



DOI:10.22144/ctu.jvn.2022.045

## NGHIÊN CỨU HOẠT TÍNH GÂY ĐỘC CỦA CAO CHIẾT ETHANOL TỪ TRÂM ỒI (*Lantana camara* L.) TRÊN RUỒI GIẤM (*Drosophila melanogaster*)

Tăng Huyền Cơ<sup>1</sup> và Trần Thanh Mến<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Học viên Cao học, Ngành Công nghệ Sinh học, Khóa 26, Trường Đại học Cần Thơ

<sup>2</sup>Khoa Khoa học Tự nhiên, Trường Đại học Cần Thơ

\*Người chịu trách nhiệm về bài viết: Trần Thanh Mến (email: ttmen@ctu.edu.vn)

### Thông tin chung:

Ngày nhận bài: 10/10/2021

Ngày nhận bài sửa: 09/11/2021

Ngày duyệt đăng: 22/04/2022

### Title:

Toxicity study of ethanol extract from *Lantana camara* L. in *Drosophila melanogaster*

### Từ khóa:

*Drosophila melanogaster*, esterase, hoạt tính gây độc, phosphatase, trâm ổi

### Keywords:

*Drosophila melanogaster*, esterase, *Lantana camara* L., phosphatase, toxicity

### ABSTRACT

In this study, *Drosophila melanogaster* was used to evaluate the toxicity of ethanol extract from lantana (*Lantana camara* L.). Preliminary chemical composition screening determined the presence of alkaloids, flavonoids, saponins, phenolics, tannins, terpenoids, cardiac glycosides, and steroids-triterpenoids in the plant extract. The amount of polyphenols and flavonoids were determined with the values of 123±2.30 mg GAE/g extract and 309±2.17 mg QE/g extract, respectively. Lantana extract has the potential of causing toxicity on *Drosophila melanogaster* at different concentrations. At 250 mg/mL concentration, the mortality rate of *Drosophila melanogaster* was the highest at 84.4±8.39%, and the LD<sub>50</sub> value was determined 140 mg/mL. At concentration of 20 mg/mL the effects of lantana extract on the growth and development of fruit flies was demonstrated through a lower total number of formed pupae compared with the control treatment, the mortality rate of 55.9±2.09% at the pupal stage as well as the decrease in the ability to store energy components including carbohydrates, lipids, and proteins. In addition, the study also noted that lantana extract could inhibit the activity of enzymes belonging to the esterase and phosphatase groups. It is concluded that lantana is a capable plant of synthesizing secondary compounds which are toxic to fruit flies.

### TÓM TẮT

Nghiên cứu này sử dụng ruồi giấm *Drosophila melanogaster* để đánh giá độc tính của cao chiết ethanol trâm ổi. Kết quả định tính cho thấy trâm ổi có sự hiện diện alkaloids, flavonoids, saponins, phenolics, tanins, terpenoids, cardiac glycosides và steroids-triterpenoids. Polyphenols và flavonoids tổng được xác định lần lượt là 123±2,30 mg GAE/g và 309±2,17 mg QE/g cao chiết. Cao chiết trâm ổi có khả năng gây độc cho ruồi giấm ở các nồng độ khác nhau. Ở nồng độ 250 mg/mL, trâm ổi gây chết 84,4±8,39% và nồng độ gây chết 50% (LD<sub>50</sub>) được xác định là 140 mg/mL. Ở nồng độ 20 mg/mL, trâm ổi ảnh hưởng đến sự sinh trưởng và phát triển của ruồi giấm thể hiện qua số nhộng hình thành thấp hơn so với đối chứng, tỉ lệ chết ở giai đoạn nhộng 55,9±2,09%, khả năng tích trữ năng lượng như carbohydrate, lipid và protein giảm. Nghiên cứu còn ghi nhận trâm ổi có khả năng ức chế hoạt tính của các enzyme thuộc nhóm esterase và phosphatase. Từ đó cho thấy trâm ổi là thực vật có khả năng tổng hợp các hợp chất thứ cấp gây độc cho ruồi giấm.

## 1. GIỚI THIỆU

Nhiều loài thực vật có khả năng tổng hợp các hợp chất gây độc. Phần lớn các loài này thuộc họ thầu dầu (Euphorbiaceae), họ trúc đào (Apocynaceae), họ cà (Solanaceae), họ đậu (Fabaceae) và họ mã tiền (Loganiaceae) (Khánh & Hải, 2004). Nhiều nhà khoa học cho rằng có thể chiết xuất các hợp chất có độc từ thực vật để sản xuất thuốc trừ sâu sinh học (Quijano et al., 2014; Valéria et al., 2014; Riaz et al., 2018). Jiang et al. (2018) chứng minh rằng hợp chất saponins chiết xuất từ vỏ cây xà phòng (*Quillaja saponaria*) có khả năng gây độc đối với loài động vật phù du (*Daphnia magna*) và cá sọc ngựa (*Danio rerio*), từ đó nghiên cứu này cũng cho rằng cây xà phòng là loài thực vật tiềm năng để sản xuất thuốc trừ sâu sinh học. Meisyara et al. (2019) đã nghiên cứu và xác định hoạt tính diệt côn trùng của các chất chiết xuất từ các loài thực vật như *Toona sinensis*, *Saurauia bracteosa*, *Azadirachta indica* và *Spodoptera litura*. Kết quả thử nghiệm cho thấy các chất chiết xuất từ bốn loài thực vật này đều có hoạt tính gây tử vong đối với mối sống trong lòng đất (*Coptotermes grestroii*) và sâu khoai (*Spodoptera litura*).

Trâm ôi (*Lantana camara* L.) là một loài thực vật hoang dại thuộc họ cỏ roi ngựa (Verbenaceae). Trâm ôi được cho là một trong mười loài thực vật hoang dại độc hại nhất trên thế giới do có khả năng gây độc đối với cả động vật và thực vật (Ghisalberti, 2000). Trâm ôi có khả năng tổng hợp các hợp chất có thể gây độc đối với động vật ăn cỏ, có tác dụng phụ đối với con người, có tác dụng kháng nấm và ức chế cả thực vật (Ambika et al., 2003). Mello et al. (2005) đã chứng minh, cao chiết từ cây trâm ôi có thể gây nhiễm độc cho phôi và làm bộ xương của chuột thí nghiệm có những biểu hiện bất thường. Thử nghiệm của Pour et al. (2011) cũng cho thấy tất cả các cao chiết ở từng bộ phận khác nhau (rễ, thân, lá, hoa và quả) của trâm ôi đều có khả năng gây độc trên ấu trùng tôm nước mặn, trong đó cao chiết từ rễ là độc nhất. Các chiết xuất phân lập từ lá và rễ của trâm ôi cũng được cho là có thể ức chế sự phát triển của giun sán, gây độc cho động vật nguyên sinh, kháng côn trùng và kháng khuẩn (Sousa et al., 2015). Nguyen et al. (2019) đã chứng minh tác dụng của cao chiết trâm ôi có khả năng kháng bọ cánh cứng (*Spodoptera exigua*) và kết quả định tính đã xác định có sự hiện diện của hợp chất polyphenols và flavonoids trong cao chiết trâm ôi. Bên cạnh đó, polyphenols và flavonoids là hai hợp chất được chứng minh có hoạt tính gây độc, ức chế sự tăng sinh của tế bào và các enzyme chuyển hóa (Galati &

O'brien, 2004; Li et al., 2014). Ngoài ra, Abdelkhalik et al. (2020) cũng đã chứng minh hợp chất polyphenols và flavonoids chiết xuất từ thực vật có khả năng kháng virus, kháng nấm và diệt côn trùng.

Ruồi giấm *Drosophila melanogaster* (*D. melanogaster*) là một đại diện của lớp côn trùng. Nhiều nghiên cứu đã sử dụng ruồi giấm để làm mô hình nghiên cứu hoạt tính gây độc của các thực vật. Nasir et al. (2013) đã khảo sát sự ảnh hưởng của cao chiết từ một loài thực vật thuộc họ gừng (*Elettariopsis slahmong*) đã cho thấy có khả năng gây độc đối với ruồi giấm. Mô hình ruồi giấm cũng đã được xây dựng để nghiên cứu độc tính của các loài thực vật như *Solanum nigrum*, *Azadirachta indica*, *Armoracia rusticana*, *Euphorbia prostrata*, *Parthenium hysterophorus*, *Chenopodium murale* và *Azadirachta indica*. Kết quả của nghiên cứu đã chứng minh cao chiết từ các loài thực vật này đều có hoạt tính gây tử vong và làm giảm hoạt động của các enzym như acetylcholinesterase (AChE), acid phosphatase (AcP), alkaline phosphatase (AkP),  $\alpha$ -carboxylesterase ( $\alpha$ -carboxyl) và  $\beta$ -carboxylesterase ( $\beta$ -carboxyl) trên ấu trùng ruồi giấm (Chowański et al., 2018; Riaz et al., 2018). Enzyme AChE,  $\alpha$ -carboxyl và  $\beta$ -carboxyl thuộc nhóm esterase, AcP và AkP thuộc nhóm phosphatase, đây là hai nhóm enzyme đóng vai trò quan trọng trong quá trình thủy phân các hợp chất hữu cơ, giải độc cocaine, thuốc trừ sâu organophosphorus (OP), thuốc trừ sâu pyrethroid, chất độc thần kinh, succinylcholine, mivacurium, ritalin, aspirin, esmolol và demerol (Olmos & Hellin, 1997; Kaida et al., 2008; Nowak et al., 2008; Masson & Lockridge, 2010; Lallès, 2019). Trong nghiên cứu này, hoạt tính gây độc của cao chiết xuất từ cây trâm ôi được đánh giá sử dụng trên mô hình ruồi giấm *D. melanogaster*.

## 2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

### 2.1. Vật liệu

Mẫu cây trâm ôi gồm thân, lá và hoa (phần trên mặt đất) được thu trên địa bàn thành phố Cần Thơ. Các đặc điểm của loài thực vật này đã được định danh theo hệ thống phân loại Cây cỏ Việt Nam, Tập III của Giáo sư Thực vật học Hộ (1999).

Ruồi giấm chủng Canton S (CS) sử dụng trong nghiên cứu được cung cấp bởi Viện Công nghệ Kyoto, Nhật Bản. Ruồi giấm được nuôi giữ trong môi trường tiêu chuẩn, trong 1 L thức ăn gồm các thành phần: agar (8 g), đường glucose (80 g), nấm men khô (40 g), bột bắp (25 g), propionic acid (3

mL) và natribenzoate (1 g). Thức ăn được đun sôi và cho vào các lọ thí nghiệm (10x4 cm), mỗi lọ 20 mL thức ăn. Ruồi giấm được nuôi giữ với số lượng 30 con cho mỗi lọ và đặt trong điều kiện nhiệt độ 25°C để sinh sản và phát triển (Mến và ctv., 2019).

## 2.2. Phương pháp

### 2.2.1. Điều chế cao chiết

Mẫu (gồm cả thân, lá và hoa) sau khi thu về được rửa sạch, cắt nhỏ và phơi khô tự nhiên. Mẫu khô được xay nhuyễn thành mẫu bột nguyên liệu. Bột nguyên liệu được cho vào túi vải và ngâm trong dung môi ethanol 96%, mẫu được ngâm 5 lần, mỗi lần ngâm khoảng 24 giờ, dịch chiết từ các lần ngâm được gom lại, cô quay đuôi dung môi thu được cao chiết ethanol tổng. Mẫu cao được bảo quản trong ngăn mát tủ lạnh ở 4°C trong quá trình sử dụng.

### 2.2.2. Định tính sơ bộ thành phần hóa học

Các nhóm hợp chất có hoạt tính sinh học như alkaloids, flavonoids, saponins, phenolics, tanins, terpenoids, coumarins, cardiac glycosides và steroids-triterpenoids được định tính sơ bộ dựa trên các phương pháp của Riaz et al. (2018) và Usta et al. (2020).

### 2.2.3. Định lượng polyphenols và flavonoids tổng

#### Định lượng polyphenols bằng thuốc thử Folin-Ciocalteu

Hàm lượng polyphenols được xác định theo phương pháp của Jiang and Chen (2020) có hiệu chỉnh. Hỗn hợp phản ứng gồm 250  $\mu$ L cao chiết (1000  $\mu$ g/mL) trong 250  $\mu$ L nước cất và 250  $\mu$ L thuốc thử Folin-Ciocalteu (1:4), lắc đều. Sau đó, 250  $\mu$ L  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  10% được thêm vào rồi đem ủ 30 phút ở 40°C trong bể điều nhiệt. Độ hấp thụ quang phổ của hỗn hợp phản ứng được đo ở bước sóng 765 nm bằng máy đo quang phổ 96 giếng (Thermo Scientific, Phần Lan). Gallic acid được sử dụng như chất đối chứng dương để xây dựng phương trình đường chuẩn. Hàm lượng polyphenols trong cao chiết trầm ôi được xác định dựa trên phương trình đường chuẩn gallic acid.

#### Định lượng flavonoids bằng thuốc thử $\text{AlCl}_3$

Hàm lượng flavonoids được xác định theo phương pháp của Ohadoma et al. (2020) có hiệu chỉnh. Hỗn hợp phản ứng gồm 200  $\mu$ L cao chiết (500  $\mu$ g/mL) trong 200  $\mu$ L nước cất và 40  $\mu$ L  $\text{NaNO}_2$  5%, lắc đều, để yên 5 phút. Sau đó, 40  $\mu$ L  $\text{AlCl}_3$  10% được thêm vào, lắc đều, để yên 6 phút. Khi thời gian để yên kết thúc, 400  $\mu$ L NaOH 1M được thêm vào và nước cất cho đủ 1 mL. Độ hấp thụ

quang phổ của hỗn hợp phản ứng được đo ở bước sóng 510 nm. Quercetin được sử dụng như chất đối chứng dương để xây dựng phương trình đường chuẩn. Hàm lượng flavonoids trong cao chiết trầm ôi được xác định dựa trên phương trình đường chuẩn quercetin.

### 2.2.4. Khảo sát khả năng gây độc của trầm ôi trên ấu trùng giai đoạn 2 ruồi giấm

Thí nghiệm được tiến hành trong điều kiện nhiệt độ 25°C, ba mươi ấu trùng ruồi giấm giai đoạn 2 được chọn thử nghiệm. Thí nghiệm được tiến hành với hai nghiệm thức: (1) cao chiết trầm ôi (nồng độ từ 0-250 mg/mL) và (2) thuốc trừ sâu thương mại Ascend (nồng độ từ 0-40  $\mu$ g/mL). Mỗi nghiệm thức được lặp lại 5 lần. Ấu trùng được nuôi giữ trong môi trường thử nghiệm sau 10 ngày, tỉ lệ tử vong được ghi nhận và tính theo công thức sau (Bagu et al., 2020):

$$\text{Tỷ lệ tử vong} = \frac{\text{Số lượng ruồi chết}}{\text{Số lượng ấu trùng khảo sát}} \times 100$$

### 2.2.5. Khảo sát ảnh hưởng của cao chiết trầm ôi đến sự sinh trưởng và phát triển của ruồi giấm

Ruồi giấm trưởng thành mới nở từ 1-2 ngày tuổi chưa qua giao phối (5 cái:8 đực) được chọn cho thử nghiệm này. Thí nghiệm được tiến hành với ba nghiệm thức: (1) nghiệm thức đối chứng sử dụng thức ăn tiêu chuẩn, (2) nghiệm thức sử dụng thuốc trừ sâu thương mại Ascend nồng độ 30  $\mu$ g/mL và (3) nghiệm thức sử dụng cao chiết trầm ôi nồng độ 20 mg/mL. Mỗi nghiệm thức được lặp lại 5 lần. Ruồi giấm được cho giao phối và đẻ trứng trong 24 giờ, ruồi bố mẹ được loại bỏ, trứng ruồi được nuôi giữ và khảo sát. Chỉ tiêu theo dõi của thí nghiệm này là: tổng số nhộng được hình thành sau 10 ngày và tỉ lệ ruồi giấm chết từ giai đoạn nhộng được ghi nhận sau 14 ngày khảo sát. Ruồi giấm trưởng thành từ khảo sát này được chọn ngẫu nhiên để thực hiện cho các khảo sát đánh giá thành phần dự trữ năng lượng và hoạt tính ức chế các enzyme thuộc nhóm esterase và phosphatase.

### 2.2.6. Đánh giá các thành phần dự trữ năng lượng

Mười lăm ruồi giấm cái được chọn ngẫu nhiên để xác định hàm lượng các thành phần dự trữ năng lượng cơ bản như carbohydrate, protein và lipid tổng. Các thành phần này đã được chứng minh có vai trò quan trọng liên quan đến sinh lý và sinh sản đối với ruồi giấm (Riaz et al., 2018; Kissoum et al., 2020). Ruồi giấm được nghiền nhuyễn trong 1000

μL nước cất để xác định hàm lượng carbohydrate và protein.

**Xác định hàm lượng carbohydrate:** Carbohydrate được xác định theo phương pháp của Neiselsen (2010), dịch mẫu sau khi nghiền nhuyễn đem ly tâm 10.000 vòng trong 15 phút. Phần dịch phía trên được sử dụng cho xác định protein, phần cặn phía dưới được rửa lại 3 lần với nước cất bằng cách ly tâm 10.000 vòng trong 15 phút. Sau đó, 3,2 mL H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> đậm đặc (được làm lạnh) được thêm vào. Tiếp theo, 50 μL phenol được thêm vào, lắc đều và để yên trong 30 phút. Độ hấp thụ quang phổ của hỗn hợp phản ứng được đo ở bước sóng 486 nm. Glucose được sử dụng như chất đối chứng dương để xây dựng phương trình đường chuẩn. Hàm lượng carbohydrate trong mẫu được xác định dựa trên phương trình đường chuẩn glucose với các nồng độ khác nhau.

**Xác định hàm lượng protein:** Xác định protein theo phương pháp của Bradford (1976), hỗn hợp phản ứng gồm 500 μL dung dịch mẫu và 1 mL thuốc thử Bradford, lắc đều và để yên 20 phút ở nhiệt độ phòng. Độ hấp thụ quang phổ của hỗn hợp phản ứng được đo ở bước sóng 595 nm. Albumin được sử dụng như chất đối chứng dương để xây dựng phương trình đường chuẩn.

**Xác định hàm lượng lipid:** Hàm lượng lipid tổng được xác định theo phương pháp của Parkash et al. (2012). Ruồi giấm thử nghiệm được cân (m<sub>1</sub>) và cho vào ống nghiệm và sấy khô ở 60°C trong 48 giờ (m<sub>2</sub>). Ruồi giấm sau khi sấy khô được xác định trọng lượng, rồi tiếp tục thêm vào 1,5 mL diethyl ether và lắc liên tục 200 vòng/phút trong 24 giờ ở nhiệt độ phòng. Sau khi lắc, dung môi được loại bỏ và ruồi giấm một lần nữa được sấy khô ở 60°C trong 24 giờ, trọng lượng cuối cùng được xác định (m<sub>3</sub>). Hàm lượng lipid tương đối được tính theo công thức sau:

$$\% \text{ lipid} = \frac{(m_2 - m_0) - (m_3 - m_0)}{(m_1 - m_0)}$$

Trong đó: m<sub>0</sub> là trọng lượng ống nghiệm

m<sub>1</sub> là trọng lượng ruồi ban đầu

m<sub>2</sub> là trọng lượng ruồi sau 48 giờ sấy khô

m<sub>3</sub> là trọng lượng ruồi cuối cùng

### 2.2.7. Đánh giá hoạt tính ức chế các enzyme thuộc nhóm esterase và phosphatase

Mười lăm ruồi giấm cái được chọn để đánh giá hoạt tính ức chế các enzyme thuộc nhóm esterase và phosphatase của cao chiết trầm ôi. Ruồi giấm được nghiền nhuyễn trong 500 μL dung dịch đệm natri

phosphate lạnh (20 mM, pH 7,0), dung dịch nghiền được ly tâm 8000 vòng ở 4°C trong 20 phút, phần dịch lỏng phía trên được sử dụng để đánh giá hoạt tính acetylcholinesterase, carboxylesterase, acid phosphatase và alkaline phosphatase.

**Xác định hoạt tính acetylcholinesterase (AChE):** Hoạt tính AChE được xác định theo phương pháp của Riaz et al. (2018). Hỗn hợp phản ứng gồm 50 μL dịch chiết ruồi giấm, 50 μL acetylcholin (2,6 mM) và 1 mL đệm sodium phosphate (20 mM, pH 7,0), được ủ ở 25°C trong 5 phút. Sau đó, thêm 400 μL muối Fast blue B 0,3% vào để dừng phản ứng. Độ hấp thụ quang phổ của hỗn hợp phản ứng được đo ở bước sóng 405 nm.

**Xác định hoạt tính carboxylesterase:** Hoạt tính α-carboxyl và β-carboxyl được xác định theo phương pháp của Riaz et al. (2018). Hỗn hợp phản ứng gồm 50 μL dịch chiết ruồi giấm, 1 mL dung dịch đệm sodium phosphate (20 mM, pH 7,0) và 50 μL α-naphtyl acetate hoặc β-naphtyl acetate. Hỗn hợp phản ứng được ủ ở 30°C trong 20 phút. Sau khi ủ, thêm 400 μL Fast blue B 0,3% vào hỗn hợp để dừng phản ứng. Để yên trong 15 phút ở 20°C. Độ hấp thụ quang phổ của hỗn hợp phản ứng được đo ở bước sóng 430 nm đối với α-carboxyl và 590 nm đối với β-carboxyl.

**Xác định hoạt tính acid phosphatase (AcP) và alkaline phosphatase (AkP):** Hoạt tính AcP và AkP được xác định theo phương pháp của Riaz et al. (2018). Hỗn hợp phản ứng gồm 50 μL dịch chiết ruồi giấm, 50 μL dung dịch đệm sodium phosphate (50 mM, pH 7,0) hoặc 50 μL dung dịch đệm Tris HCl (50 mM, pH 9,0) được thêm vào để xác định hoạt tính của AcP hoặc AkP. Cả hai hỗn hợp phản ứng được thêm 100 μL p-nitrophenyl phosphate và được ủ ở 37°C trong 15 phút, phản ứng enzyme được dừng lại bằng cách thêm dung dịch NaOH 0,5 N. Độ hấp thụ quang phổ của hỗn hợp phản ứng được đo ở bước sóng 440 nm.

Phần trăm ức chế hoạt động của enzyme được tính như sau:

$$\% \text{ ức chế enzyme} = \frac{\text{Abs mẫu đối chứng} - \text{Abs mẫu thử nghiệm}}{\text{Abs mẫu đối chứng} - \text{Abs mẫu trắng}} \times 100$$

## 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 3.1. Kết quả định tính sơ bộ thành phần hóa học có trong cao chiết trầm ôi

Kết quả định tính sơ bộ thành phần hóa học có trong cao chiết trầm ôi được trình bày ở Bảng 1. Kết quả cho thấy cao chiết trầm ôi có sự hiện diện của

các nhóm hợp chất khác nhau như alkaloids, flavonoids, saponins, phenolics, tanins, terpenoids, cardiac glycosides và steroids-triterpenoids. Tuy nhiên, không có sự hiện diện của coumarins trong cao chiết trầm ôi. Kết quả này cũng tương đồng với một số nghiên cứu trước đây về sự hiện diện của các nhóm hợp chất flavonoids, saponins, phenolics, tanins, terpenoids, cardiac glycosides và steroids-triterpenoids có trong cây trầm ôi (Sen & Chakraborty, 2010; Zaki et al., 2013; Aritonang & Wuntu, 2019).

**Bảng 1. Kết quả định tính một số nhóm hợp chất có trong cao chiết trầm ôi**

Nhóm hợp chất	Cao chiết trầm ôi
Alkaloids	+
Flavonoids	+
Saponins	+
Polyphenols	+
Tanins	+
Terpenoids	+
Coumarins	-
Cardiac glycoside	+
Steroids-triterpenoids	+

Ghi chú: (+): Có hiện diện; (-): Không hiện diện

**3.2. Polyphenols và flavonoids có trong cao chiết trầm ôi**

Hàm lượng polyphenols và flavonoids tổng trong cao chiết trầm ôi được xác định dựa vào

**Bảng 2. Tỷ lệ chết của ruồi giấm sau 10 ngày khảo sát (%)**

Nghiem thức	Nồng độ cao chiết (hàng trên) và tỉ lệ chết ruồi giấm (hàng dưới)						
	0	5	10	20	30	40	
Ascend (µg/mL)	0,00±0,00	5,56±1,92	15,6±3,85	28,9±5,09	44,4±5,09	63,3±0,00	
Trầm ôi (mg/mL)	0	50	100	150	200	250	
	0,00±0,00	16,7±6,67	43,3±6,67	57,8±10,2	68,9±5,09	84,4±8,39	

Bảng 2 cho thấy cao chiết trầm ôi có khả năng gây độc tăng theo nồng độ khảo sát. Ở nồng độ 250 mg/mL, cao chiết trầm ôi gây chết 84,4±8,39% ruồi giấm giai đoạn 2, cao hơn so với các nồng độ khảo

**Bảng 3. Nồng độ gây chết 50% (LD<sub>50</sub>) của cao chiết trầm ôi và thuốc trừ sâu Ascend**

Nghiem thức	Phương trình hồi quy tuyến tính	Giá trị LD <sub>50</sub>
Ascend (µg/mL)	y= 1,5719x-1,2125 R <sup>2</sup> = 0,9964	32,6
Trầm ôi (mg/mL)	y= 339.05x + 2.8042 R <sup>2</sup> = 0,9822	140

Nồng độ gây chết 50% (giá trị LD<sub>50</sub>) của cao chiết trầm ôi và thuốc trừ sâu Ascend cũng được xác định dựa vào phương trình hồi quy tuyến tính tương ứng là 140 mg/mL và 32,6 µg/mL (Bảng 3). Theo Reed and Muench (1938), giá trị LD<sub>50</sub> càng thấp thì độc lực của chất hoặc hợp chất càng cao. Nghiên cứu của Bagu et al. (2020) đã chứng minh cao chiết

phương trình hồi quy tuyến tính y= 0,0501x-0,0118, R<sup>2</sup>= 0,9946; y= 0,0046x+0,0218, R<sup>2</sup>= 0,9832 của chất chuẩn gallic acid và quercetin tương ứng. Kết quả cho thấy cao chiết trầm ôi có hàm lượng polyphenols và flavonoids tổng lần lượt là 123±2,30 mg GAE/g cao chiết và 309±2,17 mg QE/g cao chiết. Trong nghiên cứu trước đây của Naz and Bano (2013) cũng đã xác định hàm lượng polyphenols và flavonoids có trong lá trầm ôi. Bằng phương pháp sắc ký lỏng cao áp (HPLC) thì hàm lượng polyphenols và flavonoids có trong trầm ôi cũng được xác định bởi Sousa et al. (2015) và Tsegay and Gebremedhin (2019). Từ đó cho thấy trầm ôi có khả năng tổng hợp hai hợp chất polyphenols và flavonoids. Hai hợp chất này cũng được các nghiên cứu trước đây chứng minh là có hoạt tính gây độc cho côn trùng (Melanie et al., 2020; Bordoloi et al., 2021). Do vậy, các khảo sát tiếp theo sẽ được thực hiện để đánh giá hoạt tính gây độc của cao chiết xuất từ trầm ôi trên ruồi giấm *D. melanogaster*.

**3.3. Cao chiết trầm ôi có khả năng gây độc ấu trùng giai đoạn 2 ruồi giấm**

Kết quả khảo sát khả năng gây độc của cao chiết trầm ôi và thuốc trừ sâu thương mại Ascend được đánh giá thông qua tỉ lệ chết của ấu trùng giai đoạn 2 sau 10 ngày khảo sát và nồng độ gây chết 50% (LD<sub>50</sub>) cũng được xác định. Kết quả được trình bày ở Bảng 2 và Bảng 3.

sát còn lại. Tỷ lệ chết của ruồi giấm ở nghiệm thức thuốc sâu Ascend nồng độ 40 µg/mL thấp hơn so với cao chiết trầm ôi tại nồng độ 250 mg/mL.

methanol từ cây hải đàn (*Ximenia americana* L.) gây độc trên ruồi giấm *D. melanogaster* có giá trị LD<sub>50</sub> là 328 mg/mL, cao hơn giá trị LD<sub>50</sub> của trầm ôi (140 mg/mL) xác định được trong nghiên cứu này. Từ đó cho thấy cao chiết của cây trầm ôi có khả năng gây độc trên ấu trùng giai đoạn 2 của ruồi giấm.

**3.4. Cao chiết trầm ôi ảnh hưởng đến khả năng sinh trưởng và phát triển ruồi giấm**

Kết quả khảo sát sự ảnh hưởng của cao chiết trầm ôi đến quá trình sinh trưởng và phát triển của ruồi giấm được đánh giá sau 10 ngày khảo sát giai đoạn nhộng và sau 14 ngày khảo sát giai đoạn trưởng thành. Hoạt tính gây độc của cao chiết trầm ôi được đánh giá thông qua tỉ lệ chết của ruồi giấm trưởng thành trong tổng số nhộng hình thành hoàn toàn sau 10 ngày, kết quả thử nghiệm được trình bày ở Bảng 4.

**Bảng 4. Kết quả khảo sát sự ảnh hưởng của cao chiết đến quá trình sinh trưởng và phát triển**

Nghiệm thức	Tổng số nhộng sau 10 ngày khảo sát (Con)	Tỉ lệ ruồi chết sau 14 ngày (%)
Đối chứng	150±12,2 <sup>a</sup>	0,00±0,00 <sup>b</sup>
Ascend (30 µg/mL)	81,3±3,67 <sup>b</sup>	54,7±4,70 <sup>a</sup>
Trầm ôi (20 mg/mL)	72,8±7,86 <sup>b</sup>	55,9±2,09 <sup>a</sup>

Ghi chú: Các giá trị trung bình ± sai số chuẩn có chữ cái giống nhau trong cùng một cột thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ , Tukey).

Khi ruồi giấm được nuôi trong điều kiện có bổ sung cao chiết trầm ôi ở nồng độ 20 mg/mL, thức ăn và thuốc trừ sâu 30 µg/mL cho thấy có khả năng ức chế sự sinh trưởng và phát triển của ruồi giấm. Hiệu quả ức chế thể hiện qua tổng số ấu trùng giai đoạn nhộng hình thành sau 10 ngày khảo sát lần lượt là 72,8±7,86 và 81,3±3,67 con trong điều kiện có cao

**Bảng 5. Kết quả đánh giá thành phần dự trữ năng lượng**

Nghiệm thức	Carbohydrate (µg/mL)	Lipid (%)	Protein (µg/mL)
Đối chứng	723±1,82 <sup>a</sup>	13,0±0,80 <sup>a</sup>	96,6±1,28 <sup>a</sup>
Ascend (30 µg/mL)	524±1,05 <sup>b</sup>	5,61±0,99 <sup>b</sup>	62,8±0,38 <sup>b</sup>
Trầm ôi (20 mg/mL)	291±7,57 <sup>c</sup>	4,44±0,21 <sup>b</sup>	51,9±1,35 <sup>c</sup>

Ghi chú: Các giá trị trung bình ± sai số chuẩn có chữ cái giống nhau trong cùng một cột thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ , Tukey).

Kết quả thí nghiệm cho thấy ruồi giấm trưởng thành sau 14 ngày tuổi được nuôi trong điều kiện có cao chiết trầm ôi và thuốc trừ sâu Ascend đã giảm đáng kể các thành phần dự trữ năng lượng gồm carbohydrate, lipid và protein, kết quả được trình bày ở Bảng 5. Hàm lượng carbohydrate, lipid và protein ở nghiệm thức cao chiết trầm ôi (20 mg/mL) có giá trị lần lượt là 291±7,57 µg/mL, 4,44±0,21% và 51,9±1,35 µg/mL, các giá trị này lần lượt thấp hơn 1,80, 1,26, 1,21 lần so với nghiệm thức thuốc trừ sâu và thấp hơn 2,48, 2,93, 1,86 lần so với nghiệm thức tiêu chuẩn. Như vậy, có thể cho rằng cao chiết trầm ôi có ảnh hưởng đến các thành phần

chiết và thuốc sâu Ascend, thấp hơn so với nghiệm thức đối chứng sử dụng thức ăn tiêu chuẩn là 150±12,2 con. Sau 14 ngày khảo sát, có hơn 50% ruồi chết ở giai đoạn nhộng và không thể phát triển lên giai đoạn trưởng thành ở cả nghiệm thức có bổ sung cao chiết và thuốc sâu. Bên cạnh đó, kết quả còn cho thấy tất cả ấu trùng giai đoạn nhộng của ruồi giấm được nuôi giữ trong môi trường thức ăn tiêu chuẩn đều phát triển thành ruồi trưởng thành. Điều này chứng minh ruồi giấm phát triển bình thường khi không chịu tác động từ các tác nhân gây stress có trong thuốc sâu Ascend hay chất độc có trong cao chiết trầm ôi. Có thể các hợp chất thứ cấp có trong cao chiết thực vật ảnh hưởng đến sự phát triển biến đổi về hình thái, ngăn cản quá trình biến đổi từ giai đoạn nhộng đến giai đoạn trưởng thành. Các nghiên cứu trước đây của Ayalew (2010), Katembo et al. (2020) và Melanie et al. (2020) đã chứng minh trầm ôi là một trong những tác nhân có khả năng kiểm soát sự phát triển của côn trùng. Do vậy, kết quả của khảo sát này phù hợp với các nghiên cứu trước đây về tính độc của trầm ôi.

**3.5. Cao chiết trầm ôi làm giảm khả năng dự trữ năng lượng của ruồi giấm**

Các thành phần dự trữ năng lượng cơ bản trong cơ thể ruồi giấm *D. melanogaster* trưởng thành gồm carbohydrate, lipid và protein được đánh giá sau 14 ngày khảo sát (Bảng 5). Hàm lượng carbohydrate và protein được xác định dựa vào phương trình hồi quy tuyến tính lần lượt là  $y = 0,0011x + 0,0974$ ,  $R^2 = 0,9803$  và  $y = 0,0075x + 0,0738$ ,  $R^2 = 0,9825$  tương ứng.

dự trữ năng lượng của ruồi giấm. Năm 2010, Ayalew đã chứng minh trầm ôi có thể xua đuổi và gây tử vong đối với côn trùng *Sitophilus zeamais*. Hàm lượng các thành phần dự trữ năng lượng trong buồng trứng của ruồi giấm cũng được báo cáo là giảm khi tiếp xúc với thuốc trừ sâu Oberon (Kissoum et al., 2020).

**3.6. Kết quả đánh giá hoạt tính ức chế các enzyme thuộc nhóm esterase và phosphatase**

Sự ảnh hưởng của cao chiết trầm ôi đến hoạt tính của các enzyme thuộc nhóm esterase và phosphatase

trong cơ thể ruồi giấm trưởng thành được đánh giá thông qua phần trăm ức chế hoạt động enzyme sau 14 ngày khảo sát, được trình bày ở Bảng 6.

Kết quả thí nghiệm cho thấy tại nồng độ 20 mg/mL cao chiết trầm ôi có khả năng ức chế hoạt tính của các enzyme thuộc nhóm esterase và phosphatase, cụ thể AChE bị ức chế 58,9±6,65%, α-carboxyl bị ức chế 26,6±0,55%, β-carboxyl bị ức chế 29,9±3,60%, AcP bị ức chế 76,1±0,90% và AkP bị ức chế 38,4±7,05%. Ở nghiệm thức cao chiết trầm ôi có phần trăm ức chế hoạt tính enzyme cao hơn đáng kể so với thuốc trừ sâu ở nồng độ 30 µg/mL (AChE: 17,4±3,97%, α-carboxyl: 16,6±0,33%, β-carboxyl: 23,7±1,01%, AcP: 28,3±1,86% và AkP: 4,76±3,37%). Phần trăm ức chế hoạt tính enzyme AChE, α-carboxyl, β-carboxyl, AcP và AkP ở nghiệm thức cao chiết cao gấp 3,39, 1,60, 1,26, 2,70

và 8,07 lần so với nghiệm thức thuốc trừ sâu tương ứng. Nghiên cứu trước đây cũng đã chứng minh AChE bị ức chế bởi thuốc trừ sâu và chất độc liên quan đến hệ thần kinh. Carboxylesterase và β-carboxylesterase là các enzyme phổ biến đã được xác định trong hầu hết tất cả các sinh vật sống có chức năng bảo vệ tế bào khỏi tác nhân gây độc ngoại sinh (Cashman et al., 1996; Satoh & Hosokawa, 1998). Riaz et al. (2018) cũng cho rằng các hợp chất tự nhiên từ thực vật có khả năng ức chế hoạt động của các enzyme AChE, α-carboxyl, β-carboxyl, AcP và AkP trên mô hình ruồi giấm thí nghiệm. Do đó, tác động ức chế hoạt tính các enzyme này của cao chiết trầm ôi có thể là nguyên nhân dẫn đến làm ruồi chết. Vấn đề này cần được nghiên cứu ở các thử nghiệm tiếp theo về cơ chế tác dụng ức chế các enzyme này.

**Bảng 6. Kết quả đánh giá hoạt tính ức chế các enzyme thuộc nhóm esterase và phosphatase**

Nghiệm thức	AChE	α-carboxyl	β-carboxyl	AcP	AkP
Ascend (30 µg/mL)	17,4±3,97 <sup>b</sup>	16,6±0,33 <sup>b</sup>	23,7±1,01 <sup>a</sup>	28,3±1,86 <sup>b</sup>	4,76±3,37 <sup>b</sup>
Trầm ôi (20 mg/mL)	58,9±6,65 <sup>a</sup>	26,6±0,55 <sup>a</sup>	29,9±3,60 <sup>a</sup>	76,1±0,90 <sup>a</sup>	38,4±7,05 <sup>a</sup>

Ghi chú: Các giá trị trung bình ± sai số chuẩn có chữ cái giống nhau trong cùng một cột thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê (p>0,05, Tukey).

#### 4. KẾT LUẬN

Cao chiết trầm ôi có sự hiện diện của các hợp chất có hoạt tính gây độc như alkaloids, flavonoids, saponins, phenolics, tanins, terpenoids, cardiac glycosides và steroids-triterpenoids. Hàm lượng polyphenols và flavonoids tổng có trong cao chiết cũng được xác định với giá trị lần lượt là 123±2,30 mg GAE/g cao chiết và 309±2,17 mg QE/g cao chiết. Trên mô hình ruồi giấm *D. melanogaster*, cao chiết trầm ôi có giá trị LD<sub>50</sub> là 140 mg/mL. Ở nồng

độ 20 mg/mL, cao chiết gây ảnh hưởng đến quá trình sinh trưởng và phát triển của *D. melanogaster*. Điều này được chứng minh thông qua tỉ lệ ruồi chết tăng, các thành phần dự trữ năng lượng giảm và các enzyme thuộc nhóm esterase và phosphatase bị ức chế hoạt tính đáng kể. Các nghiên cứu sâu hơn về hoạt tính gây độc của trầm ôi là cần thiết để xác định hoạt tính kháng côn trùng của loài thực vật tiềm năng này nhằm mục đích sử dụng trong việc phòng trừ và quản lý dịch hại côn trùng.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

Hộ, P. H. (1999). *Cây cỏ Việt Nam tập III*. Thành phố Hồ Chí Minh. Nhà xuất bản Trẻ.

Khánh, T. C., & Hải P (2004). *Cây độc ở Việt Nam*. NXB Y học Hà Nội.

Mến, T. T., Trang, D. T. X., Yên, N. Đ. H., Thu, N. P. A., & Nguyễn, H. T. K. (2019). Xây dựng mô hình ruồi giấm (*Drosophila melanogaster*) để nghiên cứu dược liệu có hoạt tính kháng oxy hóa. *TNU Journal of Science and Technology*, 202(09), 165-171.

Abdelkhalek, A., Salem, M. Z., Kordy, A. M., Salem, A. Z., & Behiry, S. I. (2020). Antiviral, antifungal, and insecticidal activities of Eucalyptus bark extract: HPLC analysis of polyphenolic compounds. *Microbial Pathogenesis*, 147, 104383. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2020.104383>

Ambika, S. R., Poornima, S., Palaniraj, R., Sati, S. C., & Narwal, S. S. (2003). Allelopathic plants. 10. *Lantana camara* L. *Allelopathy Journal*, 12(2), 147-161.

Aritonang, H. F., Koleangan, H., & Wuntu, A. D. (2019). Synthesis of silver nanoparticles using aqueous extract of medicinal plants (*Impatiens balsamina* and *Lantana camara*) fresh leaves and analysis of antimicrobial activity. *International Journal of Microbiology*, 2019. <https://doi.org/10.1155/2019/8642303>

Ayalew, A. A. (2020). Insecticidal activity of *Lantana camara* extract oil on controlling maize grain weevils. *Toxicology Research and Application*, 4, 1-10. <https://doi.org/10.1177/2397847320906491>

- Bagu, G. D., Omale, S., Iorjiim, W. M., Uguru, M. O., & Gyang, S. S. (2020). Determination of LD50, fecundity and locomotor effects of methanol root extract of *Ximenia americana* Linn, in *Drosophila melanogaster*. *Asian Journal of Biochemistry, Genetics and Molecular Biology*, 1-9. <https://doi.org/10.9734/ajbgmb/2020/v5i230123>
- Bordoloi, K., Bhagawati, B., Baruah, A. M., Neog, P. P., & Kurulkar, U. (2021). Biochemical mechanism of *Lantana camara* leaf extracts in the management of *Meloidogyne incognita* on tomato. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 10(1), 2828-2834. <https://doi.org/10.22271/phyto.2021.v10.i1an.13789>
- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry*, 72(1-2), 248-254. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)
- Cashman, J. R., Perotti, B. Y., Berkman, C. E., & Lin, J. (1996). Pharmacokinetics and molecular detoxication. *Environmental health perspectives*, 104(suppl 1), 23-40. <https://doi.org/10.1289/ehp.96104s123>
- Chowański, S., Chudzińska, E., Lelario, F., Ventrella, E., Marciniak, P., Miądowicz-Kobielska, M., Spochacza, M., Szymczaka, M., Scranoe, L., Sabino, B. S. A., & Adamski, Z. (2018). Insecticidal properties of *Solanum nigrum* and *Armoracia rusticana* extracts on reproduction and development of *Drosophila melanogaster*. *Ecotoxicology and environmental safety*, 162, 454-463. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.07.030>
- Galati, G., & O'brien, P. J. (2004). Potential toxicity of flavonoids and other dietary phenolics: significance for their chemopreventive and anticancer properties. *Free Radical Biology and Medicine*, 37(3), 287-303. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2004.04.034>
- Ghisalberti, E. L. (2000). *Lantana camara* L. (verbenaceae). *Fitoterapia*, 71(5), 467-486. [https://doi.org/10.1016/S0367-326X\(00\)00202-1](https://doi.org/10.1016/S0367-326X(00)00202-1)
- Jiang, H., Xu, W., & Chen, Q. (2020). Determination of tea polyphenols in green tea by homemade color sensitive sensor combined with multivariate analysis. *Food chemistry*, 319, 126584. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126584>
- Jiang, X., Hansen, H. C. B., Strobel, B. W., & Cedergreen, N. (2018). What is the aquatic toxicity of saponin-rich plant extracts used as biopesticides?. *Environmental Pollution*, 236, 416-424. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.01.058>
- Kaida, R., Hayashi, R. T., & Kaneko, T. S. (2008). Purple acid phosphatase in the walls of tobacco cells. *Phytochemistry*, 69, 2546-2551. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2008.07.008>
- Katambo, N., Witkowski, E. T., Simelane, D. O., Urban, A. J., & Byrne, M. J. (2020). Impact of biocontrol agents on *Lantana camara* in an inland area of South Africa. *BioControl*, 65(2), 143-154. <https://doi.org/10.1007/s10526-019-09991-9>
- Kissoum, N., Bensafi-Gheraibia, H., Hamida, Z. C., & Soltani, N. (2020). Evaluation of the pesticide Oberon on a model organism *Drosophila melanogaster* via topical toxicity test on biochemical and reproductive parameters. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 228, 108666. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2019.108666>
- Lallès, J. P. (2019). Recent advances in intestinal alkaline phosphatase, inflammation, and nutrition. *Nutrition Reviews*, 77(10), 710-724. <https://doi.org/10.1093/nutrit/nuz015>
- Li, A. N., Li, S., Zhang, Y. J., Xu, X. R., Chen, Y. M., & Li, H. B. (2014). Resources and biological activities of natural polyphenols. *Nutrients*, 6(12), 6020-6047. <https://doi.org/10.3390/nu6126020>
- Masson, P., & Lockridge, O. (2010). Butyrylcholinesterase for protection from organophosphorus poisons: catalytic complexities and hysteretic behavior. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 494(2), 107-120. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2009.12.005>
- Meisyara, D., Krishanti, N. P. R. A., Zulfitri, A., Lestari, A. S., Tarmadi, D., Himmi, S. K., Zulfiana, D., Fajar, A., Yusuf, S. and Ismayati, M. (2019, November). Biological activity of local plant extracts from Toba Region as insecticide. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 374(1), 012006. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/374/1/012006>
- Melanie, M., Hermawan, W., Kasmara, H., Kholifa, A. H., Rustama, M. M., & Panatarani, C. (2020, February). Antifeedant properties of fractionation *Lantana camara* leaf extract on cabbage caterpillars (*Crociodolomia pavonana fabricius*) larvae. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 457(1), 012047. IOP Publishing. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/457/1/012047>
- Mello, F. B., Jacobus, D., Carvalho, K., & Mello, J. R. (2005). Effects of *Lantana camara* (Verbenaceae) on general reproductive performance and teratology in rats. *Toxicol*, 45(4), 459-466. <https://doi.org/10.1016/j.toxicol.2004.12.004>
- Nasir, N., Dharma, A., Efdi, M., Yuhendra, & Eliesti, F. (2013). Natural product of wild Zingiberaceae *Elettariopsis slamong*: biopesticide to control the vector of banana blood disease bacterium in



- West Sumatera, Indonesia. *Commun Agric Appl Biol Sci*, 78(3), 497-505.
- Naz, R., & Bano, A. (2013). Phytochemical screening, antioxidants and antimicrobial potential of *Lantana camara* in different solvents. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 3(6), 480-486. [https://doi.org/10.1016/S2222-1808\(13\)60104-8](https://doi.org/10.1016/S2222-1808(13)60104-8)
- Neiselsen, S. S. (2010). *Food Analisis Laboratory Manual*. Springer New York Dordrecht Heidelberg London.
- Nguyen, T. P., Nguyen, K. C., Nguyen, V. H., Nguyen, L. H. H., & Nguyen, T. P. (2019). Bioefficacy of extracts from lantana camara L. against *Spodoptera exigua*. *The Scientific Journal of Tra Vinh University*, 1(3), 26-32. <https://doi.org/10.35382/18594816.1.40.2020.618>
- Nowak, Z., Konieczna, M., Saracyn, M. and Wańkiewicz, Z. (2008). Winianooporna kwasna fosfataza--TRACP-5b jako nowoczesny marker resorpcji kości [Tartrate resistant acid phosphatase--TRACP-5b as a modern bone resorption marker]. *Polski Merkuriusz Lekarski: Organ Polskiego Towarzystwa Lekarskiego*, 24(142), 351-354.
- Ohadoma, S. C., Akuodor, G. C., Amazu, L. U., & Michael, H. U. (2020). Quantitative estimation of total phenolic and total flavonoid contents of ethylacetate fraction of *Chikadoma* as a bactericidal agent. *Asian J Sci. & Tech.*, 11(6), 11012-11014.
- Olmos, E., & Hellin, E. (1997). Cytochemical localization of ATPase plasma membrane and acid phosphatase by cerium-based method in a salt-adapted cell line of *Pisum sativum*. *Journal of Experimental Botany*, 48(8), 1529-1535. <https://doi.org/10.1093/jxb/48.8.1529>
- Parkash, R., & Aggarwal, D. D. (2012). Trade-off of energy metabolites as well as body color phenotypes for starvation and desiccation resistance in montane populations of *Drosophila melanogaster*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 161(2), 102-113. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2011.09.010>
- Pour, B. M., & Sasidharan, S. (2011). In vivo toxicity study of *Lantana camara*. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 1(3), 230-232. [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(11\)60033-6](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(11)60033-6)
- Quijano, M., Riera-Ruiz, C., Barragán, A., Miranda, M., Orellana, T., & Manzano, P. (2014). Molluscicidal activity of the aqueous extracts from *Solanum mammosum* L., *Sapindus saponaria* L. and *Jatropha curcas* L. against *Pomacea canaliculata*. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 871-877. <https://doi.org/10.9755/ejfa.v26i10.18804>
- Reed, L. J., & Muench, H. (1938). A simple method of estimating fifty per cent endpoints. *American Journal of Epidemiology*, 27(3), 493-497. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aje.a118408>
- Riaz, B., Zahoor, M. K., Zahoor, M. A., Majeed, H. N., Javed, I., Ahmad, A., Jabeen, F., Zulhussnain, M., & Sultana, K. (2018). Toxicity, Phytochemical Composition, and Enzyme Inhibitory Activities of Some Indigenous Weed Plant Extracts in Fruit Fly, *Drosophila melanogaster*. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine : eCAM*, 2018, 2325659. <https://doi.org/10.1155/2018/2325659>
- Satoh, T., & Hosokawa, M. (1998). The mammalian carboxylesterases: from molecules to functions. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 38(1), 257-288. <https://doi.org/10.1146/annurev.pharmtox.38.1.257>
- Sen, S., & Chakraborty, R. (2010). *Pharmacognostic and anti-hyperglycemic evaluation of Lantana camara* (L.) var. aculeate leaves in alloxan-induced hyperglycemic rats. *Int J Res Pharm Sci*, 1(3), 247-252.
- Sousa, E. O., Miranda, C. M., Nobre, C. B., Boligon, A. A., Athayde, M. L., & Costa, J. G. (2015). Phytochemical analysis and antioxidant activities of *Lantana camara* and *Lantana montevidensis* extracts. *Industrial Crops and Products*, 70, 7-15. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.03.010>
- Tsegay, Z. T., & Gebremedhin, K. M. (2019). Physicochemical and sensory properties of wine produced from blended Cactus Pear (*Opuntia ficus-indica*) and *Lantana camara* (L. camara) Fruits. *Journal of Food Quality*, 2019. <https://doi.org/10.1155/2019/6834946>
- Usta, A., Güneý, İ., Öztürk, M., Selvi, E. K., & Mustafa, M. (2020). Toxicological and behavioural potency of different plant extracts on *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) and their qualitative phytochemical analysis. *International Journal of Mosquito Research*, 7(5, Part A), 12-18. <https://doi.org/10.22271/23487941.2020.v7.i5a.473>
- Valéria, S. de A. P., F., Felipe da Silva, G., Echeverria Macedo, G., Raquel Muller, K., Kemmerich Martins, I., Lausmann Ternes, A. P., ... & Posser, T. (2014). Phytochemical constituents and toxicity of *Duguetia furfuracea* hydroalcoholic extract in *Drosophila melanogaster*. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2014. <https://doi.org/10.1155/2014/838101>
- Zaki, A. A., Shaaban, M. I., Hashish, N. E., Amer, M. A., & Lahloub, M. F. (2013). Assessment of anti-quorum sensing activity for some ornamental and medicinal plants native to Egypt. *Scientia Pharmaceutica*, 81(1), 251-258. <https://doi.org/10.3797/scipharm.1204-26>