

BAN BIÊN TẬP TẠP CHÍ NÔNG NGHIỆP VÀ PHÁT TRIỂN

STT	Họ và tên	Đơn vị	Nhiệm vụ
I Thành viên trong nước			
1	Chế Minh Tùng	Trường Đại học Nông Lâm TP.HCM	Tổng biên tập
2	Nguyễn Đình Phú	Trường Đại học Nông Lâm TP.HCM University of California, Irvine, Mỹ	Biên tập viên
3	Lê Đình Đôn	Trường Đại học Nông Lâm TP.HCM	Biên tập viên
4	Lê Quốc Tuấn	Trường Đại học Nông Lâm TP.HCM	Biên tập viên
5	Nguyễn Bạch Đằng	Trường Đại học Nông Lâm TP.HCM	Biên tập viên
6	Nguyễn Huy Bích	Trường Đại học Nông Lâm TP.HCM	Biên tập viên
7	Phan Tại Huân	Trường Đại học Nông Lâm TP.HCM	Biên tập viên
8	Nguyễn Phú Hòa	Trường Đại học Nông Lâm TP.HCM	Biên tập viên
9	Võ Thị Trà An	Trường Đại học Nông Lâm TP.HCM	Biên tập viên
10	Tăng Thị Kim Hồng	Trường Đại học Nông Lâm TP.HCM	Biên tập viên
II Thành viên nước ngoài			
11	Tô Phúc Tường	Nguyên chuyên gia IRRI, Việt Nam	Biên tập viên
12	Peeyush Soni	Asian Institute of Technology, Thái Lan	Biên tập viên
13	Ta-Te Lin	National Taiwan University, Đài Loan	Biên tập viên
14	Glenn M. Young	University of California, Davis, Mỹ	Biên tập viên
15	Soroosh Sorooshian	University of California, Irvine, Mỹ	Biên tập viên
16	Katleen Raes	Ghent University, Bỉ	Biên tập viên
17	Vanessa Louzier	Lyon University, Pháp	Biên tập viên
18	Wayne L. Bryden	The University of Queensland, Úc	Biên tập viên
19	Jitender Singh	Sardar Vallabhbhai Patel University of Agriculture and Technology, Ấn Độ	Biên tập viên
20	Kevin Fitzsimmons	University of Arizona, Mỹ	Biên tập viên
21	Cyril Marchand	University of New-Caledonia, Pháp	Biên tập viên
22	Koichiro Shiomori	University of Miyazaki, Nhật Bản	Biên tập viên
23	Kazunari Tsuji	Saga University, Nhật Bản	Biên tập viên
24	Sreeramanan Subramaniam	Universiti Sains Malaysia, Malaysia	Biên tập viên
25	Thomas L. Rost	University of California, Davis, Mỹ	Biên tập viên
26	James E. Hill	University of California, Davis, Mỹ	Biên tập viên

BAN THƯ KÝ TẠP CHÍ NÔNG NGHIỆP VÀ PHÁT TRIỂN

STT	Họ và tên	Đơn vị	Nhiệm vụ
1	Nguyễn Thị Thương	Trường Đại học Nông Lâm TP.HCM	Trưởng ban thư ký
2	Trương Quang Bình	Trường Đại học Nông Lâm TP.HCM	Trưởng ban trị sự
3	Hoàng Minh Phương	Trường Đại học Nông Lâm TP.HCM	Thành viên

Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển

Giấy phép xuất bản:
567/GP-BVHTT-24/12/2002
175/GP-BTTTT-20/04/2018

Tòa soạn:

Trường Đại học Nông Lâm TP.HCM
Khu phố 6, Phường Linh Trung, TP. Thủ Đức, TP.HCM
Điện thoại: (028)37245670
Email: jad@hcmuaf.edu.vn

MỤC LỤC (CONTENT)

Nông học, Lâm nghiệp (Agronomy and Forestry Sciences)

- 1 Morphological and biological characteristics of *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae) reared on different artificial diets
Hoang K. Le, & Dong T. H. Tran
Đặc điểm hình thái, sinh học của sâu sáo *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae) nhân nuôi trên thức ăn nhân tạo
Lê Khắc Hoàng & Trần Thị Hoàng Đông
- 12 Modeling the stem taper functions for *Acacia hybrid* in Dong Nai province
Them V. Nguyen
Xây dựng các hàm độ thon thân cây Keo lai (*Acacia hybrid*) tại tỉnh Đồng Nai
Nguyễn Văn Thêm
- 23 Farming status, economic and technical efficiency of agroforestry models at Nui Dai, An Giang province
Nien C. Nguyen, Thao P. Pham, Nguyen H. Pham, & Dan T. Vo
Hiện trạng canh tác, hiệu quả kinh tế và kỹ thuật của các mô hình nông lâm kết hợp tại Núi Dài, tỉnh An Giang
Nguyễn Châu Niên, Phạm Phương Thảo, Phạm Hữu Nguyên & Võ Thái Dân
- 33 Selection of Arabidopsis transformants containing *AtZAT12*
Cham T. T. Le, & Ngoc T. Pham
Chọn lọc sau biến nạp gen *AtZAT12* trên cây Arabidopsis
Lê Thị Tuyết Châm & Phạm Thị Ngọc

Chăn nuôi, Thú y, Thủy sản (Animal Sciences, Veterinary Medicine and Aquaculture)

- 42 Isolation and genetic analysis of Tembusu virus in ducks
Dat M. Truong, & Hai T. Hoang
Phân lập và phân tích đặc điểm di truyền của virus Tembusu (flavivirus) trên vịt
Trương Minh Đạt & Hoàng Thanh Hải
- 49 Investigation of pyometra in dogs in Ho Chi Minh City, Vietnam
Huong T. T. Pham, & Thuong T. Nguyen
Khảo sát bệnh viêm tử cung tích mủ trên chó tại TP. Hồ Chí Minh
Phạm Thị Thu Hương & Nguyễn Thị Thương

**Morphological and biological characteristics of *Galleria mellonella* L.
(Lepidoptera: Pyralidae) reared on different artificial diets**

Hoang K. Le^{1*}, & Dong T. H. Tran²

¹Faculty of Agronomy, Nong Lam University, Ho Chi Minh City, Vietnam

²University of Agriculture and Forestry, Hue University, Hue City, Vietnam

ARTICLE INFO

Research Paper

Received: March 05, 2023

Revised: April 28, 2023

Accepted: April 30, 2023

Keywords

Artificial diets

Enemy research

Galleria mellonella L.

Greater wax moth

***Corresponding author**

Le Khac Hoang

Email: lkhoang@hcmuaf.edu.vn

ABSTRACT

The greater wax moth (*Galleria mellonella* L.) is a common insect used as alternative host for mass rearing and research of natural enemies. Finding appropriate artificial diets can aid in increasing the efficiency of mass rearing. The study evaluated three different artificial diets by determining some biological and morphological characteristics of greater wax moths in laboratory of Plant Protection Department, Agronomy Faculty, Nong Lam University, Ho Chi Minh City, Vietnam. The experimental results showed that the artificial diet CT2 was the most effective one of the three treatments. Its larval stage was shortest, with an average of 27.6 ± 4.2 days. The greater wax moth larvae reared on CT2 grew fast and had large size. Over a period of 20 - 30 days of age, the length and width of greater wax moth larvae ranged from 11.9 ± 5.2 to 16.3 ± 6.2 mm and 2.7 ± 1.4 to 3.9 ± 1.8 mm, respectively. The female greater wax moths laid 819.0 ± 175.5 to $1,008.1 \pm 354.6$ eggs on average. When greater wax moths were reared on three different artificial diets, there was no difference in fecundity.

Cited as: Le, H. K., & Tran, D. T. H. (2023). Morphological and biological characteristics of *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae) reared on different artificial diets. *The Journal of Agriculture and Development* 22(4), 1-11.

Đặc điểm hình thái, sinh học của sâu sáo *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae) nhân nuôi trên thức ăn nhân tạo

Lê Khắc Hoàng^{1*} & Trần Thị Hoàng Đông²

¹Khoa Nông Học, Trường Đại Học Nông Lâm TP.HCM, TP. Hồ Chí Minh

²Trường Đại Học Nông Lâm Huế, Đại Học Huế, TP. Huế

THÔNG TIN BÀI BÁO

Bài báo khoa học

Ngày nhận: 05/03/2023

Ngày chỉnh sửa: 28/04/2023

Ngày chấp nhận: 30/04/2023

Từ khóa

Galleria mellonella L.

Nhân nuôi

Sâu sáo

Thức ăn nhân tạo

*Tác giả liên hệ

Lê Khắc Hoàng

Email: lkhoang@hcmuaf.edu.vn

TÓM TẮT

Sâu sáo (*Galleria mellonella* L.) là loài côn trùng được sử dụng phổ biến để làm ký chủ phụ trong nhân nuôi và nghiên cứu các loài thiên địch. Việc nghiên cứu thức ăn nhân tạo để nhân nuôi sâu sáo nhằm tối ưu hóa quá trình nhân nuôi số lượng lớn là rất cần thiết. Ba công thức thức ăn nhân tạo đã được sử dụng để nhân nuôi và đánh giá đặc điểm hình thái, sinh học của sâu sáo. Kết quả thí nghiệm cho thấy công thức thức ăn nhân tạo công thức 2 (CT2) là phù hợp nhất để nhân nuôi sâu sáo. Thời gian phát triển pha ấu trùng sâu sáo khi nuôi bằng công thức 2 (CT2) là ngắn nhất, trung bình $27,6 \pm 4,2$ ngày. Trong quá trình thí nghiệm, ấu trùng được nuôi bằng công thức 2 (CT2) phát triển nhanh, kích thước lớn, ở giai đoạn từ 20 đến 30 ngày tuổi, ấu trùng sâu sáo có chiều dài biến động từ $11,9 \pm 5,2$ đến $16,3 \pm 6,2$ mm và chiều rộng từ $2,7 \pm 1,4$ đến $3,9 \pm 1,8$ mm. Khả năng đẻ trứng của thành trùng cái sâu sáo không có sự khác biệt khi nuôi trên ba công thức thức ăn nhân tạo khác nhau, số trứng của thành trùng cái biến động từ $819 \pm 175,5$ đến $1.008,1 \pm 354,6$ trứng/thành trùng cái.

1. Đặt Vấn Đề

Sâu sáo (*Galleria mellonella* L.) là loài côn trùng quan trọng trong việc nhân nuôi và phát triển ký chủ thay thế, phục vụ cho quá trình nhân nuôi nhiều loài thiên địch (Knipling & ctv., 1979). Sâu sáo có kích thước lớn, dễ nhân nuôi bằng thức ăn nhân tạo, có thể nhanh chóng phát triển quần thể, do vậy loài này thường được ưu tiên nghiên cứu làm ký chủ phụ khi nhân nuôi một số loài thiên địch. Ở tất cả các pha phát dục như trứng, ấu trùng và nhộng của sâu sáo có thể được sử dụng làm ký chủ hoặc vật môi để nuôi nhân thiên địch trong phòng thí nghiệm và điều kiện ngoài đồng (Mohamed & Coppel, 1983).

Khi nhân nuôi côn trùng, thức ăn nhân tạo là yếu tố quyết định cho sự sinh trưởng và phát triển của côn trùng nói chung và sâu sáo nói riêng (Hickin & ctv., 2021). Các công thức thức ăn nhân tạo phù hợp có thể giúp gia tăng kích thước cơ thể ở các pha phát dục, rút ngắn vòng đời so với nuôi nhân bằng thức ăn tự nhiên, giảm được chi phí nhân nuôi và có thể sản xuất với số lượng lớn phục vụ nhân nuôi thiên địch. Ở Việt Nam, công tác nhân nuôi thiên địch để kiểm soát dịch hại bằng biện pháp đấu tranh sinh học trong bảo vệ thực vật ngày càng được quan tâm. Chính vì vậy, việc nghiên cứu công thức thức ăn nhân tạo dùng nhân nuôi sâu sáo sử dụng làm ký chủ thay thế trong nhân nuôi số lượng lớn thiên địch là rất cần thiết.

2. Vật Liệu và Phương Pháp Nghiên Cứu

cấp từ Bộ môn Bảo vệ Thực vật, Khoa Nông học, Trường Đại Học Nông Lâm TP. Hồ Chí Minh đã được nhân nuôi ổn định qua 3 thế hệ.

2.1. Vật liệu, dụng cụ và thiết bị sử dụng trong nghiên cứu

- Nguồn Sâu sáp (*G. mellonella*) được cung

- Các công thức thức ăn nhân tạo dùng trong nghiên cứu được trình bày ở Bảng 1.

Bảng 1. Thành phần nguyên liệu trong 500 g của mỗi công thức thức ăn nhân tạo

Công thức thức ăn	Thành phần
Công thức 1 (CT1) (Bộ môn Bảo vệ Thực vật, Khoa Nông học, Trường Đại học Nông Lâm TP.HCM)	212 g thức ăn gà con (bắp, tấm, khoai mì), phụ phẩm ngũ cốc (cám gạo, cám mì), đạm động vật, đạm thực vật, hệ men tiêu hóa Bio-zeem™, khoáng hữu cơ, dẫn xuất của axit Formic, premix vi khoáng – vitamin, axit amin, chất phụ gia, khoáng đa lượng, 25 g cám bắp, 125 g mật ong, 13 g sáp ong, 125 g glycerin
Công thức 2 (CT2) (Hickin & ctv., 2021, có hiệu chỉnh)	120 g mật ong, 20 g sáp ong, 113 g glycerin, 74 g men dinh dưỡng (Terrasoul Superfoods), 35 g cám gạo, 60 g cám lúa mì, 25 g cám yến mạch, 53 g nước
Công thức 3 (CT3) (El-Gohary & ctv., 2018)	400 g sáp ong, 100 g phấn hoa

- Dụng cụ nhân nuôi: Lồng mica (30 x 24 x 28 cm), khay nhựa (56 x 38 x 26 cm), các hộp nhựa (có kích thước 6,5 x 6,5 x 3,2 cm và 13 x 10 x 6 cm), ống falcon (50 mL).

- Thiết bị sử dụng: Kính hiển vi soi nổi KTST – 978PRO – Đài Loan, độ phóng đại từ 17 – 110 X), cân điện tử (Ason AXA3003 – Nhật Bản, cân 3 số lẻ, mức cân 0,001 – 300 g, có lồng kính chắn gió), máy đo nhiệt độ và độ ẩm (HOBO MX1101 – Mỹ).

2.2. Khảo sát đặc điểm hình thái, sinh học sâu sáp trên ba công thức thức ăn nhân tạo

2.2.1. Khảo sát ảnh hưởng của ba công thức thức ăn nhân tạo lên đặc điểm hình thái, sinh học của sâu sáp trong điều kiện phòng thí nghiệm

Phương pháp thực hiện

Thí nghiệm được bố trí theo thể thức hoàn toàn ngẫu nhiên một yếu tố, gồm 3 nghiệm thức tương ứng với 3 công thức thức ăn nhân tạo tại

Bảng 1. Mỗi nghiệm thức gồm có 50 cá thể sâu sáp được nhân nuôi riêng biệt. Thí nghiệm được thực hiện trong điều kiện nhiệt độ 28 ± 2°C, độ ẩm 70 ± 5%, thời gian chiếu sáng 12 giờ. Khi trứng sâu sáp mới nở (1 ngày tuổi) tiến hành dùng cọ lông tách riêng mỗi ấu trùng qua hộp nhựa hình trụ (rộng x cao = 6,5 x 3,2 cm; nắp hộp có lưới thoáng khí) thêm vào mỗi hộp với 2 g thức ăn theo từng nghiệm thức, khi ấu trùng sau 20 ngày tuổi bổ sung thêm 1 g thức ăn. Quan sát và theo dõi ngẫu nhiên 30 cá thể để ghi nhận các chỉ tiêu.

Các nghiệm thức thí nghiệm gồm ba công thức thức ăn nhân tạo nuôi sâu sáp:

Công thức 1 (CT1): ấu trùng sâu sáp 1 ngày tuổi nuôi bằng công thức 1.

Công thức 2 (CT2): ấu trùng sâu sáp 1 ngày tuổi nuôi bằng công thức 2.

Công thức 3 (CT3): ấu trùng sâu sáp 1 ngày tuổi nuôi bằng công thức 3.

Chỉ tiêu theo dõi:

- Đo kích thước (mm) của ấu trùng sâu sáp ở các thời điểm 5, 10, 15, 20, 25, 30 & 35 ngày tuổi. Theo dõi khối lượng của ấu trùng sâu sáp ở các thời điểm 20, 25, 30 & 35 ngày tuổi khi nuôi bằng các công thức thức ăn nhân tạo khác nhau.

- Theo dõi khối lượng, chiều dài, chiều rộng của nhộng sâu sáp khi nuôi bằng các công thức thức ăn nhân tạo khác nhau.

- Ghi nhận thời gian phát triển (ngày) của các pha phát dục như trứng, ấu trùng, nhộng và vòng đời của sâu sáp khi nuôi bằng các công thức thức ăn nhân tạo khác nhau.

2.2.2. Khảo sát ảnh hưởng của thức ăn nhân tạo lên khả năng sinh sản và tuổi thọ của thành trùng sâu sáp trong điều kiện phòng thí nghiệm

Phương pháp thực hiện

Thí nghiệm được bố trí theo thể thức hoàn toàn ngẫu nhiên một yếu tố, gồm 3 nghiệm thức với 10 lần lặp lại. Thí nghiệm được thực hiện trong điều kiện nhiệt độ $28 \pm 2^\circ\text{C}$, ẩm độ $70 \pm 5\%$, thời gian chiếu sáng 12 giờ. Khi thành trùng vừa vũ hóa, chọn ngẫu nhiên 10 cặp thành trùng trong cùng 1 công thức thức ăn nhân tạo cho vào 10 hộp nhựa hình phễu (miệng x đáy x cao = $13 \times 10 \times 6$ cm; nắp hộp có lưới thoáng khí), có sẵn những miếng gỗ xếp chồng lên nhau (dài x rộng = 3×2 cm) cho thành trùng cái đẻ trứng, hằng ngày quan sát và theo dõi ghi nhận các chỉ tiêu như sau:

- Thời gian tiến đẻ trứng (ngày)
- Thời gian đẻ trứng (ngày)
- Số trứng đẻ hằng ngày (trứng/thành trùng cái/ngày)
- Tổng số trứng của thành trùng cái (trứng/thành trùng cái)
- Thời gian sau đẻ trứng (ngày)
- Tuổi thọ thành trùng đực và cái (ngày)

2.3. Xử lý số liệu

Các số liệu ghi nhận được tổng hợp và chuyển đổi bằng phần mềm Microsoft Excel 2013. Phân tích phương sai ANOVA, kiểm định qua LSD ở mức ý nghĩa 1% bằng phần mềm thống kê SAS 9.1.

3. Kết Quả và Thảo Luận

3.1. Đặc điểm hình thái và sinh học của sâu sáp khi nuôi bằng ba công thức thức ăn nhân tạo trong điều kiện phòng thí nghiệm

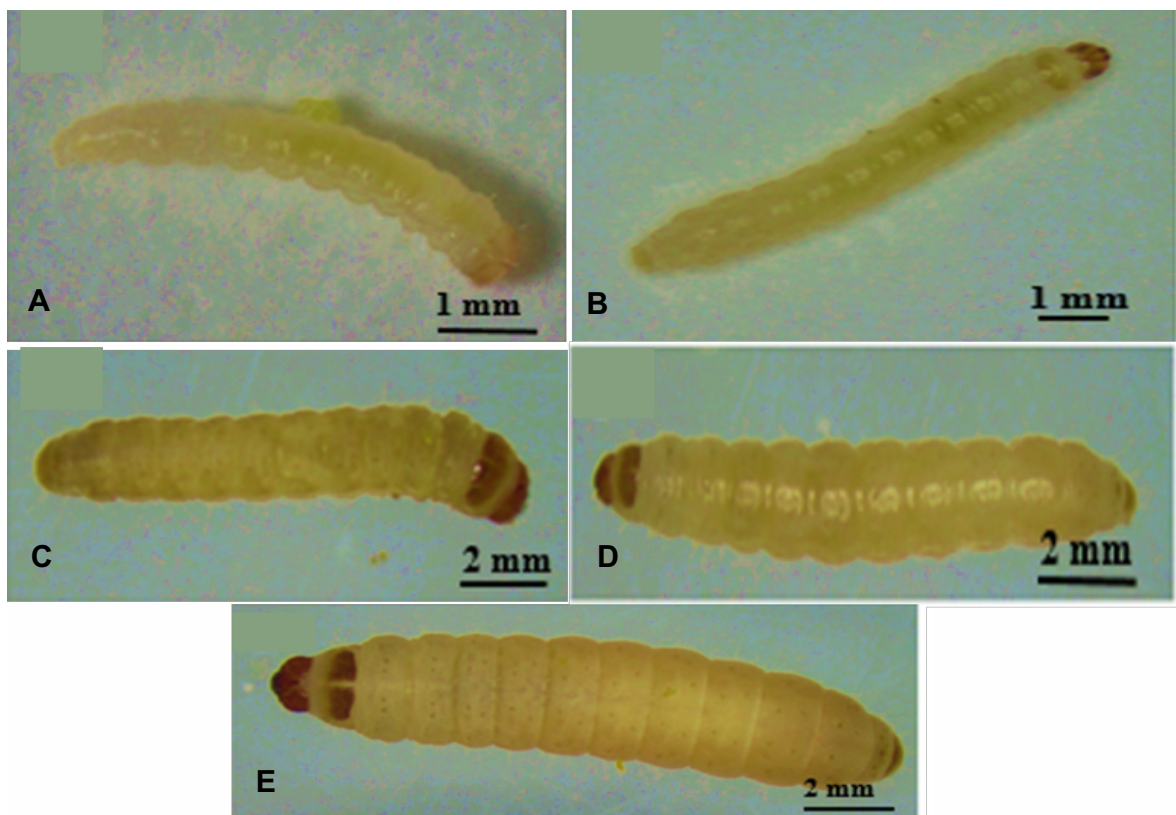
Kết quả ở Bảng 2 cho thấy kích thước ấu trùng sâu sáp ở thời điểm 5 và 10 ngày tuổi hầu như không có sự khác biệt thống kê khi nuôi bằng ba công thức thức ăn nhân tạo, chiều dài biến động từ $1,7 \pm 0,3$ đến $3,3 \pm 1$ mm và chiều rộng dao động từ $0,3$ đến $0,6 \pm 0,2$ mm. Thời điểm từ 15 đến 20 ngày tuổi (Hình 1), ấu trùng sâu sáp phát triển tốt nhất ở công thức thức ăn nhân tạo CT2, với chiều dài biến động từ $6,4 \pm 2,4$ đến $11,9 \pm 5,2$ mm và chiều rộng từ $1,2 \pm 0,5$ đến $2,7 \pm 1,4$ mm. Kích thước ấu trùng sâu sáp nuôi bằng công thức thức ăn nhân tạo CT1 và CT3 có chiều dài dao động từ $4,8 \pm 1,6$ đến $7,9 \pm 1,8$ mm và chiều rộng từ $0,9 \pm 0,3$ đến $1,7 \pm 0,5$ mm, hoàn toàn khác biệt ở mức ý nghĩa 1% so với CT2. Nhìn chung, tốc độ tăng trưởng về chiều dài và chiều rộng của ấu trùng sâu sáp khi nuôi bằng CT2 có xu hướng tăng gấp đôi ở thời điểm 20 ngày tuổi so với CT1 và CT3 (Bảng 2).

Kết quả Bảng 3 và Hình 1 cho thấy, ở thời điểm 25 và 30 ngày tuổi, ấu trùng sâu sáp nuôi bằng CT2 cho thấy sự phát triển tốt nhất về kích thước. Ở 25 ngày tuổi, chiều dài ấu trùng sâu sáp ở CT2 trung bình là $17,6 \pm 6,1$ mm, chiều rộng trung bình là $4,0 \pm 1,5$ mm, ấu trùng sâu sáp có kích thước lớn nhất so với CT1 và CT3, với chiều dài ấu trùng sâu sáp biến động từ $8,9 \pm 2,8$ đến $10,9 \pm 25$ mm và chiều rộng từ $1,8 \pm 0,7$ đến $2,5 \pm 0,7$ mm. Ở thời điểm 30 ngày tuổi, ấu trùng sâu sáp nuôi bằng CT2 đã bắt đầu chuyển sang giai

đoạn nhộng, cho nên chiều dài và chiều rộng hơi ngắn lại, cụ thể là $16,3 \pm 6,2$ mm và $3,9 \pm 1,8$ mm. Ở 2 công thức thức ăn CT1 và CT3, ấu trùng sâu sáp tiếp tục phát triển đến hơn 35 ngày tuổi mới bắt đầu chuyển sang pha nhộng, với kích thước chiều dài và chiều rộng biến động từ $14,3 \pm 4,4$ đến $18,6 \pm 6,1$ mm và $3,0 \pm 0,9$ đến $4,3 \pm 1,4$ mm (Bảng 3).

Thành phần dinh dưỡng trong công thức thức ăn CT2 có men dinh dưỡng (Terrasoul Superfoods), cám mì, cám yến mạch và bột lúa

mì, giúp sâu sáp tăng trưởng tốt, cho thấy sự phát triển về kích thước nhanh hơn so với CT1 và CT3. Theo Hickin & ctv. (2021), trong men Torula có chứa nhiều chất dinh dưỡng cần thiết cho sự sinh trưởng và phát triển của sâu sáp như vitamin B, protein, axit amin, khoáng chất và hàm lượng dinh dưỡng cao. Trong men dinh dưỡng Terrasoul Superfoods có chứa vitamin B, protein, khoáng chất và carbohydrate, do đó, có thể giúp ấu trùng sâu sáp phát triển nhanh hơn so với CT1 và CT3.



Hình 1. Ấu trùng sâu sáp từ 15 - 35 ngày tuổi

(A - E: Ấu trùng sâu sáp ở thời điểm 15, 20, 25, 30 & 35 ngày tuổi).

Kết quả ghi nhận ở Bảng 4 cho thấy ấu trùng sâu sáp được nuôi bằng CT2 cho khối lượng trung bình cao nhất ở cả ba thời điểm 20, 25 & 30 ngày tuổi, khối lượng trung bình lần lượt là $0,07 \pm 0,06$ g; $0,13 \pm 0,08$ g và $0,14 \pm 0,11$ g. Khi nuôi

bằng công thức CT1 và CT3 cho kết quả tương đồng ở ba thời điểm 20, 25, & 30 ngày tuổi, cụ thể ấu trùng sâu sáp được nuôi bằng công thức CT1 ở thời điểm 20, 25, & 30 ngày tuổi lần lượt là $0,01 \pm 0,01$ g; $0,03 \pm 0,01$ g; $0,09 \pm 0,05$ g và ấu trùng

Bảng 2. Kích thước ấu trùng sâu sáp ở thời điểm 5 đến 20 ngày tuổi khi nuôi bằng ba công thức thức ăn nhân tạo trong phòng thí nghiệm

Công thức thức ăn nhân tạo	Kích thước ấu trùng sâu sáp ở các thời điểm theo dõi (mm)								
	5 ngày tuổi		10 ngày tuổi		15 ngày tuổi		20 ngày tuổi		
	Chiều dài	Chiều rộng	Chiều dài	Chiều rộng	Chiều dài	Chiều rộng	Chiều dài	Chiều rộng	
	TB ± SD	TB ± SD	TB ± SD	TB ± SD	TB ± SD	TB ± SD	TB ± SD	TB ± SD	TB ± SD
CT1	1,7 ± 0,3 ^b	0,3 ± 0,0	2,9 ± 0,7	0,5 ± 0,2	5,1 ± 1,4 ^{ab}	1,0 ± 0,3 ^b	7,9 ± 1,8 ^b	1,7 ± 0,5 ^b	
CT2	1,9 ± 0,2 ^a	0,3 ± 0,1	3,3 ± 1,0	0,6 ± 0,2	6,4 ± 2,4 ^a	1,2 ± 0,5 ^a	11,9 ± 5,2 ^a	2,7 ± 1,4 ^a	
CT3	1,8 ± 0,3 ^{ab}	0,3 ± 0,1	3,3 ± 0,9	0,6 ± 0,2	4,8 ± 1,6 ^b	0,9 ± 0,3 ^b	7,2 ± 2,1 ^b	1,4 ± 0,6 ^b	
CV (%)	26,8	15,6	22,8	22,1	20,6	25,8	17,1	27,1	
F _{tính}	5,2**	0,5 ^{ns}	2,4 ^{ns}	0,6 ^{ns}	4,5**	5,5**	13,5**	17,2**	

TB: Trung bình; SD: độ lệch chuẩn; CV: độ biến động; CT1: Công thức 1; CT2: Công thức 2; CT3: Công thức 3. Trong cùng một cột, các giá trị trung bình có cùng ký tự theo sau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê; ns không khác biệt thống kê, ** khác biệt ở mức ý nghĩa 1%; Số liệu chiều dài được chuyển đổi sang log(x), số liệu chiều rộng được chuyển đổi sang log(x+1) trước khi xử lý thống kê.

Bảng 3. Kích thước ấu trùng sâu sáp ở thời điểm 25 đến 35 ngày tuổi khi nuôi bằng ba công thức thức ăn nhân tạo trong phòng thí nghiệm

Công thức thức ăn nhân tạo	Kích thước ấu trùng sâu sáp ở các thời điểm theo dõi (mm)					
	25 ngày tuổi		30 ngày tuổi		35 ngày tuổi	
	Chiều dài	Chiều rộng	Chiều dài	Chiều rộng	Chiều dài	Chiều rộng
	TB ± SD	TB ± SD	TB ± SD	TB ± SD	TB ± SD	TB ± SD
CT1	10,9 ± 2,5 ^b	2,5 ± 0,7 ^b	17,2 ± 4,2 ^a	4,0 ± 1,0 ^c	18,6 ± 6,1	4,3 ± 1,4
CT2	17,6 ± 6,1 ^a	4,0 ± 1,5 ^a	16,3 ± 6,2 ^{ab}	3,9 ± 1,8 ^{ab}	-	-
CT3	8,9 ± 2,8 ^b	1,8 ± 0,7 ^c	10,4 ± 3,1 ^b	2,3 ± 0,6 ^b	14,3 ± 4,4	3,0 ± 0,9
CV (%)	13,8	21,5	14,5	20,2	-	-
F _{tính}	26,9**	27,5**	5,4**	5,3**	-	-

TB: Trung bình; SD: độ lệch chuẩn; CV: độ biến động; -: ấu trùng hóa nhộng; CT1: Công thức 1; CT2: Công thức 2; CT3: Công thức 3. Trong cùng một cột, các giá trị trung bình có cùng ký tự theo sau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê; ns không khác biệt thống kê; ** khác biệt ở mức ý nghĩa 1%; Số liệu chiều dài và chiều rộng ở thời điểm 25 ngày tuổi được chuyển đổi sang log(x), số liệu chiều rộng ở 30 ngày tuổi được chuyển đổi sang log(x+1) trước khi xử lý thống kê.

sâu sấp được nuôi bằng công thức CT3 lần lượt là 0,01 ± 0,01 g; 0,02 ± 0,02 g; 0,04 ± 0,02 g. Ở thời điểm 35 ngày tuổi, ấu trùng nuôi bằng công thức CT2 đã chuyển sang giai đoạn nhộng, trọng lượng ấu trùng ở CT2 và CT3 dao động từ 0,04 ±

0,02 đến 0,18 ± 0,11 g. Các kết quả trên phù hợp với nghiên cứu của Hickin & ctv. (2021), khi bổ sung men dinh dưỡng giúp gia tăng nhanh kích thước và khối lượng của ấu trùng sâu sấp.

Bảng 4. Khối lượng ấu trùng sâu sấp từ 20 – 35 ngày tuổi nuôi bằng ba công thức thức ăn nhân tạo khác nhau trong điều kiện phòng thí nghiệm

Công thức thức ăn nhân tạo	Khối lượng (g) sâu sấp ở các thời điểm theo dõi			
	20 ngày tuổi	25 ngày tuổi	30 ngày tuổi	35 ngày tuổi
	TB ± SD	TB ± SD	TB ± SD	TB ± SD
CT1	0,01 ± 0,01 ^b	0,03 ± 0,01 ^b	0,09 ± 0,05 ^{ab}	0,18 ± 0,11
CT2	0,07 ± 0,06 ^a	0,13 ± 0,08 ^a	0,14 ± 0,11 ^a	-
CT3	0,01 ± 0,01 ^b	0,02 ± 0,02 ^b	0,04 ± 0,02 ^b	0,04 ± 0,04
CV (%)	3,01	4,05	5,86	-
F _{tính}	9,07 ^{**}	18,86 ^{**}	4,69 ^{**}	-

TB: Trung bình; SD: độ lệch chuẩn; CV: độ biến động; “-”: ấu trùng hóa nhộng; CT1: Công thức 1; CT2: Công thức 2; CT3: Công thức 3. Trong cùng một cột, các giá trị trung bình có cùng ký tự theo sau thì khác biệt không ý nghĩa thống kê; ** khác biệt ở mức ý nghĩa 1%, số liệu được chuyển đổi sang (x+0,5)/0,5 trước khi xử lý thống kê.

Bảng 5. Khối lượng, chiều dài và chiều rộng trung bình của nhộng sâu sấp nuôi bằng ba công thức thức ăn nhân tạo khác nhau trong điều kiện phòng thí nghiệm

Công thức thức ăn nhân tạo	Khối lượng (g)	Chiều dài (mm)	Chiều rộng (mm)
	TB ± SD	TB ± SD	TB ± SD
CT1	0,14 ± 0,04 ^a	13,7 ± 1,4 ^a	4,1 ± 0,4 ^a
CT2	0,17 ± 0,04 ^a	14,4 ± 1,3 ^a	4,3 ± 0,4 ^a
CT3	0,11 ± 0,03 ^b	12,6 ± 1,2 ^b	3,7 ± 0,3 ^b
CV (%)	25,4	3,7	6,4
F _{tính}	15,2 ^{**}	10,9 ^{**}	16,8 ^{**}

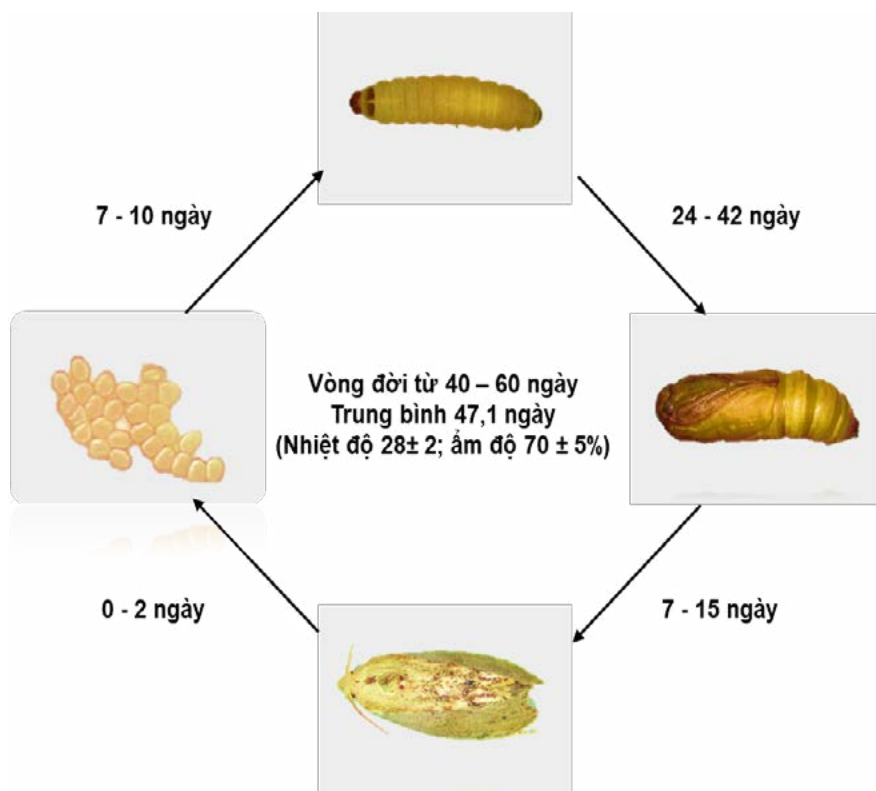
TB: Trung bình; SD: độ lệch chuẩn; CV: độ biến động; CT1: Công thức 1; CT2: Công thức 2; CT3: Công thức 3. Trong cùng một cột, các giá trị trung bình có cùng ký tự theo sau thì khác biệt không ý nghĩa thống kê; Số liệu chiều dài và chiều rộng được chuyển đổi sang log(x) trước khi xử lý thống kê; ** khác biệt ở mức ý nghĩa 1%.

Ấu trùng sâu sấp nuôi bằng công thức CT1, CT2, có tốc độ tăng trưởng nhanh hơn và khối lượng ấu trùng nặng hơn, do đó khối lượng

nhộng trung bình cao hơn so với công thức CT3. Khối lượng trung bình nhộng của công thức CT1 và CT2 lần lượt là 0,14 ± 0,04 g và 0,17 ± 0,04 g,

khối lượng nặng của công thức CT3 trung bình $0,11 \pm 0,03$ g. Hai công thức cho chiều dài trung bình của nhộng cao tương đương qua phân tích thống kê là CT1 ($13,7 \pm 1,4$ mm) và CT2 ($14,4 \pm 1,3$ mm), thấp nhất là CT3 ($12,6 \pm 1,2$ mm).

Chiều rộng trung bình nặng của CT1 và CT2 cao tương đương lần lượt là $4,1 \pm 0,4$ mm và $4,3 \pm 0,4$ mm, thấp nhất là nhộng của CT3 với chiều rộng trung bình là $3,7 \pm 0,3$ mm (Bảng 5).



Hình 2. Vòng đời sâu sấp (*G. mellonella*) nuôi bằng công thức CT2.

Đặc điểm sinh học của sâu sấp nuôi bằng ba công thức thức ăn nhân tạo thể hiện ở Bảng 6 cho thấy ấu trùng sâu sấp được nuôi bằng công thức CT2 có thời gian hoàn thành giai đoạn ấu trùng ngắn nhất, thời gian trung bình là $27,6 \pm 4,2$ ngày. Tiếp theo là ấu trùng sâu sấp được nuôi bằng công thức CT1 với thời gian trung bình là $36,4 \pm 4,6$ ngày, thời gian hoàn thành giai đoạn ấu trùng sâu sấp dài nhất là ấu trùng được nuôi bằng công thức CT3 với thời gian trung bình là $42,3 \pm 8$ ngày. Khi ấu trùng sâu sấp nuôi bằng các loại công thức thức ăn khác nhau, thời gian nặng của sâu sấp ở cả ba công thức thức ăn nhân tạo dao động từ 7,7 - 10,3 ngày. Trong đó, công thức CT1 có giai đoạn nặng ngắn

nhất với trung bình là $7,7 \pm 1,8$ ngày, công thức CT2 có thời gian phát triển pha nặng dài nhất trung bình là $10,3 \pm 2,0$ ngày. Thành phần dinh dưỡng trong thức ăn ảnh hưởng đến thời gian hoàn thành vòng đời của sâu sấp. Trong đó, sâu sấp được nuôi bằng công thức CT2 có thời gian hoàn thành vòng đời ngắn nhất với thời gian trung bình là $47,1 \pm 6,1$ ngày (Hình 2). Kết quả thí nghiệm trên phù hợp với kết quả nghiên cứu của Hosamani & ctv. (2017) cho rằng vòng đời sâu sấp dao động từ 42 - 49 ngày. Công thức thức ăn nuôi sâu sấp có thời gian hoàn thành vòng đời dài nhất là công thức CT3 với thời gian trung bình là $59,9 \pm 8,2$ ngày.

Bảng 6. Thời gian phát triển các giai đoạn và vòng đời sâu sấp nuôi bằng ba công thức thức ăn nhân tạo trong điều kiện phòng thí nghiệm

Công thức thức ăn nhân tạo	Thời gian phát triển (ngày) các giai đoạn của sâu sấp			
	Trứng	Ấu trùng	Nhộng	Vòng đời
	TB ± SD	TB ± SD	TB ± SD	TB ± SD
CT1	8,6 ± 0,9	36,4 ± 4,6 ^b	7,7 ± 1,8 ^a	53,7 ± 4,8 ^b
CT2	8,3 ± 1,1	27,6 ± 4,2 ^a	10,3 ± 2,0 ^b	47,1 ± 6,1 ^a
CT3	7,9 ± 0,8	42,3 ± 8,0 ^c	8,8 ± 1,5 ^{ab}	59,9 ± 8,2 ^c
CV (%)	5,2	4,4	8,9	3,0
F _{tính}	2,8 ^{ns}	40,0 ^{**}	11,9 ^{**}	20,5 ^{**}

TB: Trung bình; SD: độ lệch chuẩn; CV: độ biến động; CT1: Công thức 1; CT2: Công thức 2; CT3: Công thức 3. Trong cùng một cột, các giá trị trung bình có cùng ký tự tự theo sau thì khác biệt không ý nghĩa thống kê; ns không khác biệt thống kê; ** khác biệt ở mức ý nghĩa 1%; Số liệu được chuyển đổi sang log (x) trước khi xử lý thống kê.

3.2. Ảnh hưởng của thức ăn nhân tạo lên khả năng sinh sản của thành trùng sâu sấp

Từ kết quả ở Bảng 7 cho thấy thời gian tiền đẻ trứng, thời gian đẻ trứng, thời gian sau đẻ trứng của thành trùng sâu sấp giữa 3 công thức thức ăn không có khác biệt qua phân tích thống kê. Thời gian đẻ trứng trung bình của thành trùng sâu sấp nuôi bằng công thức CT1 là 6,4 ± 2,0 ngày, tương tự như kết quả nghiên cứu của Desai & ctv. (2019) thời gian đẻ trứng là 6,12 ± 1,09

ngày, thời gian đẻ trứng của thành trùng sâu sấp nuôi bằng công thức CT2 là 4,7 ± 2,5 ngày và thời gian đẻ trứng của thành trùng sâu sấp nuôi bằng công thức CT3 là 5,7 ± 0,8 ngày. Thời gian sau đẻ trứng của thành trùng sâu sấp nuôi bằng công thức CT1 là 4 ± 3,7 ngày, thời gian sau đẻ trứng của thành trùng sâu sấp nuôi bằng công thức CT2 là 4,2 ± 2,4 ngày và thời gian sau đẻ trứng của thành trùng sâu sấp nuôi bằng công thức CT3 là 1,4 ± 1,1 ngày.

Bảng 7. Thời gian tiền đẻ trứng, đẻ trứng và sau đẻ trứng của thành trùng sâu sấp nuôi bằng ba công thức thức ăn nhân tạo khác nhau trong điều kiện phòng thí nghiệm

Công thức thức ăn nhân tạo	Thời gian tiền đẻ trứng (ngày)	Thời gian đẻ trứng (ngày)	Thời gian sau đẻ trứng (ngày)
	TB ± SD	TB ± SD	TB ± SD
CT1	1,1 ± 0,4	6,4 ± 2,0	2,7 ± 1,8
CT2	1,0 ± 0,5	4,7 ± 2,5	2,9 ± 2,1
CT3	0,9 ± 0,5	5,7 ± 0,8	2,0 ± 1,4
CV (%)	26,4	20,4	30,4
F _{tính}	1,93 ^{ns}	2,3 ^{ns}	0,65 ^{ns}

TB: Trung bình; SD: độ lệch chuẩn; CT1: Công thức 1; CT2: Công thức 2; CT3: Công thức 3; CV: độ biến động; ns không khác biệt thống kê; số liệu thời gian tiền đẻ trứng được chuyển theo log(x+1), số liệu thời gian đẻ trứng được chuyển đổi theo log(x), số liệu thời gian sau đẻ trứng được chuyển đổi theo (x+0,5)^{0,5} trước khi xử lý thống kê.

Kết quả ở Bảng 8 cho thấy số trứng thành trùng cái đẻ được không có khác biệt khi nuôi bằng ba công thức thức ăn nhân tạo, trung bình thành trùng cái sâu sáp đẻ từ $819 \pm 175,5$ đến

$1008,1 \pm 354,6$ trứng, cho thấy khả năng đẻ trứng thành trùng cái sâu sáp cao hơn so với công bố của Hosamani & ctv. (2017), một thành trùng cái đẻ được từ 500 - 800 trứng.

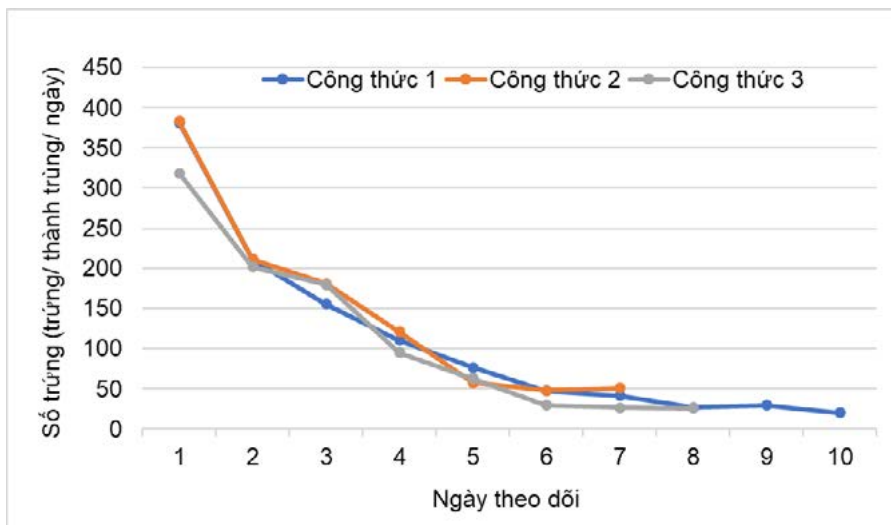
Bảng 8. Khả năng đẻ trứng và tuổi thọ thành trùng sâu sáp nuôi bằng thức ăn nhân tạo

Công thức thức ăn nhân tạo	Chỉ tiêu theo dõi		
	Số trứng (trứng/thành trùng cái)	Tuổi thọ thành trùng cái (ngày)	Tuổi thọ thành trùng đực (ngày)
	TB \pm SD	TB \pm SD	TB \pm SD
CT1	$1008,1 \pm 354,6$	$10,4 \pm 3,4^a$	$16,7 \pm 5,7^{ab}$
CT2	$880,3 \pm 486,5$	$8,6 \pm 2,0^{ab}$	$10,6 \pm 2,5^b$
CT3	$819,0 \pm 175,5$	$7,1 \pm 1,2^b$	$19,8 \pm 8,9^a$
CV (%)	8,6	10,8	14,2
$F_{tính}$	0,9 ^{ns}	5,8 ^{**}	5,8 ^{**}

TB: Trung bình; SD: độ lệch chuẩn; CT1: Công thức 1; CT2: Công thức 2; CT3: Công thức 3; CV: độ biến động; Trong cùng một cột, các giá trị trung bình có cùng ký tự theo sau thì khác biệt không ý nghĩa thống kê; ns: không khác biệt thống kê; **: khác biệt ở mức ý nghĩa 1%; Số liệu được chuyển đổi sang $\log(x)$ trước khi xử lý thống kê.

Tuổi thọ thành trùng sâu sáp có sự khác biệt giữa ba công thức thức ăn nuôi sâu sáp, công thức CT3 có tuổi thọ trung bình của thành trùng cái sâu sáp ngắn nhất là $7,1 \pm 1,2$ ngày, công thức CT1 có tuổi thọ trung bình của thành trùng cái sâu sáp dài nhất là $10,4 \pm 3,4$ ngày, tuổi thọ của thành trùng cái sâu sáp nuôi bằng công thức CT1 và CT2 giống với kết quả nghiên cứu của El-Sawaf (1950) cho rằng tuổi thọ thành trùng

cái sâu sáp dao động từ 8 - 15 ngày. Ngược lại, tuổi thọ trung bình của thành trùng đực sâu sáp nuôi bằng công thức CT3 cao nhất trong 2 công thức thức ăn là $19,8 \pm 8,9$ ngày, nhưng thấp hơn so với nghiên cứu của El-Sawaf (1950), tuổi thọ thành trùng đực sâu sáp biến động từ 21 - 30 ngày. Công thức CT3 có tuổi thọ thành trùng đực sâu sáp ngắn nhất với thời gian trung bình là $10,6 \pm 2,5$ ngày.



Hình 3. Nhịp điệu đẻ trứng (*G. mellonella*) nuôi trên ba công thức thức ăn nhân tạo.

Ở cả 3 công thức thức ăn nhân tạo, thành trùng cái sâu sáp đều tập trung đẻ trứng từ ngày thứ 2 đến ngày thứ 4 sau khi vũ hóa, số trứng đẻ được ở giai đoạn này trên 50% tổng số trứng của thành trùng cái. Từ ngày thứ 5 sau vũ hóa, số lượng trứng giảm rõ rệt, trung bình số trứng đẻ được mỗi ngày dưới 100 trứng/thành trùng cái (Hình 3).

4. Kết Luận

Nuôi sâu sáp bằng công thức thức ăn nhân tạo 2 (CT2) cho kích thước, khối lượng ấu trùng và nhộng lớn nhất và vòng đời ngắn nhất.

Ba công thức thức ăn nhân tạo nuôi ấu trùng sâu sáp sử dụng trong nghiên cứu không ảnh hưởng đến số lượng trứng đẻ của thành trùng cái sâu sáp.

Lời Cam Đoan

Chúng tôi cam đoan bài báo do nhóm tác giả thực hiện và không có bất kỳ mâu thuẫn nào giữa các tác giả.

Tài Liệu Tham Khảo (References)

- Desai, A. V., Siddhapara, M. R., Patel, P. K., & Prajapati, A. P. (2019). Biology of greater wax moth *Galleria mellonella* L. on artificial diet. *Journal of Experimental Zoology* 22(2), 1267-1272.
- El-Gohary, S. G., Yousif-Khalil, S. I., El-Maghraby, M. M. A., & Abd-Alla, S. M. (2018). Mass rearing of the greater wax moth, *Galleria mellonella* L. *Zagazig Journal of Agricultural Research* 45(2), 495-503.
- El-Sawaf, S. K. (1950). The life-history of the greater wax-moth (*Galleria mellonella* L.) in egypt, with special reference to the morphology of the mature larva (Lepidoptera : Pyralidae). *Bulletin de La Societe Fouad 1er d'entomologie* 34, 247-297.
- Hickin, M., Nadel, H., Schal, C., & Cohen, A. C. (2021). Optimization of a diet for the greater wax moth (Lepidoptera: Pyralidae) using full factorial and mixture design. *Journal of Economic Entomology* 114(3), 1091-1103. <https://doi.org/10.1093/jee/toab039>.
- Hosamani, V., Swamy, B. C. H., Kattimani, K. N., & Kalibavi, C. M. (2017). Studies on biology of greater wax moth (*Galleria mellonella* L.). *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* 6(11), 3811-3815. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2017.611.447>.
- Knipling, E. F. (1979). *The basic principles of insect population suppression and management*. Washington, DC, USA: United States Government Printing Office.
- Mohamed, M. A., & Coppel, H. C. (1983). Mass rearing of the greater wax moth, *Galleria Mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae), for small-scale laboratory studies. *The Great Lakes Entomologist* 16(4), 7-10.

Modeling the stem taper functions for *Acacia hybrid* in Dong Nai province

Them V. Nguyen

Forest Science and Technology Association of Ho Chi Minh City, Ho Chi Minh City, Vietnam

ARTICLE INFO

Research Paper

Received: September 07, 2022

Revised: May 05, 2023

Accepted: May 22, 2023

Keywords

Acacia hybrid plantation

Diameter coefficient

Multivariable stem taper function

Single-variable stem taper function

Stem taper

Corresponding author

Nguyen Van Them

Email: nvthem2009@gmail.com

ABSTRACT

The objective of this study was to construct appropriate stem taper functions at the individual tree level of *Acacia hybrid* plantations. The stem taper functions were constructed from 150 sample trees at the age of 3 - 10 years in which their diameter at breast height ranged from 4 - 24 cm. The appropriate stem taper functions were constructed and tested from 2 forms of candidate functions. The form 1 was a multivariable stem taper function and form 2 was a single-variable stem taper function. The research results showed that the deviation of the multivariable outside-bark stem taper function was 19.0% and 42.2% smaller than that of the single-variable function of order 7 and order 2, respectively. Similarly, the deviation of the multivariable inside-bark stem taper function was 13.6% and 32.8% smaller than that of the single-variable stem taper function of order 7 and order 2, respectively. Accuracy of multi-order single-variable stem taper functions was improved by constructing for each diameter class.

Cited as: Nguyen, T. V. (2023). Modeling the stem taper functions for *Acacia hybrid* in Dong Nai province. *The Journal of Agriculture and Development* 22(4), 12-22.

Xây dựng các hàm độ thon thân cây Keo lai (*Acacia hybrid*) tại tỉnh Đồng Nai**Nguyễn Văn Thêm**

Hội Khoa Học & Kỹ Thuật Lâm Nghiệp TP.HCM, TP. Hồ Chí Minh

THÔNG TIN BÀI BÁO**Bài báo khoa học**

Ngày nhận: 07/09/2022

Ngày chỉnh sửa: 05/05/2023

Ngày chấp nhận: 22/05/2023

Từ khóa

Độ thon thân

Hàm độ thon thân đa biến

Hàm độ thon thân đơn biến

Hệ số đường kính

Rừng keo lai

Tác giả liên hệ

Nguyễn Văn Thêm

Email: nvthem2009@gmail.com

TÓM TẮT

Mục tiêu của nghiên cứu này là xây dựng các hàm độ thon thân ở mức cây cá thể của rừng Keo lai. Các hàm độ thon thân được xây dựng từ 150 cây mẫu ở 3 - 10 năm tuổi; trong đó đường kính dao động từ 4 - 24 cm. Các hàm độ thon thân đã được xây dựng và kiểm định theo 2 dạng hàm dự tuyến. Dạng 1 là hàm độ thon thân đa biến. Dạng 2 là hàm độ thon thân đơn biến đa bậc. Kết quả nghiên cứu cho thấy hàm độ thon thân cả vô đa biến nhận sai lệch nhỏ hơn từ 19,0% so với hàm độ thon thân đơn biến ở bậc 7 đến 42,2% so với hàm độ thon thân đơn biến ở bậc 2. Hàm độ thon thân không vô đa biến nhận sai lệch nhỏ hơn từ 13,6% so với hàm độ thon thân đơn biến ở bậc 7 đến 32,8% so với hàm độ thon thân đơn biến ở bậc 2. Độ chính xác của các hàm độ thon thân đơn biến đa bậc được cải thiện bằng cách xây dựng riêng rẽ theo từng cấp đường kính.

1. Đặt Vấn Đề

Độ thon thân cây gỗ biểu thị sự suy giảm đường kính theo chiều cao từ gốc đến ngọn. Hình dạng thân là đường cong mô tả độ thon thân. Độ thon và hình dạng thân cây gỗ thay đổi theo loài cây gỗ, chiều cao (H, m) và tuổi (A, năm) của cây gỗ, lập địa (khí hậu, địa hình, đất, thảm thực vật) và các phương thức lâm sinh. Vì thế, các nhà lâm học sử dụng độ thon và hình dạng thân cây gỗ để phân tích ảnh hưởng của lập địa và các phương thức lâm sinh đến cây gỗ và quần thụ (Nguyen, 2002). Trong điều tra rừng, độ thon thân cây gỗ được sử dụng để ước lượng không chỉ đường kính ở các vị trí khác nhau trên thân, mà còn cả thể tích các phân đoạn gỗ với chiều dài bất kỳ, thể tích thân cây đứng, sản lượng gỗ thu hoạch và sinh khối thân (Vu, 2012).

Độ thon thân cây gỗ (Dh, cm) có thể được mô tả bằng 3 dạng hàm khác nhau. Dạng hàm 1 là các hàm hệ số độ thon thân hay hệ số đường kính thân ($KD=Dh/D$). Khi xây dựng biểu độ thon thân, hàm KD được xây dựng theo hàm đơn biến đa bậc; trong đó biến dự đoán là chiều cao tương đối (h/H). Ở đây D là đường kính thân ngang ngực, H (m) là chiều cao toàn thân, h (m) là chiều cao ở vị trí khác nhau trên thân. Hàm KD có thể được xây dựng chung cho tất cả các cấp D hoặc theo từng cấp D. Dạng hàm 2 là các hàm độ thon thân đa biến; trong đó các biến dự đoán là D, 1/D, (D/H), (D^*H^b), (h/H), (H-h)/(H-1,3), $\exp(D/H)$... Nhiều tác giả (Sharma & Zhang, 2004; Fonweban & ctv., 2011; Tang & ctv., 2017) đã xây dựng các hàm độ thon thân theo hàm đa biến. Dạng hàm 3 là hàm độ thon thân được xây dựng bằng cách tích hợp ba hàm khác nhau;

trong đó hàm 1 là hình đế ở phần gốc, hàm 2 là hình paraboloid ở phần giữa thân và hàm 3 là hình nón ở phần ngọn.

Ở Việt Nam, một số tác giả (Nguyen & Dao, 1999; Nguyen, 2005; Tran, 2019) đã xây dựng những hàm độ thon thân, hàm thể tích và hàm sản lượng gỗ thu hoạch đối với những loài cây gỗ khác nhau. Hiện nay vẫn còn thiếu những hàm độ thon thân và hàm sản lượng gỗ ở mức cây cá thể và quần thụ Keo lai (*Acacia hybrid*) tại tỉnh Đồng Nai. Điều đó không chỉ gây ra những khó khăn cho điều tra và đánh giá sản lượng gỗ, mà còn cả quản lý và phân tích hiệu quả kinh tế đối với rừng Keo lai tại tỉnh Đồng Nai.

Xuất phát từ những vấn đề đặt ra trên đây, nghiên cứu này tập trung trả lời hai câu hỏi chính. Một là độ thon và hình dạng thân cây Keo lai có thể được ước lượng và dự đoán bằng dạng hàm nào? Hai là phương pháp nào cho phép cải thiện độ chính xác của các hàm độ thon thân cây Keo lai? Hai câu hỏi này được trả lời bằng cách xây dựng và kiểm định sai lệch của một số hàm dự tuyến khác nhau. Mục tiêu của nghiên cứu này là xây dựng các hàm độ thon thân ở mức cây cá thể của rừng Keo lai. Kết quả của nghiên cứu này là cơ sở để xây dựng các biểu độ thon, biểu thể tích thân cây đứng và biểu sản lượng gỗ thu hoạch đối với rừng Keo lai tại tỉnh Đồng Nai.

2. Phương Pháp Nghiên Cứu

2.1. Đối tượng và địa điểm nghiên cứu

Đối tượng nghiên cứu là rừng trồng Keo lai từ 3 - 10 năm tuổi. Mật độ trồng rừng ban đầu là 1.667 - 2.200 cây/ha. Số liệu về độ thon thân cây Keo lai được thu thập tại huyện Xuân Lộc và huyện Vĩnh Cửu thuộc tỉnh Đồng Nai. Thời gian nghiên cứu từ 2018 - 2019. Khu vực nghiên cứu mang đặc tính chung của khí hậu nhiệt đới gió mùa. Hàng năm khí hậu phân chia thành hai mùa mưa và khô rõ rệt. Mùa mưa kéo dài 6 tháng từ tháng 5 đến tháng 11, còn mùa khô từ tháng 12

năm trước đến tháng 4 năm sau. Nhiệt độ không khí dao động từ 23,9 - 29,0°C. Lượng mưa dao động từ 2.400 - 2.800 mm/năm. Độ ẩm không khí trung bình 80%. Độ cao dao động từ 80 - 120 m so với mặt biển. Rừng Keo lai được trồng trên đất xám phát triển từ phù sa cổ, đất nâu đỏ trên đá bazan và đất đỏ vàng trên đá phiến sét.

2.2. Phương pháp thu thập số liệu

Giả định D_h của cây Keo lai ở cùng một cấp kích thước (D , H) của các cấp tuổi (A , năm) là bằng nhau. Theo giả định này, D_h ở mức cây cá thể của rừng Keo lai từ 3 - 10 tuổi được xác định từ 150 cây mẫu (N , cây) ở cấp $D = 6 - 24$ cm. Tuổi của rừng Keo lai được xác định theo hồ sơ trồng rừng. Các cây mẫu được thu thập trong 24 ô tiêu chuẩn hình chữ nhật với diện tích 500 m² (20 × 25 m); trong đó mỗi tuổi là 3 ô tiêu chuẩn. Đặc trưng thống kê của 150 cây mẫu được tổng hợp ở Bảng 1. Sở dĩ số lượng cây mẫu phân bố không đồng đều theo các cấp A là vì chúng được chọn theo cấp D ; trong đó mỗi cấp D ít nhất là 3 cây. Các cây mẫu được chặt hạ cách mặt đất 10 cm. Chiều dài thân cây ngả (H , m) được xác định bằng thước dây với độ chính xác 1,0 cm. Thân cây được phân chia thành các phân đoạn với chiều dài (L) 100 cm, còn đoạn ngọn có chiều dài (L_n) trên dưới 100 cm. Đường kính thân ngang ngực cả vỏ (D_{CV} , cm) và không vỏ (D_{OV} , cm), đường kính thân cả vỏ và đường kính thân không vỏ ở đầu lớn (tương ứng D_{1CV} và D_{1OV}) và đầu nhỏ (tương ứng D_{2CV} và D_{2OV}) của mỗi phân đoạn được xác định bằng thước kẹp Panme với độ chính xác 0,1 mm. Đoạn ngọn được đo chiều dài (L_n , cm) và đường kính đáy (D_n , cm).

2.3. Phương pháp xử lý số liệu

2.3.1. Xây dựng các hàm độ thon thân cây Keo lai

Hàm độ thon thân ở mức cây cá thể của rừng Keo lai được kiểm định theo 2 dạng hàm

(Bảng 2). Dạng 1 là hàm độ thon đa biến; trong đó bao gồm 5 hàm dự tuyến. Hàm 1-5 được kí hiệu tương ứng là Kozak01 (Kozak, 2004), Lee03 (Lee & ctv., 2003), Sharma-Zhang04 (Sharma & Zhang, 2004), Them22-6 và Them22-7. Dạng 2 là hàm hệ số độ thon thân ($KD = Dh/D$); trong đó bao gồm 2 hàm đơn biến đa bậc (Vu, 2012). Hàm đơn biến đa bậc (Hàm 6) bao gồm 6 hàm từ bậc 2 đến bậc 7. Hàm 7 là hàm KD đa biến. Hàm này được kí hiệu là Them22-8. Trong nghiên cứu này, ba hàm Them22-6, Them22-7 và Them22-8 do tác giả đề xuất. Tổng số hàm độ thon thân cả vỏ (Dh_{cv} , cm) và không vỏ (Dh_{ov} , cm) được xây dựng và kiểm định là 7

hàm. Chiều cao toàn thân ở các cấp D được ước lượng theo hàm Gompertz (Hàm 8); trong đó m, b và c là các tham số. Chiều dài thân từ gốc đến vị trí đường kính thu hoạch (h_{Di} , m) được xác định theo hàm 9; trong đó KH là chiều cao tương đối hay hệ số chiều cao ($KH = h/H$). Tác giả đề xuất hệ số KH được mô tả theo hàm 10. Ở hàm 1-10, Dh (cm) = đường kính ở những vị trí khác nhau trên thân; D (cm) = đường kính thân ngang ngực; H (m) = chiều cao toàn thân; h (m) = chiều cao từ gốc đến những vị trí khác nhau trên thân; $Y = (h/H)$; $X = (1-Y^{1/4})/(1-p^{1/4})$ với $p = 0,01$; $U = (H - h)/(H - 1,3)$; $Z = (1,3/H)$; $I = (Dh/D)$; $J = (D - Dh)/D$; $a_1 \div a_k$ = các tham số của các hàm Dh.

Bảng 1. Đặc trưng thống kê đường kính và chiều cao của 150 cây mẫu

A (năm)	Số cây	Đường kính ngang ngực				Chiều cao toàn thân			
		D (cm)	Min	Max	± SEE ¹	H (m)	Min	Max	± SEE ¹
(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)	(10)
3	7	6,9	6,0	7,1	0,20	9,0	8,2	10,2	0,65
4	7	7,6	7,2	7,9	0,23	10,1	9,3	11,5	0,79
5	24	8,3	7,9	8,8	0,28	11,1	10,0	12,5	0,66
6	27	9,7	9,0	10,2	0,37	12,5	10,5	14,0	0,92
7	28	11,3	10,5	12,0	0,37	14,3	12,0	17,0	1,47
8	15	12,3	12,0	12,5	0,21	16,4	12,3	18,0	1,24
9	18	13,1	12,7	13,4	0,18	17,4	15,3	19,0	0,99
10	24	15,9	13,4	24,0	2,47	19,4	13,8	26,7	3,10

⁽¹⁾SEE: sai số ước lượng.

2.3.2. Đánh giá sai lệch của các hàm độ thon thân cây Keo lai

Các tham số hồi quy và những thống kê sai lệch của 7 hàm độ thon dự tuyến được xác định bằng phương pháp hồi quy và tương quan phi tuyến tính của Marquartz. Để so sánh tương quan và sai lệch giữa các hàm 6 và 7 với các hàm 1 - 5, các hàm 6 và 7 đã được chuyển về dạng Dh

= D × KD. Mức độ chặt chẽ của mối quan hệ giữa Dh với các biến dự đoán được đánh giá theo hệ số xác định (R^2 ; Công thức 11). Sai lệch của 7 hàm Dh so với Dh thực được đánh giá theo 6 tiêu chuẩn: (1) Tổng sai lệch bình phương (SSE; Công thức 12); (2) Sai số ước lượng (SEE; Công thức 13); (3) Sai số tuyệt đối trung bình (MAE; Công thức 14); (4) Sai số tuyệt đối trung bình theo phần trăm (MAPE; Công thức 15); (5) Sai

số trung bình (ME; Công thức 16); (6) Sai số trung bình theo phần trăm (MPE; Công thức 17). Ở công thức (12) – (17), Dh_i và Dh_j tương ứng là Dh thực và Dh ước lượng; Dh_{bq} là Dh trung bình thực; n = dung lượng mẫu; p = số tham số của hàm Dh . Mục đích của phân tích hồi

quy là xác định hàm ước lượng Dh với sai lệch nhỏ nhất. Theo mục đích này, hàm Dh thích hợp được chọn theo tiêu chuẩn SSE_{Min} và SEE_{Min} . Các bước phân tích hồi quy và tương quan được thực hiện bằng phần mềm thống kê STATGRAPHICS Centurion XV.I 15.1.02.

Bảng 2. Những hàm độ thon thân dự tuyển trong nghiên cứu này

TT	Các hàm độ thon dự tuyển	Tác giả
1	$Dh = a_1 D^{a_2} X^{(a_3 + a_4 \exp(Z) + a_5 D^X + a_6 X^Z)}$	Kozak (2004)
2	$Dh = a_1 D^{a_2} (1 - Y)^{(a_3 Y^2 + a_4 Y + a_5)}$	Lee & ctv. (2003)
3	$Dh^2 = a_1 D^2 U Z^{(2 - (a_2 + a_3 Y + a_4 Y^2))}$	Sharma & Zhang (2004)
4	$Dh = a_1 (D^2 H) + a_2 (D^{a_3} H^{a_4}) (a_5 - \sqrt{Y})^{(a_6 Y + a_7 Y^2 + a_8 Y^3 + a_9 (D/H))}$	Nguyen (2022-6)
5	$Dh = a_1 (D^2 * H)^{a_2} (a_3 - \sqrt{Y})^{(a_4 * Y + a_5 Y^2 + a_6 U + a_7 U^2 + a_8 (D/H))}$	Nguyen (2022-7)
6	$KD = a_1 + a_2 Y + a_3 Y^2 + \dots + a_3 Y^k$	Vu (2012)
7	$KD = a_1 (D^2 H) + a_2 (D^{a_3} H^{a_4}) (a_5 - \sqrt{Y})^{(a_6 Y + a_7 Y^2 + a_8 Y^3 + a_9 (D/H))}$	Nguyen (2022-8)

$$H = \text{mexp}(-b \exp(-cD)) \tag{8}$$

$$h_{Di} = H \times KH \tag{9}$$

$$KH = a_1 (D^3 H)^{a_2} (a_3 - \sqrt{I})^{(a_4 I + a_5 I^2 + a_6 I + a_7 (D/H))} \tag{10}$$

$$R^2 = (1 - (SSE/SST))100 \tag{11}$$

$$SSE = \sum_{i=1}^n (Dh_i - Dh_j)^2 \tag{12}$$

$$SST = \sum_{i=1}^n (Dh_i - Dh_{bq})^2$$

$$SEE = \sqrt{\frac{SSE}{n-p}} \tag{13}$$

$$MAE = |(Dh_i - Dh_j)/n| \tag{14}$$

$$MAPE = (MAE/Dh_i)100 \tag{15}$$

$$ME = (Dh_i - Dh_j) \tag{16}$$

$$MPE = ((Dh_i - Dh_j)/Dh_i)100 \tag{17}$$

3. Kết Quả và Thảo Luận

3.1. Các hàm độ thon thân cây Keo lai

Các hàm ước lượng Dh_{CV} (Bảng 3) và Dh_{OV} (Bảng 4) ở mức cây cá thể của rừng Keo lai đều tồn tại ở mức ý nghĩa rất cao ($P < 0,01$). Hệ số xác định (R^2) nhận giá trị cao nhất ở hàm Them22-6 (tương ứng $R^2 = 96,66\%$ đối với hàm Dh_{CV} và $96,09\%$ đối với hàm Dh_{OV}), kế đến là hàm Them22-7 (tương ứng $R^2 = 96,64\%$ đối với hàm Dh_{CV} và $96,03\%$ đối với hàm Dh_{OV}), thấp nhất là hàm bậc 2 (tương ứng $R^2 = 95,24\%$ đối với hàm Dh_{CV} và $94,81\%$ đối với

hàm Dh_{OV}). Tổng sai lệch bình phương (SSE) nhận giá trị nhỏ nhất ở hàm Them22-6 (tương ứng 1.074,2 đối với hàm Dh_{CV} và 1.215,1 đối với hàm Dh_{OV}), kế đến là hàm Them22-7 (tương ứng 1.1083,7 đối với hàm Dh_{CV} và 1.233,5 đối với hàm Dh_{OV}) và Them22-8 (tương ứng 1.1087,8 đối với hàm Dh_{CV} và 1.233,5 đối với hàm Dh_{OV}), cao nhất là hàm Kozak01 (tương ứng 1.510,4 đối với hàm Dh_{CV} và 1.653,2 đối với hàm Dh_{OV}). Sai số ước lượng (SEE) nhận giá trị thấp nhất ở hàm Them22-6 (tương ứng 0,728 đối với hàm Dh_{CV} và 0,774 đối với hàm Dh_{OV}), kế đến là hàm Them22-7 (tương ứng 0,731 đối với hàm Dh_{CV} và 0,780 đối với hàm Dh_{OV}), cao nhất là hàm Kozak01 (tương

ứng 0,863 đối với hàm Dh_{CV} và 0,903 đối với hàm Dh_{OV}). Sai số tuyệt đối trung bình (MAPE) nhận giá trị thấp nhất ở hàm Them22-6 (8,1% đối với hàm Dh_{CV} và 10,0% đối với hàm Dh_{OV}), cao nhất ở hàm Kozak01 (tương ứng 9,6% đối với hàm Dh_{CV} và 11,0% đối với hàm Dh_{OV}). So với SSE của hàm Dh_{CV} ở dạng hàm Them22-6 (100%), giá trị này ở 3 hàm (Kozak01; Lee03; Sharma-Zhang04) lớn hơn tương ứng 40,6%, 20,7% và 7,4%. Tương tự, các hàm Dh_{CV} đa bậc lớn hơn từ 19,0% ở bậc 7 đến 42,9% ở bậc 2. So với SSE của hàm Dh_{OV} ở dạng hàm Them22-6 (100%), giá trị này của 5 hàm (Kozak01; Lee03; Sharma-Zhang04) lớn

hơn tương ứng 36,1%, 16,2% và 6,3%. Tương tự, các hàm Dh_{OV} đa bậc lớn hơn từ 13,6% ở bậc 7 đến 32,8% ở bậc 2. So với SSE của hàm Dh_{CV} và Dh_{OV} ở dạng hàm Them22-6 (100%), giá trị này ở hàm Them22-7 và Them22-8 chỉ lớn hơn tương ứng 1,1% và 1,5%. Phân hạng SSE cho thấy hàm Them22-6, Them22-7 và Them22-8 lần lượt xếp hạng 1, 2 và 3; hạng 4 và 5 tương ứng là hàm Shamar-Zhang04 và hàm bậc 7; 2 hàm (Lee03, Kozak01) lần lượt xếp hạng 7 và 11. Nói chung, theo tiêu chuẩn SSE_{Min} và SEE_{Min} , hàm Them22-6 là hàm thích hợp để xây dựng hàm ước lượng Dh_{CV} và Dh_{OV} ở mức cây cá thể của rừng Keo lai.

Bảng 3. Hệ số xác định và sai lệch của các hàm độ thon thân cả vỏ của cây Keo lai

TT	Hàm độ thon	R ² (%)	SSE	± SEE	MAE	MAPE	ME	MPE
(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)
1	Kozak01	95,31	1.510,4	0,863	0,626	9,6	-0,009	-2,6
2	Lee03	95,98	1.296,2	0,799	0,579	8,7	0,019	-0,4
3	Shamar-Zhang04	96,42	1.153,5	0,754	0,648	8,3	0,019	-0,7
4	Them22-6	96,66	1.074,2	0,728	0,633	8,1	0,007	-1,2
5	Them22-7	96,64	1.083,7	0,731	0,530	8,1	0,005	-1,2
6	Hàm bậc 2	95,24	1.535,0	0,869	0,765	9,1	-0,067	-1,9
7	Hàm bậc 3	95,54	1.437,6	0,842	0,734	9,0	-0,066	-1,5
8	Hàm bậc 4	95,87	1.331,6	0,810	0,706	8,7	-0,066	-1,6
9	Hàm bậc 5	95,93	1.312,5	0,804	0,698	8,7	-0,066	-1,6
10	Hàm bậc 6	96,00	1.288,8	0,797	0,687	8,6	-0,066	-1,6
11	Hàm bậc 7	96,03	1.278,8	0,794	0,684	8,6	-0,066	-1,6
12	Them22-8	96,63	1.087,8	0,733	0,637	8,1	-0,003	-1,5

SSE: Tổng sai lệch bình phương; SEE: Sai số ước lượng; MAE: Sai số tuyệt đối trung bình; MAPE: Sai số tuyệt đối trung bình theo phần trăm; ME: Sai số trung bình; MPE: Sai số trung bình theo phần trăm.

Phân tích hồi quy cho thấy hàm Dh_{CV} và Dh_{OV} theo hàm Them22-6 có dạng tương ứng như hàm 20 và 21. Từ hai hàm này, xác định được hình dạng thân cây Keo lai (Hình 1); trong đó trục hoành là chiều cao tương đối (h/H), còn trục tung là Dh . Nói chung, hình dạng thân cây Keo

lai thay đổi theo D và H ; trong đó điểm uốn xuất hiện ở khoảng độ cao $h = (0,12 \cdot H)$ kể từ mặt đất. Hàm hệ số KD_{CV} và KD_{OV} ở dạng hàm Them22-8 có dạng tương ứng như hàm 22 và 23. Hàm biểu diễn quan hệ $H = f(D)$ có dạng như hàm 24. Hàm ước lượng hệ số KH có dạng như hàm 25.

$$Dh_{CV} = -0,0000492(D^2H) + 0,152532(D^{-0,710783}H^{1,64793})(3,00828 - \sqrt{Y})^{K_1}$$

$$K_1 = (-0,464337Y + 2,09946Y^2 - 3,58602Y^3 + 2,12885(D/H)) \quad (20)$$

$R^2 = 96,66\%$; $SEE = \pm 0,728$; $MAPE = 8,1\%$; $MPE = -1,2\%$.

$$Dh_{OV} = -0,000128*(D^2H) + 0,125113(D^{-0,677367}H^{1,67725})(3,08969 - \sqrt{Y})^{K_2}$$

$$K_2 = (-0,533405Y + 2,1622Y^2 - 3,65505Y^3 + 2,07483(D/H)) \quad (21)$$

$R^2 = 96,09\%$; $SEE = \pm 0,774$; $MAPE = 9,9\%$; $MPE = -2,1\%$.

$$KDh_{CV} = -0,0000011(D^2H) + 0,243813(D^{-1,42424}H^{1,3356})(3,01767 - \sqrt{Y})^{K_3}$$

$$K_3 = (-0,67033Y + 2,08962Y^2 - 3,52297Y^3 + 1,72484(D/H)) \quad (22)$$

$R^2 = 96,63\%$; $SEE = \pm 0,733$; $MAPE = 8,1\%$; $MPE = -1,5\%$.

$$KDh_{OV} = -0,0000035(D^2H) + 0,20297(D^{-1,40347}H^{1,3636})(3,10573 - \sqrt{Y})^{K_4}$$

$$K_4 = (-0,732706Y + 2,21436Y^2 - 3,71099Y^3 + 1,69104(D/H)) \quad (23)$$

$R^2 = 96,03\%$; $SEE = \pm 0,780$; $MAPE = 10,0\%$; $MPE = -2,4\%$.

$$H = 31,9197\exp(-2,59213\exp(-0,106284D)) \quad (24)$$

$$KH = 0,937976(D^3H)^{-0,0123243}(1,54987 - \sqrt{I})^{K_5}$$

$$K_5 = (-5,1853I + 5,76663I^2 - 0,880594I + 3,46127(D/H)) \quad (25)$$

$R^2 = 99,47\%$; $SEE = \pm 0,021$; $MAE = 0,016$; $MAPE = 5,2\%$.

Bảng 4. Hệ số xác định và sai lệch của các hàm độ thon thân không vỏ của cây Keo lai

TT	Hàm độ thon	R ² (%)	SSE	±SEE	MAE	MAPE	ME	MPE
(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)
1	Kozak01	94,68	1.653,2	0,903	0,663	11,0	-0,015	-4,3
2	Lee03	95,46	1.411,8	0,834	0,607	10,3	0,019	-0,9
3	Shamar-Zhang04	95,85	1.291,2	0,798	0,686	10,3	0,006	-1,9
4	Them22-6	96,09	1.215,1	0,774	0,661	9,9	0,005	-2,1
5	Them22-7	96,03	1.233,5	0,780	0,575	10,1	0,003	-2,1
6	Hàm bậc 2	94,81	1.613,3	0,891	0,774	11,0	-0,052	-2,8
7	Hàm bậc 3	95,09	1.526,6	0,867	0,751	10,7	-0,052	-2,2
8	Hàm bậc 4	95,40	1.430,4	0,840	0,728	10,5	-0,052	-2,5
9	Hàm bậc 5	95,45	1.414,0	0,835	0,724	10,5	-0,052	-2,4
10	Hàm bậc 6	95,53	1.388,8	0,828	0,713	10,4	-0,052	-2,4
11	Hàm bậc 7	95,56	1.380,1	0,825	0,710	10,4	-0,049	-2,4
12	Them22-8	96,03	1.233,5	0,782	0,665	10,0	-0,001	-2,4

SSE: tổng sai lệch bình phương; SEE: sai số ước lượng; MAE: sai số tuyệt đối trung bình; MAPE: sai số tuyệt đối trung bình theo phần trăm; ME: sai số trung bình; MPE: sai số trung bình theo phần trăm.

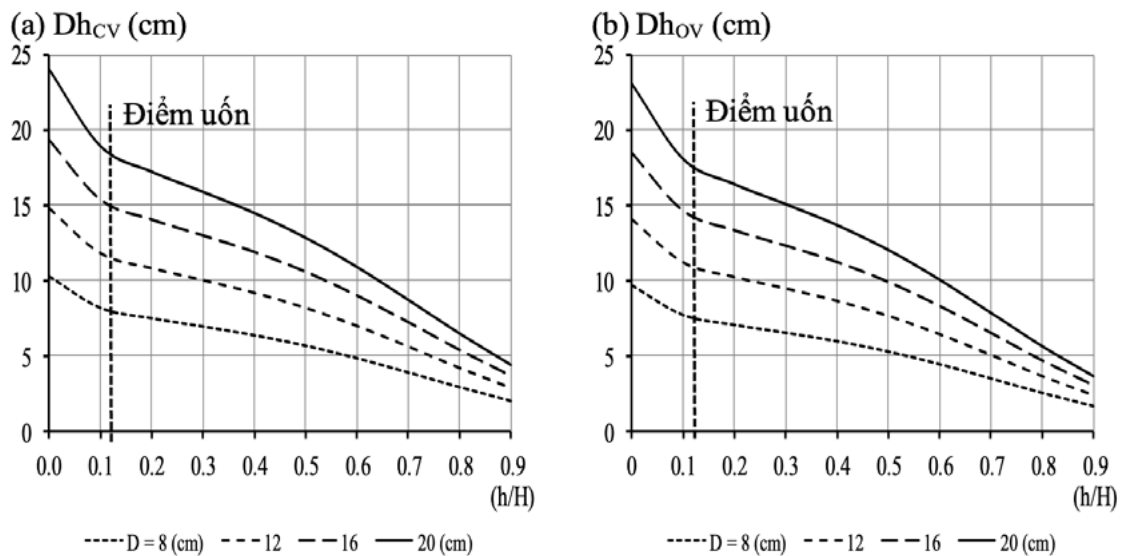
3.2. Cải thiện độ chính xác của các hàm hệ số độ thon thân đa bậc

Những phân tích hồi quy ở Mục 3.1 cho thấy

các hàm KD đơn biến đa bậc (Mô hình 1) được xây dựng chung cho tất cả các cấp kích thước (D, H) nhận sai lệch lớn hơn so với hàm độ thon thân đa biến. Nguyên nhân là vì độ thon và hình

dạng thân cây Keo lai không chỉ thay đổi theo kích thước thân (D, H). Vì thế, nếu xây dựng hàm KD bình quân chung đối với tất cả các cấp kích thước, thì hàm này phản ánh không chính xác ảnh hưởng của kích thước thân (D, H) đến độ thon thân cây Keo lai. Để cải thiện độ chính xác của các hàm KD đơn biến đa bậc theo mô hình 1, các hàm này đã được xây dựng riêng rẽ

theo các cấp D (Mô hình 2). Bảng 5 dẫn tương quan và sai lệch của các hàm KD_{CV} đơn biến ở bậc 7 được xây dựng riêng rẽ theo 5 cấp D (8, 12, 16, 20 và 24 cm); trong đó các hệ số R^2 và thống kê sai lệch (SSE, SEE) được xác định theo quan hệ $Dh = KD \times D$. Bảng 6 tổng hợp tương quan và sai lệch của hàm Dh_{CV} đa biến ở dạng hàm Them22-6 được xác định theo 5 cấp D kể trên.



Hình 1. Đồ thị biểu diễn độ thon thân cả vỏ (a) và độ thon thân không vỏ (b) của những cây Keo lai từ cấp D = 8 - 20 cm.

Bảng 5. Hệ số xác định và sai lệch của hàm độ thon thân cả vỏ ở mức cây cá thể của rừng Keo lai được xác định bằng hàm đơn biến ở bậc 7 theo 5 cấp đường kính

Thống kê sai lệch	Hệ số xác định và sai lệch về Dh_{CV} theo cấp D (cm):				
	8	12	16	20	24
(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)
P_α	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01
R^2	99,98	99,99	99,99	99,99	99,99
SSE	0,0111	0,0010	0,0010	0,0015	0,0014
SEE	0,0744	0,0221	0,0221	0,0271	0,0268

SSE: tổng sai lệch bình phương; SEE: sai số ước lượng.

Bảng 6. Hệ số xác định và sai lệch của hàm độ thon thân cả vỏ ở mức cây cá thể của rừng Keo lai được xác định theo hàm đa biến ở dạng hàm Them22-6 theo 5 cấp đường kính

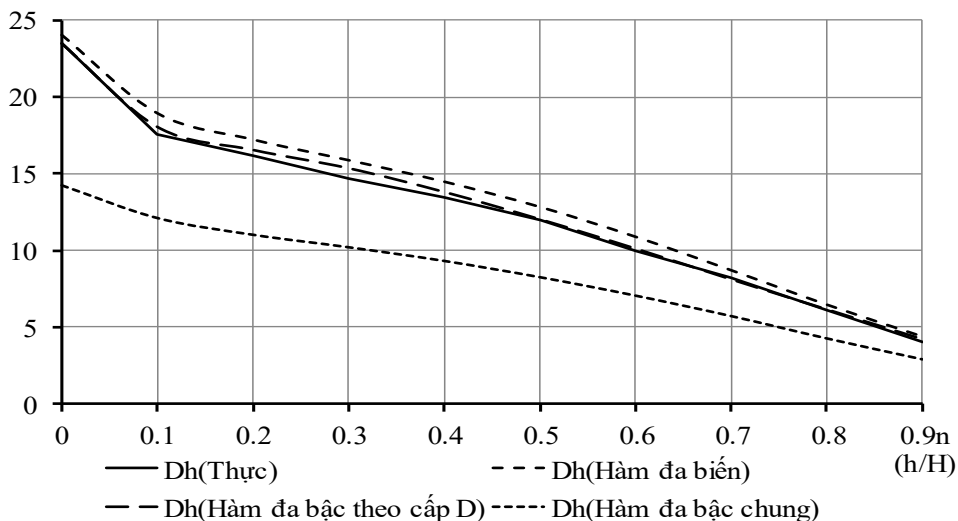
Thống kê sai lệch	Hệ số xác định và sai lệch về Dh theo cấp D (cm):				
	8	12	16	20	24
(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)
P_α	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01
R^2	99,81	99,94	99,93	99,87	99,86
SSE	0,0196	0,0140	0,0087	0,0170	0,0217
SEE	0,1400	0,1184	0,0935	0,1304	0,1474

SSE: tổng sai lệch bình phương; SEE: sai số ước lượng.

Phân tích số liệu ở Bảng 5 và 6 cho thấy hệ số R^2 của hàm Dh_{CV} đa bậc theo mô hình 2 ($R^2 = 99,98 - 99,99\%$) lớn hơn so với hàm đa biến ở dạng hàm Them22-6 ($R^2 = 99,81\% - 99,94\%$). So với SSE của các hàm Dh_{CV} theo mô hình 2, giá trị này ở mô hình Them22-6 lớn hơn từ 1,8 lần ở cấp D = 8 cm đến 8,9 lần ở cấp D = 16 cm và 15,1 lần ở cấp D = 24 cm. Tương tự, so với SEE của các hàm Dh_{OV} theo mô hình 2, giá trị này ở mô hình Them22-6 lớn hơn từ 1,9 lần ở cấp D

= 8 cm đến 4,2 lần ở cấp D = 16 cm và 5,5 lần ở cấp D = 24 cm. Hình 2 biểu diễn sự khác nhau về Dh_{CV} tại cấp D = 20 cm được ước lượng theo mô hình Them22-6 và mô hình 2. Những phân tích trên đây cho thấy các hàm độ thon thân đơn biến đa bậc được xây dựng riêng rẽ theo từng cấp D cho phép ước lượng độ thon thân cây Keo lai với độ chính xác cao hơn so với các hàm độ thon đa biến.

DhCV tại cấp D = 20 cm



Hình 2. Đồ thị so sánh Dh thực tế và Dh ước lượng của cây Keo lai theo hàm đa biến và hàm đơn biến đa bậc tại cấp D = 20 cm.

3.3. Thảo luận và áp dụng kết quả nghiên cứu

3.3.1. Thảo luận

Xây dựng các hàm Dh ở mức cây cá thể của rừng Keo lai là yêu cầu của khoa học và thực tiễn. Các hàm Dh không chỉ được sử dụng để phân tích độ thon và hình dạng thân cây Keo lai tùy theo tuổi, kích thước và lập địa, mà còn xây dựng biểu thể tích và biểu sản lượng gỗ thu hoạch. Các hàm độ thon thân trong nghiên cứu này là các hàm thực nghiệm. Các hàm Dh_{CV} và Dh_{OV} thích hợp ở mức cây cá thể của rừng Keo lai được kiểm định từ 12 hàm khác nhau. Kết quả nghiên cứu cho thấy hàm Them22-6 nhận sai lệch (SSE, SEE) nhỏ nhất, kế đến là hàm Them22-7 và Them22-8. So với SSE của hàm Them22-6, hai đại lượng Dh_{CV} và Dh_{OV} được ước lượng từ hàm Them22-7 và Them22-8 chỉ lớn hơn khoảng 1,3%. Vì thế, hai hàm Them22-7 và Them22-8 có thể được sử dụng để xây dựng hàm ước lượng Dh_{CV} và Dh_{OV} ở mức cây cá thể của rừng Keo lai.

Các hàm KD đơn biến đa bậc được xây dựng chung cho tất cả các cấp kích thước (D, H) chỉ phản ánh độ thon và hình dạng thân bình quân chung của cây Keo lai. Khi áp dụng các hàm này để ước lượng độ thon và hình dạng thân ở từng cấp D, thì kết quả nhận sai lệch rất lớn. Nguyên nhân là vì độ thon và hình dạng thân cây Keo lai thay đổi theo tuổi và kích thước thân (D, H). Sai lệch của các hàm KD đơn biến đa bậc được cải thiện đáng kể khi chúng được xây dựng riêng rẽ theo từng cấp D. Tuy vậy, nếu xây dựng các hàm KD đơn biến đa bậc theo từng cấp D, thì số lượng các hàm cần phải được xây dựng và kiểm định là rất lớn. Thật vậy, nếu D của rừng Keo lai được phân chia theo 10 cấp và hàm KD đơn biến đa bậc được kiểm định từ bậc 2 - 7, thì số lượng các hàm KD_{CV} và KD_{OV} cần phải được xây dựng và kiểm định là 120 hàm. Nếu các hàm KD được xây dựng theo các tuổi và các chỉ số lập địa của rừng Keo lai, thì số lượng các hàm cần phải xây dựng và kiểm định sẽ tăng lên rất lớn. Ngoài ra, các hàm KD đơn biến đa bậc chỉ

cho phép phân tích sự biến đổi độ thon và hình dạng thân theo chiều cao tương đối, mà không phản ánh rõ những yếu tố ảnh hưởng (tuổi, kích thước, lập địa...). Nhược điểm này được khắc phục bằng cách xây dựng các hàm Dh với nhiều biến dự đoán.

3.3.2. Áp dụng kết quả nghiên cứu

Trong thực hành, hai thành phần Dh_{CV} và Dh_{OV} ở mức cây cá thể của rừng Keo lai được ước lượng theo hàm 20 và 21. Khi xác định Dh_{CV} và Dh_{OV} trước hết đo đạc D của từng cây trong ô tiêu chuẩn với kích thước 500 m², còn H được ước lượng theo hàm 24. Sau đó thay thế D, H và h vào hàm 20 và 21 để nhận được Dh_{CV} và Dh_{OV} . Chiều cao từ gốc đến những vị trí khác nhau trên thân (h) được xác định tùy theo mục đích nghiên cứu và yêu cầu của sản phẩm. Để đơn giản trong tính toán, hai đại lượng Dh_{CV} và Dh_{OV} được ước lượng theo các cấp D. Trước hết thống kê D của những cây Keo lai ở các tuổi khác nhau trên các ô tiêu chuẩn. Kế đến xây dựng bảng phân bố số cây theo cấp D đối với các tuổi; trong đó cự ly mỗi cấp D = 2,0 cm. Tiếp đến xác định H trung bình của các cấp D theo hàm 24. Sau đó xác định Dh_{CV} và Dh_{OV} của từng cấp D bằng cách thay thế cấp D, H trung bình của từng cấp D và h vào hàm 20 và 21. Để xác định chiều cao tại vị trí đường kính thu hoạch ở đầu nhỏ (h_{D_i} , m), trước hết xác định hệ số KH theo hàm 25. Ở hàm 25, $I = (Dh_D/D)$ và $J = (D - Dh_D)/D$; trong đó Dh_D là đường kính thu hoạch ở đầu nhỏ kể từ gốc. Sau đó xác định h_{D_i} theo quan hệ $h_{D_i} = H * KH$. Hai hàm Dh_{CV} và Dh_{OV} được sử dụng để xác định đường kính đầu lớn và đầu nhỏ của các phân đoạn. Từ đó tính thể tích các phân đoạn, thể tích thân cây đứng và thể tích gỗ thương mại.

4. Kết Luận

Độ thon thân cây Keo lai thay đổi theo kích thước thân. Độ thon thân cả vỏ và không vỏ ở mức cây cá thể của rừng Keo lai có thể được xây

dựng bằng các hàm đa biến và các hàm đơn biến đa bậc. Khi xây dựng các hàm độ thon thân cây Keo lai theo tất cả các cấp kích thước, thì các hàm độ thon đa biến nhận sai lệch nhỏ hơn đáng kể so với các hàm độ thon thân đơn biến đa bậc. Độ chính xác của các hàm độ thon thân đơn biến đa bậc được cải thiện bằng cách xây dựng riêng rẽ theo từng cấp đường kính. Các hàm độ thon thân đa biến được sử dụng để ước lượng độ thon thân và tính thể tích các phân đoạn, thể tích thân cây đứng và thể tích gỗ thương mại đối với rừng Keo lai.

Lời Cảm Ơn

Tác giả cảm ơn những trích dẫn tài liệu tham khảo, số liệu và kết quả của bài báo này là trung thực.

Tài Liệu Tham Khảo (References)

- Fonweban, J., Gardiner, B., Macdonald, E., & Auty, D. (2011). Taper functions for scots pine (*Pinus sylvestris* L.) and sitka spruce (*Picea sitchensis* (Bong.) Carr.) in Northern Britain. *An International Journal of Forestry Research* 84(1), 49-60. <https://doi.org:10.1093/forestry/cpq043>.
- Kozak, A. (2004). My last words on taper equations. *The Forestry Chronicle* 80(4), 507-515. <https://doi.org:10.5558/tfc80507-4>.
- Lee, W. K., Seo, J. H., Son, Y. M., Lee, K. H., & Gadow, K. V. (2003). Modeling stem profiles for *Pinus densiflora* in Korea. *Forest Ecology and Management* 172(1), 69-77. [https://doi.org:10.1016/S0378-1127\(2\)00139-1](https://doi.org:10.1016/S0378-1127(2)00139-1).
- Nguyen, L. N., & Dao, C. K. (1999). *Research on growth and yield of planted forests (Applied to Pinus kaysia Royle ex Gordon) forests in Vietnam*. Ha Noi, Vietnam: Agricultural Publishing House.
- Nguyen, T. B. (2005). Modelling the growth and temporary yield tables of pure *Acacia hybrid* plantations. *Journal of Agriculture and Rural Development* 13, 91-95.
- Nguyen, T. V. (2002). *Forest ecology*. Ha Noi, Vietnam: Agricultural Publishing House.
- Nguyen, T. V., Nguyen, B. T., & Nguyen, M. T. (2022a). Developing stem taper functions for *Acacia hybrid* in mono-plantations in Vietnam. *Journal of Forestry Science and Technology* 2, 22-31. <https://doi:10.55250/jo.vnuf.2022.2.022-031>.
- Nguyen, T. V., Tran, N. T., Nguyen, M. T., Vu, H. D., & Nguyen, H. X. (2022b). Stem taper function for *Acacia hybrid* in Southeastern region of Vietnam. *Vietnam Journal of Forest Science* 2, 77-86.
- Sharma, M., & Zhang, S. Y. (2004). Variable-exponent taper equations for jack pine, black spruce, and balsam fir in eastern Canada. *Forest Ecology and Management* 198(1-3), 39-53. <https://doi:10.1016/j.foreco.2004.03.035>.
- Tang, C., Wang, C. S., Pang, S. J., Zhao, Z. G., Guo, J. J., Lei, Y. C., & Jeng, J. (2017). Stem taper equations for *Betula alnoides* in South China. *Journal of Tropical Forest Science* 29(1), 80-92.
- Tran, T. V. (2019). *Estimation of aboveground biomass and carbon stocks for Acacia hybrid plantations in Dong Nai province* (Unpublished doctoral dissertation). Nong Lam University, Ho Chi Minh City, Vietnam.
- Vu, T. H. (2012). *Method of constructing the volume tables for standing trees in natural forests in Vietnam*. Ha Noi City, Vietnam: Agricultural Publishing House.

Farming status, economic and technical efficiency of agroforestry models at Nui Dai, An Giang province

Nien C. Nguyen*, Thao P. Pham, Nguyen H. Pham, & Dan T. Vo
Faculty of Agronomy, Nong Lam University, Ho Chi Minh City, Vietnam

ARTICLE INFO

Research Paper

Received: February 02, 2023

Revised: May 09, 2023

Accepted: May 30, 2023

Keywords

Agroforestry

An Giang

Economic and technical efficiency

Farming model

Nui Dai

*Corresponding author

Nguyen Chau Nien

Email:

nien.nguyen@hcmuaf.edu.vn

ABSTRACT

This study was carried out from November 2021 to May 2022 with the aim to evaluate the farming status, economic and technical efficiency of agroforestry model in Nui Dai, the largest mountain in the Bay Nui region, An Giang province. Via randomly interviewing 89 farmers using a structured questionnaire form, data on the status of agroforestry production, total income, and natural conditions were collected and analyzed. The results indicated that there were 13 existing farming models, including 6 agroforestry models and 7 models that grew only crop plants or forest trees. Agroforestry models accounted for 40.94% of the total annual income of households, with profits ranging from 6.71 to 23.3 million VND/ha per year. Input factors, including cultivated area, hired labor for planting, and yearly harvesting, showed a positive correlation with the income from farming models. The average technical efficiency (TE) of the farming models was 49.46%. The factors positively affecting to TE were ethnicity, farming experience and soil types, whereas the number of household members negatively affected TE.

Cited as: Nguyen, N. C., Pham, T. P., Pham, N. H., & Vo, D. T. (2023). Farming status, economic and technical efficiency of agroforestry models at Nui Dai, An Giang province. *The Journal of Agriculture and Development* 22(4), 23-32.

Hiện trạng canh tác, hiệu quả kinh tế và kỹ thuật của các mô hình nông lâm kết hợp tại Núi Dài, tỉnh An Giang

Nguyễn Châu Niên*, Phạm Phương Thảo, Phạm Hữu Nguyên & Võ Thái Dân

Khoa Nông Học, Trường Đại Học Nông Lâm TP.HCM, TP. Hồ Chí Minh

THÔNG TIN BÀI BÁO

Bài báo khoa học

Ngày nhận: 02/02/2023

Ngày chỉnh sửa: 09/05/2023

Ngày chấp nhận: 30/05/2023

Từ khóa

An Giang

Hiệu quả kinh tế và kỹ thuật

Mô hình canh tác

Nông lâm kết hợp

Núi Dài

*Tác giả liên hệ

Nguyễn Châu Niên

Email:

nien.nguyen@hcmuaf.edu.vn

TÓM TẮT

Nghiên cứu được thực hiện từ tháng 11 năm 2021 đến tháng 05 năm 2022 nhằm đánh giá hiện trạng canh tác, hiệu quả kinh tế và kỹ thuật của các mô hình nông lâm kết hợp tại khu vực Núi Dài, dãy núi rộng nhất thuộc vùng Bảy Núi, tỉnh An Giang. Thông qua việc phỏng vấn ngẫu nhiên 89 nông hộ sử dụng bảng câu hỏi được soạn sẵn, các dữ liệu về hoạt động canh tác, tổng thu nhập và điều kiện tự nhiên đã được thu thập và phân tích. Kết quả cho thấy, có 13 mô hình canh tác nông nghiệp hiện hữu ở khu vực Núi Dài, trong đó có 6 mô hình nông lâm kết hợp và 7 mô hình thuần cây nông nghiệp hoặc cây rừng. Thu nhập từ mô hình nông lâm kết hợp chiếm 40,94% tổng thu nhập hằng năm của nông hộ với lợi nhuận mà các mô hình này hàng năm đem lại dao động từ 6,71 - 23,3 triệu đồng/ha. Các yếu tố đầu vào bao gồm diện tích đất canh tác, thuê công trồng cây và công thu hoạch hằng năm có tương quan thuận với thu nhập từ các mô hình canh tác. Hiệu quả kỹ thuật (TE) của các mô hình canh tác đạt trung bình (49,46%). Các yếu tố ảnh hưởng tích cực đến TE gồm dân tộc, kinh nghiệm sản xuất nông nghiệp và loại đất canh tác, trong khi yếu tố nhân khẩu có ảnh hưởng tiêu cực đến TE.

1. Đặt Vấn Đề

Bảy Núi, còn được gọi là Thất Sơn, là một hệ sinh thái đồi núi duy nhất nằm giữa vùng đồng bằng sông Cửu Long, trải dài trong phạm vi huyện Tri Tôn và huyện Tịnh Biên của tỉnh An Giang. Tiểu vùng này chiếm 42% diện tích đất tự nhiên của tỉnh, đa dạng về động thực vật với nhiều cây hoang dại có giá trị quý về dược liệu và lâm nghiệp (FPD An Giang, 2020). Thực vật ở khu vực Bảy Núi có khoảng 815 loài thuộc 5 ngành, 84 bộ, 145 họ, 50 chi, trong đó nhóm cây gỗ lớn có trên 116 loài, nhóm cây dược liệu có giá trị rất lớn cả về y học và nguồn lợi kinh

tế cho người dân địa phương (Nguyen, 2008; Le & ctv., 2017). Theo khảo sát của Nguyen (2008), mỗi năm các công ty dược đóng trên địa bàn hai huyện Tri Tôn và Tịnh Biên nói riêng và các Trung tâm Đông y của tỉnh An Giang nói chung cần khoảng 180 tấn dược liệu với 56 loài cây thuốc. Đây vừa là cơ hội để người dân địa phương phát triển sinh kế, vừa là một thách thức cho việc bảo tồn nguồn tài nguyên rừng.

Từ xa xưa, việc canh tác cây nông nghiệp và dược liệu xen lẫn dưới tán cây rừng đã là một tập quán quen thuộc của người dân vùng rừng núi. Hệ thống canh tác xen canh này giúp con

người tạo ra lương thực thực phẩm từ cây nông nghiệp đồng thời có thể thu hoạch các sản vật từ rừng tự nhiên (Steppler & Nair, 1987). Cho đến những năm 70 của thế kỉ thứ XX, thuật ngữ “nông lâm kết hợp” mới được ra đời từ nghiên cứu chiến lược của Trung tâm nghiên cứu và phát triển quốc tế của Canada (IDRC), dẫn dắt bởi nhà kiểm lâm John Bene. Cũng từ đây, Hội đồng quốc tế về nghiên cứu nông lâm kết hợp (ICRAF) đã được ra đời, thúc đẩy nghiên cứu nông lâm kết hợp (NLKH) ở các quốc gia đang phát triển. Ở thời điểm hiện tại, theo ICRAF (2021), NLKH không chỉ là hình thức canh tác cây nông nghiệp dưới tán rừng tự nhiên mà nó có thể bao gồm việc trồng các cây gỗ lớn trong nông trại hay đất canh quan nông nghiệp, việc trồng trọt trong rừng hay dọc theo bia rừng hoặc việc sản xuất xen canh cây rừng - cây trồng kết hợp.

Thách thức của các nhà làm chính sách ở các khu vực canh tác NLKH đó là cân bằng giữa việc đảm bảo sinh kế cho người dân và bảo tồn nguồn tài nguyên thiên nhiên. Trong nhiều năm, Phòng Nông nghiệp và phát triển nông thôn tỉnh An Giang đã khuyến khích người dân canh tác theo nhiều dạng mô hình NLKH khác nhau. Tuy nhiên, hiện nay người nông dân đang có xu hướng tăng diện tích trồng cây nông nghiệp, ảnh hưởng tiêu cực đến diện tích đất rừng (FPD An Giang, 2020). Trước thực trạng đó, năm 2019, Sở Khoa học và Công nghệ tỉnh An Giang đã thực hiện dự án “Xây dựng và phát triển các mô hình

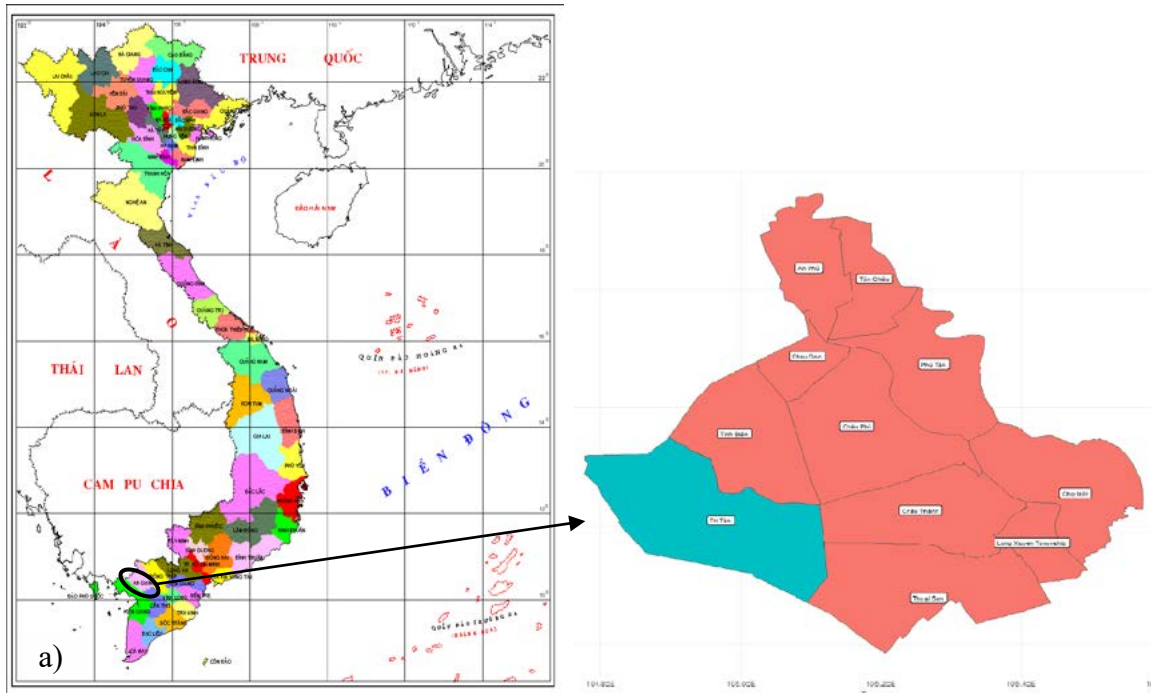
nông lâm kết hợp cho vùng Bảy Núi, tỉnh An Giang” với mục tiêu đánh giá các mô hình canh tác NLKH trên cơ sở đánh giá tính thích nghi đất đai để xây dựng và phát triển có hiệu quả các mô hình NLKH cho vùng Bảy Núi. Dự án được thực hiện tại 2 khu vực có tầm quan trọng lớn về kinh tế và sinh thái của vùng Bảy Núi đó là khu vực Núi Cấm thuộc huyện Tịnh Biên và khu vực Núi Dài thuộc huyện Tri Tôn.

Vì vậy, nghiên cứu này được thực hiện tại khu vực Núi Dài, thuộc huyện Tri Tôn với các mục tiêu (i) mô tả tổng quan thông tin các nông hộ canh tác NLKH, (ii) xác định hiện trạng canh tác và các mô hình NLKH hiện hữu và (iii) xác định hiệu quả kỹ thuật và các yếu tố ảnh hưởng đến hiệu quả kỹ thuật của các nông hộ sản xuất NLKH tại khu vực Núi Dài, huyện Tri Tôn, tỉnh An Giang.

2. Vật Liệu và Phương Pháp

2.1. Địa điểm nghiên cứu

Điều tra được tiến hành tại khu vực Núi Dài, thuộc xã Lê Trì, xã Ô Lâm và thị trấn Ba Chúc, huyện Tri Tôn, tỉnh An Giang (Hình 1), từ tháng 11 năm 2021 đến tháng 05 năm 2022. Núi Dài nằm trong vùng khí hậu nhiệt đới, gió mùa, trong năm có hai mùa rõ rệt gồm mùa mưa và mùa khô. Nhiệt độ trung bình hằng năm từ 26 - 30°C, lượng mưa khoảng 1.130 mm, độ ẩm trung bình 75 - 80%.



Hình 1. a) Vị trí tỉnh An Giang trên bản đồ Việt Nam (nguồn: <https://vast.gov.vn>) và b) Vị trí huyện Tri Tôn trên bản đồ tỉnh An Giang (màu xanh).

2.2. Ước lượng kích thước mẫu và phân tích dữ liệu

Công thức xác định số nông hộ điều tra được thiết lập dựa trên ước tính tỉ lệ theo tác giả Israel (1992). Số mẫu được tính toán dựa trên khoảng tin cậy 95% và sai số biên (e) với tổng thể cần khảo sát có canh tác theo mô hình NLKH theo công thức:

$$n = \frac{0,25NZ^2}{e^2N + 0,25Z^2 - e^2} \quad (1)$$

Trong đó n là số mẫu cần điều tra; N là kích thước đám đồng tổng thể; $Z = 1,96$ (độ tin cậy 95%); $e = 0,1$.

Quá trình lấy mẫu được thực hiện ngẫu nhiên trong những nông hộ có mô hình sản xuất nông lâm kết hợp (NLKH), với yêu cầu diện tích tối thiểu là 1.000 m². Theo số liệu từ Cục thống kê tỉnh An Giang (An Giang SO, 2018), tổng số hộ

canh tác theo mô hình NLKH tại địa phương là 814 hộ. Dựa vào công thức (1) xác định được số hộ cần điều tra là 86 hộ. Tuy nhiên, để đảm bảo đủ số mẫu điều tra cần bổ sung thêm 5% số mẫu (dự kiến trường hợp các nông hộ không hợp tác) vì vậy tổng số mẫu điều tra thực tế là 89 hộ. Nội dung khảo sát dựa trên bảng câu hỏi soạn sẵn với nội dung:

- Thông tin chung về nông hộ điều tra
- Mô hình canh tác, diện tích canh tác, công thức luân canh, các loại cây trồng
- Kỹ thuật canh tác, chi phí sản xuất, lao động, năng suất cây trồng

Người được chọn phỏng vấn là chủ hộ hoặc là người trực tiếp tham gia vào việc sản xuất NLKH của nông hộ. Điều kiện này được đặt ra nhằm đảm bảo thông tin mà người phỏng vấn cung cấp phản ánh đúng thực tế sản xuất của nông hộ.

2.3. Phân tích dữ liệu

Mô hình sản xuất biên ngẫu nhiên được áp dụng dựa trên Battese & Coelli (1995) theo công thức sau:

$$\ln Y_i = \ln [f(X_i)] + (v_i - u_i) \quad (2)$$

Trong đó Y_i là đầu ra (tổng thu nhập từ mô hình NLKH), X_i là các biến đầu vào (như được trình bày trong Bảng 3), v_i là sai số trong thống kê do tác động bởi các yếu tố ngẫu nhiên và được giả định có phân phối chuẩn ($v \sim N(0, \sigma_v^2)$) và độc lập với u_i , u_i là phần kém hiệu quả kỹ thuật, được giả định lớn hơn hoặc bằng 0 và có phân phối nửa chuẩn ($u \sim |N(0, \delta^2)|$).

Hiệu quả kỹ thuật (TE) của hàm sản xuất biên ngẫu nhiên của nông hộ thứ i được xác định dựa vào (Battese & Coelli, 1995) như sau:

$$TE = \exp(-u_i) = \exp(-\delta_0 + \delta_i Z_i + W_i) \quad (3)$$

Trong đó, W_i là sai số có giá trị trung bình bằng 0; Z_i là các yếu tố ảnh hưởng đến giá trị hiệu quả kỹ thuật, với giả định rằng đây là những yếu tố liên quan đến kinh nghiệm và kiến thức trong sản xuất nông lâm kết hợp của các nông hộ và các điều kiện tự nhiên của địa điểm nghiên cứu (như trình bày trong Bảng 4). Sử dụng ứng dụng Benchmarking và AER trong phần mềm thống kê R phiên bản 4.1.2 để phân tích số liệu dựa vào các phương trình (2) và (3).

3. Kết Quả và Thảo Luận

3.1. Thông tin chung về nông hộ sản xuất NLKH tại Núi Dài, tỉnh An Giang

Điều tra đã khảo sát 89 nông hộ sản xuất NLKH trong đó có 65 nam và 24 nữ. Kết quả từ Bảng 1 cho thấy hầu hết nông hộ là người Kinh (73 hộ, chiếm 82,02%), còn lại là người Khmer (16 hộ, chiếm 17,98%). Theo Colfer & Newton (1989) và Tran (2003), yếu tố dân tộc có thể ảnh hưởng lớn đến chiến lược và cách tiếp cận nông nghiệp của nông dân. Dù là dân tộc nào và trong bất kỳ trường hợp nào người dân cũng tìm được phương pháp phù hợp để thích nghi với điều kiện tự nhiên, với môi trường sống của họ. Do đó, trong chính sách phát triển NLKH cho các nông hộ thuộc khu vực Núi Dài của huyện Tri Tôn, cần phát huy kinh nghiệm và hiểu biết của người dân dựa trên cơ sở văn hoá và điều kiện tự nhiên.

Trình độ học vấn của các hộ còn thấp, trong đó có 68,5% (61 hộ) tiểu học, 24,7% (22 hộ) trung học cơ sở và 6,7% (6 hộ) trung học phổ thông. Độ tuổi trung bình của chủ hộ ở khu vực Núi Dài là 51,9 và người trẻ nhất ở tuổi 24 và già nhất nhất ở 87 tuổi. Kinh nghiệm làm nông nghiệp trung bình đạt 27,08 năm. Ainembabazi & Mugisha (2014) cho rằng, kinh nghiệm làm nông giúp ích cho nông hộ áp dụng các kỹ thuật canh tác phù hợp trong đó bao gồm việc áp dụng công nghệ trong sản xuất.

Bảng 1. Thông tin chung về chủ hộ canh tác nông lâm kết hợp (NLKH) tại Núi Dài

Đặc điểm chủ hộ	Trung bình	Độ lệch chuẩn	Thấp nhất	Cao nhất
Dân tộc (người):				
- Kinh	73			
- Khmer	16			
Học vấn (cấp):				
- Tiểu học	61			
- Trung học cơ sở	22			
- Trung học phổ thông	6			
Tuổi (năm)	51,9	11,51	24	82
Kinh nghiệm làm nông (năm)	27,08	12,02	2	60
Nhân khẩu (người)	4	1,62	1	10
Lao động chính (người)	2	1,09	1	6
Lao động nông nghiệp (người)	2	0,75	1	4
Diện tích canh tác (ha)	1,63	1,33	0,2	7
Tổng thu nhập (triệu đồng/hộ/năm)	78,88	58,95	5	350
Phần trăm thu nhập từ NLKH (%)	40,94	35,91	0	100

Thu nhập trung bình hằng năm của mỗi nông hộ đạt 78,88 triệu đồng (tương đương với 39,44 triệu đồng/lao động chính), với mức thu nhập dao động từ 5 đến 350 triệu đồng/hộ. Thu nhập từ mô hình NLKH đóng góp 40,94% tổng thu nhập của nông hộ. So với kết quả điều tra các mô hình canh tác NLKH ở khu vực núi Cấm, tỉnh An Giang (Nguyen & ctv., 2022) cho thấy phần trăm thu nhập từ mô hình NLKH chiếm 62,8%, cao hơn 21,86% so với các mô hình NLKH tại núi Dài.

3.2. Hiện trạng canh tác và hiệu quả kinh tế của các mô hình NLKH tại Núi Dài

Có bốn nhóm cây nông nghiệp được trồng xen với cây rừng trong các mô hình NLKH đó là: cây ăn quả (CAQ), rau, cây dược liệu (CDL) và cây gia vị (CGV). Bảng 2 cho thấy, mô hình

NLKH phổ biến nhất ở khu vực Núi Dài là mô hình kết hợp rừng + CAQ với tổng cộng 29 nông hộ áp dụng, với tổng diện tích là 50,63 ha, thu nhập hằng năm đạt 28,0 triệu đồng/ha và lợi nhuận đạt 16,6 triệu đồng/ha. Ba mô hình có mức lợi nhuận cao nhất và xấp xỉ nhau là mô hình rừng + CAQ + CDL (23,3 triệu đồng/ha trong 1 năm), mô hình rừng + CGV (23,1 triệu đồng/ha cho mỗi hộ) và mô hình rừng + CAQ + CGV (22,5 triệu đồng/ha trong 1 năm). Mô hình có mức lợi nhuận thấp nhất là mô hình rừng + CAQ + CDL + CGV (6,71 triệu đồng/ha trong 1 năm).

Kết quả điều tra các mô hình canh tác NLKH tại núi Cấm, thực hiện bởi Nguyen & ctv. (2022) cũng cho kết quả tương tự với mô hình cây rừng + cây ăn quả là mô hình canh tác NLKH phổ biến nhất ở núi Cấm.

Bảng 2. Hiện trạng canh tác và hiệu quả kinh tế của các mô hình nông lâm kết hợp tại khu vực Núi Dài

Mô hình canh tác	Số hộ	Diện tích (ha/hộ)	Tổng chi	Tổng thu	Lợi nhuận
			(triệu đồng)		
Rừng + CAQ	29	1,75	11,4	28,0	16,6
CAQ	20	1,55	14,6	31,8	17,1
Rừng	12	1,20	17,3	41,9	24,6
CAQ + CDL	11	1,61	19,9	27,4	7,5
Rừng + CAQ + CDL	3	1,07	4,9	28,2	23,3
Rừng + CAQ + CDL + CGV	3	1,89	5,59	12,3	6,71
CAQ + CDL + CGV	3	1,60	32,7	50,5	17,8
Rừng + CAQ + CGV	2	2,50	20,0	42,5	22,5
Rừng + CAQ + rau	2	1,50	2,4	21,4	19,0
Rừng + CGV	1	0,80	1,9	25,0	23,1
CDL + CGV	1	0,25	8,0	40,0	32,0
CAQ + rau	1	3,60	11,1	16,7	5,6
CAQ + CDL + rau	1	5,00	2,2	6,0	3,8

Ghi chú: CAQ: cây ăn quả, CDL: cây dược liệu, CGV: cây gia vị.

Bảng 2 cũng cho thấy người dân tại khu vực Núi Dài có xu hướng trồng thuần các loại cây nông nghiệp, đặc biệt là các mô hình trồng cây ăn quả và cây ăn quả kết hợp với rau màu. Các mô hình này thường mang lại hiệu quả kinh tế cao, tuy nhiên việc mở rộng diện tích trồng cây nông nghiệp sẽ dẫn đến việc mất rừng. Đây là một vấn đề nan giải mà cơ quan chức năng địa phương tìm cách ngăn chặn nhằm hạn chế mất mát diện tích rừng tự nhiên (FPD An Giang, 2020).

3.3. Các yếu tố tương quan và ảnh hưởng đến các mô hình NLKH tại Núi Dài, tỉnh An Giang

3.3.1. Tương quan giữa yếu tố đầu vào và tổng thu nhập của các mô hình NLKH

Kết quả ước lượng từ hàm sản xuất biên ngẫu nhiên chỉ ra các yếu tố có tương quan thuận đến lợi nhuận của các mô hình NLKH bao gồm: diện tích canh tác NLKH, thuê công trồng và công thu hoạch hàng năm. Ngược lại, chi phí mua cây giống có tương quan nghịch với lợi nhuận từ các mô hình NLKH (Bảng 3).

Bảng 3. Tương quan giữa yếu tố đầu vào và lợi nhuận từ mô hình nông lâm kết hợp (NLKH)

	Hệ số	SE	t-value	Pr (> t)
(Intercept)	3,862	0,272	14,202	0,000
Diện tích canh tác NLKH	0,577**	0,167	3,447	0,001
Số lao động NLKH	0,269	0,247	1,091	0,279
Đầu tư hàng năm:				
- Phân thuốc	-0,001	0,053	-0,013	0,989
- Thuê công chăm sóc	0,098	0,080	1,230	0,223
- Thuê công thu hoạch	0,238*	0,128	1,863	0,067
Đầu tư thiết lập mô hình NLKH:				
- Giống	-0,233**	0,081	-2,881	0,005
- Phân thuốc	0,109	0,087	1,246	0,217
- Thuê công trồng	0,238*	0,111	2,141	0,036
- Thuê công làm đất	-0,016	0,124	-0,129	0,897

Chú thích: **, *: có ý nghĩa thống kê lần lượt ở mức 99% và 95%.

Đặc thù của khu vực Núi Dài là địa hình hiểm trở, đất canh tác có nhiều đá. Vì vậy, các mô hình canh tác NLKH cần diện tích lớn. Bên cạnh đó, thuê công lao động để trồng khi thiết lập mô hình giúp nông hộ tập trung nguồn lực và các thiết bị cần thiết để nhanh chóng hoàn thành công việc thiết lập mô hình. Việc thuê công thu hoạch hàng năm giúp nông hộ chủ động thu hái tập trung khi giá bán cao do đó giúp tăng thêm lợi nhuận.

Các loại cây trồng trong các mô hình canh tác NLKH có thể tự để giống hoặc sử dụng giống địa phương. Việc mua cây giống từ nơi khác có thể chưa thích nghi với điều kiện canh tác đặc thù tại địa phương, vì vậy, khoảng đầu tư vào cây giống đã làm giảm hiệu quả kinh tế của các mô hình canh tác.

3.3.2. Các yếu tố ảnh hưởng đến hiệu quả kỹ thuật của các mô hình canh tác

Hiệu quả kỹ thuật (TE) của các mô hình canh tác NLKH tại khu vực Núi Dài dao động

từ 2,2 - 87,6% với mức trung bình đạt 49,46%. Kết quả này cho thấy TE của các mô hình canh tác tại Núi Dài ở mức thấp, thấp hơn TE của các mô hình canh tác NLKH tại Núi Cấm (77,98%) trong nghiên cứu của Nguyen & ctv. (2022), hoặc mô hình canh tác lúa độc canh và luân canh tại huyện Chợ Mới, tỉnh An Giang (lần lượt là 97,3% và 79,2%) trong nghiên cứu của Quan (2006).

Kết quả phân tích các yếu tố ảnh hưởng đến TE được trình bày trong Bảng 4 cho thấy, các yếu tố ảnh hưởng tích cực đến TE bao gồm yếu tố dân tộc, kinh nghiệm làm nông nghiệp và loại đất canh tác. Ngược lại, yếu tố ảnh hưởng tiêu cực đến TE là số nhân khẩu.

Bảng 4. Các nhân tố ảnh hưởng đến hiệu quả kỹ thuật của các nông hộ

	Hệ số	SE	z value	Pr (> z)
(Intercept)	0,698	0,1705	4,092	4,27E-05
Kinh nghiệm làm nông (năm)	-0,005 [*]	0,0027	-1,936	0,05289
Số nhân khẩu	0,058 ^{**}	0,0216	2,692	0,00709
Dân tộc Kinh [†]	-0,187 [*]	0,1030	-1,813	0,06983
Học vấn cấp 2 [†]	0,058	0,0900	0,641	0,52132
Học vấn cấp 3 [†]	0,057	0,1258	0,457	0,64791
Làm việc toàn thời gian [†]	-0,008	0,0776	-0,104	0,91707
Đất cát pha [†]	-0,105	0,1238	-0,844	0,39846
Đất xám đen [†]	-0,217 [*]	0,0940	-2,309	0,02095
Dốc vừa [†]	0,0713	0,1278	0,558	0,57691
Dốc cao [†]	0,180	0,2125	0,847	0,39716
Không tưới tiêu [†]	-0,119	0,0909	-1,308	0,19087
Có vay vốn [†]	0,029	0,1050	0,275	0,78322
Tập huấn (lần)	-0,020	0,0159	-1,247	0,21238

Chú thích: **, *, ^{*}: có ý nghĩa thống kê lần lượt ở mức 0,01; 0,05 và 0,1. [†]Các biến nhị phân (dummy variables).

Xét về yếu tố dân tộc, mô hình sản xuất NLKH do người Kinh thực hiện có hiệu quả hơn người Khmer. Xét về yếu tố nhân khẩu, nông hộ càng có nhiều thành viên trong gia đình, hiệu quả kỹ thuật canh tác NLKH của nông hộ càng thấp. Mặt khác, biến số kinh nghiệm làm nông cho biết rằng, những chủ hộ càng có thời gian làm nông nghiệp lâu năm, hiệu quả mô hình NLKH do họ canh tác càng đạt hiệu quả cao. Hiệu quả kỹ thuật còn bị tác động bởi loại đất trồng, các nông hộ canh tác trên đất xám đen có hiệu quả kỹ thuật cao hơn các nông hộ canh tác trên đất cát pha và đất lùn đá.

Trong phát triển NLKH ở khu vực Núi Dài cần quan tâm đến việc phát triển các giống cây trồng và phương thức canh tác phù hợp cho những khu vực khó khăn về địa hình và thổ nhưỡng, cần có những phương án riêng biệt cho từng cộng đồng dân tộc.

4. Kết Luận

Kết quả điều tra 89 nông hộ canh tác NLKH tại khu vực Núi Dài, tỉnh An Giang cho thấy diện tích canh tác trung bình là 1,63 ha. Bốn nhóm cây nông nghiệp được trồng xen với cây rừng trong các mô hình canh tác NLKH: cây ăn quả, cây rau, cây dược liệu, cây gia vị. Thu nhập từ mô hình NLKH đóng góp 40,94% vào tổng thu nhập hàng năm của nông hộ trong đó mô hình NLKH gồm cây rừng + CAQ + CDL cho hiệu quả kinh tế cao nhất. Các yếu tố đầu vào gồm diện tích đất canh tác NLKH, thuê công trồng và công thu hoạch hàng năm có tương quan thuận với lợi nhuận, ngược lại, đầu tư vào giống cho kết quả tương quan nghịch so với lợi nhuận thu được từ các mô hình NLKH. Hiệu quả kỹ thuật của các mô hình thấp, trong đó các yếu tố có ảnh hưởng tích cực đến hiệu quả kỹ thuật gồm dân tộc, kinh nghiệm làm nông và loại đất, ngược lại, số nhân khẩu là

Yếu tố ảnh hưởng tiêu cực đến hiệu quả kỹ thuật của các mô hình canh tác. Kết quả này là cơ sở để các cơ quan chức năng đưa ra các giải pháp để tăng hiệu quả kinh tế, kỹ thuật từ đó tăng thu nhập cho các hộ tại Núi Dài, huyện Tịnh Biên, tỉnh An Giang.

Lời Cam Đoan

Chúng tôi cam đoan bài báo do nhóm tác giả thực hiện và không có bất kỳ mâu thuẫn nào giữa các tác giả.

Lời Cảm Ơn

Nghiên cứu được hỗ trợ bởi Sở Khoa học và Công nghệ tỉnh An Giang trong khuôn khổ của hoạt động hợp tác với Trường Đại học Nông Lâm TP. HCM thực hiện dự án “Xây dựng và phát triển các mô hình nông lâm kết hợp cho vùng Bảy Núi, tỉnh An Giang”.

Tài Liệu Tham Khảo (References)

- Ainembabazi, J. H., & Mugisha, J. (2014). The role of farming experience on the adoption of agricultural technologies: evidence from smallholder farmers in Uganda. *Journal of Development Studies* 50(5), 666-679. <https://doi.org/10.1080/00220388.2013.874556>.
- An Giang SO (An Giang Statistics Office). (2018). *An Giang statistical yearbook 2018*. An Giang, Vietnam: Statistical Publishing House.
- Battese, G. E., & Coelli, T. J. (1995). A model for technical inefficiency effects in a stochastic frontier production function for panel data. *Empirical Economics* 20(2), 325-332. <https://doi.org/10.1007/BF01205442>.
- Colfer, C. J. P., & Newton, H. B. J. (1989). Ethnicity: an important consideration in Indonesian agriculture. *Agriculture and Human Values* 6(3), 52-67. <https://doi.org/10.1007/BF02217669>.
- FPD An Giang (Forest Protection Department of An Giang Province). (2020). *Report summarizing activities in 2018 and directions and tasks in 2019*. An Giang, Vietnam: FPD An Giang.
- ICRAF (The Center for International Forestry Research and World Agroforestry). (2021). What is agroforestry? Retrieved July 19, 2022, from <https://www.worldagroforestry.org/about/agroforestry>.
- Israel, G. D. (1992). *Determining sample size*. Florida, USA: Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida.
- Le, S. T. T., Vo, M. Q., & Phan, V. H. (2017). *Assessing the status, potential exploitation and conservation of medicinal plant resources in Bay Nui areas, An Giang province*. Can Tho City, Vietnam: Can Tho University.
- Nguyen, N. C., Duong, N. L., Truong, T. M., Pham, N. H., & Vo, D. T. (2022). Assessment economic efficiency and determination factors affecting on agroforestry models at Cam Mountain, An Giang province. *TNU Journal of Science and Technology* 227(03), 64-70. <https://doi.org/10.34238/tnu-jst.5455>.
- Nguyen, T. D. (2008). *Plant biodiversity in Bay Nui forest mountain, An Giang province*. Retrieved July 30, 2022, from http://www.kiendlam.org.vn/Desktop.aspx/List/So_1_2_nam_2008/Da_dang_sinh_thai_rung_vung_bay_nui_An_Giang.
- Quan, N. M. (2006). A technical efficiency analysis of the monoculture with three rice crops and crop rotation pattern with two rice crops and one cash crop in Cho Moi district, An Giang province in the year 2004 - 2005. *Can Tho University Journal of Science* 6, 203-212.
- Steppler, H. A., & Nair, P. K. R. (1987). *Agroforestry: A decade of development*. Nairobi City, Kenya: International Council for Research in Agroforestry ICRAF House.
- Tran, V. D. (2003). Culture, environment, and farming systems in Vietnam's Northern mountain region. *Japanese Journal of Southeast Asian Studies* 41(2), 180-205.

Selection of *Arabidopsis* transformants containing *AtZAT12***Cham T. T. Le*, & Ngoc T. Pham**

Faculty of Agronomy, Vietnam National University of Agriculture, Ha Noi, Vietnam

ARTICLE INFO**Research Paper**

Received: February 19, 2023

Revised: July 11, 2023

Accepted: July 13, 2023

Keywords*AtZAT12* gene

Hygromycin B

Long hypocotyls

pMDC107

Transformed *Arabidopsis****Corresponding author**

Le Thi Tuyet Cham

Email: lttcham@vnua.edu.vn

ABSTRACT

This study aimed to select *Arabidopsis* seeds after transformation with the *AtZAT12* gene via *Agrobacterium tumefaciens*. *ZAT12* is a transcription factor that inhibits other transcription factors FIT through the EAR motif. FIT itself is a central transcription factor that controls Fe uptake under Fe-deficient conditions. However, if Fe is absorbed excessively, it will produce reactive oxygen species that could damage cells. That is the reason why *AtZAT12* transcription is elevated and FIT transcription is inhibited under Fe deficiency for 10 days. To investigate the function, the *AtZAT12* gene was inserted into the pMDC107 vector for transformation into *Arabidopsis*. The T0 *Arabidopsis* seeds obtained after floral dip transformation were placed on 1% MS agar supplemented with 15 µg/mL Hygromycin B. Beforehand, the T0 seeds were sterilized and kept in the dark for stratification. Subsequently, the seed plates were subjected to a regime of 6 h of light, 48 h of dark and 24 h of light (3.25 d). The hygromycin B-resistant seedlings had long hypocotyls (~ 1.0 cm), while the non-resistant seedlings had short (~ 0.3 cm) hypocotyls. This method took only 3.25 days to identify transgenic *Arabidopsis* seedlings. After that, positive transgene lines were examined by PCR method for *AtZAT12*, and the expression of *AtZAT12* was observed under microscope.

Cited as: Le, C. T. T., & Pham, N. T. (2023). Selection of *Arabidopsis* transformants containing *AtZAT12*. *The Journal of Agriculture and Development* 22(4), 33-41.

Chọn lọc sau biến nạp gen *AtZAT12* trên cây *Arabidopsis*

Lê Thị Tuyết Châm* & Phạm Thị Ngọc

Khoa Nông Học, Học Viện Nông Nghiệp Việt Nam, Hà Nội

THÔNG TIN BÀI BÁO

Bài báo khoa học

Ngày nhận: 19/02/2023

Ngày chỉnh sửa: 11/07/2023

Ngày chấp nhận: 13/07/2023

Từ khóa

Arabidopsis chuyển gen

Gen *AtZAT12*

Hygromycin B

pMDC107

Trụ dưới lá mầm dài

*Tác giả liên hệ

Lê Thị Tuyết Châm

Email: lttcham@vnua.edu.vn

TÓM TẮT

Nghiên cứu này nhằm chọn lọc các hạt *Arabidopsis* sau chuyển gen *AtZAT12* gián tiếp qua *Agrobacterium tumerfaciens*. *ZAT12* là một yếu tố phiên mã có chức năng ức chế yếu tố phiên mã khác là FIT thông qua motif EAR. Bản thân FIT cũng là một yếu tố phiên mã trung tâm điều khiển quá trình hấp thụ Fe trong điều kiện môi trường thiếu Fe. Tuy nhiên, khi Fe được hấp thụ quá nhiều sẽ sản sinh các gốc tự do gây tổn hại tế bào. Có lẽ đó là lý do phiên mã *AtZAT12* được tăng cao còn phiên mã của FIT bị ức chế trong điều kiện thiếu Fe kéo dài 10 ngày. Để nghiên cứu chức năng, gen *AtZAT12* đã được gắn vào vector pMDC107 để chuyển vào cây *Arabidopsis*. Hạt *Arabidopsis* T0 thu được sau quá trình biến nạp bằng phương pháp nhúng hoa được đặt trên môi trường thạch MS 1% Agar bổ sung Hygromycin B 15 µg/mL. Cây *Arabidopsis* con kháng hygromycin B có các lá mầm dài (~ 1,0 cm), trong khi các cây con không kháng kháng sinh có các lá mầm ngắn (~ 0,3 cm). Phương pháp chọn lọc cải tiến rút ngắn thời gian xác định cây *Arabidopsis* con biến đổi gen nhanh hơn chỉ trong 3,25 ngày. Sau đó, các cây được chọn sẽ được kiểm tra sự có mặt của gen bằng PCR cũng như sự hoạt động của gen chuyển *AtZAT12* dưới kính hiển vi.

1. Đặt Vấn Đề

Hiện tại, phương pháp chọn lọc các hạt sau chuyển gen khá tốn khá nhiều thời gian và tùy thuộc vào sự có mặt của gen chỉ thị. Gen chỉ thị thường được sử dụng trong chuyển gen ở thực vật là gen kháng kháng sinh (như Kanamycin, Hygromycin...) hoặc kháng thuốc diệt cỏ (như BASTA). Chọn lọc kháng kháng sinh như kanamycin thường mất 7 - 10 ngày sau khi nảy mầm để chọn được dòng chuyển gen dương tính (Bechtold & ctv., 1993; Clough & Bent., 1998). Quá trình chọn lọc cũng có thể gặp các trở ngại như khi nảy mầm, các lá mầm mới mọc thường

có màu xanh đậm khiến cho các cây con chuyển gen không thể phân biệt với cây không chuyển gen. Khi chờ khoảng 7 - 10 ngày, cây không chuyển gen sẽ chuyển màu trắng và chỉ có cây chuyển gen lá vẫn có màu xanh. Tuy nhiên, trong thời gian này, đĩa hạt chọn lọc có thể bị nhiễm nấm giống như các nghiên cứu vi ghép cây (Altan & ctv., 2010). Nguyên nhân nhiễm nấm có thể có trong hạt thu được từ quá trình nhúng hoa bởi vì dung dịch môi trường nhúng hoa có đường sucrose và giai đoạn đầu sau khi nhúng hoa, cây sẽ được đặt bằng chụp nhựa trong suốt để giữ trong môi trường ẩm và ấm nhưng đây lại là điều kiện lý tưởng cho nấm phát triển (Clough

& Bent, 1998; Hadi & ctv., 2002). Trong quá trình chọn lọc, đĩa hạt bị nhiễm nấm có thể làm ngăn cản hiệu quả chọn lọc của chất kháng sinh hoặc thuốc diệt cỏ có trong môi trường chọn lọc, do đó lá các cây không chuyển gen nhưng vẫn có màu xanh. Thêm nữa, cây con nảy mầm trên đĩa thạch có mật độ cao có thể làm cho rễ phát triển bên trên môi trường và do đó dẫn đến quá trình chuyển màu nhạt trên cây không chuyển gen sẽ diễn ra chậm do nồng độ chất bổ sung cho chọn lọc giảm như trong nghiên cứu của Ee & ctv. (2014) đã gieo 100 hạt trên đĩa có đường kính 10 cm.

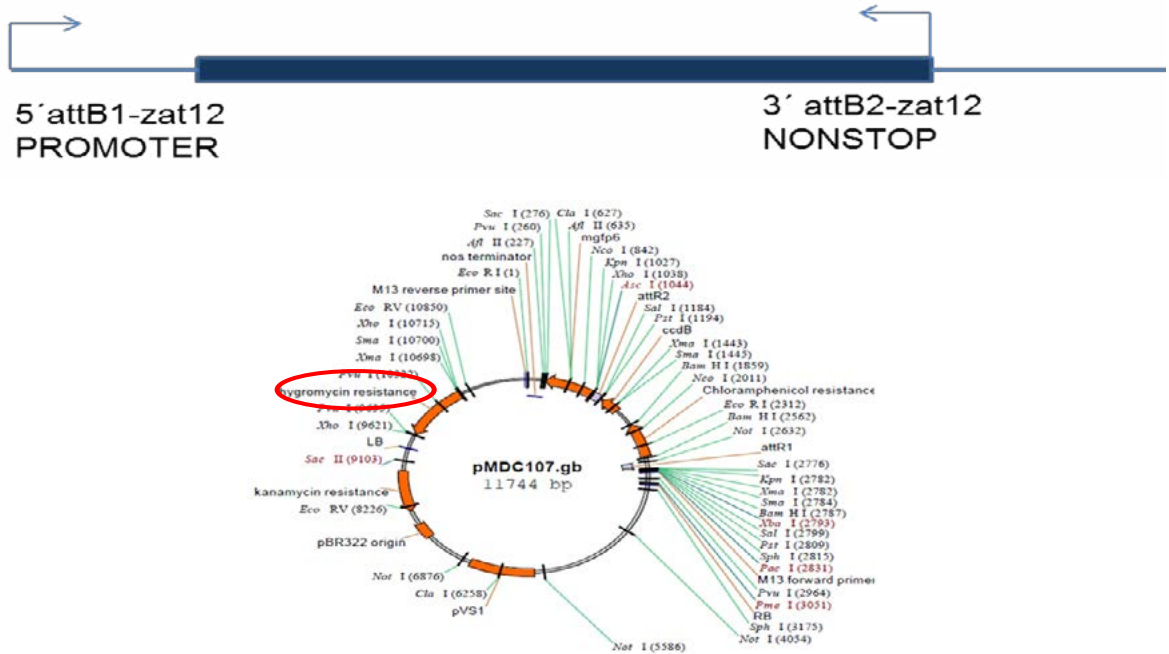
Để giải quyết vấn đề trên trong nghiên cứu này cây *Arabidopsis* con đã được sàng lọc nhanh chóng dễ dàng theo quy trình chọn lọc cây *Arabidopsis* chuyển gen kháng Hygromycin B của Harrison & ctv. (2006). Hygromycin B là kháng sinh được tạo ra bởi vi khuẩn phân lập từ đất *Streptomyces hygroscopicus*. Thời gian đầu kháng sinh này được sử dụng như chất tẩy giun khi bổ sung vào thức ăn của gà và lợn. Gen kháng kháng sinh này được phát hiện năm 1980 là một kinase ức chế Hygromycin thông qua quá trình phosphoryl hóa (Davies & Gritz., 1983; Kaster & ctv., 1983; Rao & ctv., 1983). Gen kháng này được sử dụng làm gen chỉ thị trong những nghiên cứu thực vật, đặc biệt là chọn lọc cây sau chuyển gen. Khi sử dụng Hygromycin 50 mg/L sẽ gây độc cho các callus không biến nạp (Kauffman, 2009). Harrison & ctv. (2006) đã chọn lọc thành công các dòng *Arabidopsis* chuyển gen với Hygromycin B ở nồng độ 15 µg/mL.

Trong nghiên cứu này, cây *Arabidopsis* đã được chuyển gen *AtZAT12* nhờ *Agrobacterium tumerfaciens* bằng phương pháp nhúng hoa (Clough & Bent, 1998). *AtZAT12* được gắn vào vector pMDC107 có mang gen chọn lọc là gen kháng kháng sinh Hygromycin B. Cấu trúc của vector được tóm tắt như sau pMDC107:ZAT12-GFP, trong đó gen *AtZAT12* đã loại bỏ đi mã di truyền dùng dịch mã để nối với gen huỳnh quang GFP phía sau. Với việc gắn GFP vào gen mục tiêu sẽ giúp sàng lọc hoạt động của gen mục tiêu bằng huỳnh quang GFP dưới kính hiển vi. Vector pMDC107 là vector nhị phân có chỉ thị chọn lọc ở vi khuẩn là gen kháng kanamycin và chỉ thị chọn lọc ở thực vật là gen kháng kháng sinh Hygromycin B (Le & ctv., 2016). Nghiên cứu này nhằm chọn lọc được các cây chuyển gen thành công bằng cách đặt các hạt của những cây chuyển gen trên môi trường bổ sung kháng sinh Hygromycin B nhanh và hiệu quả.

2. Vật Liệu và Phương Pháp

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Hạt cây *Arabidopsis* chuyển gen thu được sau khi nhúng hoa trong dung dịch *Agrobacterium tumerfaciens* đã được biến nạp cấu trúc pMDC107:ZAT12-GFP được cung cấp từ nghiên cứu của Le & ctv. (2016). Cấu trúc gen chuyển (Hình 1 bên trên) và cấu trúc vector pMDC107 (Hình 1 bên dưới, Invitrogen, Đức) được trình bày trong Hình 1 (Le & ctv., 2016).

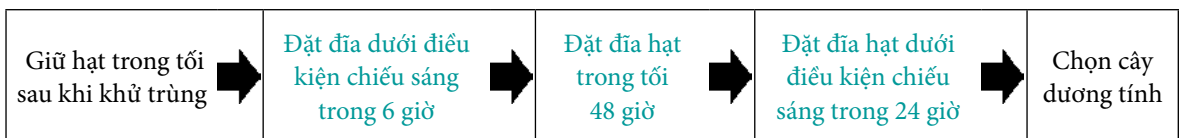


Hình 1. Cấu trúc gen chuyển *AtZAT12* (A) được chèn vào giữa vị trí attR1 và attR2 trên cấu trúc của vector pMDC107 (Invitrogen) (B) để biến nạp vào *Agrobacterium tumerfacien*, sau đó là chuyển vào cây *Arabidopsis*.

2.2. Phương pháp chọn lọc các dòng *Arabidopsis* chuyển gen *AtZAT12*

Quá trình chọn lọc hạt của các dòng *Arabidopsis* chuyển gen được tiến hành theo phương pháp của Harrison & ctv. (2006). Hạt *Arabidopsis* chuyển gen thu được sau khi biến nạp được khử trùng trong dung dịch 50% hypochlorite trong 7 phút, được rửa sạch ba lần bằng nước cất khử trùng. Hạt sau khử trùng được đặt trên môi trường thạch Murashige và Skoog (MS) 1% Agar có bổ sung Hygromycin B với nồng độ 15 µg/mL (Invitrogen, Đức). Mỗi đĩa môi trường được đặt khoảng 500 hạt. Hạt được đặt trong bóng tối 2 ngày ở 4°C. Sau đó

hạt được chuyển sang tủ sinh trưởng (CLF Plant Climatics, Đức) và ủ trong 6 giờ ở 22°C trong điều kiện chiếu sáng liên tục để kích thích nảy mầm. Các đĩa hạt này sau đó được bọc trong giấy nhôm trong 2 ngày ở 22°C để giữ đĩa trong tối, ngăn cản ánh sáng. Sau đó, đĩa hạt được lấy ra và giữ trong 24 giờ ở 22°C trong điều kiện chiếu sáng liên tục. Quá trình chiếu sáng trong 24 giờ cuối cùng không cần phải liên tục; quá trình chọn lọc hoạt động tốt khi cây con được đặt trong chế độ sáng 16 giờ, tối 8 giờ mặc dù cần có tổng ánh sáng 24 giờ để chọn lọc tối ưu. Dưới đây là tiến trình chọn lọc hạt *Arabidopsis* chuyển gen trên môi trường MS 1% có bổ sung kháng sinh Hygromycin B.



2.3. Kiểm tra các dòng *Arabidopsis* chuyển gen dương tính sau chọn lọc

Các dòng *Arabidopsis* chuyển gen thành công sau khi được chọn trên môi trường chứa kháng sinh hygromycin B sẽ được chuyển vào đất để thu hạt thế hệ T1 và thu lá tách ADN để kiểm tra cấu trúc gen chuyển *AtZAT12-GFP* bằng PCR.

Lá của các dòng được chọn được tách chiết ADN theo phương pháp của Clarke (2009). Phản ứng PCR kiểm tra các dòng *Arabidopsis* chuyển gen (*ZAT12-GFP*) sẽ sử dụng 2 môi là một môi tại vùng gen *GFP* được ký hiệu là GFP rev (trình tự là: 5'-AAT TGG GAC AAC TCC AGT GAA A-3') và một môi nằm ở vùng gen *AtZAT12* được ký hiệu là 5' genotyping *ZAT12* (trình tự là: 5'-TCG CAT CCT TGT CCC ATA TGT-3'). Thành phần phản ứng PCR bao gồm: Taq Ready Mix (Sigma-Aldrich, Đức) 12,5 μ L, Môi: GFP rev 1 μ L, 5' genotyping *ZAT12* 1 μ L và H₂O: 9,5 μ L và 1 μ L ADN của các mẫu chọn lọc dương tính. Chu trình nhiệt được áp dụng như sau: 95°C: 3 phút, 30 chu kỳ (95°C: 30 giây, 59°C: 45 giây, 72°C : 60 giây), 72°C: 5 phút và giữ mẫu phản ứng ở 4°C. Các sản phẩm PCR thu được sau đó được kiểm tra bằng điện di trên gel agarose 1%. Cuối cùng, các dòng *Arabidopsis* chuyển gen được chọn có thể sử dụng cho các nghiên cứu tiếp theo như nghiên cứu sự biểu hiện và vị trí biểu hiện của gen đã được biến nạp thành công.

2.4. Kiểm tra sự biểu hiện của gen chuyển *AtZAT12* dưới kính hiển vi huỳnh quang

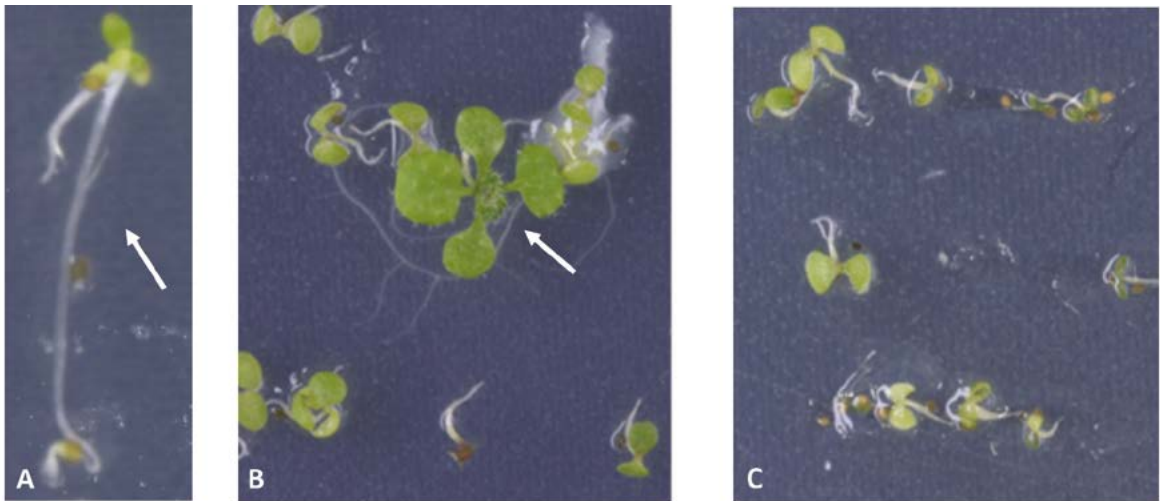
Hạt của dòng *Arabidopsis* không chuyển gen và hạt *Arabidopsis* chuyển gen thế hệ T3 được chọn theo quy trình trên đã được đặt trên môi trường thạch MS trong 5 ngày. Sau đó thu rễ của những cây này để quan sát dưới kính hiển vi LSM510. Do gen *AtZAT12* được gắn với GFP nên khi cấu trúc gen biểu hiện sẽ phát hiện huỳnh quang GFP (bước sóng 520 - 530 nm). Kính hiển vi được đặt ở bước sóng kích thích: 488 nm, kính lọc phát hiện là: 500 - 530 nm.

3. Kết Quả và Thảo Luận

3.1. Chọn lọc các dòng *Arabidopsis* chuyển gen bằng kháng sinh Hygromycin B

Kết quả thu được cho thấy kháng sinh Hygromycin bổ sung trong môi trường MS không làm ảnh hưởng đến khả năng nảy mầm của hạt *Arabidopsis*. Tuy nhiên, cây con chuyển gen được đặt trên MS chứa Hygromycin B 15 μ g/mL có đặc điểm phát triển khác biệt giúp phân biệt những cây không chuyển gen và cây chuyển gen không thành công. Do cây chuyển gen thành công có mang gen chỉ thị là gen kháng kháng sinh Hygromycin B. Hygromycin B là kháng sinh có khả năng ức chế quá trình tổng hợp protein do đó ức chế quá trình kéo dài rễ ở cây không chuyển gen. Trong nghiên cứu này, sau 2 ngày giữ trong tối trên môi trường chứa Hygromycin B (15 μ g/mL), số rễ của các cây tham gia chọn lọc đều giống nhau (1 rễ) nhưng các dòng *Arabidopsis* chuyển gen kháng Hygromycin B có trụ dưới lá mầm dài khoảng $1,0 \pm$ cm, trong khi các dòng không chuyển gen có trụ dưới lá mầm ngắn (~ 0,3 cm) (Hình 2A, C, D). Lá của các cây tham gia chọn lọc không có sự khác biệt giữa chuyển gen thành công và không thành công. Ngoài ra, trái ngược với cây con được đặt trên môi trường bổ sung kháng sinh Kanamycin hoặc phosphinothricin, tất cả cây con mọc trên môi trường chứa Hygromycin B đều có màu xanh sau 24 giờ chiếu sáng. Kết quả này tương đồng với kết quả quan sát sự phát triển của cây *Arabidopsis* chuyển gen trên môi trường MS có bổ sung Hygromycin B của Harrison & ctv. (2006) và Ee & ctv. (2014). Thậm chí khi tiếp tục để cây *Arabidopsis* chọn lọc sinh trưởng trên môi trường MS có chứa Hygromycin B, tính kháng này càng thể hiện rõ ưu thế sinh trưởng hơn cây chuyển gen không thành công như trong Hình 2B. Cây con *Arabidopsis* chuyển gen có gen kháng Hygromycin B đã sinh trưởng tốt với lá màu xanh đậm. Kết quả của thí nghiệm này sau khi chọn lọc bằng Hygromycin B đã chọn được

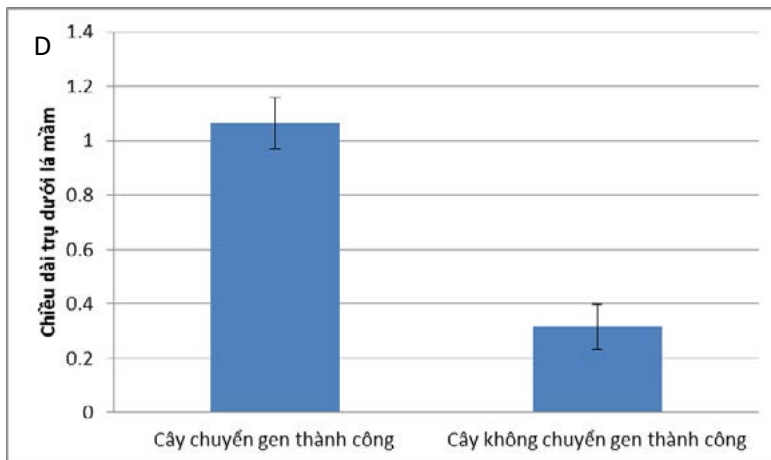
8 dòng dương tính. Các dòng này sau đó được chuyển ra đất và thu mẫu lá để kiểm tra tiếp tục sự có mặt gen chuyển bằng kỹ thuật PCR.



Dòng chuyển gen thành công (3,25 ngày tuổi, mũi tên trắng)

Dòng chuyển gen thành công (25 ngày tuổi, mũi tên trắng)

Dòng chuyển gen không thành công (âm tính)

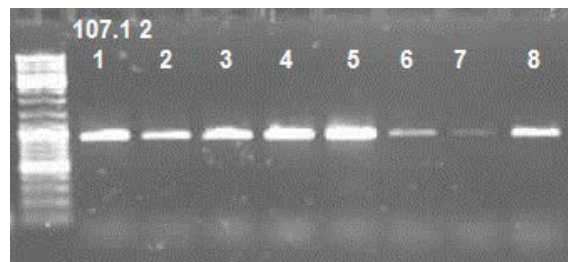


Hình 2. Kết quả chọn lọc dòng *Arabidopsis* chuyển gen *AtZAT12* trên môi trường MS bổ sung thêm kháng sinh Hygromycin B. Hình 2A: cây con *Arabidopsis* chuyển gen thành công có trụ dưới lá mầm kéo dài (mũi tên). Hình 2B: dòng *Arabidopsis* chuyển gen thành công kháng Hygromycin B (hình tròn trắng) sau 25 ngày chọn lọc. Hình 2C: dòng *Arabidopsis* chuyển gen không thành công (âm tính) có trụ dưới lá mầm ngắn hơn. Hình 2D: chiều dài trụ dưới lá mầm của cây chuyển gen thành công và không thành công. Đơn vị tính: cm.

3.2. Kiểm tra sự có mặt của gen *AtZAT12* trên các dòng *Arabidopsis* chuyển gen đã được chọn.

Các cây con *Arabidopsis* kháng Hygromycin B đã được xác định từ thí nghiệm chọn lọc trên là những cây *Arabidopsis* chuyển gen thành công thế hệ T1 sẽ được thu mẫu lá để tiến hành kiểm tra sự có mặt của gen chuyển bằng kỹ thuật PCR. Trong thí nghiệm chọn lọc ở trên, kết quả thu

được 8 dòng dương tính với Hygromycin B và 8 dòng này được thực hiện phản ứng kiểm tra gen với hai mồi 5' genotyping *ZAT12* và GFP rev. Kết quả cho thấy cả 8 dòng được chọn đều phát hiện bằng ADN có kích thước khoảng 1092 bp như mong đợi là cấu trúc gen *AtZAT12-GFP* (Hình 3). Kết quả như vậy đã khẳng định việc áp dụng thành công phương pháp chọn lọc nhanh sau biến nạp.

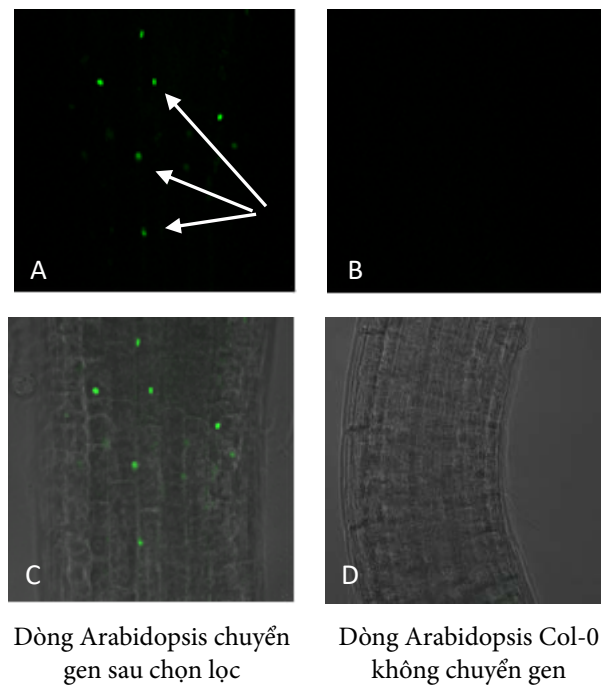


Hình 3. Kết quả kiểm tra sự có mặt của gen chuyển trong các dòng *Arabidopsis* chuyển gen kháng Hygromycin B sau khi chọn lọc. Giếng 1-8: 8 dòng chuyển gen được chọn sau khi chọn lọc bằng Hygromycin B.

3.3. Kiểm tra hoạt động của gen chuyển *AtZAT12* trên cây *Arabidopsis* sau khi chọn lọc bằng Hygromycin B

Sau 2 thế hệ T1 và T2 có tỷ lệ chọn lọc được xác định là 100% bằng kỹ thuật PCR như vậy dòng chuyển gen chúng tôi chọn lọc được ở trạng thái đồng hợp tử. Hạt *Arabidopsis* chuyển gen thế hệ T3 thu được từ bằng cách để các dòng dương tính thế hệ T1, T2 tự thụ phấn sẽ được đặt trên môi trường MS trong 5 ngày với điều kiện chiếu sáng 16 giờ sáng/8 giờ tối. Sau đó, rễ của

những cây này được quan sát dưới kính hiển vi để phát hiện huỳnh quang GFP (bước sóng 520 - 530 nm). Kết quả được thể hiện trong Hình 4 cho thấy cấu trúc *ZAT12-GFP* đã được biểu hiện ở trong nhân của tế bào rễ. Kết quả này cũng tương ứng với kết quả của Le & ctv. (2016) khi quan sát thấy vị trí biểu hiện của gen *AtZAT12* trong tế bào rễ cây *Arabidopsis* là tại nhân của tế bào. Kết quả này một lần nữa khẳng định qui trình chuyển gen và chọn lọc đã được thành công rút ngắn hơn và hiệu quả giúp tiết kiệm thời gian.



Hình 4. Hình ảnh biểu hiện dưới kính hiển vi của gen *AtZAT12* trong nhân tế bào rễ cây *Arabidopsis* chuyển gen thành công (Hình A và C, hiện màu xanh lá như được chỉ bởi các mũi tên trắng) và dòng *Arabidopsis* không chuyển gen (Hình B và D, không hiện màu xanh lá) sau khi chọn lọc bằng Hygromycin B. Hình A và B là hình ảnh huỳnh quang. Hình C và D là hình kết hợp giữa huỳnh quang và hình ảnh DIC (differential interference contrast microscopy).

4. Kết Luận

Nghiên cứu này đã áp dụng thành công quy trình chọn lọc cây *Arabidopsis* chuyển gen kháng Hygromycin B hiệu quả. Tất cả các dòng thế hệ T0 được chọn đều đã được xác định lại là dương tính trong phản ứng kiểm tra bằng kỹ thuật PCR và cả thí nghiệm kiểm tra biểu hiện gen chuyển dưới kính hiển vi huỳnh quang. Quy trình này cũng đã được rút ngắn với thời gian chọn lọc (3,25 ngày) nên tránh được hiện tượng đĩa chọn lọc có thể bị nhiễm nấm do sự kéo dài của quá trình chọn lọc dẫn đến kết quả dương tính hoặc âm tính giả và tốn thời gian.

Lời Cam Đoan

Chúng tôi cam đoan bài báo do nhóm tác giả thực hiện và không có bất kỳ mâu thuẫn nào giữa

các tác giả.

Lời Cảm Ơn

Để thực hiện được nghiên cứu này, chúng tôi xin trân trọng cảm ơn GS.TS. Petra Bauer và các thành viên của Phòng thí nghiệm Thực vật, Trường Đại học Tổng hợp Saarland, Cộng hòa Liên bang Đức đã tạo điều kiện giúp đỡ hoàn thành nghiên cứu chọn lọc này.

Tài Liệu Tham Khảo (References)

- Altan, F., Bürün, B., & Şahin, N. (2010). Fungal contaminants observed during micropropagation of *Lilium candidum* L. and the effect of chemotherapeutic substances applied after sterilization. *African Journal of Biotechnology* 9(7), 991-995. <https://doi.org/10.5897/AJB08.090>.

- Bechtold, N., Ellis, J., & Pelletier, G. (1993). In planta *Agrobacterium*-mediated gene transfer by infiltration of adult *Arabidopsis thaliana* plants. *Comptes Rendus De l'Académie Des Sciences* 316, 1194-1199.
- Clarke, J. D. (2009). Cetyltrimethyl ammonium bromide (CTAB) DNA miniprep for plant DNA isolation. *Cold Spring Harbor Protocols* (3), 5177. <https://doi.org/10.1101/pdb.prot5177>.
- Clough, S. J., & Bent, A. F. (1998). Floral dip: a simplified method for *Agrobacterium* mediated transformation of *Arabidopsis thaliana*. *The Plant Journal* 16(6), 735-743. <https://doi.org/10.1046/j.1365-313x.1998.00343.x>.
- Davies, J., & Gritz, L. (1983). Plasmid-encoded hygromycin B resistance: the sequence of hygromycin B phosphotransferase gene and its expression in *Escherichia coli* and *Saccharomyces cerevisiae*. *Gene* 25(2-3), 179-188. [https://doi.org/10.1016/0378-1119\(83\)90223-8](https://doi.org/10.1016/0378-1119(83)90223-8).
- Ee, S. F., Khairunnisa, M. B., Azura, Z. M. H., Azmi, N., & Zamri, Z. (2014). Effective hygromycin concentration for selection of *Agrobacterium*-mediated transgenic *Arabidopsis thaliana*. *Malaysian Applied Biology* 43, 119-123.
- Hadi, M., Kemper, E., Wendeler, E., & Reiss, B. (2002). Simple and versatile selection of *Arabidopsis* transformants. *Plant Cell Reports* 21(2), 130-135. <https://doi.org/10.1007/s00299-002-0473-9>.
- Harrison, S. J., Mott, E. K., Parsley, K., Aspinall, S., Gray, J. C., & Cottage, A. (2006). A rapid and robust method of identifying transformed *Arabidopsis thaliana* seedlings following floral dip transformation. *Plant Methods* 2, 19. <https://doi.org/10.1186/1746-4811-2-19>.
- Kaster, K. R., Burgett, S. G., Rao, R. N., & Ingolia, T. D. (1983). Analysis of a bacterial hygromycin B resistance gene by transcriptional and translational fusions and by DNA sequencing. *Nucleic Acids Research* 11(19), 6895-6911. <https://doi.org/10.1093/nar/11.19.6895>.
- Kauffman, J. S. (2009). Analytical Strategies for monitoring residual impurities best methods to monitor product-related impurities throughout the production process. *BioPharm International* 23, 1-3.
- Le, C. T. T., Brumbarova, T., Ivanov, R., Stoof, C., Weber, E., Mohrbacher, J., Straube, C. F., & Bauer, P. (2016). Zinc finger of *Arabidopsis thaliana*12 (Zat12) interacts with fer-like iron deficiency induced transcription factor (FIT) linking iron deficiency and oxidative stress responses. *Plant Physiology* 170, 540-557. <https://doi.org/10.1104/pp.15.01589>.
- Rao, R. N., Allen, N. E., Hobbs, J. N., Alborn, W. E., Kirst, H. A., & Paschal, J. W. (1983). Genetic and enzymatic basis of hygromycin B resistance in *Escherichia coli*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 24 (5), 689-695. <https://doi.org/10.1128/aac.24.5.689>.

Isolation and genetic analysis of Tembusu virus in ducks

Dat M. Truong, & Hai T. Hoang*

Faculty of Animal Science and Veterinary Medicine, Nong Lam University, Ho Chi Minh City, Vietnam

ARTICLE INFO

Research Paper

Received: October 13, 2022

Revised: May 03, 2023

Accepted: May 08, 2023

Keywords

Duck

Embryonic eggs

Isolation

Phylogenetic tree

Tembusu virus

*Corresponding author

Hoang Thanh Hai

Email:

hai.hoangthanh@hcmuaf.edu.vn

ABSTRACT

The experiment was conducted from August 2020 to March 2022 at the Veterinary Hospital of Nong Lam University, Ho Chi Minh City. The aim of this study was to isolate and analyze Tembusu virus gene (flavivirus) using 9 to 11 day-old embryonic duck eggs. Treated specimens were inoculated into embryonic duck eggs by allantoic route, then eggs were observed every day for 7 days. The allantoic fluids of the survival eggs were inoculated up to 3 times. Subsequently, the allantoic fluids were checked by real-time RT-PCR to detect Tembusu virus. A positive sample was then titrated, and finally a partial genome was sequenced as well as a phylogenetic tree was constructed. As a result, a strain of Tembusu virus was isolated, and genetic analysis of partial E gene showed that this virus strain was highly similar (from 96,8% to 98,15%) to others in China and Thailand.

Cited as: Truong, D. M., & Hoang, H. T. (2023). Isolation and genetic analysis of Tembusu virus in ducks. *The Journal of Agriculture and Development* 22(4), 42-48.

Phân lập và phân tích đặc điểm di truyền của virus Tembusu (flavivirus) trên vịt

Trương Minh Đạt & Hoàng Thanh Hải*

Khoa Chăn Nuôi Thú Y, Trường Đại Học Nông Lâm TP.HCM, TP. Hồ Chí Minh

THÔNG TIN BÀI BÁO

Bài báo khoa học

Ngày nhận: 13/10/2022

Ngày chỉnh sửa: 03/05/2023

Ngày chấp nhận:
08/05/2023

Từ khóa

Cây phả hệ
Phân lập
Phôi trứng
Vịt
Vi rút Tembusu

*Tác giả liên hệ

Hoàng Thanh Hải
Email:
hai.hoangthanh@hcmuaf.edu.vn

TÓM TẮT

Thí nghiệm được tiến hành từ tháng 8 năm 2020 đến tháng 3 năm 2022, tại Bệnh viện Thú y, Trường Đại học Nông Lâm TP.HCM với mục tiêu phân lập và phân tích di truyền của vi rút Tembusu (flavivirus) bằng phôi trứng vịt. Trứng vịt có phôi 9 đến 11 ngày tuổi được tiêm mẫu bệnh phẩm đã được xử lý vào xoang niệu mô, sau đó trứng được quan sát mỗi ngày trong 7 ngày. Dịch xoang niệu mô của những trứng còn sống được cấy truyền tối đa 3 lần. Sau đó, dịch xoang niệu mô được kiểm tra bằng real-time RT-PCR để phát hiện vi rút Tembusu. Mẫu dương tính thì tiến hành chuẩn độ vi rút và cuối cùng là một phần bộ gen của vi rút được giải trình tự và cây phả hệ được xây dựng chung với các chủng vi rút khác. Sau thời gian nghiên cứu, kết quả thu được là phân lập được một chủng vi rút Tembusu, và qua phân tích di truyền dựa trên một phần gen E thì chủng vi rút này có sự tương đồng khá cao (từ 96,8% tới 98,15%) với các chủng vi rút Tembusu khác ở Trung Quốc và Thái Lan.

1. Đặt Vấn Đề

Nhiều mầm bệnh xuất hiện trên các loài gia súc và gia cầm đã gây thiệt hại một cách nghiêm trọng đến nền chăn nuôi của nước ta. Trên vịt, đáng chú ý nhất là mầm bệnh liên quan đến hội chứng giảm đẻ, gây tổn thương đến hệ thống sinh sản của con cái làm giảm sản lượng trứng nghiêm trọng ở các trang trại chăn nuôi do vi rút Tembusu gây ra.

Vi rút Tembusu (TMUV) là một vi rút chi *Flavivirus*, họ *Flaviviridae* (Su & ctv., 2011). Cũng giống như các flavivirus khác, vi rút Tembusu có gen E, là gen cấu trúc trên bề mặt vi rút, có vai trò chính trong việc vi rút xâm nhập vào tế bào, độc lực và tính sinh miễn dịch

của vi rút (Hu & ctv, 2021). Vi rút gây các tổn thương trên hệ thống sinh sản của con mái làm giảm sản lượng trứng nghiêm trọng (có thể lên tới 90%) (Su & ctv., 2011). Hơn nữa, vi rút còn gây các biểu hiện thần kinh như khó di chuyển, liệt chân, cánh, lật ngửa trên vịt thịt (Yun & ctv., 2012). Bệnh tích đại thể là viêm, xuất huyết, và thoái hoá buồng trứng, lách sưng to trên vịt đẻ (Su & ctv., 2011); viêm, xuất huyết nội, ngoại tâm mạc, lách sưng to, có thể hoại tử, gan sưng to và có những vệt xuất huyết, xung huyết ở não trên vịt thịt. Tỷ lệ chết dao động từ 5 - 30% (Li & ctv., 2015).

Năm 2010, bệnh được phát hiện đầu tiên ở miền nam Trung Quốc, sau đó lây ra các đàn vịt thuộc các tỉnh lân cận ở miền đông Trung

Quốc, gây thiệt hại lớn (Liu & ctv., 2013). Sau đó, bệnh nổ ra ở Malaysia (Homonnay & ctv., 2014) và năm 2013 tại Thái Lan (Thontiravong & ctv., 2015). Trong những năm gần đây, vi rút Tembusu cũng đã có mặt tại Việt Nam. Theo thống kê của Bệnh viện Thú y, Trường Đại học Nông Lâm TP. Hồ Chí Minh, tỉ lệ mẫu dương tính với vi rút Tembusu (xác định bằng RT-PCR) năm 2018 lên tới 38% trên các ca được chẩn đoán. Tuy vậy, chưa có nhiều nghiên cứu về bệnh này tại nước ta. Nghiên cứu này được thực hiện với mục tiêu phân lập vi rút Tembusu, từ đó làm cơ sở cho các nghiên cứu tiếp theo về vắc-xin hay phát triển các kit chẩn đoán bệnh.

2. Vật Liệu và Phương Pháp

2.1. Phân lập vi rút

Mẫu là lách, gan được chọn từ các ca vịt có kết quả real-time RT-PCR dương tính với Ct < 25, được bảo quản tại -80°C. Mẫu được nghiền thành huyền dịch 10% với dung dịch phosphate buffered saline. Sau đó, ly tâm với gia tốc 4.000 vòng trong 10 phút. Thu lấy dịch nổi, lọc qua màng cỡ 0,2 µm.

Trứng vịt có phôi từ 9 ngày tuổi đến 11 ngày tuổi được soi để chọn phôi khỏe. Sau đó, sát trùng vỏ trứng bằng iodine, dùi vị trí tiêm ở phía trên buồng hơi. Tiêm 0,1 mL dịch bệnh phẩm đã xử lý vào xoang niệu mô và gắn kín lỗ tiêm bằng keo. Trứng được ủ ở nhiệt độ từ 37,8°C. Mỗi ngày soi trứng 2 lần trong 8 ngày, loại bỏ phôi chết trước 24 giờ. Mỗi mẫu bệnh phẩm tiêm trên 3 phôi. Các trứng có phôi chết hoặc yếu được bảo quản ở nhiệt độ 4°C qua đêm sau đó được thu hoạch dịch trong. Dịch trong của những trứng không chết được tiêm tiếp vào phôi trứng khác cho đến khi phôi trứng chết, yếu hoặc đủ ba lần tiêm lập lại.

2.2. Real-time RT-PCR

Dịch trứng của các trứng nghi ngờ dương

tính với Tembusu virus được chiết tách RNA bằng bộ kit *TopPURE*® Fluid Viral Extraction kit (Cat.No.HI-712, ABI, Việt Nam), theo hướng dẫn của nhà sản xuất. RNA thu được sử dụng ngay hoặc bảo quản ở -80°C.

Phản ứng được thực hiện bằng bộ kit Bioline-Real-time PCR kit (Cat.No. BIO-86005, Bioline, Anh) với cặp mồi và probe: EF: TGTCTTATGCAGGTACCGATG, ER: CGTATGGGTTGACTGTTATCA, EP:FAM-AGTTCCCATATCCATGTC-TAMRA theo chu kỳ nhiệt trong bài báo tham khảo (Yan & ctv., 2011). Mẫu dương tính có giá trị Ct < 35.

2.3. Xác định liều gây chết phôi 50%

Dịch trứng chứa vi rút được pha loãng 10 lần liên tiếp thành các nồng độ 10^{-1} đến 10^{-6} . Tiêm 0,1 mL hỗn hợp vào xoang niệu mô phôi trứng vịt (mỗi nồng độ tiêm 4 phôi).

Ủ trứng trong tủ ấm 37,8°C theo dõi trong 8 ngày. Loại bỏ trứng chết trong vòng 24 giờ sau khi tiêm. Ghi chép số phôi chết.

Dựa vào tỷ lệ sống chết của phôi để tính toán liều gây chết phôi 50% (ELD50) theo công thức Reed & Muench (Reed & Muench, 1938).

2.4. Giải trình tự một phần gen E

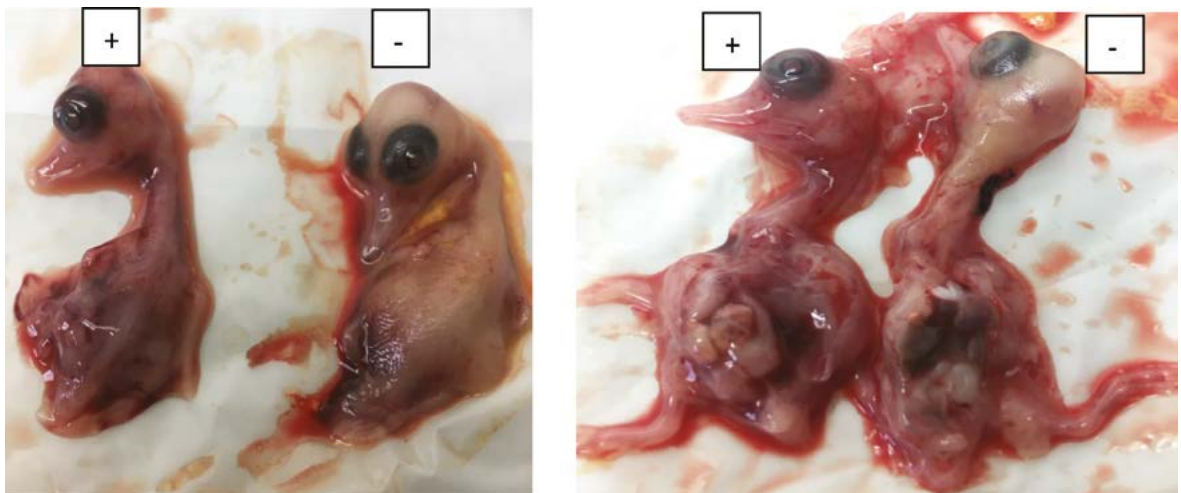
Một phần gen E của vi rút được khuếch đại bằng RT-PCR (Cat. No. M5313, Promega) với cặp mồi P2f: TTTGTTTCGGAAAGGGGAG, P2r: TACACCCCAACTGAGCC theo chu kỳ nhiệt trong bài báo tham khảo (Huang & ctv., 2013). Sản phẩm PCR có kích thước 985 bp được gửi đi giải trình tự tại Nam Khoa Biotek (TP. Hồ Chí Minh), sau đó trình tự được phân tích bằng phần mềm Bioedit (Hall, 1999). Trình tự cũng được so sánh với các trình tự khác có trên Genbank. Cây phả hệ được xây dựng bằng phần mềm MEGA7 theo phương pháp maximum-likelihood với giá trị bootstrap 1.000 lần lặp lại (Tamura & ctv., 2013).

3. Kết Quả và Thảo Luận

3.1. Phân lập vi rút

Trong tổng cộng 12 mẫu bệnh phẩm dùng để phân lập có 1 mẫu gây chết phôi vào ngày thứ 3. Phôi chết có các bệnh tích như xuất huyết dưới da, gan có những đốm xuất huyết lấm tấm (Hình 1) tương tự như những bệnh tích do vi rút Tembusu được miêu tả trước đó (Huang & ctv., 2013; Thontiravong & ctv., 2015). Dịch của trứng cũng được kiểm tra bằng PCR với vi rút Tembusu các mầm bệnh phổ biến khác như

dịch tả vịt, cúm, circovirus. Kết quả là dịch trứng chỉ dương tính với vi rút Tembusu với lượng vi rút rất cao (Ct = 15). Như vậy, có thể kết luận là vi rút Tembusu đã được phân lập thành công. Chủng vi rút này được ký hiệu là NL1. Tỷ lệ phân lập thành công trên phôi trứng không cao (nhỏ hơn 10%) có thể do phôi trứng chứa kháng thể được truyền từ vịt mẹ được chủng vắc-xin. Do hiện nay chưa có xét nghiệm tìm kháng thể vi rút Tembusu nên việc chọn lựa phôi trứng không có kháng thể chống vi rút là không thể.



Hình 1. Phôi vịt chết được mổ khám: (+): dương tính với vi rút Tembusu, (-) đối chứng âm, âm tính vi rút Tembusu.

3.1. Xác định liều gây chết phôi 50%

Bảng 1. Thí nghiệm có kết quả chuẩn độ liều gây chết trứng 50% (ELD50) của vi rút Tembusu

Nồng độ vi rút pha loãng	Số trứng chết / Số trứng tiêm	Phản ứng		Giá trị cộng dồn			Tỷ lệ chết (%)
		Chết	Sống	Chết	Sống	Tỷ số	
10 ⁻³	4/4	4	0	8	0	8/8	100
10 ⁻⁴	3/4	3	1	4	1	4/5	80
10 ⁻⁵	1/4	1	3	1	4	1/5	20
10 ⁻⁶	0/4	0	4	0	8	0/8	0

Vi rút Tembusu (NL1) được pha loãng liên tiếp 10 lần và tiêm mỗi nồng độ vào 4 trứng. Sau đó, quan sát qua từng ngày thì quan sát được số trứng có phôi bị chết và số phôi sống như ở Bảng 1. Dựa vào tỷ lệ sống chết của phôi để tính toán liều ELD50 theo công thức Reed & Muench (1938) để đánh giá kết quả.

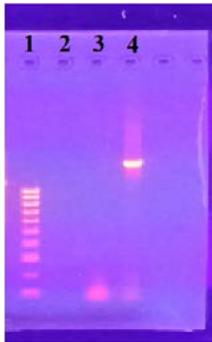
Công thức Reed & Muench:

$$ELD50 = \frac{A - 50}{A - B} \times (b - a) + a$$

$$ELD50 = \frac{80 - 50}{80 - 20} \times [(-5) - (-4)] + (-4) = -4,5$$

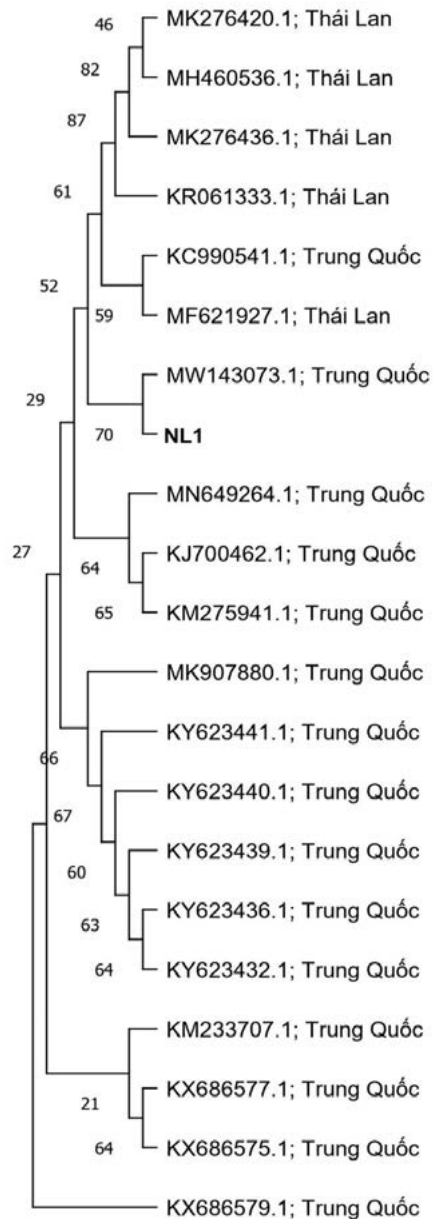
Như vậy, liều gây chết 50% phôi trứng là $10^{-4,5}/0,1$ mL.

3.2. Phát hiện vi rút bằng kỹ thuật PCR và giải trình tự



Hình 2. Kết quả điện di trong phản ứng PCR khuếch đại một phần gen E của vi rút Tembusu; 1: Thang chuẩn ladder, 2: Đối chứng âm, 3: Mẫu âm tính, 4: Mẫu dương tính có kích thước 985 bp.

Sản phẩm PCR được giải trình tự và sau đó sản phẩm giải trình tự được phân tích bởi phần mềm Bioedit để có được trình tự hoàn chỉnh. Tiếp đến, trình tự này được so sánh (alignment) với 20 trình tự nucleotide của vi rút Tembusu trên Genbank và được xây dựng sơ đồ phả hệ bằng phần mềm MEGA7. Kết quả được thể hiện ở Hình 2.



Hình 3. Cây sinh dòng so sánh một phần gen E (thu được 800 nt) của vi rút Tembusu được phân lập (NL1) và các vi rút Tembusu khác.

Phân tích sinh dòng có thể cho thấy rằng chủng được phân lập (NL1) có tương đồng cao (từ 96,8% tới 98,15%) với 20 trình tự vi rút Tembusu trên vịt ở các nước lân cận Việt Nam như Trung Quốc và Thái Lan (Hình 3).

Tuy nhiên, cần giải trình tự nhiều chủng vi rút Tembusu (từ chủng phân lập hay mẫu thực địa) để có cái nhìn toàn diện hơn cũng như xác định được chủng lưu hành phổ biến nhất (có tỉ lệ giống nhau cao nhất) để có thể phát triển vắc-xin.

Hiện nay, trên thị trường Việt Nam chưa có sản phẩm bộ kit thương mại có thể phát hiện kháng thể với vi rút Tembusu. Trong khi đó, nhu cầu của nhà chăn nuôi vịt là rất lớn vì họ muốn biết đáp ứng miễn dịch sau khi chủng ngừa. Chủng vi rút được phân lập từ nghiên cứu này có thể được sử dụng để phát triển bộ kit trên.

4. Kết Luận

Một chủng vi rút Tembusu (NL1) đã được phân lập với hiệu giá vi rút là $10^{4.5}/0,1$ mL. Qua phân tích di truyền dựa trên một phần gen E thì chủng vi rút này có sự tương đồng khá cao (từ 96,8 tới 98,15%) với các chủng vi rút Tembusu khác ở Trung Quốc và Thái Lan.

Lời Cam Đoan

Chúng tôi cam đoan bài báo do nhóm tác giả thực hiện và không có mâu thuẫn giữa các tác giả.

Tài Liệu Tham Khảo (References)

Hall, T. A. (1999). Bioedit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series* 41, 95-98.

Homonnay, Z. G., Kovács, E. W., Bánayai, K., Albert, M., Fehér, E., Mató, T., Tatár-Kis, T., & Palya, V. (2014). Tembusu-like flavivirus (Perak virus) as the cause of neurological disease outbreaks in young pekin ducks. *Avian Pathology* 43(6), 552-560. <https://doi.org/10.1080/03079457.2014.973832>.

Hu, T., Wu, Z., Wu, S., Wang, M., Jia, R., Zhu, D., Liu, M., Zhao, X., Yang, Q., Wu, Y., Zhang, S.,

Huang, J., Mao, S., Ou, X., Gao, Q., Sun, D., Liu, Y., Zhang, L., Yu, Y., Chen, S., & Cheng, A. (2021). Substitutions at loop regions of tmuv e protein domain iii differentially impair viral entry and assembly. *Frontiers in Microbiology* 12. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.688172>.

Huang, X., Han, K., Zhao, D., Liu, Y., Zhang, J., Niu, H., Zhang, K., Zhu, J., Wu, D., Gao, L., & Li, Y. (2013). Identification and molecular characterization of a novel flavivirus isolated from Geese in China. *Research in Veterinary Science* 94(3), 774-780. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2012.11.014>.

Li, N., Lv, C., Yue, R., Shi, Y., Wei, L., Chai, T., & Liu, S. (2015). Effect of age on the pathogenesis of duck tembusu virus in cherry valley ducks. *Frontiers in Microbiology* 6. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00581>.

Liu, P., Lu, H., Li, S., Wu, Y., Gao, G. F., & Su, J. L. (2013). Duck egg drop syndrome virus: An emerging tembusu-related flavivirus in China. *Science China Life Sciences* 56(8), 701-710. <https://doi.org/10.1007/s11427-013-4515-z>.

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>.

Su, J., Li, S., Hu, X., Yu, X., Wang, Y., Liu, P., Lu, X., Zhang, G., Hu, X., Liu, D., Li, X., Su, W., Lu, H., Mok, N. S., Wang, P., Wang, M., Tian, K., & Gao, G. F. (2011). Duck egg-drop syndrome caused by BYD virus, a new tembusu-related flavivirus. *PLoS ONE* 6(3). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0018106>.

Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipski, A., & Kumar, S. (2013). MEGA6: Molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Molecular Biology and Evolution* 30(12), 2725-2729. <https://doi.org/10.1093/molbev/mst197>.

Thontiravong, A., Ninvilai, P., Tunterak, W., Nonthabenjawan, N., Chaiyavong, S., Angkabkingkaew, K., Mungkundak, C., Phuengpho, W., Oraveerakul, K., & Amonsin, A. (2015). Tembusu-related flavivirus in ducks, Thailand. *Emerging Infectious Diseases*

- 21(12), 2164-2167. <https://doi.org/10.3201/eid2112.150600>.
- Yan, L., Yan, P., Zhou, J., Teng, Q., & Li, Z. (2011). Establishing a taqman-based real-time PCR assay for the rapid detection and quantification of the newly emerged duck tembusu virus. *Virology Journal* 8(1), 464. <https://doi.org/10.1186/1743-422X-8-464>.
- Yun, T., Ye, W., Ni, Z., Zhang, D., & Zhang, C. (2012). Identification and molecular characterization of a novel flavivirus isolated from pekin ducklings in China. *Veterinary Microbiology* 157(3-4), 311-319. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2012.01.013>.

Investigation of pyometra in dogs in Ho Chi Minh City, Vietnam

Huong T. T. Pham, & Thuong T. Nguyen*

Faculty of Animal Science and Veterinary Medicine, Nong Lam University, Ho Chi Minh City, Vietnam

ARTICLE INFO

Research Paper

Received: April 28, 2023

Revised: June 29, 2023

Accepted: July 04, 2023

Keywords

Dogs

Isolated bacteria of pyometra

Metritis

Pyometra

*Corresponding author

Nguyen Thi Thuong

Email:

thuong.nguyenthi@hcmuaf.edu.vn

ABSTRACT

The objectives of this study were to evaluate the status of pyometra in dogs and effects of treatment, and to isolate bacteria from the inflammatory fluid of pyometra in dogs. The study was carried out from September 2022 to February 2023 at the Animal Health Laboratory and Treatment Division, Sub-Department of Animal Health and Husbandry of Ho Chi Minh City. Out of total 1,715 bitches, there were 81 cases of pyometra (4.43%). The results showed that dogs aged 5 - 7 years (35.80%) had the highest rate of pyometra, followed by dogs aged 2 - 4 years (20.99%), and the lowest rate with dogs < 2 years old (3.70%). Local breeds had a lower pyometra rate (19.75%) compared to foreign breeds (80.25%) ($P < 0.05$). Dogs kept in cages accounted for 58.02% of the pyometra rate, which was higher than the rate of free-roaming dogs at 41.98% ($P < 0.05$). Non-reproductive dogs had the highest rate of this disease (64.20%), followed by primiparous dogs (25.93%) and the lowest rate was recorded in dogs with parity 5 (1.23%) ($P < 0.05$). Common clinical symptoms included moodiness/proneness, vaginal discharge, abdominal distension/pain to touch, excessive drinking/thirst, loss of appetite, dehydration, fever, weight loss, polyuria and vomiting, which were important for the diagnosis of pyometra. Streptococcus was a bacterial group found in uterine fluid samples of pyometra by isolation and culture method. The treatment method chosen by the owners for pyometra in dogs in Ho Chi Minh City was surgical intervention and the effect of successful treatment was very high (90.12%).

Cited as: Pham, H. T. T., & Nguyen, T. T. (2023). Investigation of pyometra in dogs in Ho Chi Minh City, Vietnam. *The Journal of Agriculture and Development* 22(4), 49-58.

Khảo sát bệnh viêm tử cung tích mủ trên chó tại TP. Hồ Chí Minh

Phạm Thị Thu Hương & Nguyễn Thị Thương*

Khoa Chăn Nuôi Thú Y, Trường Đại Học Nông Lâm TP.HCM, TP. Hồ Chí Minh

THÔNG TIN BÀI BÁO

Bài báo khoa học

Ngày nhận: 28/04/2023

Ngày chỉnh sửa: 29/06/2023

Ngày chấp nhận: 04/07/2023

Từ khóa

Chó

Vi khuẩn viêm tử cung

Viêm tử cung

Viêm tử cung tích mủ

*Tác giả liên hệ

Nguyễn Thị Thương

Email:

thuong.nguyenthi@hcmuaf.edu.vn

TÓM TẮT

Mục tiêu của khảo sát là đánh giá tình trạng viêm tử cung tích mủ trên chó, theo dõi hiệu quả điều trị và phân lập một số vi khuẩn sinh mủ hiện diện trong dịch viêm trên chó. Nghiên cứu được thực hiện từ tháng 9 năm 2022 đến tháng 2 năm 2023 tại Trạm Chẩn đoán Xét nghiệm và Điều trị bệnh Động vật, Chi cục Chăn nuôi và Thú y TP. Hồ Chí Minh. Trong tổng số 1.715 chó cái được khảo sát, ghi nhận 81 ca viêm tử cung tích mủ (chiếm 4,43%). Kết quả cho thấy bệnh viêm tử cung tích mủ có tỷ lệ cao nhất trên nhóm chó 5 - 7 tuổi (35,80%), kế đến nhóm từ 2 - 4 tuổi (20,99%) và thấp nhất là nhóm chó < 2 tuổi (3,70%). Giống chó nội có tỷ lệ bệnh (19,75%) thấp hơn so với giống chó ngoại (80,25%) ($P < 0,05$). Bệnh xảy ra ở nhóm chó nuôi nhốt chiếm tỷ lệ 58,02% cao hơn so với nuôi thả rông 41,98% ($P < 0,05$). Mặt khác, nhóm chó không sinh sản chiếm tỷ lệ bệnh cao nhất (64,20%) ở bệnh này, kế đến là chó đẻ 1 lứa (25,93%) và tỷ lệ thấp nhất ghi nhận ở chó đẻ 5 lứa (1,23%) ($P < 0,05$). Các triệu chứng bệnh phổ biến trong viêm tử cung tích mủ trên chó như ủ rũ/hay nằm sấp, tiết dịch âm đạo, bụng to/đau khi sờ, uống nhiều nước/khát nước, bỏ ăn, mất nước, sốt, trọng lượng giảm, tiểu nhiều, nôn mửa, các triệu chứng này rất thường gặp, có tần suất xuất hiện cao và có ý nghĩa trong việc chẩn đoán bệnh. *Streptococcus* là nhóm vi khuẩn sinh mủ được tìm thấy trong mẫu dịch tử cung bằng phương pháp nuôi cấy phân lập. Phương pháp được chủ nuôi lựa chọn để điều trị viêm tử cung tích mủ trên chó tại TP. Hồ Chí Minh là can thiệp ngoại khoa và hiệu quả điều trị chiếm tỷ lệ thành công cao (90,12%).

1. Đặt Vấn Đề

Các bệnh sản khoa trên chó như viêm tử cung, đẻ khó, chữa giả, chậm động dục, sa âm đạo thì viêm tử cung tích mủ là một bệnh lý phổ biến và chiếm tỷ lệ cao nhất (Su & Tran, 2015). Theo Nguyen & Nguyen (2019), tỷ lệ chó bị viêm tử cung tích mủ là khá cao trong quần thể chó

được điều tra, chiếm tỷ lệ 12,76%. Bệnh xảy ra chủ yếu ở chó cái trưởng thành từ 2 tuổi trở lên và/hoặc trong giai đoạn sau động dục (Borresen, 1975). Kết quả nghiên cứu của Egenvall & ctv. (2001) cho thấy có đến gần một phần tư số chó cái mắc bệnh trước khi chúng 10 tuổi, chiếm tỷ lệ 23 - 24%. Chó cái chưa đẻ có nguy cơ viêm tử

cung cao hơn rõ rệt so với chó cái đã đẻ; ngoài ra nhóm chó cái dưới bốn tuổi sử dụng thuốc ngừa thai làm tăng nguy cơ mắc bệnh này (Niskanen & Thrusfield, 1998). Bệnh không chỉ kéo dài thời gian động dục sau đẻ, tăng số lần phối giống, giảm số con sinh ra mà còn ảnh hưởng nghiêm trọng đến sức khỏe của chó mẹ (Nguyen & Nguyen, 2018b). Trong các vi khuẩn được phân lập từ dịch mủ tử cung thì *Escherichia coli* (*E. coli*) là vi khuẩn thường gặp nhất (chiếm 57,7% - 74,1%), các vi khuẩn khác cũng được phân lập như *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus chiếm tỉ lệ thấp* (Coggan & ctv., 2008; Lopes & ctv., 2021). Ngoài ra, theo Vo (2017) thì nhiễm trùng máu có thể gây chết thú trong các trường hợp viêm tử cung tích mủ này. Trước thực trạng đó, khảo sát được thực hiện nhằm đánh giá tình trạng viêm tử cung tích mủ trên chó tại TP. Hồ Chí Minh, theo dõi hiệu quả điều trị và phân lập một số vi khuẩn có trong dịch viêm.

2. Vật Liệu và Phương Pháp Nghiên Cứu

2.1. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện từ tháng 9 năm 2022 đến tháng 2 năm 2023 tại Trạm Chẩn đoán Xét nghiệm và Điều trị bệnh Động vật, Chi cục Chăn nuôi và Thú y TP. Hồ Chí Minh.

2.2. Đối tượng khảo sát

Tất cả chó cái trên 6 tháng tuổi được đưa đến khám và điều trị lần đầu tiên tại Trạm Chẩn đoán Xét nghiệm và Điều trị bệnh Động vật có biểu hiện liên quan bệnh viêm tử cung tích mủ.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

Điều tra cắt ngang được thực hiện trên 1.715 con chó cái đến khám. Tổng số 81 con chó cái được xác định là viêm tử cung tích mủ thông qua các triệu chứng lâm sàng như tiết dịch âm đạo, ủ rũ, chán ăn,... theo mô tả của Jisna & Sivaprasad

(2020); đồng thời được chẩn đoán xác định qua siêu âm, lựa chọn phương pháp điều trị phù hợp và theo dõi hiệu quả điều trị. Viêm tử cung tích mủ được xác định ở 2 dạng lâm sàng, gồm: (1) Viêm tử cung tích mủ dạng đóng (dạng kín) là dạng viêm tử cung không quan sát thấy có dịch viêm chảy ra từ âm hộ do cổ tử cung đóng; (2) Viêm tử cung tích mủ dạng mở là dạng viêm tử cung có dịch viêm tử cung chảy ra từ âm hộ do cổ tử cung mở.

Sau khi chẩn đoán viêm tử cung tích mủ, với những chó bị viêm tử cung dạng mở, thể trạng tốt hoặc chủ nuôi yêu cầu để lại làm giống thì được chỉ định điều trị nội khoa liên tục trong 5 - 7 ngày. Phác đồ điều trị gồm Postaglandin F2 α 2 - 7 ngày cho đến khi tử cung có kích thước bình thường khi sờ nắn và siêu âm; Kháng sinh được dùng Flor-doxy, Cefotaxime; Kháng viêm Bio Dexam; Thuốc trợ sức vitamin C, Bécozym; Dịch truyền Ringer Lactate, Glucose 5%. Chăm sóc hộ lý: Dùng nước muối sinh lý 0,9% thật rửa sạch dịch viêm trong tử cung ngày làm 2 lần, liên tục trong khoảng 3 - 5 ngày. Cho ăn thức ăn dễ tiêu. Theo dõi tiến triển và hiệu quả điều trị 5 - 7 ngày.

Đối với những con chó cái bị viêm tử cung tích mủ nặng, qua chẩn đoán là viêm tử cung tích mủ dạng kín, tử cung sưng lớn hoặc những chó đã được điều trị nội khoa không có kết quả thì được chỉ định điều trị can thiệp ngoại khoa. Sau đó điều trị hậu phẫu: Đeo vòng Elizabeth để tránh vật nuôi liếm, cắn vào vết mổ gây bung chỉ, nhiễm trùng; và sử dụng phác đồ kháng sinh, kháng viêm, trợ sức như trên. Sau 7 - 10 ngày xem tình trạng lành vết thương và tiến hành cắt chỉ.

Các chỉ tiêu khảo sát đánh giá tình trạng viêm tử cung tích mủ trên chó gồm nhóm tuổi (6 tháng < 2 tuổi, 2 - 4 tuổi, 5 - 7 tuổi, 8 - 10 tuổi, > 10 tuổi), giống (nội, ngoại), lứa đẻ (không sinh sản, lứa 1, 2, 3, 4, 5), sử dụng thuốc ngừa thai (có, không), hình thức nuôi (nhốt, thả rong), dạng

viêm tử cung (viêm tử cung dạng đóng, viêm tử cung dạng mở), tần suất xuất hiện các triệu chứng lâm sàng, phương pháp điều trị (nội khoa, can thiệp ngoại khoa), hiệu quả điều trị (khỏi, không khỏi) và kết quả nuôi cấy phân lập vi khuẩn từ dịch viêm tử cung.

2.4. Xử lý số liệu thống kê

Số liệu được xử lý thống kê bằng Minitab version 19 và các tỉ lệ được so sánh bằng trắc nghiệm χ^2 . Sự khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê khi $P < 0,05$.

3. Kết Quả và Thảo Luận

3.1. Tỷ lệ viêm tử cung tích mủ theo các yếu tố khảo sát

Tổng số chó cái được khảo sát là 1.715 con; qua chẩn đoán lâm sàng và chẩn đoán hình ảnh

phát hiện có 81 chó cái bị viêm tử cung tích mủ; chiếm tỷ lệ 4,43%. Kết quả này thấp hơn kết quả nghiên cứu của Le & ctv. (2009), tỷ lệ chó cái viêm tử cung tích mủ là 7,52%. Sự khác biệt này có thể do thời gian và địa điểm nghiên cứu, ngoài ra xã hội ngày càng phát triển, kiến thức của chủ nuôi ngày càng được nâng cao, do đó tỷ lệ bệnh này có thể được giảm xuống. Kết quả khảo sát về phương thức nuôi của 81 chó bị viêm tử cung tích mủ này có 47/81 con là nuôi nhốt (58,02%) cao hơn nhóm chó nuôi thả rong 24/81 con (41,98%). Sự khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê ($P < 0,05$).

Tùy thuộc vào tình trạng dịch viêm bên trong tử cung có chảy ra ngoài âm đạo hay không (cổ tử cung đóng hoặc mở) mà người ta chia viêm tử cung tích mủ thành 2 dạng là viêm tử cung tích mủ dạng đóng và viêm tử cung tích mủ dạng mở. Kết quả được thể hiện qua Bảng 1.

Bảng 1. Tỷ lệ các dạng viêm tử cung

Dạng viêm tử cung tích mủ	Số chó mắc bệnh (con)	Tỷ lệ (%)	<i>P</i>
Viêm tử cung tích mủ dạng đóng	20	24,69	< 0,001
Viêm tử cung tích mủ dạng mở	61	75,31	
Tổng cộng	81	100	

Kết quả từ Bảng 1 cho thấy trong 81 chó cái mắc bệnh này thì có đến 61 con chó bị viêm tử cung tích mủ dạng mở chiếm tỷ lệ khá cao 75,31% so với viêm tử cung tích mủ dạng đóng chiếm 24,69% ($P < 0,05$). Ở những chó bị viêm tử cung, dịch tiết sẽ tích tụ bên trong tử cung ngày càng nhiều, nếu cổ tử cung mở dịch chảy tràn ra ngoài âm đạo, đây là một trong những dấu hiệu lâm sàng chẩn đoán viêm tử cung tích mủ dạng mở trên chó cái. Còn đối với trường

hợp viêm tử cung tích mủ dạng đóng được coi là những trường hợp khẩn cấp, con thú bị ốm nặng với các triệu chứng toàn thân rõ rệt và bụng căng phồng, cơ thể có thể bị mất nước, hạ thân nhiệt và nhiễm độc máu (Ewald, 1961).

Tỷ lệ viêm tử cung tích mủ theo độ tuổi và lứa đẻ:

Kết quả khảo sát viêm tử cung tích mủ theo nhóm tuổi và lứa đẻ được trình bày trong Bảng 2.

Bảng 2. Tỷ lệ viêm tử cung tích mủ theo nhóm tuổi và lứa đẻ

Chỉ tiêu	Số chó cái viêm tử cung (con)	Tỷ lệ (%)	P
Nhóm tuổi (tuổi)	< 2	3	3,70 ^a
	2 - 4	17	20,99 ^b
	5 - 7	29	35,80 ^c
	8 - 10	16	19,75 ^{db}
	> 10	16	19,75 ^{db}
	Không sinh sản	52	64,20 ^a
Lứa đẻ	1	21	25,93 ^b
	2	2	2,47 ^c
	3	3	3,70 ^c
	4	2	2,47 ^c
	5	1	1,23 ^c
Tổng cộng	81	100	

^{abcd}Các tỉ lệ có các chữ cái khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa với $P < 0,05$.

Kết quả từ Bảng 2 cho thấy, chó cái ở nhóm 5 - 7 năm tuổi có tỷ lệ viêm tử cung tích mủ cao nhất với 35,80%, kế đến là nhóm 2 - 4 tuổi, 8 - 10 tuổi và > 10 tuổi có tỉ lệ 20 -21%, và thấp nhất là nhóm < 2 tuổi có tỷ lệ 3,70%. Kết quả này phù hợp với kết quả nghiên cứu của nhóm tác giả Tran & ctv. (2020) ghi nhận tỷ lệ viêm tử cung tích mủ thấp nhất ở nhóm chó < 2 năm tuổi (3,29%) và cao nhất ở nhóm 2 - 5 tuổi (23,65%). Độ tuổi chó có nguy cơ bị viêm tử cung tích mủ trong khảo sát của chúng tôi (Bảng 2) thấp hơn so với kết quả nghiên cứu của Egenvall & ctv. (2001) cho thấy chó có nguy cơ bị viêm tử cung tích mủ cao nhất ở nhóm 8 - 10 tuổi. Sự khác biệt này có thể đến từ môi trường nuôi, kiến thức chủ nuôi, quá trình chăm sóc lúc thú động dục cũng như điều kiện đem thú đi thú y kiểm tra định kỳ.

Ngoài ra, viêm tử cung tích mủ theo lứa đẻ được khảo sát theo các nhóm bao gồm chó không sinh sản và chó đẻ các lứa (Bảng 2). Trong đó, nhóm chó không sinh sản hoặc đẻ ít lứa có tỷ lệ bệnh cao hơn so với những chó đẻ nhiều

lứa, trong đó tỷ lệ cao nhất ở chó không sinh sản chiếm 64,20%, kế đến là nhóm chó đẻ 1 lứa chiếm 25,93% và thấp nhất ở nhóm chó đẻ 5 lứa chỉ chiếm 1,23%. Các nhóm chó có lứa đẻ từ 2 trở lên trong khảo sát chỉ dao động từ 1 - 3 con, tuy nhiên khảo sát vẫn muốn phân loại nhóm nhằm thể hiện đặc điểm các yếu tố nguy cơ liên quan lứa đẻ. Hơn nữa, khảo sát của Le & ctv. (2009) cũng cho thấy nhóm chó không cho sinh sản hoặc sinh sản không đều đặn thường bị viêm tử cung cao hơn những chó sinh sản bình thường. Mặt khác, theo nghiên cứu của Jisna & Sivaprasad (2020) nguyên nhân nguyên phát dẫn đến bệnh viêm tử cung tích mủ liên quan đến sự bất thường của kích thích tố estrogen và progesteron ở những chó không sinh sản hoặc sinh sản không đều. Hơn nữa, trong khảo sát của chúng tôi đã ghi nhận có đến 23 con bị viêm tử cung tích mủ do sử dụng thuốc ngừa thai trong tổng số 81 con, chiếm tỉ lệ 28,40%. Các trường hợp này do thú sử dụng thuốc ngừa thai có thành phần là medroxyprogesterone acetate, làm cho

hàm lượng progesterone tăng cao, lớp nội mạc tử cung nhạy cảm với progesterone, từ đó hình thành các nang, tăng tiết dịch, đặc biệt thời điểm sau động dục, niêm mạc tử cung trở nên dễ bị cảm nhiễm, từ đó nguy cơ bệnh viêm tử cung tích mủ tăng cao.

Tỷ lệ bệnh viêm tử cung tích mủ theo nhóm giống:

Các thông tin về giống được chủ nuôi cung cấp thông qua phiếu điều tra. Kết quả được thể hiện ở Bảng 3.

Bảng 3. Tỷ lệ bệnh viêm tử cung tích mủ theo nhóm giống

Giống	Số chó mắc bệnh (con)	Tỷ lệ (%)	P
Nội	16	19,75	< 0,001
Ngoại	65	80,25	
Tổng cộng	81	100	

Qua Bảng 3 cho thấy tỷ lệ bệnh 80,25% ở chó ngoại cao hơn rất nhiều so với chó nội chỉ chiếm 19,75% ($P < 0,05$), kết quả khảo sát này phù hợp với kết quả nghiên cứu của Su & Tran (2015) và Le & ctv. (2009). Hiện nay tại địa bàn Thành phố Hồ Chí Minh tình hình nuôi chó ngoại cao hơn so với chó nội, do đó số lượng chó ngoại mang tới Phòng khám Thú y cao hơn. Theo kết quả khảo sát của Nguyen & Nguyen (2018a), nuôi chó với lý do chính gồm là nguồn vui chiếm tỉ lệ 35,40%, là bạn chiếm tỉ lệ 27,43% và yếu tố chủ nuôi kiểm soát không cho sinh đẻ là nguyên nhân chính dẫn đến viêm tử cung tích mủ. Mặt khác, những giống chó ngoại có giá trị kinh tế cao thường được nhà nuôi nhất và được chủ nuôi quan tâm chăm sóc nhiều hơn, nên dễ dàng phát hiện bệnh và mang tới phòng khám điều trị nhiều hơn so với nhóm giống chó nội (Le & ctv., 2009).

3.2. Các triệu chứng lâm sàng thường gặp trên chó bị viêm tử cung tích mủ

Qua khảo sát, chúng tôi ghi nhận các triệu chứng lâm sàng thường gặp trên chó bị viêm tử cung tích mủ, bao gồm ủ rũ/hay nằm sấp (81,48%), tiếp đến là tiết dịch âm đạo (75,31%),

bụng to/đau khi sờ (66,67%), uống nhiều nước/khát nước (66,67%) (Bảng 4). Bên cạnh các triệu chứng lâm sàng xuất hiện với tần số cao, còn có các triệu chứng khác như bỏ ăn (62,69%), mất nước (45,68%), sốt (45,68%), trọng lượng giảm (43,21%), tiểu nhiều (34,57%), nôn mửa (33,33%) và tiêu chảy (24,69%). Bệnh viêm tử cung tích mủ là một bệnh lý của tình trạng viêm, thú có biểu hiện mệt mỏi hay nằm sấp để tránh đau ở vùng bụng, do đó triệu chứng lâm sàng ủ rũ/hay sấp là triệu chứng phổ biến nhất trong các triệu chứng bệnh. Ngoài ra, triệu chứng uống nhiều nước/khát nước cũng chiếm tỷ lệ cao, do dịch tiết được tích tụ nhiều bên trong tử cung, vi khuẩn tiết ra độc tố và được hấp thu vào vòng tuần hoàn, cơ thể tăng cường loại thải các sản vật viêm qua thận nên chó phải tiểu nhiều, vì thế mà chó cái bị viêm tử cung thường uống nhiều nước. Ngoài việc thận làm việc quá mức do tăng cường lọc nước máu, thì độc tố của vi khuẩn còn ảnh hưởng đến chức năng thận, gây hư hại thận nên có thể dẫn đến thú chết (Le & ctv., 2009).

Bảng 4. Tỷ lệ các triệu chứng lâm sàng của bệnh viêm tử cung tích mủ (n = 81)

Triệu chứng lâm sàng	Tần số	Tỷ lệ (%)	P
Ủ rữa/hay nằm sấp	66	81,48 ^a	< 0,001
Tiết dịch âm đạo	61	75,31 ^a	
Bụng to/đau khi sờ	54	66,67 ^a	
Uống nhiều nước/khát nước	54	66,67 ^a	
Bỏ ăn	51	62,96 ^a	
Mất nước	37	45,68 ^b	
Sốt	37	45,68 ^b	
Trọng lượng giảm	35	43,21 ^b	
Tiểu nhiều	28	34,57 ^b	
Nôn mửa	27	33,33 ^b	
Tiêu chảy	20	24,69 ^b	

^{ab}Các tỉ lệ có các chữ cái khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa với $P < 0,05$.

3.3. Hiệu quả điều trị bệnh viêm tử cung tích mủ

Điều trị viêm tử cung tích mủ gồm 2 phương pháp: (1) bảo tồn và điều trị nội khoa hoặc (2) can thiệp ngoại khoa. Tùy thuộc dạng viêm tử cung, mức độ viêm và yêu cầu của chủ để lựa chọn phương pháp điều trị phù hợp. Chủ nuôi được Bác sỹ Thú y tư vấn đầy đủ cả hai phương

pháp, tuy nhiên 81 ca bệnh này thì chủ nuôi chọn can thiệp ngoại khoa. Kết quả siêu âm viêm tử cung tích mủ trên chó Bull Pháp (3 tuổi) được trình bày qua Hình 1. Hình 2 minh họa cho ca tử cung viêm tích mủ được phẫu thuật cắt bỏ trong khảo sát của chúng tôi.



Tử cung viêm tích mủ sưng to

Hình 1. Hình ảnh siêu âm tử cung tích mủ trên chó Bull Pháp 3 tuổi.



(A) Tử cung viêm tích mủ trên chó ta 7 tuổi



(B) Tử cung viêm tích mủ trên chó Bull Pháp 3 tuổi

Hình 2. Tử cung bị viêm tích mủ.

Sau khi phẫu thuật, chó cái sẽ được chăm sóc và theo dõi hiệu quả điều trị sau khi phẫu thuật.

Hiệu quả điều trị được thể hiện qua Bảng 5.

Bảng 5. Hiệu quả điều trị can thiệp ngoại khoa

Kết quả điều trị	Số ca	Tỷ lệ (%)	P
Thành công	73	90,12	< 0,001
Chết	8	9,88	
Tổng cộng	81	100	

Kết quả cho thấy trong 81 ca bệnh có 73 ca phẫu thuật thành công chiếm tỷ lệ khá cao với 90,12%. Số ca chết là 8 ca chiếm tỷ lệ 9,88%. Nguyên nhân của các ca chết này do chủ mang thú đi khám khi bệnh tình đã diễn biến nghiêm trọng, có dấu hiệu của nhiễm trùng máu hay thú già và yếu. Trong 8 ca chết có 1 ca bị viêm tử cung tích mủ do sót nhau, 1 ca do thai chết lưu, 4 ca do chó bị viêm tử cung tích mủ nặng và tuổi lớn (> 6 tuổi), và 2 ca còn lại bị viêm tử cung nặng với bệnh sử nhiều lần sử dụng thuốc ngừa thai (3 - 4 lần). Theo Jisna & Sivaprasad (2020), đối với bệnh viêm tử cung tích mủ thì phương pháp điều trị ngoại khoa vẫn là phương pháp điều trị hiệu quả nhất.

3.4. Kết quả nuôi cấy phân lập vi khuẩn sinh mủ gây viêm tử cung

Trong khảo sát này, chúng tôi thu thập 5 mẫu dịch viêm tử cung trong 81 ca viêm tử cung tích mủ. Tử cung trên chó bị viêm tử cung tích mủ, được can thiệp điều trị ngoại khoa bằng cách cắt bỏ tử cung, và mẫu dịch viêm tử cung được lấy trực tiếp từ tử cung được cắt bỏ này. Sử dụng kim tiêm vô trùng hút dịch viêm tử cung. Các mẫu dịch viêm tử cung được thu thập, bảo quản 2 - 8°C và gửi đến Phòng chẩn đoán vi trùng, nội khoa và ký sinh trùng tại Trạm Chẩn đoán xét nghiệm và điều trị bệnh động vật để nuôi cấy phân lập. Kết quả tìm thấy trong 4 mẫu có sự hiện của vi khuẩn *Streptococcus* tan huyết beta và 1 mẫu không cho kết quả phân lập. Theo nghiên cứu của

Maksimovic & ctv. (2012), *Streptococcus* là một trong những vi khuẩn phổ biến được phân lập từ âm đạo. Hơn nữa, khi bệnh tiến triển dịch trong tử cung tràn ra ngoài âm đạo, lúc này vi khuẩn có sẵn ở âm đạo đi vào bên trong qua cổ tử cung và gây thêm tình trạng phụ nhiễm (Le & ctv., 2009). Ngoài ra, Lopes & ctv. (2021) cho thấy *E. coli* cũng là vi khuẩn có tỷ lệ cao nhất khi được phân lập từ dịch tử cung, tuy nhiên các nhóm vi khuẩn *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Pseudomonas aeruginosa* và *Staphylococcus* chỉ chiếm tỉ lệ thấp.

4. Kết Luận

Tình trạng viêm tử cung tích mủ trên chó có tỷ lệ cao hơn trên nhóm chó từ 5 - 7 tuổi, đặc biệt trên nhóm chó không sinh sản hoặc sinh sản ít lứa, trên nhóm giống ngoại, và ở nhóm chó nuôi nhốt. Tỷ lệ viêm tử cung tích mủ dạng mở cao hơn so với viêm tử cung tích mủ dạng đóng. Các biểu hiện đặc trưng phổ biến của bệnh bao gồm ủ rũ/hay nằm sấp, tiết dịch âm đạo, bụng to/đau khi sờ, uống nhiều nước/khát nước, bỏ ăn, mất nước, sốt, trọng lượng giảm, tiểu nhiều, nôn mửa có ý nghĩa trong việc chẩn đoán bệnh. Hiệu quả điều trị thành công từ phương pháp ngoại khoa chiếm tỷ lệ cao. Vi khuẩn *Streptococcus* được phát hiện từ mẫu dịch viêm tử cung trong khảo sát này bằng phương pháp nuôi cấy phân lập.

Lời Cam Đoan

Chúng tôi cam đoan bài báo do nhóm tác giả thực hiện và không có bất kỳ mâu thuẫn nào giữa các tác giả.

Tài Liệu Tham Khảo (References)

Borresen, B. (1975). Pyometra in the dog. A pathophysiological investigation, 1: The pyometra syndrome, a review. *Nordisk Veterinaermedicin* 27(10), 508-517.

Coggan, J. A., Melville, P. A., Oliveira, C. M. D., Faustino, M., Moreno, A. M., & Benites, N. R. (2008). Microbiological and histopathological

aspects of canine pyometra. *Brazilian Journal of Microbiology* 39(3), 477-483.

<https://doi.org/10.1590/S1517-838220080003000012>.

Egenvall, A., Hagman, R., Bonnett, B. N., Hedhammar, A., Olson, P., & Lagerstedt, A. S. (2001). Breed risk of pyometra in insured dogs in Sweden. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 15(6), 530-538.

[https://doi.org/10.1892/0891-6640\(2001\)015<0530:bropii>2.3.co;2](https://doi.org/10.1892/0891-6640(2001)015<0530:bropii>2.3.co;2).

Ewald, B. H. (1961). A survey of cystic hyperplasia-pyometra complex in the bitch. *Small Animal Clinic* 1, 383-386.

Jisna, K. S., & Sivaprasad, M. S. (2020). Canine pyometra: An overview. *Raksha Technical Review* 10(1), 53-56.

Le, V. T., Le, Q. T., Huynh, T. N., Nguyen, T. Q. H., & Phan, T. K. C. (2009). Investigation of metritis in bitches and treatment results. *Journal of Veterinary Science and Technology* 16(1), 66-73.

Lopes, C. E., Carli, S. D., Riboldi, C. I., Lorenzo, C. D., Panziera, W., Driemeier, D., & Siqueira, F. M. (2021). Pet pyometra: Correlating bacteria pathogenicity to endometrial histological changes. *Pathogens* 10(7), 833. <https://doi.org/10.3390/pathogens10070833>.

Maksimovic, A., Maksimovic, Z., Filipovic, S., Besirovic, H., & Rifatbegovic, M. (2012). Vaginal and uterine bacteria of healthy bitches during different stages of their reproductive cycle. *The Veterinary Record* 171(15), 375. <https://doi.org/10.1136/vr.100886>.

Nguyen, B. P., & Nguyen, C. T. H. (2019). Clinical study of metritis in dogs and the affect of the hormone progesterone on the risk factors of metritis. *Can Tho University Journal of Science* 55(5), 1-8.

<https://doi.org/10.22144/ctu.jvn.2019.137>.

Nguyen, T. N. L., & Nguyen, T. K. K. (2018a). Survey on the current status of pet care in Ho Chi Minh City. *Journal of Animal Husbandry Sciences and Technics* 239, 38-42.

Nguyen, V. T., & Nguyen, T. H. (2018b). Perspectives on postpartum metritis of German Berger breed dogs raised in some Northern provinces of Vietnam and the experimental treatments. *Journal of Veterinary Science and Technology* 25(4), 68-74.

- Niskanen, M., & Thrusfield, M. V. (1998). Associations between age, parity, hormonal therapy and breed, and pyometra in Finnish dogs. *The Veterinary Record* 143(18), 493-498. <https://doi.org/10.1136/vr.143.18.493>.
- Su, T. L., & Tran, L. T. H. (2015). Application of ultrasound in the diagnosis of uterine inflammation in dogs in Hanoi and treatment regimens. *Journal of Science and Development* 13(2), 23-30.
- Tran, B. N., Nguyen, K. P., Truong, B. C., Van, T. M., Le, M. B., & Dang, T. T. (2020). Investigation on metritis in dogs in Ninh Kieu district, Can Tho city. *Journal of Veterinary Science and Technology* 27(8), 25-29.
- Vo, T. D. (2017). *Reproduction and reproductive diseases in cats and dogs*. Ha Noi, Vietnam: Ha Noi Agricultural Publisher.