

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

**VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC
VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM**

HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ



ĐẶNG ĐĂNG KHOA

**“ĐÁNH GIÁ ẢNH HƯỞNG CỦA CROM (VI) LÊN SỰ PHÁT
TRIỂN CỦA CÁ NGỰA VÀN (*DANIO RERIO*)”**

**TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ
CÔNG NGHỆ SINH HỌC
Mã số : 9420201**

Tp. Hồ Chí Minh – Năm 2024

Công trình được hoàn thành tại: Học viện Khoa học và Công nghệ,
Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

Người hướng dẫn khoa học:

1. Người hướng dẫn 1: PGS. TS. Nguyễn Thị Phương Thảo
Viện Sinh học Nhiệt đới-Viện Hàn lâm KH & CN Việt Nam
2. Người hướng dẫn 2: TS. Lê Thành Long
Viện Sinh học Nhiệt đới-Viện Hàn lâm KH & CN Việt Nam

Phản biện 1: PGS. TS. Nguyễn Thị Thương Huyền

Phản biện 2: PGS. TS. Nguyễn Thanh Bình

Phản biện 3: PGS. TS. Ngô Xuân Quảng

Luận án được bảo vệ trước Hội đồng đánh giá luận án tiến sĩ cấp Học viện họp tại Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam vào hồi giờ, ngày tháng năm

Có thể tìm hiểu luận án tại:

1. Thư viện Học viện Khoa học và Công nghệ
2. Thư viện Quốc gia Việt Nam

MỞ ĐẦU

1. Tính cấp thiết của luận án

Trong nghiên cứu về độc tính của kim loại Crom, đã có nhiều nghiên cứu được tiến hành bằng nhiều mô hình động vật khác nhau như: chuột, thỏ và các động vật có vú bậc cao khác. Tuy nhiên, cho đến nay chưa có bất kỳ nghiên cứu nào thực hiện sử dụng mô hình cá ngựa vằn (*Danio rerio*) để nghiên cứu một cách toàn diện chi tiết về sự ảnh hưởng của các nồng độ Crom (VI) đối với sự phát triển của loài này. Đặc biệt, độc tính Crom (VI) ảnh hưởng đến sự biểu hiện của các gene liên quan đến apoptosis và kháng oxy hóa của cá ngựa vằn. Sự thiếu hụt thông tin về tác động của Crom (VI) tác động lên sự phát triển cá ngựa vằn có thể gây thiếu cơ sở cho các nghiên cứu về độc tính của kim loại nặng và tác động của chúng đối với sức khỏe con người trong tương lai.

Do đó, nghiên cứu “Đánh giá ảnh hưởng của Crom (VI) lên sự phát triển của cá ngựa vằn (*Danio rerio*)” đã sử dụng mô hình cá ngựa vằn để xác định các nồng độ Crom (VI) ảnh hưởng đến sự phát triển của cá ngựa vằn ở các giai đoạn khác nhau, bao gồm giai đoạn phôi, giai đoạn ấu trùng và giai đoạn trưởng thành. Sự phân tích trong nghiên cứu này bao gồm việc quan sát và đánh giá hình thái, cấu trúc mô, tỷ lệ sống, nhịp tim cũng như đánh giá sự thay đổi biểu hiện của các gene liên quan đến quá trình apoptosis và kháng oxy hóa.

2. Mục tiêu nghiên cứu của luận án

Mục tiêu của nghiên cứu này là sử dụng mô hình cá ngựa vằn (*Danio rerio*) để đánh giá tác động của Crom (VI) lên quá trình phát triển của cá ngựa vằn ở các giai đoạn khác nhau, bao gồm ở giai đoạn phôi, ấu trùng và cá trưởng thành. Các mục tiêu cụ thể như sau:

- Đánh giá được tác động của Crom (VI) đối với sự phát triển của cá ngựa vằn thông qua tỷ lệ sống, nhịp tim và chiều dài ấu trùng cá.

- Xác định được sự thay đổi biểu hiện của các gene đáp ứng stress oxy hóa và apoptosis, cũng như thay đổi trong cấu trúc một số nội quan ở cá ngựa vằn khi tiếp xúc với Crom (VI).

3. Các nội dung nghiên cứu chính của luận án

- Đánh giá tác động của Crom (VI) đối với sự phát triển của cá ngựa vằn ở các giai đoạn khác nhau, bao gồm giai đoạn phôi, giai đoạn ấu trùng. Đồng thời xác định hàm lượng tích tụ Crom (VI) trong quá trình phát triển của cá ngựa vằn.

- Đánh giá sự tăng hay giảm biểu hiện các gene đáp ứng và các gene kiểm soát tổn thương của cá ngựa vằn khi tiếp xúc với Crom (VI).

- Đánh giá sự tác động của Crom (VI) đến cấu trúc các nội quan (ruột, gan và buồng trứng) của cá ngựa vằn.

CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN

1.1. Tổng quan về Crom (VI)

Phần này giới thiệu về tính chất và ứng dụng của Crom trong hoạt động sản xuất của con người. Liệt kê các hướng nghiên cứu về độc tính của Crom lên động vật thí nghiệm.

1.2. Tổng quan về cá ngựa vằn (*Danio rerio*)

Phần này giới thiệu nguồn gốc và quá trình phát triển của cá ngựa vằn.

1.3. Các nghiên cứu về ảnh hưởng của kim loại nặng lên cá ngựa vằn

Phần này liệt kê các nghiên cứu trong và ngoài nước trong việc sử dụng cá ngựa vằn như mô hình thử nghiệm độc tính.

CHƯƠNG 2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Vật liệu

2.1.1. Cá ngựa vằn (*Danio rerio*)

Cá ngựa vằn nuôi tại Viện Sinh học nhiệt đới được sử dụng trong các thí nghiệm. Cá được duy trì trong chu kỳ sáng tối (14 giờ sáng và 10 giờ tối),

nhệt độ nước được duy trì ở mức $28 \pm 0.5^\circ\text{C}$. Cá được cho ăn 2 lần/ngày bằng *artemia* vào buổi sáng và thức ăn viên công nghiệp vào buổi chiều.

2.1.2. Thiết bị và dụng cụ cần thiết

Thiết bị và dụng cụ sử dụng trong đề tài bao gồm: máy PCR, máy Realtime RT-PCR, cân kỹ thuật, máy đo pH, hệ thống điện di Western blot...

2.1.3. Môi trường và hóa chất sử dụng

Hóa chất được sử dụng trong đề tài bao gồm: cồn, kháng thể Western blot, Potassium Dichromate, 2x qPCR SyGreen 1-Step Go Hi-ROX kit...

2.2. Nội dung và phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Định danh cá ngựa vằn

2.2.1.1. Phương pháp nghiên cứu đặc điểm hình thái

Trong nghiên cứu này, sử dụng phương pháp quan sát ghi nhận số liệu trong nghiên cứu kết hợp với phương pháp so sánh, đối chiếu với các tài liệu đã công bố. Dụng cụ và thiết bị hỗ trợ: Máy ảnh, thước đo (10cm).

2.2.1.2. Phương pháp sinh học phân tử

Phương pháp này giúp xác định sự tương đồng hoặc độ khác biệt giữa trình tự gene của cá ngựa vằn (*Danio rerio*) và các nhóm cá khác trên Genbank.

2.2.2 Phương pháp nuôi, phối và thu phôi cá ngựa vằn

2.2.2.1. Chuẩn bị môi trường nuôi phôi 1x E3

Môi trường 1x E3 được dùng để nuôi phôi và ấu trùng cá ngựa vằn. Để pha môi trường nuôi phôi 1x E3, pha loãng 16,5 mL dung dịch 50x E3 trong 1000mL H₂O. Thêm 100 μ L Metylen Blue 1%.

2.2.2.2. Phối cá

Phần này giới thiệu phương pháp phối cá hiệu quả tại phòng thí nghiệm.

2.2.2.3. Thu phôi

Phần này giới thiệu phương pháp thu phôi hiệu quả tại phòng thí nghiệm.

2.2.3. Môi trường Crom (VI)

Potassium Dichromate ($K_2Cr_2O_7$, độ tinh khiết N 99%) được mua từ hãng Merc của Đức. Để chuẩn bị dung dịch gốc có nồng độ 1000 $\mu\text{g/L}$ được điều chế bằng cách pha Potassium Dichromate với dung dịch $1 \times E3$ được pha ở nội dung 2.2.2.1, sau đó pha loãng dung dịch gốc về các nồng độ: 0,1 $\mu\text{g/L}$; 1 $\mu\text{g/L}$; 3,125 $\mu\text{g/L}$; 6,25 $\mu\text{g/L}$; 12,5 $\mu\text{g/L}$; 25 $\mu\text{g/L}$; 50 $\mu\text{g/L}$ và 100 $\mu\text{g/L}$ để sử dụng cho các nội dung thí nghiệm.

2.2.4. Đánh giá sự ảnh hưởng của Crom (VI) lên sự phát triển của phôi và ấu trùng cá ngựa vằn

2.2.4.1. Xác định sự ảnh hưởng của Crom (VI) lên tỷ lệ sống của phôi và ấu trùng cá ngựa vằn

Phôi cá ngựa vằn sau một giờ thụ tinh được cho tiếp xúc với dung dịch chứa Crom (VI) ở các nồng độ lần lượt là: 0,1 $\mu\text{g/L}$; 1 $\mu\text{g/L}$; 3,125 $\mu\text{g/L}$; 6,25 $\mu\text{g/L}$; 12,5 $\mu\text{g/L}$; 25 $\mu\text{g/L}$; 50 $\mu\text{g/L}$; 100 $\mu\text{g/L}$ và môi trường $1 \times E3$ làm đối chứng. Ở mỗi nồng độ, nuôi 50 phôi trong đĩa Petri 100mm. Mỗi nồng độ thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Cách 24 giờ thay môi trường một lần, các phôi chết được loại bỏ để không làm ảnh hưởng đến các phôi sống còn lại.

Sử dụng kính hiển vi soi nổi để quan sát và ghi nhận số phôi và ấu trùng chết, phôi nở, phôi và ấu trùng phát triển bất thường. Số liệu ở ngày thứ 1 đến ngày thứ 7 được ghi nhận. Dựa vào số liệu đã ghi nhận ở các nồng độ so sánh với nhóm đối chứng để tính tỷ lệ phôi và ấu trùng sống sót ở các nồng độ Crom (VI).

2.2.4.2. Xác định sự ảnh hưởng của Crom (VI) lên nhịp tim của ấu trùng cá ngựa vằn

Ở ngày thứ 3, cấu trúc tim được hoàn thiện, phôi nở thành ấu trùng và được đưa về nhiệt độ phòng để ổn định trong 30 phút. Mỗi nồng độ chọn 10

ấu trùng ngẫu nhiên và quan sát dưới kính hiển vi soi nổi để ghi nhận lại nhịp tim mỗi lần đếm nhịp tim trong 15 giây lập lại 3 lần.

Số liệu ở ngày thứ 3 đến ngày thứ 7 được ghi nhận. Dựa vào số liệu đã ghi nhận ở các nồng độ so sánh với nhóm đối chứng để phân tích mức độ ảnh hưởng của các nồng độ Crom (VI) lên nhịp tim ấu trùng cá ngựa vằn.

2.2.4.3. Xác định sự ảnh hưởng của Crom (VI) lên chiều dài cơ thể ấu trùng cá ngựa vằn

Ở các ngày lần lượt là ngày thứ 3, ngày thứ 4, ngày thứ 5, ngày thứ 6 và ngày thứ 7, mỗi nồng độ chọn 10 ấu trùng cá ngẫu nhiên để đo chiều dài cơ thể. Sử dụng máy ảnh kỹ thuật số gắn trên kính hiển vi soi nổi, ấu trùng cá ngựa vằn được chụp hình ấu trùng cá ngựa vằn song song với thước kẻ. Phần mềm Image J 1.53c (Viện Y tế Quốc gia, Bethesda, MD, Hoa Kỳ) được sử dụng để đo chiều dài cơ thể ấu trùng cá ngựa vằn theo trục cơ thể.

Dựa vào dữ liệu đã ghi nhận ở các nồng độ so sánh với nhóm đối chứng để phân tích mức độ ảnh hưởng của các nồng độ Crom (VI) lên chiều dài cơ thể ấu trùng cá ngựa vằn.

2.2.5. Đánh giá sự thay đổi biểu hiện các gene đáp ứng và các gene kiểm soát tổn thương của cá ngựa vằn (*Danio rerio*) khi tiếp xúc với Crom (VI)

2.2.5.1. Đánh giá biểu hiện mức phiên mã các gene

RNA tổng của cá ngựa vằn (*Danio rerio*) được tách bằng kit E.Z.N.A.[®] Total RNA Kit I (R6834-02, Omega Bio-tek, Norcross, GA, USA).

Biểu hiện mức độ phiên mã của các gene *cdk4*, *cdk6*, *sod1*, *sod2*, *mt2*, *gadd45a*, *gadd45g*, *caspase 3*, *bax*, *bcl2* được đánh giá bằng phương pháp Realtime RT-PCR. Gene *etef* (eukaryotic translation elongation factor 1 alpha 1, like 1) được sử dụng để làm đối chứng. Giá trị C_t của mẫu được tính bằng phương pháp $2^{-\Delta\Delta C_t}$

Phương pháp $2^{-\Delta\Delta Ct}$ (Livak) (Real-time PCR Applications Guide – Biorads) được áp dụng để đánh giá mức độ biểu hiện tương đối sự biểu hiện gene.

Kết quả nghiên cứu này là sự tăng hay giảm theo tỷ lệ của gene đích trong mẫu thí nghiệm tương quan với mẫu chuẩn và được chuẩn hóa theo sự biểu hiện của gene tham chiếu. Chuẩn hóa sự biểu hiện của gene đích theo gene tham chiếu bù đắp cho những khác biệt về lượng mẫu. Trong nghiên cứu này, gene *etef* được sử dụng làm gene tham chiếu để đánh giá mức độ biểu hiện của gene *cdk4*, *cdk6*, *sod1*, *sod2*, *mt2*, *gadd45a*, *gadd45g*, *caspase 3*, *bax*, *bcl2*.

Phương pháp Western Blot để đánh giá mức độ biểu hiện của các protein liên quan đến chu kỳ tế bào như Caspase 3, Bcl2 và Bax. Protein Gapdh được sử dụng làm đối chứng.

Kết quả Western Blot trong nghiên cứu này được hiển thị bằng phương pháp hiện phim sử dụng kit AUTOMATIC X-RAY (873498, Fujifilm, Nhật Bản). Các vạch protein phát huỳnh quang trên màng PVDF được hiển thị âm bản trên phim. Phần mềm ImageJ (National Institutes of Health, Bethesda, Mỹ) được dùng để đo cường độ các vạch protein trong kết quả hiện phim

2.2.6. Đánh giá hàm lượng tích tụ Crom (VI) trong cơ thể cá ngựa vằn (*Danio rerio*)

Cá ngựa vằn trưởng thành được nuôi trong môi trường nhiễm Crom (VI) với nồng độ lần lượt là LC_{50} và $LC_{6,25}$.

Mỗi nồng độ nuôi 300 con cá ngựa vằn trưởng thành. Ở các ngày lần lượt là ngày 5, ngày 10, ngày 15, ngày 20, ngày 30, sử dụng 50 cá ngựa vằn trưởng thành ở mỗi nồng độ mang phân tích. Đối chứng là cá ngựa vằn trưởng thành không tiếp xúc với Crom (VI). Mẫu cá ngựa vằn được gửi công ty TNHH phân tích kiểm nghiệm Việt Tín phân tích.

Hàm lượng Crom (VI) tích tụ trong cơ thể cá ngựa vằn qua các ngày: ngày thứ 5, ngày thứ 10, ngày thứ 15, ngày thứ 20, ngày thứ 30 so sánh với đối chứng là cá ngựa vằn không tiếp xúc với Crom (VI).

2.2.7. Đánh giá sự ảnh hưởng Crom (VI) lên cấu trúc nội quan (ruột, gan và buồng trứng)(*Danio rerio*)

Để đánh giá ảnh hưởng của Crom (VI) lên cấu trúc một số nội quan, cá ngựa vằn ở các nhóm thí nghiệm xử lý Crom (VI) với nồng độ LC_{50} tại các thời điểm ngày thứ 5, ngày thứ 10, ngày thứ 20, ngày thứ 30 và nhóm đối chứng được thu nhận và cố định trong paraformaldehyde. Các mẫu này được gửi đến Đại học Y dược thành phố Hồ Chí Minh để thực hiện cắt lát mô. Các mẫu mô nội quan cá được nhuộm với HE (Hematoxylin and Eosin) và quan sát dưới kính hiển vi quang học ở các độ phóng đại khác nhau.

Đánh giá các biến đổi hoặc thay đổi cấu trúc xảy ra trong mẫu như hình dạng, kích thước, tổ chức tế bào và các biến đổi cấu trúc khác có thể được ghi nhận và đánh giá.

2.2.8. Phương pháp thống kê

Trong nghiên cứu này, các thí nghiệm được tiến hành lập lại 03 lần và các kết quả thí nghiệm được trình bày ở dạng $\bar{x} \pm SD$. Sử dụng phần mềm Sigma Plot của SYSTAT Software (Mỹ) để xử lý kết quả thí nghiệm và thông qua phân tích ANOVA để đánh giá sự khác biệt giữa các nghiệm thức $p < 0,05$.

CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Định danh cá ngựa vằn (*Danio rerio*)

Cá ngựa vằn có 05 sọc màu chạy dọc theo thân từ sau đầu đến cuối tia vây đuôi. Khi quan sát hình dáng cơ thể cá, chúng ta thấy có sự khác biệt giữa cá đực và cá cái. Cá đực thường có thân mình mỏng hơn, trong khi đó, cá cái thường có thân mình dày hơn đặc biệt trong giai đoạn mang thai thì bụng cá cái phình to rõ rệt do đựng trứng. Trên vây hậu môn có sọc rõ rệt, có 10-12 tia vây. Cá không có đường bên, ở

miệng cá có râu nhỏ. Cá trưởng thành có chiều dài $3,82 \pm 0,08$ cm. Các đặc điểm này giúp phân biệt giữa cá đực và cá cái trong loài cá và thường có vai trò quan trọng trong quá trình sinh sản và giao phối chúng.

Cấu trúc phôi trong suốt, khối noãn hoàng đều đặc và vị trí nằm giữa, dòng sinh chất chảy đều trong phôi. Phôi có đường kính $45 \pm 0,5$ μ M. Các cơ quan: mắt, tai ngoài, tim, cơ, sắc tố, noãn hoàng và tuần hoàn máu trong cơ thể cá được quan sát và ghi nhận ở ngày thứ 7.

Kết quả điện di PCR cho thấy sản phẩm khuếch đại của 2 gene *cytochrome b* và *cytochrome c* có kích thước lần lượt là 1141 bp và 712 bp. Kết quả so sánh với trình tự *cytochrome b* của cá ngựa vằn trong thí nghiệm với trình tự *cytochrome b* của cá ngựa vằn trên ngân hàng gene (NC002333) có mức độ tương đồng lớn hơn 99%. Ngoài ra kết quả phân tích tương đồng cho thấy cá ngựa vằn trong nghiên cứu này và cá ngựa vằn trong ngân hàng gene có mức độ tương đồng đối với gene *cytochrome c* lớn hơn 99%.



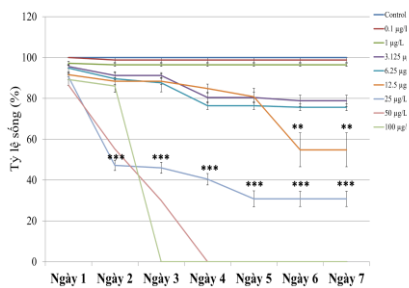
Hình 3.1. Hình mô tả hình dáng cá ngựa vằn đực và cái (A: Cá ngựa vằn đực, B: Cá ngựa vằn cái)

Kết quả phân tích cây phát sinh loài cho thấy mẫu cá ngựa vằn sử dụng trong thí nghiệm này nằm cùng nhóm với cá ngựa vằn trên ngân hàng gene (*Danio rerio*).

3.2. Ảnh hưởng của Crom (VI) lên sự phát triển của phôi và ấu trùng cá ngựa vằn (*Danio rerio*)

3.2.1. Ảnh hưởng của Crom (VI) lên tỷ lệ sống của phôi và ấu trùng cá ngựa vằn (*Danio rerio*)

Kết quả nghiên cứu hiện tại cho thấy Crom (VI) 25 $\mu\text{g/L}$ là nồng độ cao nhất mà phôi cá ngựa vằn có thể phát triển đến ngày thứ 7 có ý nghĩa quan trọng trong việc hiểu được cách Crom (VI) ảnh hưởng đến sự phát triển của loài cá này. Sự trì hoãn trong quá trình nở của phôi cá ngựa vằn khi tiếp xúc với Crom (VI) ở ngưỡng nồng độ 25 $\mu\text{g/L}$ đến



Hình 3.2. Thể hiện tỷ lệ % phôi sống ở các nồng độ Crom (VI)

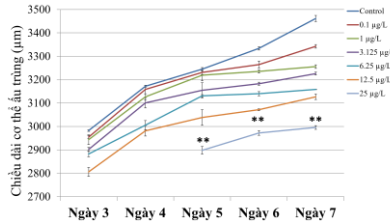
ngày thứ 5 cũng là một phát hiện quan trọng. Điều này cho thấy Crom (VI) không chỉ ảnh hưởng đến tỷ lệ sống của phôi và ấu trùng cá ngựa vằn mà còn tác động đến thời gian phát triển, ảnh hưởng đến sự trì hoãn trong quá trình này.

Các dị tật do Crom (VI) gây ra thường thấy như: tổn thương ở cột sống và hệ thống xương của ấu trùng cá ngựa vằn. Đây cũng là nguyên nhân gây giảm tỷ lệ sống của phôi và ấu trùng cá ngựa vằn.

Các kết quả này cung cấp thông tin cơ bản về cách Crom (VI) có thể tác động lên sự phát triển của cá ngựa vằn ở giai đoạn phôi và ấu trùng và đây là nền tảng cho việc nghiên cứu và thực hiện các biện pháp bảo vệ môi trường và hệ sinh thái trong môi trường nước bị ô nhiễm Crom (VI)

3.2.2. Ảnh hưởng của Crom (VI) đến chiều dài cơ thể ấu trùng cá ngựa vằn (*Danio rerio*)

Kích thước cơ thể của ấu trùng cá ngựa vằn được đánh giá khi chúng tiếp xúc với các nồng độ khác nhau của Crom (VI) (0,1 µg/L; 1 µg/L; 3,125 µg/L; 6,25 µg/L; 12,5 µg/L và 25 µg/L). Kết quả thí nghiệm thể hiện ở Hình 3.3 cho thấy các nồng độ Crom (VI) cao đã gây ra sự giảm kích thước cơ thể ấu trùng cá ngựa vằn.



Hình 3.3. Ảnh hưởng của Crom (VI) lên chiều dài cơ thể ấu trùng cá ngựa vằn.

Trong nhóm đối chứng, chiều dài cơ thể ấu trùng cá ngựa vằn tăng từ 2982 µm lên 3461 µm theo thời gian từ ngày thứ 3 đến ngày thứ 7. Trong quá trình phát triển, ấu trùng ở nồng độ Crom (VI) từ 0,1 µg/L đến 12,5 µg/L có chiều dài cơ thể ngắn hơn so với nhóm đối chứng. Sự chậm nở của phôi ở nồng độ Crom (VI) 25 µg/L dẫn đến sự tăng trưởng thấp của ấu trùng cá ngựa vằn từ ngày thứ 5 đến ngày thứ 7, với kích thước thay đổi từ 2898 µm đến 2996 µm. Những kết quả này cho thấy sự gia tăng nồng độ Crom (VI) đã gây ra mức độ ức chế đáng kể cho sự phát triển của ấu trùng cá ngựa vằn.

Những thay đổi về kích thước phôi dẫn đến sự bất thường trong quá trình nở. Trong nghiên cứu hiện tại, việc gia tăng nồng độ Crom (VI) đã tác động đến kích thước cơ thể ấu trùng cá ngựa vằn, cụ thể là làm giảm chiều dài ấu trùng cá ngựa vằn từ ngày thứ 3 đến ngày thứ 7. Đặc biệt sự giảm kích thước rõ rệt nhất được quan sát thấy xảy ra ở nhóm tiếp xúc Crom (VI) 25 µg/L.

3.2.3. Ảnh hưởng của Crom (VI) đến nhịp tim ấu trùng cá ngựa vằn

Kết quả từ Hình 3.4 cho thấy, nhịp tim của ấu trùng cá ngựa vằn bị tác động bởi nồng độ Crom (VI) trong các nhóm thí nghiệm ở các ngày khác nhau.

Ở ngày thứ 3, đã quan sát thấy sự tăng nhịp tim khi ấu trùng cá ngựa vằn tiếp xúc với

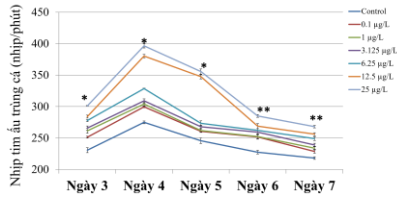
Crom (VI) ở các nồng độ khác nhau so với nhóm đối chứng. Nhịp tim tăng từ 2 đến 89 nhịp/phút ở các nồng độ Crom (VI) từ 0,1 $\mu\text{g/L}$ đến 25 $\mu\text{g/L}$ so với nhóm đối chứng, sự khác biệt này có ý nghĩa về mặt thống kê ($p < 0,05$).

Từ ngày thứ 3 đến ngày thứ 7, nhịp tim trung bình của ấu trùng cá ngựa vằn tiếp tục tăng theo nồng độ Crom (VI) tương tự như ngày thứ 3. Nhịp tim của ấu trùng cá ngựa vằn tăng từ 33 nhịp/phút đến 193,6 nhịp/phút, ở các nồng độ Crom (VI) từ 0,1 $\mu\text{g/L}$ đến 25 $\mu\text{g/L}$ so với nhóm đối chứng, sự khác biệt này có ý nghĩa về mặt thống kê ($p < 0,05$).

Từ kết quả cho thấy, ấu trùng cá ngựa vằn tiếp xúc Crom (VI) ngay từ giai đoạn phôi, Crom (VI) đã xâm nhập vào các cấu trúc bên trong phôi và tích lũy trong các nội quan của ấu trùng cá ngựa vằn. Crom (VI) được vận chuyển đến các cơ quan, tích lũy và gây rối loạn hoạt động các cơ quan, trong đó có tim.

Sau khi thoát nang, ấu trùng cá ngựa vằn hấp thụ Crom (VI) trực tiếp qua mang, qua da, qua miệng dẫn tới hàm lượng Crom (VI) xâm nhập vào cơ thể ấu trùng cá ngày càng tăng gây căng thẳng cho sự phát triển của ấu trùng và làm tăng nhịp tim của chúng.

3.3. Crom (VI) ảnh hưởng đến sự thay đổi biểu hiện các gene đáp ứng và các gene kiểm soát tổn thương lên sự phát triển của cá ngựa vằn (*Danio rerio*)



Hình 3.4. Ảnh hưởng của crom (VI) lên nhịp tim ấu trùng cá ngựa vằn.

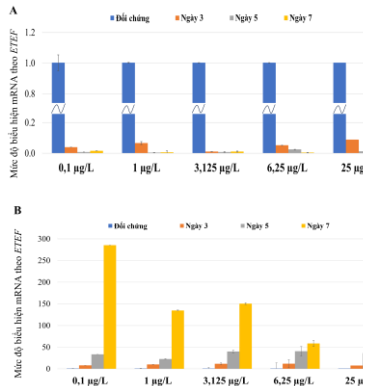
3.3.1. Gene *gadd45a* và *gadd45g*

Ở ngày thứ 3, sự biểu hiện của gene *gadd45a* giảm mạnh ở tất cả các nhóm thí nghiệm khi tiếp xúc với Crom (VI). Sự biểu hiện của gene này tiếp tục duy trì ở mức thấp ở ngày thứ 5 và ngày thứ 7 và không có sự khác biệt giữa các nhóm thí nghiệm. Điều này chứng tỏ rằng Crom (VI) đã gây ảnh hưởng đến biểu hiện của gene *gadd45a* trong thời gian thử nghiệm.

Kết quả nghiên cứu cho thấy nồng độ Crom (VI) càng cao đã ảnh hưởng xấu đến biểu hiện gene *gadd45a* gây ra sự giảm biểu hiện của gene này. Sự giảm biểu hiện này do sự ảnh hưởng của Crom (VI) đến quá trình điều tiết gene của tế bào, dẫn đến giảm đi sự phản ứng của tế bào trước sự tổn thương gene và khả năng sửa chữa tổn thương do Crom (VI) gây ra. Kết quả phân tích Real time RT-PCR (Hình 3.5 B) cho thấy sự biểu hiện mRNA của gene *gadd45g* không có sự khác biệt giữa các nhóm thí nghiệm và nhóm đối chứng.

Ở ngày thứ 3, sự biểu hiện mRNA của gene *gadd45g* đã tăng ở tất cả các nhóm thí nghiệm trong quá trình tiếp xúc với Crom (VI). Sự tăng biểu hiện này là một phản ứng của tế bào trước tác động của Crom (VI) và liên quan đến việc tế bào phản ứng với sự tổn thương do Crom (VI) gây ra.

Ở ngày thứ 5, sự biểu hiện của gene *gadd45g* tiếp tục tăng so với ngày thứ 3 ở tất cả các nhóm thí nghiệm, nhưng không có sự khác biệt đáng kể giữa các nhóm thí nghiệm. Điều này chứng tỏ rằng tác động của Crom (VI)



Hình 3.5. Mức độ biểu hiện mRNA của gene *gadd45a* và *gadd45g* theo etef (A- gene *gadd45a*, B- gene *gadd45g*)

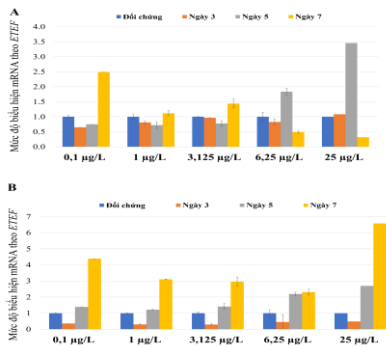
vẫn tiếp tục gây tổn thương và gene *gadd45g* vẫn được kích hoạt để chống lại tổn thương do Crom (VI) gây ra.

Tuy nhiên, sự khác biệt trong biểu hiện mRNA của gene *gadd45g* giữa các nhóm thí nghiệm và nhóm đối chứng thể hiện rõ ở ngày thứ 7. Ở ngày thứ 7, sự biểu hiện mRNA của gene này giảm so với ngày 5 ở các nhóm thí nghiệm, trong khi đó các nhóm thí nghiệm xử lý Crom (VI) nhận thấy sự tăng mạnh trong biểu hiện của gene này.

3.3.2. Gene *sod1* và *sod2*

Ở ngày thứ 3, sự biểu hiện mRNA của gene *sod1* giảm ở nồng độ Crom (VI) 0,1 $\mu\text{g/L}$ so với nhóm đối chứng. Tuy nhiên, ở các nồng độ Crom (VI) cao hơn (1 $\mu\text{g/L}$; 3,125 $\mu\text{g/L}$; 6,25 $\mu\text{g/L}$ và 25 $\mu\text{g/L}$) không có sự khác biệt đáng kể trong biểu hiện mRNA của gene này. Ở Ngày thứ 5, sự biểu hiện mRNA của gene *sod1* tăng mạnh ở nồng độ Crom (VI) 6,25 $\mu\text{g/L}$ và 25 $\mu\text{g/L}$, trong khi các nhóm còn lại không có sự khác

biệt đáng kể trong biểu hiện mRNA của gene này. Mặc dù vậy, sự biểu hiện mRNA của gene *sod1* tăng mạnh ở nồng độ Crom (VI) 6,25 $\mu\text{g/L}$ và 25 $\mu\text{g/L}$ ở ngày thứ 5 lại giảm mạnh ở ngày thứ 7, trong khi đó các nhóm còn lại đều nhận thấy sự tăng biểu hiện của gene này ở ngày thứ 7. Kết quả này cho thấy rằng Crom (VI) có tác động biểu hiện của gene *sod1* ở một số nồng độ và thời điểm khác nhau. Sự biểu hiện của gene *sod1* có thể được tăng lên hoặc giảm xuống tùy thuộc vào nồng độ Crom (VI) và thời gian tiếp xúc.



Hình 3.6. Ảnh hưởng của Crom (VI) lên sự biểu hiện phiên mã của gen *sod1* (A) và *sod2* (B) trên phôi cá ngựa vằn

Ở ngày thứ 3, sự biểu hiện mRNA của gene *sod2* đều giảm ở tất cả các nhóm thí nghiệm so với nhóm đối chứng. Tuy nhiên, không có sự khác biệt trong biểu hiện của gene này giữa các nhóm thí nghiệm.

Ở ngày thứ 5, cho thấy sự biểu hiện của gene này tăng so với ngày thứ 3. Trong đó, sự biểu hiện mRNA của gene *sod2* của nồng độ Crom (VI) 6,25 $\mu\text{g/L}$ và 25 $\mu\text{g/L}$ cao hơn 3 nhóm thí nghiệm còn lại.

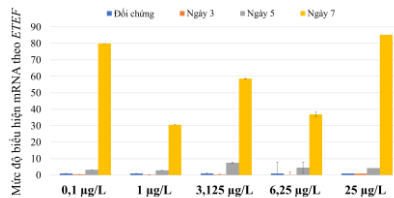
Sự khác biệt trong biểu hiện mRNA của gene *sod2* giữa các nhóm thí nghiệm và nhóm đối chứng thể hiện rõ ở ngày thứ 7. Ở ngày thứ 7, sự biểu hiện mRNA của gene *sod2* tăng so với các nhóm thí nghiệm ở ngày thứ 5 trừ nồng độ Crom (VI) 6,25 $\mu\text{g/L}$.

Kết quả này cho thấy rằng Crom (VI) có tác động biểu hiện mRNA của gene *sod2* ở các nồng độ và thời điểm khác nhau. Sự biểu hiện mRNA của gene *sod2* có thể tăng lên ở một số nồng độ Crom (VI) và giảm xuống ở các nồng độ khác và điều này có thể liên quan đến cách Crom (VI) tác động đến quá trình điều tiết của gene này trong tế bào.

3.3.3. Gene *mt2*

Ở ngày thứ 5, sự biểu hiện mRNA của gene *mt2* đều tăng ở các nhóm thí nghiệm, nhưng không có sự khác biệt trong biểu hiện mRNA của gene *mt2* trong các nhóm thí nghiệm.

Sự tăng biểu hiện này có thể liên quan đến một phản ứng tự bảo vệ của cơ thể ấu trùng cá ngựa vằn để chống lại sự tác động của Crom (VI) đã xâm nhập vào cơ thể ấu trùng cá ngựa vằn từ ngày thứ 3. Gene *mt2* được kích hoạt để tham gia vào quá trình loại bỏ hoặc kiểm soát độc tính của Crom (VI) trong cơ thể ấu trùng cá ngựa vằn.

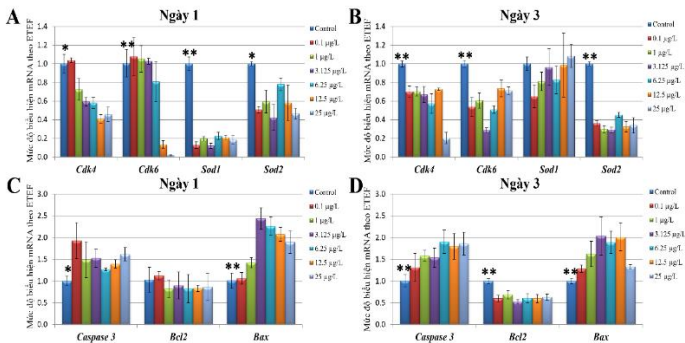


Hình 3.7. Ảnh hưởng của Crom (VI) lên sự biểu hiện phiên mã của gen *mt2* trên phôi cá ngựa vằn

Ở ngày thứ 7, sự biểu hiện mRNA của gene *mt2* tăng so với ngày thứ 5 và có sự khác biệt trong biểu hiện mRNA của gene *mt2* giữa các nhóm thí nghiệm và nhóm đối chứng. Điều này chứng tỏ rằng Crom (VI) có ảnh hưởng đến biểu hiện mRNA của gene *mt2* sau một thời gian tiếp xúc và sự tăng biểu hiện này có thể đóng vai trò quan trọng trong cơ chế tự bảo vệ của cơ thể để chống lại độc tính của Crom (VI).

Kết quả này cho thấy, gene *mt2* đóng vai trò quan trọng trong quá trình bảo vệ cơ thể ấu trùng cá ngựa vằn chống lại độc tính của Crom (VI) gây ra và biểu hiện của gene này tăng theo thời gian và dưới sự ảnh hưởng của nồng độ Crom (VI). Gene *mt2* đóng vai trò quan trọng trong việc bảo vệ cơ thể ấu trùng cá ngựa vằn chống lại sự tác động có hại của Crom (VI) và bảo vệ cơ thể khỏi ảnh hưởng của kim loại này.

3.3.4. Biểu hiện phiên mã của các gene liên quan đến chu kỳ tế bào, ức chế oxy hóa và quá trình apoptosis



Hình 3.8. Sự biểu hiện phiên mã các gene liên quan đến chu trình tế bào (*cdk4* và *cdk6*), kháng oxy hóa (*sod1* và *sod2*) và apoptosis (*caspase 3*, *bcl2*, *bax*).

Kết quả đã chứng minh rằng, sau khi tiếp xúc với Crom (VI) ở nồng độ bằng hoặc cao hơn 1 µg/L (Hình 3.7), sự biểu hiện của các bản phiên mã *cdk4* giảm khi so sánh với nhóm đối chứng. Tuy nhiên, tất cả các nhóm thí

nghiệm tiếp xúc với Crom (VI) đều cho thấy biểu hiện *cdk4* thấp hơn so với nhóm đối chứng ở ngày thứ 3. Tương tự, biểu hiện của *cdk6* cũng giảm rõ rệt ở những nhóm thí nghiệm tiếp xúc với Crom (VI) ở các nồng độ 12,5 $\mu\text{g/L}$ crom và 25 $\mu\text{g/L}$ ở ngày thứ 1. Tuy nhiên, ở ngày thứ 3, đã có sự phục hồi trong biểu hiện *cdk6* trong các nhóm này. Các nhóm thí nghiệm tiếp xúc với Crom (VI) cũng cho thấy biểu hiện của *cdk4* thấp hơn so với nhóm đối chứng ở ngày thứ 3.

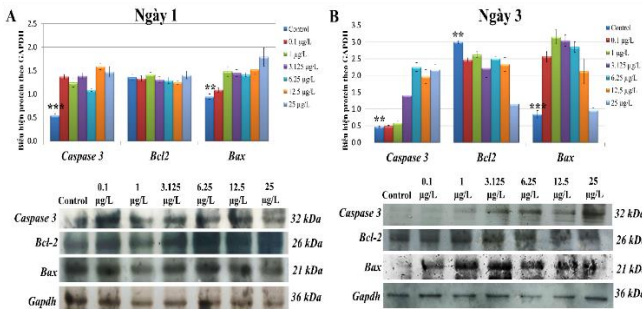
Các nhóm thí nghiệm tiếp xúc với Crom (VI) có mức độ biểu hiện của *sod1* đã tăng lên ở ngày thứ 3 sau khi biểu hiện giảm vào ngày thứ 1. Biểu hiện phiên mã *sod2* ở các nhóm thí nghiệm tiếp xúc với Crom (VI) lại thấp hơn so với nhóm chứng ở ngày thứ 1 và ngày thứ 3.

Kỹ thuật Real-time RT-PCR cũng đã cho thấy rằng biểu hiện phiên mã của *caspase 3* và *bax* tăng lên ở phôi cá ngựa vằn tiếp xúc với Crom (VI) vào ngày thứ 1 (Hình 3.8 C). Tuy nhiên, không có sự khác biệt đáng kể về biểu hiện phiên mã của *bcl2* giữa nhóm đối chứng và các nhóm tiếp xúc với Crom (VI). Sự tăng biểu hiện của *caspase 3* và *bax* ở phôi cá ngựa vằn đã tiếp xúc với Crom (VI) trong 3 ngày và sự điều chỉnh giảm biểu hiện của *bcl2* cũng được xác định trong các phôi này (Hình 3.8 D).

3.3.5. Ảnh hưởng của Crom (VI) lên sự biểu hiện một số gene liên quan đến apoptosis và kháng oxy hóa trên cá ngựa vằn

Kết quả phân tích cho thấy phôi cá ngựa vằn ở ngày thứ 1 (Hình 3.9) ở nhóm nồng độ Crom (VI) 0,1 $\mu\text{g/L}$ biểu hiện tăng Bax so với nhóm đối chứng, biểu hiện tăng này tiếp tục nhận thấy ở nồng độ Crom (VI) 1 $\mu\text{g/L}$, nồng độ Crom (VI) 3,125 $\mu\text{g/L}$ và nồng độ Crom (VI) 6,25 $\mu\text{g/L}$. Sự biểu hiện của protein này không có sự khác biệt về mặt thống kê đối chứng và nồng độ Crom (VI) 0,1 $\mu\text{g/L}$. Hơn nữa trong ngày thứ 1, sự biểu hiện trong một số protein liên quan đến quá trình apoptosis cũng được đánh giá bằng phương pháp Western blot.

Phương pháp Western blot được áp dụng để phân tích sự biểu hiện của protein Caspase 3 giữa các nhóm thí nghiệm. Kết quả phân tích cho thấy phôi cá ở ngày thứ 1 (hình 3.9 A) cho thấy ở nồng độ Crom (VI) 0,1 $\mu\text{g/L}$ biểu hiện tăng Caspase 3 so với nhóm đối chứng, biểu hiện tăng này tiếp tục nhận thấy ở nồng độ Crom (VI) 1 $\mu\text{g/L}$ và 3,125 $\mu\text{g/L}$. Sự biểu hiện của protein này không có sự khác biệt về mặt thống kê nồng độ Crom (VI) lần lượt là 0,1 $\mu\text{g/L}$, 1 $\mu\text{g/L}$ và 3,125 $\mu\text{g/L}$. Sự biểu hiện của protein Caspase 3 trong phôi cá ở nồng độ 6,25 $\mu\text{g/L}$ có xu hướng giảm so với các nhóm thí nghiệm, tuy nhiên vẫn cao hơn so với nhóm đối chứng. Hơn nữa trong Ngày thứ 1, sự biểu hiện trong một số protein liên quan đến sự chết theo chương trình cũng được đánh giá bằng phương pháp Western blot.



Hình 3.9. Sự biểu hiện của các protein liên quan đến quá trình apoptosis theo Gapdh ở ngày thứ 1 và ngày thứ 3. A: ngày thứ 1; B: ngày thứ 3.

Phương pháp western blot được áp dụng để phân tích sự biểu hiện của protein Bax giữa các nhóm thí nghiệm. Kết quả phân tích cho thấy phôi cá ở ngày thứ 3 (hình 3.8 B) ở nhóm nồng độ Crom (VI) 0,1 $\mu\text{g/L}$ biểu hiện tăng Bax so với nhóm đối chứng, biểu hiện tăng này tiếp tục nhận thấy ở nhóm nồng độ Crom (VI) 1 $\mu\text{g/L}$, nhóm nồng độ Crom (VI) 3,125 $\mu\text{g/L}$ và nhóm nồng độ Crom (VI) 6,25 $\mu\text{g/L}$. Sự biểu hiện của protein này không có sự khác biệt về mặt thống kê nhóm nồng độ Crom (VI) 1 $\mu\text{g/L}$ và nhóm nồng độ Crom (VI) 6,25 $\mu\text{g/L}$. Hơn nữa trong ngày thứ 3, sự biểu hiện trong một

số protein liên quan đến sự chết theo chương trình cũng được đánh giá bằng phương pháp Western blot.

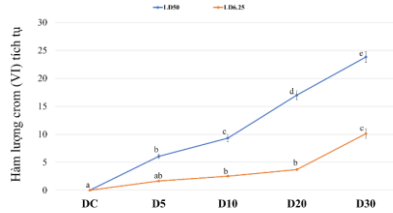
Phương pháp Western blot được áp dụng để phân tích sự biểu hiện của protein Bcl2 giữa các nhóm thí nghiệm. Kết quả phân tích cho thấy phôi cá ở ngày 3 (Hình 3.8 B) cho thấy ở nhóm nồng độ Crom (VI) 0.1 $\mu\text{g/L}$ và nhóm đối chứng sự biểu hiện của protein này không có sự khác biệt về mặt thống kê, biểu hiện tăng nhận thấy ở nhóm nồng độ Crom (VI) 1 $\mu\text{g/L}$, nhóm nồng độ Crom (VI) 3.125 $\mu\text{g/L}$ và nhóm nồng độ Crom (VI) 6.25 $\mu\text{g/L}$ so với đối chứng. Hơn nữa trong ngày thứ 3, sự biểu hiện trong một số protein liên quan đến sự chết theo chương trình cũng được đánh giá bằng phương pháp Western blot.

Phương pháp western blot được áp dụng để phân tích sự biểu hiện của protein caspase 3 giữa các nhóm thí nghiệm. Kết quả phân tích cho thấy phôi cá ở ngày 3 (hình 3.8 B) cho thấy nhóm nồng độ Crom (VI) 0,1 $\mu\text{g/L}$ và nhóm đối chứng sự biểu hiện của protein này không có sự khác biệt về mặt thống kê, nhóm nồng độ Crom (VI) 1 $\mu\text{g/L}$ biểu hiện tăng Caspase 3 so với nhóm đối chứng, biểu hiện tăng này tiếp tục nhận thấy nhóm nồng độ Crom (VI) 3,125 $\mu\text{g/L}$ và nhóm nồng độ Crom (VI) 6,25 $\mu\text{g/L}$. Sự biểu hiện của protein Caspase 3 trong phôi cá ở nhóm nồng độ Crom (VI) 6,25 $\mu\text{g/L}$ có xu hướng tăng mạnh so với các nhóm thí nghiệm. Hơn nữa trong ngày thứ 3, sự biểu hiện trong một số protein liên quan đến sự chết theo chương trình cũng được đánh giá bằng phương pháp western blot.

3.4. Ảnh hưởng của Crom (VI) lên sự phát triển của cá ngựa vằn trưởng thành

3.4.1. Sự tích tụ Crom (VI) trong cơ thể cá ngựa vằn (*Danio rerio*)

Hàm lượng Crom (VI) tích tụ trong cơ thể cá ngựa vằn trong hai nhóm thí nghiệm được tính toán và thể hiện ở Hình 3.10. Kết quả chứng minh rằng cá ngựa vằn tiếp xúc càng lâu trong môi trường nước có chứa Crom (VI) thì hàm lượng Crom (VI) tích tụ trong toàn bộ cơ thể cá ngựa vằn ngày càng tăng.



Hình 3.10. Hàm lượng Crom (VI) tích tụ trong cơ thể cá ngựa vằn trưởng thành

Nhóm thí nghiệm thứ nhất: Ở cùng nồng độ LC_{50} , kết quả phân tích cho thấy hàm lượng tích tụ Crom (VI) tăng theo thời gian, với mức cao nhất đo được ở ngày 30 ($23,9 \pm 1,0$ mg/kg), hàm lượng Crom (VI) này cao gấp 4 lần so với ngày 5 ($6,1 \pm 0,4$ mg/kg), cao gấp 2,5 lần so với ngày 10 ($9,3 \pm 0,6$ mg/kg) và cao gấp 1,5 lần so với ngày 20 ($17 \pm 0,8$ mg/kg). Trong nhóm đối chứng tỷ lệ Crom (VI) tích lũy trong cơ thể cá là 0%, chứng tỏ lượng Crom (VI) không tích tụ trong cơ thể cá ngựa vằn.

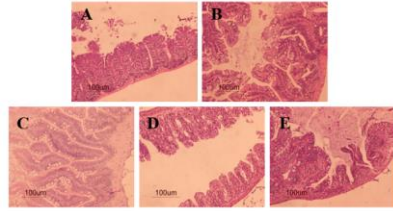
Nhóm thí nghiệm thứ hai: Ở cùng nồng độ $LC_{6,25}$, lượng Crom (VI) tích tụ ở ngày 5, ngày 10 và ngày 20 lần lượt là $1,7 \pm 0,1$ mg/kg; $2,5 \pm 0,1$ mg/kg; $3,7 \pm 0,0$ mg/kg. Tuy nhiên không có sự khác biệt thống kê giữa các nghiệm thức trên. Kết quả phân tích cho thấy hàm lượng tích tụ Crom (VI) tăng theo thời gian tiếp xúc cao nhất ở ngày 30 ($10,1 \pm 0,9$ mg/kg) và cao gấp 5,9 lần so với ngày 5 ($1,7 \pm 0,1$ mg/kg), cao gấp 4,1 lần so với ngày 10 ($2,5 \pm 0,1$ mg/kg) và cao gấp 2,7 lần so với ngày 20 ($3,7 \pm 0,0$ mg/kg). Đối với lô đối chứng tỷ lệ là 0%, chứng tỏ lượng Crom (VI) không tích tụ trong cơ thể cá ngựa vằn.

3.4.2. Đánh giá ảnh hưởng của Crom (VI) lên cấu trúc mô cá ngựa vằn (*Danio rerio*)

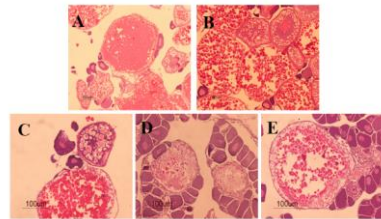
Kết quả cắt lát mô ruột Hình 3.11 được quan sát dưới kính hiển vi cho thấy cấu trúc mô ruột của cá ngựa vẫn có sự thay đổi như các lông nhung tăng theo thời gian tiếp xúc với Crom (VI) ở nồng độ LC_{50} . Ở ngày 5 đến ngày 20 (Hình 3.11 B, 3.10 C, 3.11 D) lông nhung tăng so với nhóm đối chứng và dày đặc nhất ở ngày 30 (Hình 3.11 F). Ngoài ra, các mô mỡ trong mô ruột giảm theo thời gian tiếp xúc với Crom (VI).

Kết quả cắt lát mô buồng trứng (Hình 3.12) được quan sát bằng kính hiển vi cho thấy cấu trúc mô buồng trứng cá ngựa vẫn có sự thay đổi khi tiếp xúc với Crom (VI) ở nồng độ LD_{50} . Thời gian tiếp xúc càng lâu thì tỷ lệ các hạt lipid càng giảm. Ở ngày 5 đến ngày 30 tỷ lệ các hạt lipid giảm đều so với nhóm đối chứng.

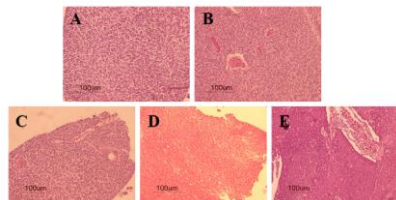
Kết quả cắt lát mô gan (Hình 3.13) được quan sát bằng kính hiển vi cho thấy cấu trúc mô gan cá ngựa vẫn có sự thay đổi khi tiếp xúc với Crom (VI) ở nồng độ LD_{50} . Ở ngày 5 đến ngày 30 xuất hiện các ổ viêm và ổ viêm càng nặng theo thời gian tiếp xúc với Crom (VI).



Hình 3.11. Hình cắt lớp mô ruột cá ngựa vẫn



Hình 3.12. Hình cắt lớp mô buồng trứng cá ngựa vẫn



Hình 3.13. Hình cắt lớp mô gan cá ngựa vẫn

KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

Kết luận

Ảnh hưởng của Crom (VI) lên sự phát triển của cá ngựa vằn bao gồm tỷ lệ sống của phôi, nhịp tim, hàm lượng Crom (VI) tích tụ trong cơ thể cá, sự tác động của Crom (VI) lên cấu trúc nội quan, cũng như sự thay đổi biểu hiện các gene liên quan đến quá trình stress oxy hóa và apoptosis được thể hiện cụ thể như sau:

Theo kết quả nghiên cứu, đối với việc tiếp xúc với Crom (VI) ở nồng độ thấp (0,1 $\mu\text{g/L}$ và 1 $\mu\text{g/L}$), không có tác động đáng kể nào ảnh hưởng đến sự sống sót của phôi trong suốt quá trình phát triển phôi. Tuy nhiên, việc tiếp xúc với Crom (VI) ở nồng độ cao hơn ($\geq 3,125 \mu\text{g/L}$) đã làm giảm tỷ lệ sống của phôi cá ngựa vằn từ ngày thứ 1 đến ngày thứ 7. Những phát hiện này góp phần hiểu biết của chúng ta về cách Crom (VI) ảnh hưởng đến sự phát triển của phôi và ấu trùng cá ngựa vằn. Tại nồng độ Crom (VI) 25 $\mu\text{g/L}$ là nồng độ cao nhất mà phôi cá ngựa vằn có thể phát triển (đến ngày thứ 7). Tiếp xúc Crom (VI) ở nồng độ thấp hơn, quá trình nở của phôi diễn ra vào ngày thứ 3, trong khi quá trình nở của phôi ở nồng độ 25 $\mu\text{g/L}$ vào ngày thứ 5. Sự gia tăng nồng độ Crom (VI) có liên quan đến việc giảm chiều dài cơ thể của ấu trùng cá ngựa vằn từ ngày thứ 3 đến ngày thứ 7; điều này đặc biệt xảy ra ở nồng độ Crom (VI) 25 $\mu\text{g/L}$. Kết quả này cho thấy nồng độ Crom (VI) cao gây ra sự trì hoãn trong quá trình nở phôi của cá ngựa vằn. Ngoài ra, nhịp tim tăng rõ rệt đã được quan sát thấy khi phơi nhiễm với Crom (VI), đặc biệt là ở nồng độ cao.

Việc tiếp xúc với Crom (VI) trong thời ngắn hoặc dài làm thay đổi biểu hiện của một số gene liên quan đến quá trình apoptosis và các gene đáp ứng kháng oxy hóa. Những kết quả cho thấy rằng việc tiếp xúc với Crom (VI) làm thay đổi các biểu hiện phiên mã, điều này phá vỡ hệ thống chống

oxy hóa trong ấu trùng cá ngựa vằn. Crom (VI) làm suy yếu các biểu hiện phiên mã, do đó dẫn đến sự chậm phát triển của phôi cá ngựa vằn. Các phân tích Realtime RT-PCR và Western blot đã chứng minh rằng việc tiếp xúc với Crom (VI) gây ra sự điều chỉnh tăng của Caspase 3 và Bax, và sự điều chỉnh giảm Bcl2. Ngoài ra, phôi tiếp xúc với Crom (VI) cho thấy quá trình điều hòa tăng Bax và điều hòa giảm Bcl2. Những kết quả này chỉ ra rằng sự gia tăng quá trình apoptosis xảy ra ở phôi và ấu trùng khi tiếp xúc với Crom (VI), chính điều này đã làm giảm sự phát triển của chúng.

Cá ngựa vằn tiếp xúc với Crom (VI) có khả năng tích tụ Crom (VI) trong cơ thể và tăng theo thời gian tiếp xúc. Sự tích tụ Crom (VI) trong cơ thể cá ngựa vằn gây ảnh hưởng đến cấu trúc nội quan dẫn đến viêm gan, tăng lông nhung trong ruột làm cho lông nhung trở nên dày đặc hơn và giảm các hạt lipid trong mô buồng trứng.

Kiến nghị

Phân tích sự biểu hiện các gene liên quan đến quá trình apoptosis và kháng oxy hóa trên cá ngựa vằn (*Danio rerio*) trưởng thành.

Đánh giá Crom (VI) lên cấu trúc và chức năng mô khác như thận, tinh hoàn.

NHỮNG ĐÓNG GÓP MỚI CỦA LUẬN ÁN

Những đóng góp mới của luận án bao gồm:

- Nghiên cứu này đã chỉ ra Crom (VI) có khả năng gây ức chế sự phát triển và làm chậm quá trình thoát nang của phôi cá ngựa vằn ở giai đoạn sớm: giảm tỷ lệ sống, sự thay đổi trong chiều dài cơ thể ấu trùng cá ngựa vằn, nhịp tim tăng và các hình thái dị tật ở cá.

- Bên cạnh đó, Crom (VI) gây ra sự sai hỏng trong cấu trúc một số nội quan quan trọng như ruột, gan và buồng trứng của cá ngựa vằn. Điều này làm nổi bật tác động trực tiếp vào sức khỏe nội tiết và hệ tiêu hóa của cá.

- Đặc biệt, Crom (VI) gây nên sự thay đổi biểu hiện của một số gene liên quan quá trình apoptosis.

CÁC CÔNG TRÌNH CÔNG BỐ CỦA TÁC GIẢ

Dang, K. D., Ho, C. N. Q., Van, H. D., Dinh, S. T., Nguyen, Q. T. T., Nguyen, T. T. T., ... & Le, L. T. (2023). Hexavalent Chromium Inhibited Zebrafish Embryo Development by Altering Apoptosis-and Antioxidant-Related Genes. *Current Issues in Molecular Biology*, 45(8), 6916-6926. (SCI, Q2).

Dang Dang Khoa, Nguyen Thi Phuong Thao, Le Thanh Long. Effects of hexavalent chromium on structure of liver, intestine and ovary of Zebra fish. *International Journal of Biosciences*. 2023, 23 (3): pp 164-169.