sức khỏe con người.

Chlormequat Chloride (CCC) là một trong những chất điều hòa sinh trưởng được sử dụng phổ biến, đặc biệt trên cây lúa mì và một số loại cây ngũ cốc tại châu Âu. CCC có tác dụng làm cứng cây, tăng độ dày của lá, nâng cao khả năng chống chịu với điều kiện môi trường khắc nghiệt, từ đó mang lại hiệu quả kinh tế đáng kể. Tuy nhiên, nhiều nghiên cứu đã chỉ ra rằng việc lạm dụng CCC có thể gây ảnh hưởng tiêu cực đến các sinh vật không phải mục tiêu, thậm chí tác động xấu đến sức khỏe con người. Một số nghiên cứu trên động vật gặm nhấm cho thấy CCC làm giảm khả năng sinh sản, ảnh hưởng đến biểu hiện hormone sinh trưởng và yếu tố tăng trưởng giống insulin, dẫn đến suy giảm trọng lượng cơ thể và chiều dài xương đùi.³

Mô hình ruồi giấm (*Drosophila melanogaster*) có nhiều ưu điểm trong nghiên cứu độc chất, bao gồm vòng đời ngắn, chi phí thấp, tốc độ

Tác giả liên hệ: Nguyễn Trọng Tuệ

Trường Đại học Y Hà Nội

Email: trongtue@hmu.edu.vn

Ngày nhận: 05/03/2025

Ngày được chấp nhận: 21/03/2025

sinh sản cao và bộ gen đã được giải mã chi tiết, trong đó có đến 75% gen liên quan đến bệnh lý ở người.⁵ Do đó, ruồi giấm được xem là mô hình tiềm năng trong nghiên cứu độc chất. Trong nghiên cứu này, sử dụng ruồi giấm để xác định nồng độ gây độc của CCC và ảnh hưởng của nó lên khả năng sinh sản như số lượng trứng, các chỉ số sinh trưởng như thời gian đóng kén, thời gian nở... và đánh giá độc tính ở mức độ tế bào như chỉ số đứt gãy DNA, điều này sẽ góp phần làm sáng tỏ cơ chế phân tử cũng như sự tương tác sinh lý giữa độc chất và cơ thể sinh vật, tạo tiền đề cho các nghiên cứu trên mô hình động vật bậc cao hơn.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP

1. Đối tượng

Nghiên cứu sử dụng dòng ruồi giấm hoang dại (Canton S) thu thập từ trung tâm lưu trữ ruồi giấm Kyoto (Kyoto Stock Center), Nhật Bản.

Ruồi giấm được nuôi trong môi trường thức ăn cơ bản bao gồm: agarose 0,75%, đường 10%, bột ngô 5%, bột cám gạo 3%, nấm men 4% (w/v), propionic acid 0,4%, sodium benzoate 0,75%, sữa bột 2%, nước cất một lần và trong điều kiện nhiệt độ 25°C, độ ẩm 65 - 70%, thời gian chiếu sáng chu kỳ 12 giờ sáng/ 12 giờ tối.

2. Phương pháp

Địa điểm nghiên cứu

Khoa kỹ thuật Y học, Trường Đại học Y Hà Nội

Phương pháp thu nhận phôi cùng ngày tuổi

Chọn 50 ruồi đực và 50 ruồi cái đủ trưởng thành về mặt sinh dục, cho chúng giao phối và để trứng lên một đĩa petri chứa môi trường thức ăn cơ bản (agarose 2%) trong 1 - 2 giờ, loại bỏ ruồi bố mẹ, thu nhặt phôi. Những phôi này được chọn cùng ngày tuổi, được sử dụng trong các thí nghiệm chuyên sâu hơn với mục đích đảm bảo các cá thể trong quần thể cùng bắt đầu quá trình phát triển tại một thời điểm.

Phương pháp xác định ảnh hưởng của độc chất tới nồng độ gây chết trung bình (LC50) trên ruồi giấm

Nồng độ gây chết trung bình (Median lethal concentration – LC50) là nồng độ của chất làm chết một nửa quần thể thử nghiệm.

Cách thực hiện: Chọn phôi ruồi giấm cùng ngày tuổi và nuôi trong môi trường thức ăn tiêu chuẩn không chứa thuốc trong 67 giờ để phát triển thành ấu trùng cuối giai đoạn 2. Sau đó, thu thập ấu trùng và rửa sạch bằng dung dịch nước muối sinh lý 9‰. Chuyển ấu trùng vào các ống thức ăn với mật độ 20 con/ ống, bao gồm: nhóm chứng sử dụng thức ăn tiêu chuẩn và nhóm thí nghiệm sử dụng thức ăn có chứa thuốc với các nồng độ khác nhau từ 5.000 ppm đến 50.000 ppm. Theo dõi, ghi nhận số lượng nhộng và ruồi trưởng thành ở cả nhóm chứng và nhóm thí nghiệm. Chụp ảnh những hiện tượng bất thường trong quá trình phát triển của ruồi tại các giai đoạn này để phân tích. Dữ liệu thu được được xử lý và phân tích bằng phần mềm Excel theo hai giai đoạn: tỷ lệ tử vong ở giai đoạn ấu trùng và tỷ lệ tử vong ở giai đoạn nhộng.

Phương pháp đánh giá ảnh hưởng của độc chất đến chỉ số sinh trưởng và khả năng sinh sản của ruồi giấm

Anh hưởng mạn tính của độc chất lên các chỉ số sinh trưởng (thời gian xuất hiện ruồi trưởng thành, tỷ lệ sống sót, chiều cao đóng kén) và khả năng sinh sản của ruồi giấm được tiến hành sau khi ruồi giấm phơi nhiễm với CCC qua nhiều thế hệ.

Thí nghiệm đánh giá ảnh hưởng của độc chất đến chỉ số sinh trưởng

Thí nghiệm

Đưa 20 cặp ruồi đực và cái (F0) vào ống thức ăn (nhóm chứng: thức ăn tiêu chuẩn; nhóm thí nghiệm: thức ăn chứa thuốc dưới ngưỡng LC50) để giao phối và đẻ trứng (F1)

trong 24 giờ. Phôi F1 tiếp tục được nuôi trong môi trường tương tự đến thế hệ F7. Sau 24 giờ, phôi phát triển thành ấu trùng ngày một, được phân nhóm (10 ấu trùng/ống $\times$ 10 ống/nồng độ thuốc) và nuôi trong các môi trường thức ăn khác nhau.

Chiều cao đóng kén

Theo dõi đến ngày thứ 5, đo khoảng cách từ bề mặt thức ăn đến điểm giữa hai lỗ thở của nhộng.

Thời gian xuất hiện ruồi trưởng thành

Ghi nhận thời gian từ ấu trùng ngày một đến khi ruồi trưởng thành (ngày thứ 9).

Tỷ lệ sống sót

Ghi số lượng ấu trùng ngày một phát triển thành ruồi trưởng thành ở từng nồng độ thuốc.

Xử lý số liệu

Số liệu được ghi lại bằng Excel, xử lý và phân tích bằng kiểm định T-test trên IBM SPSS Statistics 22.

Thí nghiệm đánh giá ảnh hưởng của độc chất lên khả năng sinh sản của ruồi giấm

Khả năng sinh sản của ruồi giấm được tính bằng số lượng trứng trung bình mà ruồi cái đẻ ra trong suốt 20 ngày liên tiếp sau khi giao phối.

Thu nhận phôi F7 tương tự phương pháp trên và nuôi chúng tới giai đoạn ấu trùng ngày ba. Sau đó nhặt 10 ấu trùng đực và 10 ấu trùng cái riêng rẽ vào từng ống thức ăn cơ bản của mỗi nồng độ thuốc. Sau 7 ngày, bắt từng cặp ruồi trưởng thành (đực và cái) vào 1 ống thức ăn tiêu chuẩn ($\times$ 10 ống đối với mỗi nồng độ thuốc). Cho chúng giao phối 24 giờ sau đó và giữ lại trong mỗi ống 1 ruồi cái. Chuyển ống và đếm số lượng trứng mỗi ngày ($\times$ 10 ống) trong 20 ngày liên tiếp. Số liệu được thống kê bằng phần mềm Excel, xử lý và phân tích bằng phương pháp kiểm định T-test trên phần mềm thống kê IBM SPSS Statistic 22.

Đánh giá tổn thương DNA trên tế bào não ruồi giấm bằng thí nghiệm Comet Assay

Comet Assay là kỹ thuật điện di đơn tế bào đánh giá mức độ tổn thương DNA. Tế bào sau khi tách riêng, trộn với agarose, ly giải màng để bộc lộ DNA nhân rồi điện di trong môi trường kiềm. DNA đứt gãy di chuyển về cực dương nhanh hơn, tạo hình ảnh giống sao chổi.

Quy trình thí nghiệm

Nuôi phôi ruồi 67 giờ trong môi trường tiêu chuẩn, sau đó chia thành nhóm chứng và nhóm thí nghiệm (CCC: 3.000 ppm, 15.000 ppm). Thu thập và tách não của 20 ấu trùng ngày 3, nghiền với Trypsin, lọc, ly tâm và rửa để thu huyền dịch tế bào. Trộn 40 μ L huyền dịch với 90 μ L agarose 1,5%, nhỏ lên lam kính, cố định ở 4°C/20 phút. Ly giải tế bào trong dung dịch pH = 10 ở 4°C/2 giờ. Điện di trong đệm pH = 12,6 ở 18V trong 20 phút. Trung hòa, cố định với cồn, nhuộm DAPI 0,5%, và quan sát bằng kính hiển vi huỳnh quang (360 - 370nm), chụp ảnh 50 tế bào/nồng độ thuốc.

Phân tích số liệu

Dữ liệu xử lý bằng Excel, phân tích trên Capslab với các thông số: Tail DNA (%), Tail length (μ m), Tail moment.

- % DNA bị đứt gãy (% Tail DNA) được tính bằng tỷ lệ lượng DNA bị đứt gãy tạo thành vết smear so với toàn bộ DNA của tế bào

- Chiều dài đuôi (Tail length) là chiều dài của vết smear tế bào sau khi điện di (μ m)

- Moment đuôi (Tail moment) được tính bằng tích số của Tail DNA và Tail length.

3 Đạo đức nghiên cứu

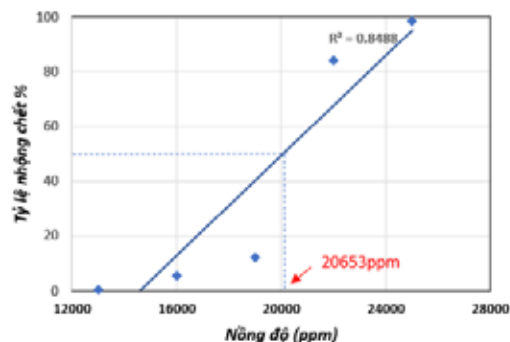
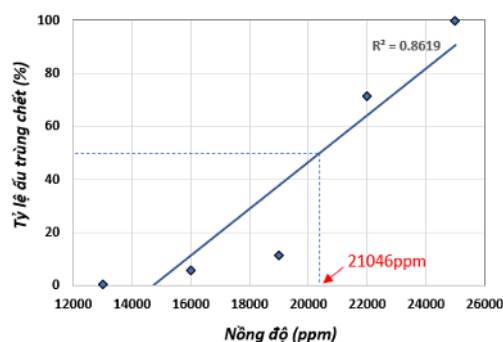
Nghiên cứu được thực hiện trên ruồi giấm và chưa có thử nghiệm trên các đối tượng khác. Nghiên cứu không vi phạm đạo đức nghiên cứu y học.

III. KẾT QUẢ

1. Kết quả xác định nồng độ gây chết trung bình

Ấu trùng ruồi giấm ngày hai bắt đầu được phơi nhiễm với CCC ở các nồng độ 13.000,

16.000, 19.000 và 20.000 và 25.000 ppm. Số liệu về số lượng nhộng và ruồi trưởng thành với mỗi nồng độ thuốc được xử lý, phân tích và thể hiện ở biểu đồ 1, 2.



Biểu đồ 1. Biểu đồ thể hiện mối tương quan giữa tỷ lệ chết của ấu trùng (A) và nhộng (B) với các nồng độ CCC, n = 60

Tỷ lệ chết của ấu trùng và nhộng ở nhóm chứng gần như bằng 0. Biểu đồ 1 chỉ ra rằng giá trị LC50 của ấu trùng (21.046 ppm) cao hơn LC50 của nhộng (20.653 ppm) và có mối tương quan tuyến tính giữa nồng độ CCC và độc tính cấp trên mô hình ruồi giấm.

2. Kết quả đánh giá ảnh hưởng của CCC đến một số chỉ số sinh trưởng của ruồi giấm

Ruồi giấm được phơi nhiễm với CCC qua 7

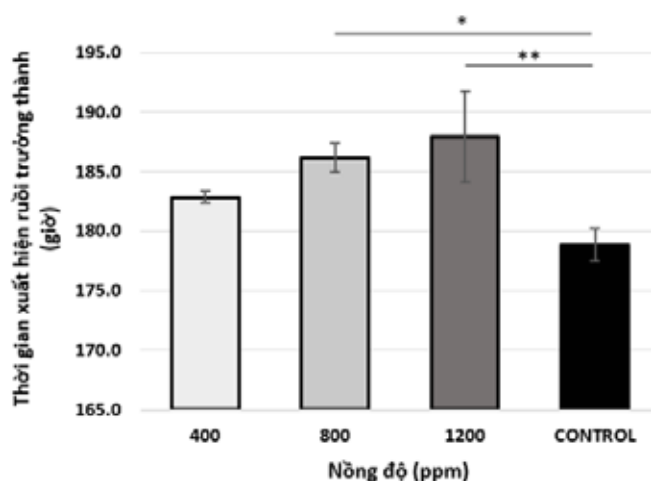
thể hệ ở các mức nồng độ 400 ppm, 800 ppm và 1.200 ppm, sau đó đánh giá các chỉ số sinh trưởng ở thế hệ F7 bao gồm thời gian xuất hiện ruồi trưởng thành, tỷ lệ sống sót và chiều cao đóng kén.

Thời gian xuất hiện ruồi trưởng thành

Theo dõi và ghi lại thời gian từ lúc mới hình thành ấu trùng ngày một cho tới khi ruồi trưởng thành thoát kén.

Bảng 1. Kết quả xác định ảnh hưởng của CCC tới thời gian xuất hiện ruồi trưởng thành, *p < 0,05; **p < 0,01; n = 100

Nhóm	Nồng độ (ppm)	Thời gian xuất hiện ruồi trưởng thành trung bình (giờ)	Giá trị p
Nhóm thí nghiệm	400	182,35 ± 2,16 (101,92%)	0,149
	800	186,19 ± 1,58 (103,95%)	0,014*
	1200	187,95 ± 1,96 (104,85%)	0,009**
Nhóm chứng	0	178,84 ± 2,64 (100%)	



Biểu đồ 2. Biểu đồ thể hiện mối tương quan giữa thời gian xuất hiện ruồi trưởng thành và nồng độ thuốc CCC (400 ppm, 800 ppm, 1.200 ppm) với CONTROL: Nhóm chứng

* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; $n = 100$

Sau 6 thế hệ, thời gian xuất hiện ruồi trưởng thành ở nhóm thí nghiệm (với 3 nồng độ thuốc 400 ppm, 800 ppm và 1.200 ppm) kéo dài rõ rệt so với nhóm chứng. Chỉ số này ở nhóm 400 ppm cũng thể hiện sự kéo dài nhưng không rõ ràng và không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Như vậy, chất điều hòa sinh trưởng thực vật CCC làm kéo dài rõ rệt thời gian thế hệ trên mô hình ruồi giấm.

Tỷ lệ sống sót và chiều cao đóng kén

- Tỷ lệ sống sót: Kết quả đánh giá ảnh hưởng của CCC lên tỷ lệ sống sót của ruồi giấm cho thấy gần như 100% ấu trùng ngày một phát triển được đến giai đoạn ruồi trưởng thành ($n = 100$).

- Chiều cao đóng kén: đo khoảng cách từ bề mặt thức ăn đến điểm giữa 2 lỗ thở của nhộng đối với từng nồng độ thuốc.

Bảng 2. Kết quả xác định ảnh hưởng của CCC tới chiều cao đóng kén của ấu trùng ruồi giấm ($n = 100$)

Nhóm	Nồng độ (ppm)	Chiều cao đóng kén trung bình (cm)	Giá trị p
Nhóm thí nghiệm	400	$3,34 \pm 1,46$ (98,53%)	$> 0,05$
	800	$3,72 \pm 1,23$ (91,13%)	$> 0,05$
	1200	$3,82 \pm 1,33$ (88,74%)	$> 0,05$
Nhóm chứng	0	$3,39 \pm 1,19$ (100%)	

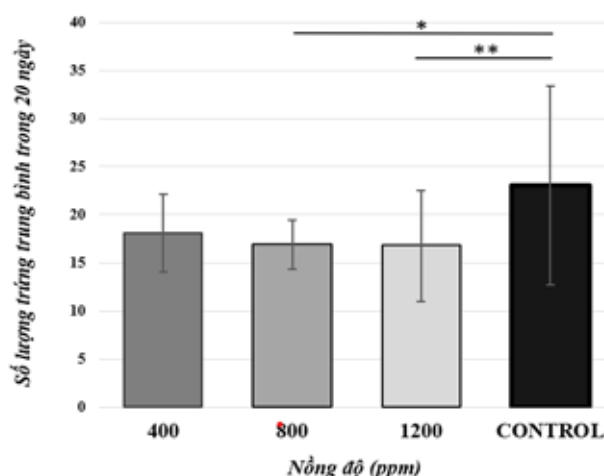
Từ đây, chúng tôi nhận thấy rằng việc sử dụng CCC ở các nồng độ 400 ppm, 800 ppm và 1.200 ppm đều không gây ảnh hưởng đến tỷ lệ sống sót và chiều cao đóng kén của ấu trùng ruồi giấm.

Kết quả ảnh hưởng của CCC lên khả năng sinh sản của ruồi giấm

Khả năng sinh sản của ruồi giấm được tính bằng số lượng trứng trung bình mà ruồi cái đẻ ra trong suốt 20 ngày tiếp theo sau khi giao phối.

Bảng 3. Kết quả xác định ảnh hưởng của CCC tới số lượng trứng trung bình trong 20 ngày, * $p < 0,05$; $n = 100$.

Nhóm	Nồng độ (ppm)	Số lượng trứng trung bình trong 20 ngày	Giá trị p
Nhóm thí nghiệm	400	18,10 $\pm$ 4,04 (78,46%)	0,103
	800	16,90 2,52 (73,26)	3,36*
	1200	16,79 5,75 (72,78%)	0,031*
Nhóm chứng	0	23,07 10,27 (100%)	



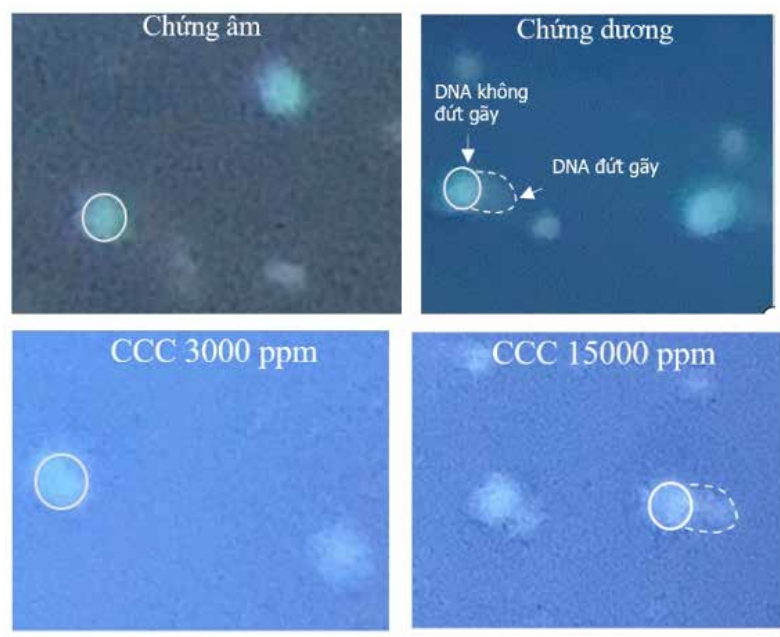
Biểu đồ 3. Biểu đồ thể hiện mối tương quan giữa số lượng trứng trung bình trong 20 ngày và nồng độ CCC (400 ppm, 800 ppm, 1200 ppm) với CONTROL: nhóm chứng

* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; $n = 100$.

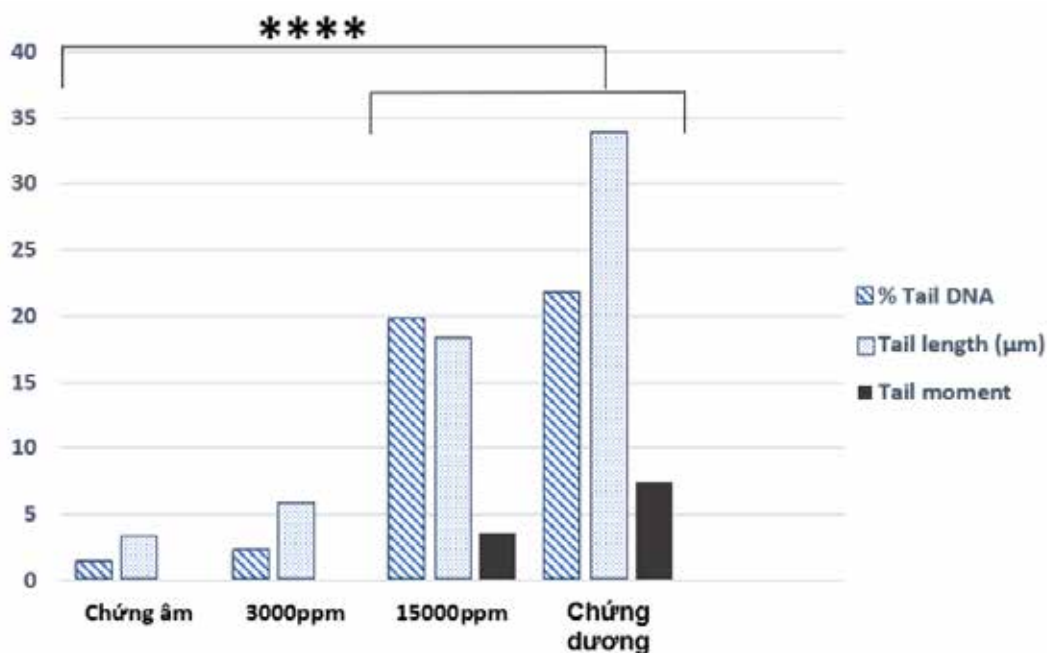
Sau 6 thế hệ sử dụng CCC với các liều lượng khác nhau (400 ppm, 800 ppm, 1.200 ppm), khả năng sinh sản của nhóm thí nghiệm giảm đáng kể khi so sánh với nhóm chứng. Ở nồng độ 800 ppm và 1.200 ppm, số lượng trứng trung bình mà ruồi cái đẻ được trong suốt 20 ngày lần lượt là 16,9 quả (73,26%) và 16,79 quả (72,78%), trong khi đó số lượng này ở nhóm chứng là khoảng 23,07 quả (100%) ($p < 0,05$). Bên cạnh đó, khả năng sinh sản của nhóm ruồi sử dụng thuốc CCC ở nồng độ 400 ppm cũng bị ảnh hưởng, tuy nhiên không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

3. Kết quả đánh giá ảnh hưởng của độc chất lên tế bào não ấu trùng ruồi giấm

Phôi cùng ngày tuổi phát triển trong 67 giờ trong môi trường thức ăn tiêu chuẩn để đạt tới giai đoạn ấu trùng ngày ba. Khi ấu trùng ba ngày tuổi hết nhu cầu sử dụng thức ăn và bò lên thành ống thì nhặt lấy và tiến hành thí nghiệm Comet Assay. Thí nghiệm được thiết kế với 3 nhóm: nhóm chứng dương (tiếp xúc với H_2O_2), nhóm chứng âm và nhóm thí nghiệm (CCC: 3.000 ppm, 15.000 ppm).



Hình 1. Kết quả điện di tế bào não ấu trùng ruồi giấm của các nhóm.
 Nhóm chứng âm (không xử lý độc chất), nhóm chứng dương (xử lý H_2O_2) và nhóm thí nghiệm
 (với 2 nồng độ thuốc CCC: 3.000 ppm, 15.000 ppm) với độ phóng đại 40X



Biểu đồ 4. Biểu đồ đánh giá mức độ đứt gãy DNA tế bào não ruồi giấm ở các nhóm
 Nhóm chứng âm (không xử lý độc chất), nhóm chứng dương (xử lý H_2O_2),
 nhóm thí nghiệm (CCC: 3.000 ppm, 15.000 ppm). Kết quả thí nghiệm được thể hiện qua
 các thông số: Tail DNA%, tail length và tail moment, $n = 60$; **** $p < 0,0001$

Từ Hình 1, chúng tôi nhận thấy rằng có sự tương quan tuyến tính giữa nồng độ thuốc CCC và mức độ đứt gãy DNA trong tế bào não ấu trùng ngày ba. Tuy nhiên ở nồng độ CCC 3.000 ppm, sự đứt gãy DNA không đáng kể khi so sánh với chứng âm ($p > 0,05$). Sự phá hủy DNA trong tế bào não ấu trùng ruồi giấm ngày ba đặc biệt gia tăng khi tiếp xúc với thuốc CCC ở nồng độ 15.000 ppm ($p < 0,05$).

IV. BÀN LUẬN

Từ kết quả xác định LC50 cho thấy ấu trùng ruồi giấm có giá trị LC50 cao hơn so với nhộng sau khi phơi nhiễm CCC. Điều này có thể do ở giai đoạn nhộng, quá trình trao đổi chất diễn ra mạnh, nhưng không tiêu thụ thức ăn mà sử dụng dinh dưỡng tích trữ từ ấu trùng. Đồng thời, nhộng không bài tiết nên độc tố không được đào thải, dẫn đến LC50 thấp hơn so với ấu trùng. Sự gia tăng thời gian phát triển từ ấu trùng đến trưởng thành cùng với nồng độ CCC cao hơn cho thấy hóa chất này làm chậm quá trình phát triển của ruồi giấm so với nhóm chứng. Đây có thể là chiến lược thích nghi giúp ruồi đối phó với môi trường chứa thuốc qua nhiều thế hệ. Mặt khác, CCC có thể gây tác động tới các gen quy định sự phát triển di truyền, ví dụ như làm biểu hiện quá mức gen *dSir2* (một gen quy định sự tổng hợp protein *dSir2* tương đồng với protein *Sir2* của nấm men và *SIRT1* của con người) gây ra sự kéo dài tuổi thọ ở ruồi giấm.^{6,7} Ngoài ra, CCC có thể ảnh hưởng đến các gen phát triển di truyền, điển hình là kích hoạt quá mức *dSir2* - một gen liên quan đến kéo dài tuổi thọ ở ruồi giấm. CCC cũng có thể tác động đến con đường cảm biến dinh dưỡng TOR, gây đột biến hoặc ức chế các gen trong con đường này, dẫn đến kéo dài thời gian phát triển của ruồi giấm và một số loài khác. Kết quả cho thấy tiếp xúc lâu dài với CCC, ngay cả ở nồng độ thấp, làm giảm khả năng sinh sản của ruồi giấm thế hệ F7, với mức suy giảm rõ rệt hơn ở nồng độ cao.

Nguyên nhân có thể do CCC làm tăng sản xuất ROS (chất phản ứng oxy hóa) trong tinh hoàn ruồi giấm. Bình thường, ROS duy trì ở mức tối ưu để hỗ trợ tế bào gốc tăng sinh, biệt hóa và tồn tại ổn định - điều đã được chứng minh qua nhiều nghiên cứu trên ruồi giấm và mô hình thực nghiệm khác, bao gồm cả con người.^{8,9} Những nghiên cứu này cho thấy rằng việc sản xuất một lượng lớn ROS có thể đẩy nhanh quá trình biệt hóa của các tế bào gốc, làm giảm số lượng các tế bào gốc dòng mầm (GSCs) do biệt hóa sớm ở đỉnh của tinh hoàn, từ đó trực tiếp gây giảm lượng tinh trùng trưởng thành ở tinh hoàn ruồi giấm.¹⁰ Ngoài ra, CCC có khả năng hoạt động như một chất gây rối loạn nội tiết nhằm tác động vào thụ thể của hoocmon Ecdysone (EcRs) – chất điều hòa trung tâm của quá trình biến thái và phát triển của côn trùng.¹¹ Một vài nghiên cứu đã chỉ ra ecdysone ở ruồi giấm tương tự như các hoocmon steroid ở động vật có vú (như hoocmon estradiol ở người).¹² 20-hydroxyecdysone (20E) – chất chuyển hóa có hoạt tính của các ecdysone được tạo ra bởi các yếu tố kích thích ở ruồi giấm trưởng thành gắn với cRsc có trong GSCs buồng trứng và các tế bào u nang lân cận (CySCs) ở tinh hoàn ruồi giấm, nhằm duy trì số lượng và chức năng của tế bào gốc ở các vị trí này.¹³ Như vậy giả thiết thứ hai đã giải thích độc tính sinh sản của CCC khi chất này tác động lên EcRs, làm giảm trực tiếp số lượng CySCs đồng thời làm giảm lượng GSCs ở tinh hoàn ruồi được trưởng thành và buồng trứng ruồi cái. Từ đó, nó gây giảm số lượng tinh trùng ở tinh hoàn ruồi được trưởng thành và làm chậm lại quá trình hình thành giao tử ở ruồi cái trưởng thành.¹⁴ Đối chiếu với nghiên cứu độc tính sinh sản của CCC trên mô hình chuột đực, (CCC gây cản trở sự bài tiết protein của mào tinh và cản trở quá trình trưởng thành của tinh trùng trong quá trình di chuyển qua mào tinh dẫn đến giảm khả năng thụ tinh của tinh trùng) chúng tôi nhận thấy CCC có thể

tác động tới khả năng sinh sản của ruồi giấm qua một vài cơ chế được nêu trên.¹⁵

Qua việc tiến hành đánh giá 2 chỉ số chiều cao đóng kén và thời gian xuất hiện ruồi trưởng thành, kết quả mà chúng tôi đưa ra đã thể hiện rằng ở các nồng độ thấp CCC có thể thực sự không gây ảnh hưởng đến tỷ lệ sống sót hay chiều cao đóng kén của ruồi giấm. Tuy nhiên, chúng tôi cũng nghi ngờ rằng ở nồng độ thuốc cao hơn, CCC có thể tác động rõ rệt hơn tới các chỉ số này.

Thí nghiệm đánh giá ảnh hưởng của CCC lên não ấu trùng ruồi giấm đã chỉ ra rằng chỉ số chiều cao đóng kén và thời gian xuất hiện ruồi trưởng thành cho thấy CCC ở nồng độ thấp không ảnh hưởng đến tỷ lệ sống sót hay chiều cao đóng kén. Tuy nhiên, ở nồng độ cao hơn, CCC có thể tác động rõ rệt đến các chỉ số này. Ngoài ra, thí nghiệm cũng cho thấy CCC gây thoái hóa thần kinh trên não ấu trùng ruồi giấm. Dù chưa kiểm tra trên các mô khác, chúng tôi dự đoán CCC có thể gây tổn thương tế bào ở nhiều cơ quan khác. Điều này có thể do CCC chuyển hóa trong tế bào, làm tăng mạnh **ROS (gốc oxy hóa O_2^-)**, dẫn đến phản ứng với RNA, DNA, protein, gây đứt gãy DNA trong tế bào.

V. KẾT LUẬN

Việc phơi nhiễm Chlormequat Chloride lâu dài qua nhiều thế hệ gây giảm khả năng sinh sản, trì hoãn thời gian phát triển của ruồi giấm. Ngoài ra, gây đứt gãy DNA trong tế bào não ấu trùng. Kết quả này cho thấy tích tụ theo thời gian Chlormequat Chloride sẽ gây độc tế bào não và quá trình phát triển trên mô hình ruồi giấm, tạo tiền đề cho nghiên cứu sâu hơn về cơ chế gây độc trên mô hình động vật bậc cao.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Tolbert NE. (2-Chloroethyl) Trimethylammonium Chloride and Related Compounds as Plant Growth Substances. II.

Effect on Growth of Wheat. *Plant Physiol.* 1960; 35(3): 380-385. doi:10.1104/pp.35.3.380.

2. Zhang H, Sun X, Dai M. Improving crop drought resistance with plant growth regulators and rhizobacteria: Mechanisms, applications, and perspectives. *Plant Commun.* 2021; 3(1): 100228. doi:10.1016/j.xplc.2021.100228.

3. Sørensen MT, Danielsen V. Effects of the plant growth regulator, chlormequat, on mammalian fertility. *Int J Androl.* 2006; 29(1): 129-133. doi:10.1111/j.1365-2605.2005.00629.x.

4. Huang D, Wu S, Pan Y, et al. The effects of chlormequat chloride on the development of pubertal male rats. *Environmental Toxicology and Pharmacology.* 2016; 47: 92-99. doi:10.1016/j.etap.2016.09.002.

5. Jennings BH. *Drosophila* – a versatile model in biology & medicine. *Materials Today.* 2011; 14(5): 190-195. doi:10.1016/S1369-7021(11)70113-4.

6. Frankel S, Ziafazel T, Rogina B. dSir2 and longevity in *Drosophila*. *Exp Gerontol.* 2011; 46(5): 391-396. doi:10.1016/j.exger.2010.08.007.

7. Roy A, Mandi M, Roy S. Rotenone Induced Alterations in Lifecycle Parameters and Compound Eye Morphology of *Drosophila Melanogaster*. *Toxicology International.* 2017; 24: 46-63. doi:10.22506/ti/2017/v24/i1/149034.

8. Owusu-Ansah E, Banerjee U. Reactive oxygen species prime *Drosophila* haematopoietic progenitors for differentiation. *Nature.* 2009; 461(7263): 537-541. doi:10.1038/nature08313.

9. Ong C, Lee QY, Cai Y, et al. Silver nanoparticles disrupt germline stem cell maintenance in the *Drosophila* testis. *Sci Rep.* 2016; 6:20632. doi:10.1038/srep20632.

10. Yamanaka N, Rewitz KF, O'Connor MB. Ecdysone control of developmental transitions:

lessons from *Drosophila* research. *Annu Rev Entomol.* 2013; 58: 497-516. doi:10.1146/annurev-ento-120811-153608.

11. Tiwari AK, Pragya P, Ravi Ram K, Chowdhuri DK. Environmental chemical mediated male reproductive toxicity: *Drosophila melanogaster* as an alternate animal model. *Theriogenology.* 2011; 76(2): 197-216. doi:10.1016/j.theriogenology.2010.12.027.

12. Abolaji A, Kamdem DrJP, Farombi O, Rocha JB. *Drosophila melanogaster* as a Promising Model Organism in Toxicological Studies: A Mini Review. *Archives of Basic and Applied Medicine.* 2013; 1:33-38.

13. Ishimoto H, Sakai T, Kitamoto T.

Ecdysone signaling regulates the formation of long-term courtship memory in adult *Drosophila melanogaster*. *PNAS.* 2009; 106(15): 6381-6386. doi:10.1073/pnas.0810213106.

14. Ameku T, Yoshinari Y, Fukuda R, Niwa R. Ovarian ecdysteroid biosynthesis and female germline stem cells. *Fly (Austin).* 2017; 11(3): 185-193. doi:10.1080/19336934.2017.1291472.

15. Torner H, Blottner S, Kuhla S, Langhammer M, Alm H, Tuchscherer A. Influence of chlorocholinechloride-treated wheat on selected in vitro fertility parameters in male mice. *Reproductive Toxicology.* 1999; 13(5): 399-404. doi:10.1016/S0890-6238(99)00032-5.

Summary

EFFECT OF CHLORMEQUAT CHLORIDE ON FERTILITY AND LIFE HISTORY PARAMETERS IN AN EXPERIMENTAL DROSOPHILA MELANOGASTER MODEL

Chlormequat Chloride (CCC) is a plant growth regulator widely used to enhance crop yield and value. However, excessive use of CCC may have adverse effects on human health. In this study, we utilized the fruit fly (*Drosophila melanogaster*) model to evaluate the effects of CCC on reproductive ability and certain growth indices. The results showed that CCC reduced reproductive capacity and prolonged developmental time but did not affect survival rate or puparium height. Additionally, this study demonstrated that CCC induces neurodegeneration in fruit fly brain cells through a DNA breakage mechanism. Thus, the fruit fly model can be used for toxicological screening, for elucidating the interactions between toxic substances and biological systems while providing a foundation for further research on higher animal models.

Keywords: Chlormequat Chloride, *Drosophila melanogaster*, fruit fly brain cells.