

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 Kết quả chọn tạo và khảo nghiệm các giống sắn triển vọng KM568, KM539, KM537 tại tỉnh Phú Yên
Nguyễn Thị Trúc Mai, Hoàng Long, Nguyễn Nữ Quỳnh Đoàn & Hoàng Kim
Selection and testing of promising cassava varieties KM568, KM539, KM537 in Phu Yen province
Mai T.T. Nguyen, Long Hoang, Doan N. Q. Nguyen, & Kim Hoang

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

- 14 Sự lưu hành và đề kháng kháng sinh của vi khuẩn *Pasteurella multocida* phân lập từ dê nuôi tại thành phố Cần Thơ
Nguyễn Lý Phương Vy, Trương Thị Kiều Ninh, Trần Phương Linh, Trương Thanh Trung & Nguyễn Khánh Thuận
Prevalence and antimicrobial susceptibility of *Pasteurella multocida* isolated from goats in Can Tho city
Vy L. P. Nguyen, Ninh T. K. Truong, Linh P. Tran, Trung T. Truong, & Thuan K. Nguyen
- 25 Đánh giá hiệu quả bảo vệ của vắc-xin bất hoạt từ *Streptococcus agalactiae* (GBS) hoang dại trên cá rô phi đỏ (*Oreochromis* sp.)
Lê Văn Hậu, Trần Thị Mai, Trịnh Văn Có, Bùi Nguyễn Chí Hiếu & Ngô Huỳnh Phương Thảo
Evaluation of the protective efficacy of inactivated vaccines from wild-type *Streptococcus agalactiae* (GBS) on red Tilapia (*Oreochromis* sp.)
Hau V. Le, Mai T. Tran, Co V. Trinh, Hieu C. N. Bui, & Thao P. H. Ngo
- 40 Xây dựng và đánh giá liệu pháp truyền dịch trong điều trị bệnh trên chó
Nguyễn Hà Khánh Vy, Trần Minh Quang, Trần Thị Phương Thảo, Kiều Anh Tuấn, Đặng Văn Minh, Nguyễn Quang Vinh, Nguyễn Thị Quỳnh Hoa & Nguyễn Thị Thương
Establishment and evaluation of the fluid therapy in the treatment of diseases in dogs
Vy H. K. Nguyen, Quang M. Tran, Thao T. P. Tran, Tuan A. Kieu, Minh V. Dang, Vinh Q. Nguyen, Hoa T. Q. Nguyen, & Thuong T. Nguyen
- 51 Khảo sát sự tiêu thụ lá rụng và hiện diện của còng *Parasesarma plicatum* (Latreille, 1803) trong các sinh cảnh của rừng ngập mặn Cần Giờ
Nguyễn Tuấn Anh, Vũ Cẩm Lương & Nguyễn Phú Hòa
The leaf litter consumption and occurrence of sesarmid crab *Parasesarma plicatum* (Latreille, 1803) on habitats in Can Gio mangrove forest
Anh T. Nguyen, Luong C. Vu, & Hoa P. Nguyen

Công nghệ sinh học (Biotechnology)

- 64 Nghiên cứu thu nhận tinh dầu và dịch đường từ lá Trầu (*Piper betle*)
Trần Thị Thanh Trúc, Nguyễn Thị Vân Anh, Lê Nguyễn Thanh Đông, Nguyễn Dương Hoàng Vinh & Trịnh Thị Phi Ly

Production of essential oils and sugar-rich hydrolysate from betel leaves (*Piper betle*)
Truc T. T. Tran, Anh T. V. Nguyen, Dong N. T. Le, Vinh D. H. Nguyen, & Ly T. P. Trinh

Selection and testing of promising cassava varieties KM568, KM539, KM537 in Phu Yen province

Mai T.T. Nguyen¹, Long Hoang^{2*}, Doan N. Q. Nguyen³, & Kim Hoang^{2,4}

¹Department of Agriculture and Rural Development of Phu Yen Province, Phu Yen Plant Protection and Cultivation Sub-Department, Phu Yen, Vietnam

²Faculty of Agronomy, Nong Lam University, Ho Chi Minh City, Vietnam

³Faculty of Economics, Phu Yen University, Phu Yen, Vietnam

⁴Vietnam Cassava Program VNCP & Nong Lam University, Ho Chi Minh City, Vietnam

ARTICLE INFO

Research Paper

Received: July 18, 2023

Revised: October 06, 2023

Accepted: October 17, 2023

Keywords

Cassava variety

DUS and VCU

KM568

KM539

KM537

*Corresponding author

Hoang Long

Email:

long.hoang@hcmuaf.edu.vn

ABSTRACT

Researching and breeding cassava varieties with high starch yield, resistance to major pests and diseases, and suitability to the production conditions of Phu Yen province and ecological regions is important and urgent. The objectives of this study were to select and create cassava varieties with high starch yield (at least 10% higher than controls KM419 and KM94), resistance to major pests and diseases, grade 1 - 2 disease scores for cassava mosaic disease (CMD), and cassava witches broom disease (CWBD). The research method was used according to Vietnam Cassava Program and International Center for Tropical Agriculture (CIAT) standards for technological process of hybrid cassava selection and breeding. The results showed that three promising cassava varieties KM568, KM539, and KM537 were identified. KM568, a hybrid of KM440 x (KM419 x KM539), yielded 54 tons/ha of fresh tubers with a starch content of 28.4% at harvest after 10 months of planting. KM539, a C39* variety, was developed from the original C39 variety from CIAT and yielded 45.9 tons/ha of fresh tubers with a starch content of 27.9%. KM537, a hybrid of (KM419 x KM539) x KM440, yielded 51.3 tons/ha of fresh tubers with a starch content of 28.5%. These three cassava varieties were resistant to CMD level 1.5 and CWBD level 1. KM568, KM539, and KM537 had 8 - 14 tubers/root, 7 - 12 tubers/root, and 7 - 12 tubers/root, respectively. Also, they all achieved the ideal new plant type shape, white root flesh, straight and compact plants, erect stems, short internodes, and less branching. Additionally, the plant height of KM568, KM539, and KM537 was 2.3 - 2.7 m, 2.7 - 3.0 m, and 2.5 - 2.9 m, respectively.

Cited as: Nguyen, M. T. T., Hoang, L., Nguyen, D. N. Q., & Hoang, K. (2024). Selection and testing of promising cassava varieties KM568, KM539, KM537 in Phu Yen province. *The Journal of Agriculture and Development* 23(1), 1-13.

Kết quả chọn tạo và khảo nghiệm các giống sản triển vọng KM568, KM539, KM537 tại tỉnh Phú Yên

Nguyễn Thị Trúc Mai¹, Hoàng Long^{2*}, Nguyễn Nữ Quỳnh Đoàn³ & Hoàng Kim^{2,4}

¹Sở Nông Nghiệp và Phát Triển Nông Thôn Tỉnh Phú Yên, Chi Cục Trồng Trọt và Bảo Vệ Thực Vật Phú Yên, Phú Yên

²Khoa Nông Học, Trường Đại Học Nông Lâm TP.HCM, TP. Hồ Chí Minh

³Khoa Kinh Tế, Trường Đại Học Phú Yên, Phú Yên

⁴Chương Trình Sản Việt Nam VNCP và Trường Đại Học Nông Lâm TP.HCM, TP. Hồ Chí Minh

THÔNG TIN BÀI BÁO

Bài báo khoa học

Ngày nhận: 18/07/2023

Ngày chỉnh sửa: 06/10/2023

Ngày chấp nhận: 17/10/2023

Từ khóa

DUS và VCU

Giống sản

KM568

KM539

KM537

*Tác giả liên hệ

Hoàng Long

Email:

long.hoang@hcmuaf.edu.vn

TÓM TẮT

Nghiên cứu chọn tạo giống sản năng suất tinh bột cao, kháng được sâu bệnh chính, phù hợp với điều kiện sản xuất của tỉnh Phú Yên là quan trọng và cấp bách. Mục tiêu nhằm chọn tạo được giống sản có năng suất tinh bột cao (vượt hơn đối chứng KM419 và KM94 tối thiểu 10%), kháng được sâu bệnh chính, điểm bệnh cấp 1 - 2 đối với bệnh khảm lá (CMD) và bệnh chổi rồng (CWBD). Phương pháp nghiên cứu thực hiện theo chuẩn của Chương trình sản Việt Nam và Trung tâm Nông nghiệp Nhiệt đới quốc tế (CIAT) về quy trình công nghệ chọn tạo và nhân giống sản lai. Kết quả đã tuyển chọn được ba giống sản triển vọng KM568, KM539 và KM537. Giống sản KM568 con lai của KM440 x (KM419 x KM539), có năng suất củ tươi 54 tấn/ha với hàm lượng tinh bột 28,4% lúc 10 tháng sau trồng. Giống sản KM539 là C39* chọn lọc của C39 nhập nội từ CIAT và có năng suất củ tươi 45,9 tấn/ha với hàm lượng tinh bột 27,9%. Giống sản KM537 là con lai của (KM419 x KM539) x KM440, có năng suất củ tươi 51,3 tấn/ha với hàm lượng tinh bột 28,5%. Cả 3 giống này đều kháng bệnh CMD cấp 1,5 và kháng bệnh CWBD cấp 1. KM568, KM539 và KM537 lần lượt có 8 - 14 củ/bụi, 7 - 12 củ/bụi và 7 - 12 củ/bụi. Tất cả các giống này đều đạt kiểu hình cây lý tưởng, thịt củ trắng, cây thẳng, tán gọn, lóng ngắn và ít phân cành. Ngoài ra, chiều cao cây của KM568, KM539 và KM537 lần lượt là 2,3 - 2,7 m, 2,7 - 3,0 m và 2,5 - 2,9 m.

1. Đặt Vấn Đề

Sản trên thế giới ngày nay là cây trồng đa dụng của thế kỷ 21, cây đa dụng 4F (food, feed, flour, fuel) làm lương thực thực phẩm, thức ăn gia súc, tinh bột, nhiên liệu, nguyên liệu cho

công nghiệp chế biến và dược liệu. Sản là nguồn lương thực thực phẩm thiết yếu của hơn một tỷ người ở những vùng khó khăn, đặc biệt tại châu Phi, khi khủng hoảng lương thực, năng lượng và tài chính thế giới đang đối mặt với nhiều thách thức mới (FAO, 2022).

Sắn ở Việt Nam đã thành loại cây trồng chính xuất khẩu, mang đến cơ hội tăng thu nhập, sinh kế và cải thiện đời sống cho hàng triệu hộ nông dân sản xuất nhỏ, với sản lượng và năng suất sắn đã gia tăng rất đáng kể. Hiện nay sắn ở Việt Nam mỗi năm có diện tích trồng hơn nửa triệu ha với giá trị xuất khẩu là 0,8 - 1,2 tỷ USD (MARD, 2022).

Cây sắn ở Phú Yên có vị thế vững chắc trong vùng sắn Duyên hải Nam Trung Bộ, nguồn thu chủ lực của tỉnh về nông sản sau lúa và mía, đạt lợi thế cao khi so sánh với những cây trồng khác và so với các tỉnh khác trong vùng. Vùng Duyên hải Nam Trung Bộ có sản lượng sắn mỗi năm đạt trên 2,2 triệu tấn củ tươi, với diện tích sắn là 102,0 nghìn ha, chiếm 19,3% diện tích sắn cả nước. Vùng sắn trọng điểm tại các tỉnh Phú Yên 29,5 nghìn ha, Bình Thuận 28,0 nghìn ha, Quảng Ngãi 17,0 nghìn ha, Quảng Nam 10,0 nghìn ha (MARD, 2022). Sự bùng nổ về năng suất, sản lượng, hiệu quả kinh tế cây sắn Việt Nam trùng hợp với sự xuất hiện, lây lan của bệnh chối rỗng *Phytoplasma* sp. (CWBD) trên giống sắn nhiễm nặng KM94, bệnh vi rút khảm lá sắn Sri Lanka Cassava Mosaic Virus (CMD) trên giống sắn nhiễm nặng HLS11, đang gây hại nghiêm trọng ở 17 tỉnh (MARD, 2022).

Cải tiến nâng cấp giống sắn phổ biến nhất có năng suất tinh bột cao và ít nhiễm sâu bệnh hại là giải pháp hiệu quả để bảo tồn và phát triển sắn (Howeler & Aye, 2014). Giống sắn chủ lực KM419 và giống sắn phổ biến KM440 đã chiếm gần 85% diện tích sắn của tỉnh Phú Yên, đưa năng suất sắn bình quân năm 2016 từ 17 tấn/ha đến hơn 23,5 tấn/ha năm 2018, đóng góp hơn 293,25 tỷ đồng cho kinh tế của tỉnh (VNFU, 2021). Giống sắn KM440 năng suất cao, kháng bệnh CMD cấp 2 được lai hữu tính với cây đầu dòng (elite clone) của (KM419 x KM539) năng suất cao, kháng bệnh CMD cấp 1. Sau đó, thực hiện chọn dòng theo phương pháp phả hệ, để tuyển chọn giống

sắn có năng suất tinh bột cao, kháng sâu bệnh hại chính, thời gian sinh trưởng sớm, dạng hình cây sắn lý tưởng. Đó là giải pháp khả thi, hiệu quả để phát triển sắn bền vững (Nguyen & ctv., 2021).

Mục tiêu nhằm chọn tạo và xác định được giống sắn có năng suất tinh bột cao, vượt hơn đối chứng KM419 và KM94 tối thiểu 10%, kháng được sâu bệnh hại chính, đạt điểm bệnh cấp 1 - 2 đối với bệnh khảm lá vi rút CMD và bệnh chối rỗng CWBD trong điều kiện sản xuất tại tỉnh Phú Yên.

2. Vật Liệu và Phương Pháp

2.1. Vật liệu

Mười giống sắn trong nghiên cứu này: KM94, KM419, KM440, KM539, KM568, KM569, KM537, KM536, KM535, KM534 (Hình 1 & Bảng 1).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp chọn tạo và khảo nghiệm giống sắn KM568

Nội dung 1: Chọn tạo giống sắn. Bước 1. Xây dựng vườn tạo giống sắn Đồng Xuân, quản lý nguồn gen và lựa chọn cặp lai, định hướng tổ hợp lai KM440 x (KM419 x KM539) so sánh với các tổ hợp lai kiểm định; Bước 2. Lưu mẫu giống gốc bốn giống sắn tốt nhất KM419, KM440, KM539, KM94 với sáu đầu dòng ưu tú (elite clone) KM568, KM569, KM537, KM536, KM535, KM534; Bước 3. Lai hữu tính 10 tổ hợp, theo phương thức lai có kiểm soát (CM) và lai giống mở (OM) được cách ly nghiêm ngặt, thu nhận được 5.018 hạt sắn lai; Bước 4. Gieo 5018 hạt lai, theo kiểu bố trí tuần tự hệ thống, thu hoạch bảy tháng sau trồng, chọn lại 250 đầu dòng F1C1 của vụ đầu, phân hóa củ sớm, nhiều củ. So sánh đơn luống (Single row comparison - SRC) 250 đầu dòng F1C1, chọn lại 25 giống sắn cho

vụ thứ hai, ưu tiên chọn giống sản có dạng hình cây trồng lý tưởng new plant type (NPT); Bước 5. So sánh sơ bộ (Preliminary yield trials PYT_1 & PYT_2) 27 giống sản (có hai giống đối chứng KM419 và KM94) trên đất xám cùng địa điểm, thực hiện hai vụ.

Nội dung 2: Khảo nghiệm giống sản. Bước 6. Khảo nghiệm tính khác biệt, tính đồng nhất và tính ổn định DUS của giống sản theo quy chuẩn QCVN 2014/BNNPTNT đối với giống sản cần bảo hộ so với các giống sản kiểm định, thực hiện thí nghiệm tiêu chuẩn quốc gia so sánh giống sản (Standard yield trials SYT_1 và SYT_2) hai vụ trên đất xám; Bước 7. Khảo nghiệm giá trị canh tác và sử dụng VCU của giống sản theo quy chuẩn QCVN 01-61:2011/BNNPTNT tiến hành đồng thời với khảo nghiệm DUS và đúc kết giá trị tổng hợp, thực hiện thí nghiệm tiêu chuẩn quốc gia so sánh giống sản của vùng sinh thái, cho các thời vụ và loại đất chính trồng sản (Regional Yield Trials RYT_1 , RYT_2 , RYT_3 , RYT_4) hai vụ trên đất xám và đất đỏ.

2.2.2. Địa điểm, thời gian và quy trình kỹ thuật áp dụng

Nội dung 1: Chọn tạo giống sản. Địa điểm tại vườn tạo giống sản Đồng Xuân. Thời gian thực hiện bước 1 đến bước 4, từ đầu năm 2020 đến cuối năm 2021. So sánh 27 giống sản PYT_1 vụ Xuân (trồng 6/1/2022 thu hoạch 6/4/2023), ô thí nghiệm 16 m², không lặp lại. PYT_2 vụ Hè (trồng 7/6/2022, thu hoạch ngày 6/4/2023, lúc mười tháng sau trồng), ô thí nghiệm 32 m², không lặp lại.

Nội dung 2: Khảo nghiệm giống sản. Hai khảo nghiệm DUS thực hiện tại vườn tạo giống sản Đồng Xuân Phú Yên, trên nền đất xám bạc màu, trồng vụ Xuân và vụ Hè 2022-2023, thực hiện đồng thời với bốn khảo nghiệm VCU tại đất xám Xuân Sơn Nam và đất đỏ Sông Hình

trồng vụ Xuân và vụ Hè. Tất cả sáu thí nghiệm SYT_1 , SYT_2 , RYT_1 , RYT_2 , RYT_3 , RYT_4 , đều được thực hiện theo đúng Quy chuẩn kỹ thuật quốc gia QCVN 01-61/2011/BNNPTNT và quy định thống nhất của Chương trình Sản Việt Nam. Thí nghiệm đơn yếu tố được bố trí theo kiểu khối đầy đủ ngẫu nhiên, diện tích ô cơ sở 32 m², ba lần nhắc lại. Các yêu cầu kỹ thuật làm đất, trồng và chăm sóc đều được áp dụng đồng đều và thống nhất cho toàn bộ sáu thí nghiệm. Quy trình kỹ thuật áp dụng kể từ “Quy trình kỹ thuật thâm canh rải vụ sản thích hợp bền vững tại tỉnh Phú Yên”. Thời vụ trồng theo khung thời vụ tốt nhất của địa phương. Làm đất cày bừa kỹ, sạch cỏ dại, không lên luống, mật độ trồng 14.285 gốc/ha, tương ứng khoảng cách trồng 1,00 m x 0,70 m. Cách trồng đặt hom nằm ngang so với mặt đất, lấp đất sâu 3 - 4 cm. Lượng phân bón 100 kg N + 80 kg P_2O_5 + 150 kg K_2O + 10 tấn phân chuồng/ha hoặc 100 kg N + 80 kg P_2O_5 + 150 kg K_2O + 1.000 kg phân hữu cơ vi sinh/ha. Bón lót toàn bộ phân lân khi trồng, kết hợp xịt thuốc cỏ sau trồng. Bón thúc lần 1 lúc 20 - 25 ngày sau trồng 2/3 lượng đạm + 1/3 lượng phân kali kết hợp với làm cỏ. Bón thúc lần 2 lúc 40 - 45 ngày sau trồng 1/3 lượng đạm + 2/3 lượng phân kali kết hợp làm cỏ.

Các chỉ tiêu theo dõi theo QCVN 01-61/2011/BNNPTNT: Bệnh CMD đánh giá lúc 6 tuần, 3 tháng, 6 tháng, 8 tháng, 10 tháng sau trồng. Bệnh CWBD đánh giá lúc thu hoạch. Hàm lượng tinh bột xác định bằng cân chuyên dụng. Năng suất củ tươi thực thu (tấn/ha): cân khối lượng củ tươi thực thu của mỗi ô thí nghiệm (32 m²) quy về năng suất tấn/ha. Năng suất tinh bột (tấn/ha) = (Năng suất củ tươi x Hàm lượng tinh bột)/10.000.

2.3. Phương pháp xử lý số liệu

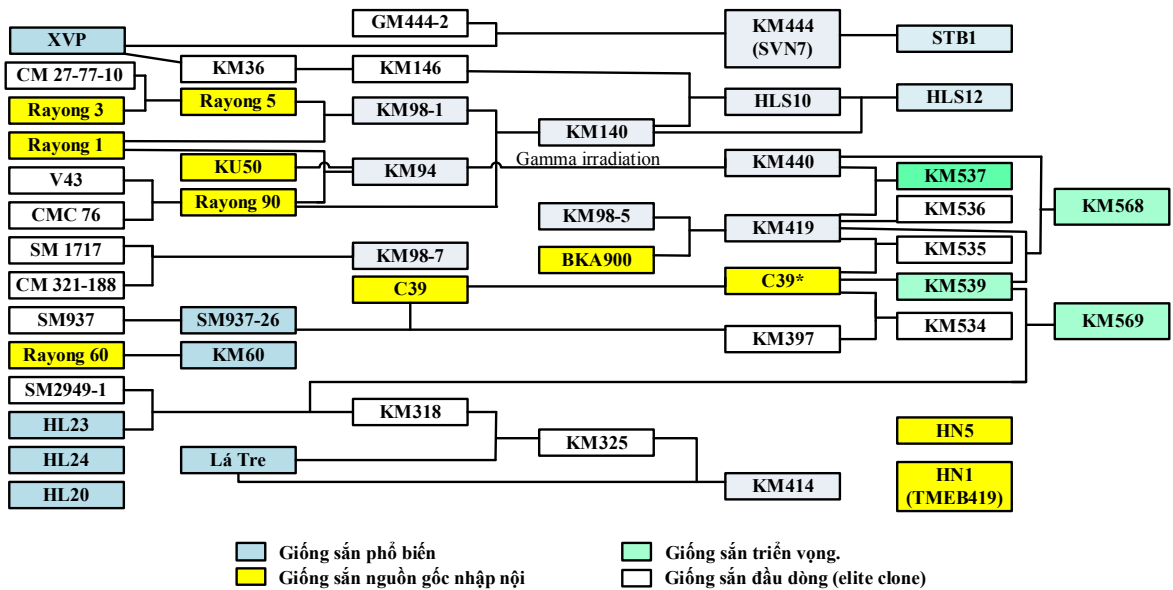
Số liệu thí nghiệm được xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel. Xử lý Anova và phân hạng Duncan bằng phần mềm SAS 9.1 cho nội dung 2.

3. Kết Quả và Thảo Luận

3.1. Kết quả chọn tạo giống sắn

Qua ba năm nghiên cứu chọn tạo và khảo nghiệm giống sắn tại tỉnh Phú Yên, từ thực tiễn

đồng ruộng và kết quả số liệu đã tuyển chọn được giống sắn tốt KM568. Giống sắn KM568 là con lai của KM440 x (KM419 x KM539), kế thừa các đặc tính tốt từ ba giống sắn KM440, KM419 và KM539 (Hình 1).



Hình 1. Sơ đồ lai mười giống sắn trong phả hệ di truyền.

Phân tích kết quả so sánh 27 giống sắn tại vụ Xuân và vụ Hè ở tỉnh Phú Yên (Bảng 1) và thảo luận kết quả này với thực tiễn sản xuất và những nghiên cứu khác, cho thấy:

Giống sắn KM568 đạt giá trị vượt trội khi so sánh với giống sắn KM94 (đối chứng), giống sắn KM419, KM440, KM539 và các giống sắn ưu tú kiểm định. Giống sắn KM568 có các đặc điểm: kháng bệnh CMD điểm bệnh 1,5; kháng bệnh CWBD cấp 1,0; năng suất củ tươi vụ Xuân và vụ Hè tương ứng là 54,7 tấn/ha và 52,7 tấn/ha, hàm lượng tinh bột 28,7%, năng suất tinh bột 15,4 tấn/ha, điểm đánh giá cây 10,0 và điểm đánh giá củ 10. Dạng cây thẳng, cây thấp gọn, dễ trồng dày, thân xanh thẳng, nhạt mắt, ít phân

nhánh, lá già xanh đậm, đọt non màu xanh, cọng xanh tím, số củ 8 - 14, củ to và đồng đều, dạng củ đẹp, màu sắc vỏ củ ngoài trắng xám, thịt củ màu trắng, chịu hạn tốt.

Giống sắn KM419 tại kết quả đánh giá tuyển chọn trong thí nghiệm này có mức kháng bệnh CMD trung bình 3,0, với mức kháng bệnh CWBD cấp 1,0, năng suất củ tươi vụ Xuân và vụ Hè tương ứng là 52,9 tấn/ha và 47,7 tấn/ha, hàm lượng tinh bột 28,9%, năng suất tinh bột 14,5 tấn/ha, điểm đánh giá cây 10,0 và điểm đánh giá củ 9,0. Giống sắn KM440 đạt mức kháng bệnh CMD điểm bệnh 2,0, mức kháng bệnh CWBD cấp 1,0 với năng suất củ tươi vụ Xuân và vụ Hè tương ứng là 53,7 tấn/ha và 51,9 tấn/ha, hàm

lượng tinh bột 28,5%, năng suất tinh bột 15,0 tấn/ha, điểm đánh giá cây 10 và điểm đánh giá củ 9. Kết quả này phù hợp với hiện trạng sản xuất của hai giống sắn KM419 và KM440 là năng suất tinh bột cao, giống sắn KM419 kháng bệnh CMD trung bình; giống sắn KM440 kháng bệnh CMD cấp 2.

Giống sắn KM568 tuyển chọn có triển vọng ứng dụng cao vì giá trị vượt trội so với hai giống sắn chủ lực thương mại ngày nay. Giống sắn chủ lực KM419 và giống sắn phổ biến KM440 với ‘Quy trình kỹ thuật thâm canh rải vụ sắn thích hợp bền vững tại tỉnh Phú Yên’, đã được UBND tỉnh Phú Yên công nhận kết quả nghiệm thu đề tài “Tuyển chọn giống sắn năng suất tinh bột cao và kỹ thuật thâm canh rải vụ tại tỉnh Phú Yên” tại Quyết định số 1338/QĐ-UBND, ngày 06/7/2017. Sở Nông nghiệp Phát triển Nông thôn Phú Yên đã ứng dụng và nhân rộng hai giống sắn KM419 và KM440 trên 85% diện tích trồng sắn của toàn tỉnh. Hai giống sắn này đã được công bố tại ‘Nghiên cứu tuyển chọn giống sắn năng suất tinh bột cao và kỹ thuật thâm canh tại tỉnh Phú Yên’ (Nguyen, 2017); ‘Nghiên cứu biện pháp kỹ thuật rải vụ sắn tại tỉnh Đắk Lắk’ (Nguyen, 2018); Sắn Việt Nam bảo tồn và phát triển bền vững (Hoang & ctv., 2011; Howeler, 2011).

Giống sắn KM539 được phát triển từ giống sắn gốc C39 nhập nội từ CIAT năm 2004, đã được bồi dục nâng cấp qua nhiều chu kỳ, bằng kỹ thuật và công nghệ tạo dòng sắn lai đơn bội kép (Doubled haploid - DH) chuẩn CIAT & VNCP (Hoang & ctv., 2010; Hoang & ctv., 2014). Giống sắn KM539 tại kết quả thí nghiệm so sánh 27 mẫu giống sắn (Bảng 1) đạt mức

kháng CMD điểm bệnh 1,0 mức kháng CWBD điểm bệnh 1,0 với năng suất củ tươi vụ Xuân và vụ Hè tương ứng là 48,6 tấn/ha và 43,5 tấn/ha, hàm lượng tinh bột 27,5%, năng suất tinh bột 12,7 tấn/ha, điểm đánh giá cây 9, điểm đánh giá củ 9. Dạng cây thẳng, cây cao trung bình, thân xanh nâu, ít phân nhánh, cọng xanh đỏ, số củ 7 - 12, màu sắc vỏ củ ngoài nâu xám, thịt củ màu trắng. Giống sắn KM539 nhiễm trung bình rệp sáp hồng, nhện đỏ và bệnh thối củ.

Giống sắn KM537 là con lai của (KM419 x KM539) x KM440, đạt mức kháng CMD điểm bệnh 2,5 mức kháng CWBD điểm bệnh 1,0 với năng suất củ tươi vụ Xuân và vụ Hè tương ứng là 55,6 tấn/ha và 47,6 tấn/ha, hàm lượng tinh bột 28,9%, năng suất tinh bột 14,9 tấn/ha, điểm đánh giá cây 9, điểm đánh giá củ 9. Cây cao trung bình, thân xanh nâu, ít phân nhánh, cọng xanh đỏ, số củ 7 - 12, màu sắc vỏ củ ngoài nâu xám, thịt củ màu trắng. Giống sắn KM537 nhiễm trung bình rệp sáp hồng, nhện đỏ và bệnh thối củ.

Giống sắn KM94 là giống sắn chủ lực Việt Nam, tên gốc KU50, được nhập nội từ Thái Lan và công bố lần đầu năm 1994 (Tran & ctv., 1995), giống gốc cây cao 3,2 - 3,5 m, cây cong, năng suất tinh bột cao 9,0-9,5 tấn/ha, thích ứng rộng, đã đúc kết trong tài liệu ‘Quy trình công nghệ chọn tạo và nhân giống sắn lai’ (Hoang, 2003), ‘Bảo tồn và phát triển sắn bền vững ở Việt Nam’ (Hoang & ctv., 2011). Giống sắn KM94* là con lai của KM94 x KM539, năng suất củ tươi tương ứng là 35,7 tấn/ha và 34,5 tấn/ha, hàm lượng tinh bột 28,6%, năng suất tinh bột 10,0 tấn/ha, điểm đánh giá cây 8, điểm đánh giá củ 9.

Bảng 1. Kết quả so sánh 27 mẫu giống sắn tại vụ Xuân và vụ Hè ở tỉnh Phú Yên

Tên giống/ dòng tuyển chọn	Cha mẹ	Mức kháng bệnh (1 - 5)		NĂng suất củ tươi (tấn/ha)		Hàm lượng tinh bột (%)	NĂng suất tinh bột (tấn/ ha)
		CMD	CWBD	Vụ Xuân	Vụ Hè		
KM568	KM440 x (KM419 x KM539)	1,5	1,0	54,7	52,7	28,7	15,4
KM568-39	KM440 x (KM419 x KM539)	2,0	1,0	54,4	51,4	28,5	15,1
KM568-52	KM440 x (KM419 x KM539)	1,5	1,0	52,6	50,7	28,4	14,7
KM568-14	KM440 x (KM419 x KM539)	2,0	1,0	50,3	49,5	28,5	14,2
KM569-1	(SM2949-1 x HL23) x KM539	1,5	1,0	38,5	35,8	27,1	10,1
KM569-2	(SM2949-1 x HL23) x KM539	2,0	1,0	37,4	34,6	26,8	10,0
KM569-3	KM539 x (SM2949-1 x HL23)	1,5	1,0	34,5	33,4	25,9	8,8
KM539	C39* chọn lọc từ C39	1,0	1,0	48,6	43,5	27,5	12,7
KM539-2	KM539 x C39*	2,0	1,0	41,6	40,5	27,4	11,2
KM539-6	C39* x KM539	2,0	1,0	40,5	39,7	26,7	10,7
KM539-7	KM539 x C39	2,5	1,0	39,7	38,6	26,3	10,1
KM539-8	C39 x KM539	2,0	1,0	36,1	35,9	25,9	9,3
KM539-9	C39* chọn lọc từ C39	2,0	1,0	38,1	38,3	26,3	10,1
KM539-10	C39* chọn lọc từ C39	1,0	1,0	42,5	40,2	27,3	11,3
KM440	KM94 đột biến	2,0	1,0	53,7	51,9	28,5	15,0
KM419	BKA900 x KM98-5	3,0	1,0	52,9	47,7	28,9	14,5
KM537	(KM419 x KM539) x KM440	2,0	1,0	55,6	47,6	28,9	14,9
KM537-2	(KM539 x KM419) x KM440	2,5	1,0	44,8	44,0	28,5	12,7
KM536	KM419 x KM419	3,5	1,0	52,4	45,5	28,8	14,1
KM536-2	KM419 x KM419	3,5	1,0	46,3	44,3	28,6	13,0
KM535	KM419 x KM539	3,0	1,0	38,9	38,7	27,5	10,7
KM535-2	KM539 x KM419	3,0	1,0	36,5	36,1	27,4	9,9
KM534	KM397 x KM539	2,0	1,0	44,7	36,5	29,5	12,0
KM534-2	KM539 x KM397	2,0	1,0	41,8	35,9	29,0	11,3
KM94	Rayong1 x Rayong90	3,0	3,0	35,8	31,2	28,4	9,5
KM94*	KM94 x KM539	3,0	3,0	35,7	34,5	28,6	10,0
KM94-2	KM539 x KM94	2,5	3,0	37,6	34,5	28,1	10,0

Ghi chú: Mức kháng bệnh đồng ruộng CMD (*cassava mosaic virus*) và CWBD (*cassava witches broom disease*):
 1) Kháng bệnh, chống chịu bệnh, rất ít bệnh; 2) Nhiễm nhẹ; 3) Nhiễm trung bình; 4) Nhiễm nặng; 5) Nhiễm rất nặng.

3.2. Kết quả khảo nghiệm DUS và VCU giống sắn

Khảo nghiệm DUS và VCU là một nội dung rất quan trọng, trước khi nhân giống, khảo nghiệm sản xuất, xây dựng mô hình và quy trình canh tác thích hợp cho giống sắn mới. Nội dung khảo nghiệm DUS và VCU giống sắn được thực hiện theo đúng Thông tư Quy định về khảo nghiệm, công nhận giống cây trồng nông nghiệp mới của Bộ Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn, thi hành Luật Trồng trọt (VNA, 2018), để tránh nhân giống sớm những giống sắn chưa được kiểm định nghiêm ngặt và chưa đủ thông tin tự công bố giống, tránh gây thiệt hại cho sự đầu tư của nông dân, doanh nghiệp và chuỗi giá trị sản xuất chế biến kinh doanh sắn.

Năng suất củ tươi (tấn/ha) là kết quả cuối cùng của quá trình sinh trưởng phát triển trong cùng điều kiện thí nghiệm như nhau. Kết quả khảo nghiệm SYT1, SYT2 mười giống sắn ở Đồng Xuân tỉnh Phú Yên trên nền đất xám bạc màu trồng vụ Xuân và vụ Hè năm 2022 - 2023 (Bảng 2) cho thấy 10 giống sắn thí nghiệm có năng suất củ tươi dao động từ 37,5 - 55,4 tấn/ha ở vụ Xuân và 30,5 - 50,7 tấn/ha ở vụ Hè. Hàm lượng tinh bột giữa các giống dao động từ 26,3 - 29,2 % và năng suất tinh bột dao động từ 9,4 - 15,1 (tấn/ha).

Kết quả khảo nghiệm RYT1, RYT2, RYT3, RYT4 mười giống sắn ở Đồng Xuân và Sông Hinh của tỉnh Phú Yên năm 2022 - 2023 (Bảng 3) cho thấy: Ở nền đất xám Đồng Xuân thì 10 giống sắn thí nghiệm có năng suất củ tươi dao động từ 36,8 - 55,7 tấn/ha vụ Xuân và 32,5 - 51,2 tấn/ha vụ Hè. Ở nền đất đỏ Sông Hinh thì 10 giống sắn thí nghiệm có năng suất củ tươi dao động từ 35,4 - 58,3 tấn/ha vụ Xuân và 33,1 - 53,3 tấn/ha vụ Hè.

Năng suất củ tươi (tấn/ha) tổng hợp tám thí nghiệm so sánh của 10 giống sắn ở tỉnh Phú Yên năm 2022-2023 (Bảng 4) cho thấy: Năng suất củ tươi trung bình của 10 giống dao động từ 34,4 - 54,0 tấn/ha. Năng suất củ tươi của giống sắn KM568 là cao nhất đạt 54,0 tấn/ha, kế đến là giống KM440 đạt 51,7 tấn/ha, giống KM537 đạt 51,3 tấn/ha, giống KM419 đạt 49,1 tấn/ha, giống KM536 đạt 48,7 tấn/ha, giống KM539 đạt 45,9 tấn/ha, giống KM534 đạt 39,6 tấn/ha, giống KM535 đạt 38,6 tấn/ha, giống KM569 đạt 36,0 tấn/ha, giống KM94* đạt 34,4 tấn/ha.

Ba giống sắn mới KM568, KM539, KM537 có mức kháng cao đối với bệnh vi rút khảm lá CMD và bệnh chổi rồng CWBD, với năng suất củ tươi cao lần lượt là 54,0 tấn/ha, 51,3 tấn/ha và 45,9 tấn/ha, nên đã được tuyển chọn xây dựng mô hình khảo nghiệm nhân giống mới vì sự vượt trội hơn so với giống sắn KM94, và chống chịu bệnh tốt hơn so với giống sắn KM419 tuy năng suất tinh bột cao nhưng điểm bệnh CMD trung bình (cấp 3).

Các giống sắn KM568, KM539, KM440, KM419, KM94* đã được đúc kết bản tả kỹ thuật DUS tại Bảng 5, theo mẫu chuẩn hướng dẫn bảo hộ giống cây trồng của UPOV. Giống sắn KM568 là giống sắn tốt nhất được tuyển chọn, có mức độ kháng bệnh đồng ruộng đối với vi rút khảm lá CMD ở điểm bệnh 1,5, kháng bệnh chổi rồng CWBD ở điểm bệnh 1,0, ít bệnh thối củ *Phytophthora* spp., rệp bột sáp hồng (*Phenacoccus manihoti*) và nhện đỏ (*Tetranychus* sp.). Năng suất sắn củ tươi đạt 54,0 tấn/ha; tỷ lệ chất khô 40,0%; hàm lượng tinh bột 28,4%; năng suất tinh bột 15,1 tấn/ha; năng suất sắn lát khô 21,6 tấn/ha; Giống sắn KM568 thuộc nhóm giống sắn thu hoạch chính vụ, dạng hình cây sắn lý tưởng, thấp cây, tán gọn, củ nhiều và đồng đều, hệ số thu hoạch cao.

Bảng 2. Kết quả khảo nghiệm DUS mười giống sắn ở tỉnh Phú Yên năm 2022-2023

Tên giống	Mức độ kháng bệnh đồng ruộng (1-5)		Năng suất củ tươi (tấn/ha)			Tỷ lệ chất khô (%)	Hàm lượng tinh bột (%)	Năng lượng tinh bột (tấn/ha)
	CMD	CWBD	Xuân	Hè	TB			
KM568	1,5	1,0	55,4 ^a	50,7 ^a	53,1	40,0	28,4	15,1
KM569	1,5	1,0	37,5 ^d	33,6 ^{cd}	35,6	37,9	26,3	9,4
KM539	1,0	1,0	47,2 ^{abc}	41,5 ^b	44,4	39,1	27,9	12,4
KM440	2,0	1,0	52,6 ^a	45,9 ^{ab}	49,3	39,6	28,3	14,0
KM419	3,0	1,0	49,5 ^{ab}	48,7 ^a	49,1	40,3	28,8	14,1
KM537	1,5	1,0	53,4 ^a	48,7 ^a	51,1	39,9	28,5	14,6
KM536	3,5	1,0	51,6 ^a	47,6 ^a	49,6	40,3	28,8	14,3
KM535	3,0	1,0	39,8 ^{cd}	35,9 ^c	37,9	39,1	27,9	11,0
KM534	2,0	1,0	42,5 ^{bcd}	35,4 ^c	39,0	40,9	29,2	11,4
KM94*	3,0	3,0	37,6 ^d	30,5 ^d	34,1	40,5	28,6	9,8
CV(%)			6,88	4,48				
F tính			13,6**	47,1**				

Ghi chú: Trong cùng một cột, các số có cùng ký tự chỉ sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê; ns: khác biệt không có ý nghĩa; **: khác biệt có ý nghĩa mức $\alpha = 0,01$; TB = trung bình; DUS: distinctness, uniformity, and stability; CMD: cassava mosaic virus; CWBD: cassava witches broom disease.

Bảng 3. Kết quả khảo nghiệm VCU mười giống sắn ở tỉnh Phú Yên năm 2022 - 2023

Tên giống	Năng suất củ tươi (tấn/ha) tại đất xám Đồng Xuân		Năng suất củ tươi (tấn/ha) tại đất đỏ Sông Hinh		Năng suất củ tươi trung bình (tấn/ha)
	Vụ Hè	Vụ Xuân	Vụ Hè	Vụ Xuân	
KM568	51,2 ^a	55,7 ^a	53,3 ^a	58,3 ^a	54,6
KM569	33,6 ^c	36,8 ^d	33,1 ^b	39,1 ^{de}	35,7
KM539	42,6 ^b	47,5 ^{bc}	46,7 ^{cd}	49,6 ^c	46,6
KM440	47,5 ^{ab}	54,3 ^{ab}	51,4 ^{ab}	56,3 ^{ab}	52,4
KM419	46,4 ^{ab}	48,8 ^{ab}	48,2 ^{bc}	50,6 ^c	48,5
KM537	49,1 ^a	55,5 ^a	48,1 ^{bc}	52,4 ^{bc}	51,3
KM536	45,8 ^{ab}	51,5 ^{ab}	43,4 ^{de}	51,8 ^{bc}	48,1
KM535	35,7 ^c	38,6 ^d	38,9 ^{ef}	42,3 ^d	38,9
KM534	36,9 ^c	41,3 ^{cd}	39,1 ^{ef}	40,4 ^d	39,4
KM94*	32,5 ^c	37,5 ^d	34,7 ^{fg}	35,4 ^e	35,0
CV(%)	5,56	6,23	4,23	4,26	
F tính	25,84**	20,51**	42,73**	44,13**	

Ghi chú: Trong cùng một cột, các số có cùng ký tự chỉ sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê; ns: khác biệt không có ý nghĩa; **: khác biệt có ý nghĩa mức $\alpha = 0,01$; VCU: value of cultivation and use.

Bảng 4. Năng suất củ tươi (tấn/ha) của mười giống sắn tại tám thí nghiệm so sánh giống sắn ở tỉnh Phú Yên năm 2022 - 2023

Tên giống	Thí nghiệm so sánh 27 giống sắn		Thí nghiệm DUS mười giống sắn		Thí nghiệm VCU mười giống sắn				Năng suất củ tươi TB (tấn/ha)
					Đồng Xuân		Sông Hình		
	Xuân	Hè	Xuân	Hè	Xuân	Hè	Xuân	Hè	
KM568	54,7	52,7	55,4 ^a	50,7 ^a	55,7 ^a	51,2 ^a	58,3 ^a	53,3 ^a	54,0
KM569	38,5	35,8	37,5 ^d	33,6 ^{cd}	36,8 ^d	33,6 ^c	39,1 ^{de}	33,1 ^g	36,0
KM539	48,6	43,5	47,2 ^{abc}	41,5 ^b	47,5 ^{bc}	42,6 ^b	49,6 ^c	46,7 ^{cd}	45,9
KM440	53,7	51,9	52,6 ^a	45,9 ^{ab}	54,3 ^{ab}	47,5 ^{ab}	56,3 ^{ab}	51,4 ^{ab}	51,7
KM419	52,9	47,7	49,5 ^{ab}	48,7 ^a	48,8 ^{ab}	46,4 ^{ab}	50,6 ^c	48,2 ^{bc}	49,1
KM537	55,6	47,6	53,4 ^a	48,7 ^a	55,5 ^a	49,1 ^a	52,4 ^{bc}	48,1 ^{bc}	51,3
KM536	52,4	45,5	51,6 ^a	47,6 ^a	51,5 ^{ab}	45,8 ^{ab}	51,8 ^{bc}	43,4 ^{de}	48,7
KM535	38,9	38,7	39,8 ^{cd}	35,9 ^c	38,6 ^d	35,7 ^c	42,3 ^d	38,9 ^{ef}	38,6
KM534	44,7	36,5	42,5 ^{bcd}	35,4 ^c	41,3 ^{cd}	36,9 ^c	40,4 ^d	39,1 ^{ef}	39,6
KM94*	35,8	31,2	37,6 ^d	30,5 ^d	37,5 ^d	32,5 ^c	35,4 ^e	34,7 ^{fg}	34,4
CV(%)			6,88	4,48	6,23	5,56	4,26	4,23	
F tính			13,6**	47,1**	20,5**	25,8**	44,1**	42,7**	

Ghi chú: Trong cùng một cột, các số có cùng ký tự chỉ sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê; ns: khác biệt không có ý nghĩa; **: khác biệt có ý nghĩa mức $\alpha = 0,01$; TB = trung bình; VCU: value of cultivation and use.

Bảng 5. Đặc điểm giống sắn KM568, KM539, KM537 so với KM440, KM419, KM94

Chỉ tiêu đánh giá giống sắn QCVN và UPOV	Tên giống, tác giả giống và năm công bố					
	KM568 ⁶	KM539 ⁵	KM537	KM440 ³	KM419 ²	KM94 ^{1,4}
Thời gian sinh trưởng (tháng)	8 - 10	8 - 11	8 - 11	8 - 10	8 - 10	9 - 11
Năng suất củ tươi (tấn/ha)	54,0	45,9	51,3	51,7	49,1	34,4
Tiềm năng năng suất (tấn/ha)	70,0	50,0	50,0	60,0	60,0	40,0
Tỷ lệ chất khô (%)	40,0	39,1	39,9	39,6	40,3	40,5
Hàm lượng tinh bột (%)	28,4	27,9	28,5	28,3	28,8	28,6
Năng suất tinh bột	15,1	12,4	14,6	14,0	14,1	9,8
Năng suất sắn lát khô	21,6	17,9	20,5	20,4	19,8	13,9
Tính kháng sâu bệnh chính						
+ Vi rút khảm lá CMD	1,5	1,0	1,5	2,0	3,0	3,0
+ Bệnh chổi rồng (CWBD)	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	3,0
+ Bệnh rụi lá (CBB)	2,0	2,0	2,0	2,0	2,5	2,5
+ Bệnh thối củ	2,0	2,5	2,0	2,5	2,5	2,5
+ Rệp sáp hồng	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0
+ Nhện đỏ	3,0	3,5	3,5	3,0	3,0	3,0
Đặc điểm DUS giống sắn						
+ Điểm cây	10	9	9	10	10	8
+ Điểm củ	10	9	9	10	10	9
+ Hệ số thu hoạch (%)	63	61	64	64	61	57
+ Chiều cao cây (m)	2,3 - 2,7	2,7 - 3,0	2,5 - 2,9	2,3 - 2,7	2,3 - 2,7	2,8 - 3,5
+ Dạng cây thẳng, cong	thẳng	thẳng	thẳng	thẳng	thẳng	cong
+ Mức độ phân nhánh	ít	ít	ít	ít	ít	ít
+ Màu sắc thân	xanh xám	xanh nâu	xanh xám	xanh nâu	xanh xám	xanh nâu
+ Màu sắc lá ngọn	xanh tím	xanh tím	xanh tím	xanh tím	xanh tím	tím
+ Màu sắc cuống lá	xanh đỏ	xanh đỏ	xanh đỏ	tai xanh	tai đỏ	xanh
+ Số củ trên gốc (củ/gốc)	8 - 14	7 - 12	7 - 12	8 - 14	8 - 14	6 - 11
+ Màu sắc vỏ củ ngoài	trắng xám	nâu xám	nâu xám	trắng xám	nâu xám	nâu xám
+ Màu sắc thịt củ	kem	kem	kem	kem	kem	kem
+ Dạng củ	thuôn trụ	thuôn trụ	thuôn trụ	thuôn trụ	thuôn trụ	thuôn trụ

Ghi chú: Theo bản tả kỹ thuật DUS bảo hộ giống cây trồng UPOV: Tên giống, tác giả giống, năm công bố: (1) Giống sắn KM94 Tran & ctv. (1995), Hoang (2003); (2) Giống sắn KM419 Hoang & ctv. (2016); (3) Giống sắn KM419 và giống sắn KM440 Nguyen (2017); (4) Giống sắn K94* đã được nâng cấp bằng cách lai hữu tính KM94 x KM539 nhằm đưa thêm nguồn gen kháng bệnh CMD và CWBD của KM539 vào giống sắn KM94 thích ứng rộng; (5) Giống sắn KM539 được phát triển từ giống sắn gốc C39 nhập nội từ CIAT năm 2004, đã được bồi dục nâng cấp qua nhiều chu kỳ, bằng kỹ thuật và công nghệ tạo dòng sắn lai đơn bội kép (Doubled Haploid DH) chuẩn CIAT & VNCP. (Hoang & ctv., 2010; Hoang & ctv., 2014). (6) Giống sắn KM568, con lai của KM440 x (KM419 x KM539) chỉ tiêu đánh giá và đối chiếu với Nguyen & ctv., 2021; QCVN: quy chuẩn Việt Nam; UPOV: protection of new varieties of plants; DUS: distinctness, uniformity, and stability; CMD: cassava mosaic virus; CWBD: cassava witches broom disease; CBB: cassava bacterial blight.

5. Kết Luận

Kết quả nghiên cứu chọn tạo giống sắn năng suất tinh bột cao, kháng được sâu bệnh hại chính, phù hợp với điều kiện sản xuất của tỉnh Phú Yên, qua ba năm thực hiện đã xác định được các giống sắn mới KM568, KM539, KM537 có năng suất củ tươi 45,9 - 54,0 tấn/ha, năng suất tinh bột 12,4 - 15,1 tấn/ha, vượt trội hơn hẳn so với giống sắn KM94. Các giống sắn KM568, KM539, KM537 có mức kháng cao đối với bệnh vi rút khảm lá CMD và bệnh chổi rồng CWBD, nên đạt ưu thế hơn giống sắn KM419.

Giống sắn KM568 là con lai của KM440 x (KM419 x KM539) đã đáp ứng tốt nhất mục đích và yêu cầu của đề tài, với năng suất sắn củ tươi đạt 54 tấn/ha (vượt 56% so KM94 và 10% so KM419); hàm lượng tinh bột 28,4%, kháng bệnh khảm lá vi rút CMD cấp 1,5; kháng bệnh chổi rồng CWBD cấp 1, ít sâu bệnh chính hại sắn; đạt dạng hình cây sắn lý tưởng với chỉ số thu hoạch đạt 63%, củ to đồng đều, nhiều củ 8 - 14 củ/gốc, dạng củ thuôn lạng, cây thẳng, tán gọn, ít phân nhánh, chiều cao cây 2,3 - 2,7 m, thích hợp với mật độ trồng 14.285 cây/ha.

Lời Cảm Ơn

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

Lời Cám Ơn

Thành quả các giống sắn triển vọng KM568, KM539, KM537 là phần một của đề tài “Nghiên cứu chọn tạo giống sắn năng suất tinh bột cao, kháng được sâu bệnh hại chính, phù hợp với điều kiện sản xuất tại tỉnh Phú Yên” do UBND tỉnh Phú Yên, Sở Khoa học và Công nghệ Phú Yên tài trợ kinh phí, với nhiều đồng nghiệp và nông dân đã tận tình hỗ trợ cho sự bảo tồn và phát triển giống sắn tốt Việt Nam.

Tài Liệu Tham Khảo (References)

FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). (2022). *FAOSTAT*. Rome, Italy: FAO.

Hoang, K. (2003). Technology of cassava breeding. In Ngo, D. T., & Le, Q. H. (Eds.). *Varietal technology of plant, animal and forestry* (Vol. 2, 95-108). Ha

Noi, Vietnam: Agricultural Publishing House.

Hoang, K., Nguyen, B. V., Hoang, L., Nguyen, H. T., Ceballos, H., & Howeler, R. H. (2010). Current situation of cassava in Vietnam. In Howeler, R. H. (Ed.), *Proceedings of The 8th Regional Workshop on A New Future for Cassava in Asia: Its Use as Food, Feed, and Fuel to Benefit The Poor* (100-112). Vientiane, Lao PDR: International Center for Tropical Agriculture (CIAT) and the National Agriculture and Forestry Research Institute (NAFRI). Retrieved February 15, 2022, from http://ciat-library.ciat.cgiar.org/Articulos_Ciat/biblioteca/A_new_future_for_Cassava_in_Asia_Its_use_a_food_freed_and_fuel_to_benefit_the_poor-compressed.pdf.

Hoang, K., Nguyen, M. T. T., Nguyen, M. B., & Howeler, R. H. (2011). Cassava conservation and sustainable development in Vietnam. In Howeler, R. H. (Ed.), *Proceedings of The 9th Regional Workshop on Sustainable Cassava Production in Asia for Multiple Uses and for Multiple Markets* (35-56). Guangxi, China: International Center for Tropical Agriculture (CIAT) and the Chinese Cassava Agro-technology Research System (CCARS). Retrieved April 20, 2022, from http://ciat-library.ciat.cgiar.org/Articulos_Ciat/biblioteca/Sustainable_cassava_production_in_Asia_for_multiple_uses_and_for_multiple_markets.pdf.

Hoang, L., Nguyen, M. T. T., Nguyen, M. B., Hoang, K., Ishitani, M., & Howeler, R. H. (2014). Cassava in Vietnam: production and research; an overview. In Howeler, R. H. (Ed.), *Proceedings of Asia Cassava Research Workshop* (15). Ha Noi, Vietnam: ILCMB- CIAT-VAAS/AGI.

Howeler, R. H. (2011). *Proceedings of the 9th regional workshop on sustainable cassava production in Asia for multiple uses and for multiple markets*. Retrieved April 20, 2022, from http://ciat-library.ciat.cgiar.org/Articulos_Ciat/biblioteca/Sustainable_cassava_production_in_Asia_for_multiple_uses_and_for_multiple_markets.pdf.

Howeler, R. H., & Aye, T. M. (2014). *Sustainable management of cassava in Asia – From research to practice*. Ha Noi, Vietnam: News Publishing

- House.
- MARD (Ministry of Agriculture and Rural Development). (2022). *Report on production situation and directing the prevention of harmful organisms on cassava*. Gia Lai, Vietnam: MARD and People's Committee of Gia Lai Province.
- Nguyen, M. B. (2018). *Research on cultural techniques to scatter harvest season for cassava in Dak Lak province* (Unpublished doctoral dissertation). Tay Nguyen University, Dak Lak, Vietnam.
- Nguyen, M. T. T. (2017). *Study on the selection of high yielding cassava varieties and intensive cultivation techniques in Phu Yen province* (Unpublished doctoral dissertation). University of Agriculture and Forestry, Hue University, Hue, Vietnam.
- Nguyen, M. T. T., Hoang, L., Nguyen, D. N. Q., & Hoang, K. (2021). *Phu Yen cassava solutions for sustainable development*. Phu Yen, Vietnam: Phu Yen Provincial People's Committee.
- Nguyen, V. A., Le, T. N., Nguyen, H., Do, T. T., Nguyen, H. T., Pham, H. T. T., Nguyen, H. T., Seki, M., & Le, H. H. (2021). Characterization of some popular cassava varieties in Vietnam. *Journal of Vietnam Agricultural Science and Technology* 3(124), 1-17.
- Tran, Q. N., Hoang, K., Vo, T. V., & Kawano, K. (1995). Selection results of the new cassava varieties KM60, KM94, KM95 and SM937-26. In *Proceedings of Vietnam Agricultural Research Workshop*. Lam Dong, Vietnam: Ministry of Agriculture and Rural Development.
- VNA (Vietnam National Assembly). (2018). Law No. 31/2018/QH14 dated on November 19, 2018. Law on crop production. Retrieved May 24, 2022, from <https://thuvienphapluat.vn/van-ban/Linh-vuc-khac/Luat-Trong-trot-2018-336355.aspx>.
- VNFU (Central Vietnam Farmer's Union). (2021). *New rural magazine - Farmer's scientist links take off together*. Ho Chi Minh City, Vietnam: Youth Publishing House.

Prevalence and antimicrobial susceptibility of *Pasteurella multocida* isolated from goats in Can Tho city

Vy L. P. Nguyen¹, Ninh T. K. Truong¹, Linh P. Tran¹, Trung T. Truong², & Thuan K. Nguyen^{1*}

¹Faculty of Veterinary Medicine, College of Agriculture, Can Tho University, Can Tho City, Vietnam

²Faculty of Animal Science, College of Agriculture, Can Tho University, Can Tho City, Vietnam

ARTICLE INFO

Research Paper

Received: Aug 20, 2023

Revised: Sep 05, 2023

Accepted: Sep 10, 2023

Keywords

Antibiotic resistance genes

Antimicrobial susceptibility

Goats

P. multocida

Prevalence

*Corresponding author

Nguyen Khanh Thuan

Email:

nkthuan@ctu.edu.vn

ABSTRACT

A total of 289 goats' nasal swabs were collected from March to May 2023 to determine the prevalence of *Pasteurella multocida* in goats raised on medium-scale farms in Can Tho city. There were 143 samples representing 49.48% positive for *Pasteurella multocida*. Of 143 positive samples, 64 strains were selected to examine the antimicrobial susceptibility using the disk diffusion method. The results showed that those strains were still sensitive to 6/7 examined antibiotics, especially doxycycline (100%); however, they were highly resistant to ampicillin (53.13%). There were 9 phenotypes of antibiotic resistance (60.94%), with the most common patterns of ampicillin and ampicillin + amoxicillin/clavulanic acid (23.44%). By using PCR assay to detect antibiotic resistance genes, the results revealed that *sulII* gene was the most frequent detection (67.19%). A total of 11 resistance genotypes detected in 54 strains accounted for 84.38%, and the pattern of *aadB* + *sulII* was the most common genotype accounting for 23.44%. Therefore, the prevalence and antimicrobial susceptibility of *P. multocida* in goats should be controlled to protect their health and prevent spreading in husbandry environments.

Cited as: Nguyen, V. L. P., Truong, N. T. K., Tran L. P., Truong, T. T., & Nguyen, T. K. (2024). Prevalence and antimicrobial susceptibility of *Pasteurella multocida* isolated from goats in Can Tho city. *The Journal of Agriculture and Development* 23(1), 14-24.

Sự lưu hành và đề kháng kháng sinh của vi khuẩn *Pasteurella multocida* phân lập từ dê nuôi tại thành phố Cần Thơ

Nguyễn Lý Phương Vy¹, Trương Thị Kiều Ninh¹, Trần Phương Linh¹, Trương Thanh Trung² & Nguyễn Khánh Thuận^{1*}

¹Khoa Thú Y, Trường Nông Nghiệp, Đại Học Cần Thơ, Thành Phố Cần Thơ

²Khoa Chăn Nuôi, Trường Nông Nghiệp, Đại Học Cần Thơ, Thành Phố Cần Thơ

THÔNG TIN BÀI BÁO

Bài báo khoa học

Ngày nhận: 20/08/2023

Ngày chỉnh sửa: 05/09/2023

Ngày chấp nhận: 10/09/2023

Từ khóa

Dê

Gene đề kháng kháng sinh

Nhạy cảm kháng sinh

P. multocida

Sự hiện diện

*Tác giả liên hệ

Nguyễn Khánh Thuận

Email:

nkthuan@ctu.edu.vn

TÓM TẮT

Tổng số 289 mẫu dịch mũi được thu thập từ tháng 3 đến tháng 5 năm 2023 để xác định tỷ lệ nhiễm vi khuẩn *Pasteurella multocida* trên đàn dê nuôi tại một số trại chăn nuôi quy mô vừa ở Thành phố Cần Thơ. Có 143 mẫu, chiếm 49,48%, dương tính với *P. multocida*. Từ 143 mẫu dương tính, có 64 chủng được chọn để kiểm tra tính nhạy cảm với kháng sinh bằng phương pháp khuếch tán đĩa thạch. Kết quả cho thấy vi khuẩn còn nhạy cảm với 6/7 loại kháng sinh được khảo sát, đặc biệt là doxycycline (100%); tuy nhiên, các chủng này đã đề kháng cao với ampicillin chiếm 53,13%. Có 9 kiểu hình kháng thuốc được ghi nhận (60,94%), phổ biến nhất là ampicillin và ampicillin + amoxicillin/clavulanic acid chiếm 23,44%. Sử dụng kỹ thuật PCR để phát hiện gene đề kháng kháng sinh, kết quả cho thấy *sulII* được phát hiện nhiều nhất chiếm 67,19%. Tổng số 11 kiểu gene đề kháng được phát hiện ở 54 chủng chiếm 84,38%, và *aadB* + *sulII* là kiểu ghép gene phổ biến nhất chiếm 23,44%. Do đó, sự hiện diện và tính nhạy cảm với kháng sinh của *P. multocida* ở dê cần được kiểm soát nhằm để bảo vệ sức khỏe của dê và ngăn ngừa sự lây lan mầm bệnh trong môi trường chăn nuôi.

1. Đặt Vấn Đề

Dê là đối tượng vật nuôi đang phổ biến tại Việt Nam bởi tính thích nghi tốt cho nguồn lợi kinh tế ổn định. Tuy nhiên, dê cũng như một số loài gia súc nhai lại khác thường mắc phải những căn bệnh nguy hiểm làm tổn thất kinh tế cho chủ trong quá trình nuôi dưỡng; trong đó bệnh trên đường hô hấp do *Pasteurella multocida* gây hậu quả khá nghiêm trọng. Theo nghiên cứu của Nguyen và ctv. (2008), trong 254 mẫu bệnh phẩm xét nghiệm bệnh tụ huyết trùng trên dê và cừu thì có 53 mẫu là tồn tại vi khuẩn *P. multocida*, chiếm tỉ lệ 20,87%. Theo nghiên cứu

của Assefa & ctv. (2018) trên mẫu huyết thanh dê nuôi được lấy ngẫu nhiên ở miền Bắc Ethiopia, kết quả đã cho thấy *P. multocida* type A xuất hiện ở 21/124 mẫu chiếm tỷ lệ 16,9%. Các nghiên cứu trên đều cho thấy *P. multocida* có thể hiện diện phổ biến trên động vật khỏe và mắc bệnh. Mellon & ctv. (2001) đã nghiên cứu và cho thấy rằng, phần lớn kháng sinh được sử dụng trong chăn nuôi không những vì mục đích chữa bệnh mà còn được áp dụng để kích thích tăng trưởng và phòng bệnh. Tuy nhiên, việc sử dụng kháng sinh thường xuyên và rộng rãi này trong chăn nuôi đã khiến đề kháng thuốc ở vi khuẩn trở nên

phức tạp hơn. Nghiên cứu của Kandimalla & ctv. (2022) khi tiến hành kiểm tra mức độ đề kháng đối với một số loại kháng sinh thường sử dụng đã cho thấy *P. multocida* đề kháng cao với kháng sinh gentamycin chiếm 66,67%. Ngoài ra, việc thường xuyên tiếp xúc với kháng sinh đã khiến quần thể vi khuẩn trên động vật hình thành gene kháng thuốc. Sahay & ctv. (2020) tiến hành kiểm tra sự hiện diện gene đề kháng thuốc của *P. multocida* được phân lập từ dịch mũi và mô phổi cừu cho thấy có 14/28 chủng chiếm 50,00% mang gene *strA* và 12/28 chủng chiếm 42,86% mang gene *sulIII*. Các kết quả trên đã cho thấy nguy cơ gây bệnh và đề kháng kháng sinh cao của *P. multocida*, gây ảnh hưởng đến hiệu quả điều trị cũng như nguy cơ lây truyền các chủng kháng kháng sinh cho các đối tượng khác trong môi trường chăn nuôi.

Hiện nay, các nghiên cứu về *P. multocida* đã được thực hiện trên các loài động vật, nhưng các báo cáo trên dê vẫn còn rất ít, nhất là ở Đồng bằng sông Cửu Long cũng như tại Việt Nam. Do đó, kết quả nghiên cứu về kháng thuốc và sự hiện diện của các gene đề kháng kháng sinh trên *P. multocida* được phân lập từ dê trong nghiên cứu này có thể cung cấp những thông tin cần thiết cho người chăn nuôi, cơ quan quản lý về tình hình dịch bệnh cũng như tăng cường quản lý và sử dụng kháng sinh hiệu quả trong phòng và điều trị bệnh do *P. multocida* gây ra.

2. Vật Liệu và Phương Pháp Nghiên Cứu

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Mẫu dịch mũi trên dê: tổng số 289 mẫu dịch mũi được thu thập từ dê ở tất cả độ tuổi, giới tính và tình trạng sức khỏe nuôi ở hai trại chăn nuôi quy mô nhỏ thuộc quận Ô Môn, TP. Cần Thơ từ tháng 3/2023 đến tháng 5/2023.

Môi trường phân lập vi khuẩn dùng trong nghiên cứu: thạch máu (Blood agar, Oxoid, Anh) bổ sung 5% máu cừu đã khử sợi huyết (Nam Khoa, Việt Nam) và kiểm tra sinh hóa định danh

Pasteurella spp. bằng test kit sinh hóa (Nam Khoa, Việt Nam).

Hóa chất ly trích DNA và thực hiện PCR: nước tinh khiết không chứa DNA và RNA (TBR, Việt Nam), kit phản ứng PCR - MyTaq mix 2X (Bioline, Mỹ).

Các đĩa kháng sinh sử dụng trong nghiên cứu bao gồm: ampicillin (Am, 10 µg), amoxicillin/clavulanic acid (Ac, 20/10 µg), ceftazidime (Cz, 30 µg), gentamycin (Ge, 10 µg), doxycycline (Dx, 30 µg), ciprofloxacin (Ci, 5 µg), trimethoprim/sulfamethoxazole (Bt, 1,25/23,75 µg) do Công ty Nam Khoa Biotek (TP. Hồ Chí Minh) cung cấp.

Chủng *Pasteurella multocida*: Tất cả các chủng *Pasteurella multocida* được phân lập từ các mẫu dịch mũi thu từ dê tại Phòng thí nghiệm An toàn thực phẩm Thú y, Khoa Thú y, Trường Nông nghiệp, Đại học Cần Thơ.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp lấy mẫu

Mẫu dịch mũi lấy từ dê nuôi ở hai trại chăn nuôi quy mô vừa (dưới 300 con) thuộc quận Ô Môn, TP. Cần Thơ được thực hiện theo quy trình lấy mẫu swab dịch thể trên dê của NAHMS (USDA, 2022). Mẫu dịch mũi được lấy định kỳ mỗi tuần trong thời gian nghiên cứu, và lấy ngẫu nhiên trên đàn ở tất cả lứa tuổi, giới tính, tình trạng sức khỏe. Sau đó, mẫu dịch mũi được bảo quản ở nhiệt độ 4 - 8°C để vận chuyển về phòng thí nghiệm và tiến hành phân lập *P. multocida* trong 24 giờ.

2.2.2. Phương pháp phân lập *Pasteurella multocida*

Quy trình phân lập vi khuẩn *P. multocida* được thực hiện theo Tiêu chuẩn Quốc gia TCVN 8400-14:2011. Các chủng vi khuẩn sau khi phân lập sẽ tiến hành ly trích DNA và định danh vi khuẩn *P. multocida* bằng kỹ thuật PCR.

2.2.3. Phương pháp định danh *Pasteurella multocida*

2.2.3.1. Tách chiết DNA

DNA của các chủng *P. multocida* được tách chiết theo phương pháp shock nhiệt của Soumet & ctv. (1994) và trữ ở -20°C để sử dụng cho quá trình PCR.

2.2.3.2. Thực hiện phản ứng PCR

Phản ứng PCR sử dụng bộ kit Mastermix 2X (Bioline, Canada) với tổng thể tích là 25 µL: Mastermix 2X (12,5 µL), mỗi xuôi (0,5 µL), mỗi ngược (0,5 µL), distilled water (9,5 µL) và DNA template (2 µL). Chu trình nhiệt như sau: 94°C - 2 phút; 30 chu kỳ: 94°C - 20 giây, 55°C - 20 giây, 72°C - 45 giây; 72°C - 2 phút. Gene *Pm1231* (5' - 3'): F - AGAAAGCACATGACCAAAGG; R - GCAGCTACTCGCAGAAGGTT (Liu & ctv., 2004) được sử dụng để dùng để định danh vi khuẩn *P. multocida*.

2.2.3.3. Điện di

Sản phẩm PCR được điện di trên gel agarose 1,5% (Bioline, Canada), hiệu điện thế 50V trong 60 phút, sau đó nhuộm với Ethidium bromide trong 20 phút. Đọc kết quả điện di trên gel dưới tia UV để xác định sự hiện diện của gene cần xác định. Mẫu đối chứng dương: DNA của *P. multocida* được xác định dương tính với gene dùng trong nghiên cứu; mẫu đối chứng âm: nước tinh khiết không chứa DNA hay RNA.

2.2.4. Phương pháp xác định độ nhạy cảm đối với kháng sinh của vi khuẩn *P. multocida*

Sau khi đã định danh *P. multocida*, 64 chủng đại diện được chọn để khảo sát mức độ nhạy cảm

đối với kháng sinh. Các chủng đại diện về địa điểm thu mẫu, giới tính và độ tuổi của dê được khảo sát trong các đợt thu mẫu. Nghiên cứu sử dụng phương pháp khuếch tán trên đĩa thạch của Kirby-Bauer (Bauer & ctv., 1966) để kiểm tra sự nhạy cảm đối với kháng sinh của vi khuẩn. Kích thước vòng vô khuẩn được đo và so sánh với tiêu chuẩn của CLSI (2022) để đánh giá mức độ nhạy cảm đối với kháng sinh của vi khuẩn.

Trong nghiên cứu này, bảy loại kháng sinh được chọn (được đề cập trong vật liệu nghiên cứu) để kiểm tra tính nhạy cảm của vi khuẩn *P. multocida* với kháng sinh.

2.2.5. Phương pháp xác định sự hiện diện gene để kháng kháng sinh của *P. multocida*

Sau khi thử kháng sinh đồ, tất cả 64 chủng vi khuẩn *P. multocida* được xác định sự hiện diện của các gene để kháng kháng sinh trên *P. multocida* bằng phương pháp PCR. Quy trình thực hiện tương tự với quy trình định danh vi khuẩn ở mục 2.2.3. Chu trình nhiệt như sau: 94°C - 5 phút; 35 chu kỳ: 94°C - 1 phút, 58°C (*blaROB*, *aadB*)/55°C (*tetA*, *sulIII*) - 1 phút, 72°C - 1 phút; 72°C - 10 phút. Trình tự của các gene để kháng kháng sinh sử dụng trong nghiên cứu được trình bày trong Bảng 1.

Bảng 1. Trình tự primer xác định gene đề kháng kháng sinh trên *P. multocida*

Primer	Trình tự primer (5' - 3')	Size (bp)	Tài liệu tham khảo
<i>bla</i> ROB – F	AATAACCCCTTGCCCCAATTC	685	Klima & ctv. (2014)
<i>bla</i> ROB – R	TCGCTTATCAGGTGTGCTTG		
<i>aad</i> B – F	TTACGCAGCAGGGCAGTCGC	551	Randall & ctv. (2004)
<i>aad</i> B – R	GCGGCACGCAAGACCTCAAC		
<i>tet</i> A – F	GGTTCACTCGAACGACGTCA	577	Saenz & ctv. (2010)
<i>tet</i> A – R	CTGTCCGACAAGTTGCATGA		
<i>sul</i> III – F	CGGCATCGTCAACATAACC	722	
<i>sul</i> III – R	GTGTGCGGATGAAGTCAG		

2.2.6. Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu được xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel 2016 và xử lý thống kê bằng phương pháp Chi-square trên phần mềm Minitab 16.

3. Kết Quả và Thảo Luận

3.1. Tỷ lệ hiện diện *Pasteurella multocida* được phân lập từ dịch mũi dê

Thông qua phương pháp phân lập và định danh bằng PCR, có 143/289 mẫu dương tính với *P. multocida*, chiếm tỷ lệ cao 49,48% (Bảng 2). Kết quả phân lập vi khuẩn được trình bày trong Bảng 2 cho thấy không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về sự hiện diện của *P. multocida* trên dê giữa các hộ chăn nuôi, giới tính và độ tuổi. Tại các địa điểm khảo sát điều kiện chuồng trại còn thô sơ, thiếu sự ngăn cách rõ ràng giữa các ô chuồng, dê ở các độ tuổi, giới tính được nuôi nhốt chung. Do đó, đây có thể là nguyên nhân

dẫn đến sự truyền lây mầm bệnh giữa các cá thể trong đàn. Marru & ctv. (2013) cũng đã ghi nhận không có sự liên kết nào giữa sự hiện diện của *P. multocida* với giới tính ở động vật khảo sát. Ngoài ra, theo Hailu & ctv. (2017), *P. multocida* có thể thường trú trong hệ hô hấp của những con gia súc khỏe mạnh và những vật nuôi khác trong nhà. Nghiên cứu của Valadan & ctv. (2014) đã cho thấy, trong 1454 mẫu swab và mẫu máu lấy ở dê và cừu ở Iran thì *P. multocida* chỉ hiện diện ở 54 mẫu chiếm tỷ lệ thấp 3,71%. Kết quả trong nghiên cứu này và các báo cáo khác có sự không tương đồng về tỷ lệ hiện diện của *P. multocida* có thể do đặc điểm dịch tễ từng vùng là khác nhau, ngoài ra loại mẫu và tình trạng sức khỏe của vật nuôi cũng khác nhau. Kết quả hiện diện cao của *P. multocida* trên dê trong nghiên cứu này của chúng tôi khảo sát cho thấy nguy cơ lớn trong việc gây bệnh hô hấp cho đàn dê tại đây, vì vậy cần phải có biện pháp kiểm soát chặt chẽ hơn.

Bảng 2. Tỷ lệ hiện diện *P. multocida* được phân lập trên dê nuôi (n = 289)

	Yếu tố khảo sát	Số mẫu khảo sát	Số mẫu dương tính	Tỷ lệ (%)	P
Trại	1	202	94	46,43	0,127
	2	87	49	56,32	
Giới tính	Đực	82	40	48,78	0,881
	Cái	207	103	49,76	
Độ tuổi	< 6 tháng	78	38	48,72	0,135
	≥ 6 tháng	109	47	43,12	
	≥ 1 năm	102	58	56,86	

3.2. Nhạy cảm với kháng sinh của *P. multocida* phân lập trên dê

Kết quả Bảng 3 cho thấy vi khuẩn còn nhạy cảm cao với 6/7 loại kháng sinh; trong đó, 64/64 chủng chiếm 100% còn nhạy cảm với kháng sinh doxycycline. Tuy nhiên, ampicillin đã bị đề kháng cao (53,13%). Đây là kháng sinh được sử dụng phổ biến trong điều trị bệnh cho vật nuôi trước đây, nhưng điều tra thực tế tại các cơ sở nuôi dê được khảo sát thì không dùng kháng sinh này hiện nay. Sự đề kháng đối với kháng sinh của vi khuẩn là do vi khuẩn tiếp xúc với kháng sinh quá nhiều gây biến đổi và hình thành các gene kháng thuốc (Bennett, 2009). Điều này cho thấy, các chủng *P. multocida* tại hai trại này có thể đã có khả năng đề kháng tự nhiên với ampicillin do

các tác động trong quá trình sử dụng thuốc trước đây tại khu vực khảo sát. Mặt khác, gentamycin là loại kháng sinh được sử dụng chủ yếu để điều trị bệnh cho dê ở các cơ sở chăn nuôi này; tuy nhiên kết quả lại cho thấy *P. multocida* đề kháng rất thấp đối với kháng sinh này (3,13%). Nguyên nhân của sự nhạy cảm hay đề kháng với các kháng sinh của *P. multocida* tại các trại khảo sát cần có sự nghiên cứu chuyên sâu hơn để xác định chính xác các biểu hiện này. Nghiên cứu của Sarangi & ctv. (2015) đã cho thấy kết quả tương đồng là *P. multocida* trên dê và cừu vẫn còn nhạy cảm với hầu hết các loại kháng sinh, riêng kháng sinh ampicillin đã có 38,6% chủng đề kháng. Vì vậy, trong quá trình chăn nuôi dê tại các trại khảo sát cũng cần có sự kiểm soát việc sử dụng kháng sinh để hạn chế sự hình thành các chủng đề kháng.

Bảng 3. Kết quả đề kháng kháng sinh của *P. multocida* phân lập trên dê (n = 64)

Nhóm kháng sinh	Kháng sinh	Ký hiệu	Nhạy cảm		Đề kháng	
			Số mẫu dương tính	Tỷ lệ (%)	Số mẫu dương tính	Tỷ lệ (%)
Beta-lactam	Ampicillin	Am	30	46,88	34	53,13
	Amoxicillin-clavulanic acid	Ac	46	71,88	18	28,13
	Ceftazidime	Cz	63	98,44	1	1,56
Aminoglycoside	Gentamycin	Ge	62	96,88	2	3,13
Tetracycline	Doxycycline	Dx	64	100,00	0	0,00
Quinolone	Ciprofloxacin	Ci	63	98,44	1	1,56
Sulfonamide	Bactrim ¹	Bt	58	90,63	6	9,38

¹Bactrim: Trimethoprim/sulfamethoxazole.

Tổng cộng có 9 kiểu hình đề kháng được ghi nhận ở 39/64 (60,94%) chủng *P. multocida* được khảo sát (Bảng 4). Các chủng *P. multocida* này có thể đề kháng từ một đến bốn loại kháng sinh cùng lúc. Hai kiểu hình đề kháng xuất hiện nhiều nhất trên các chủng vi khuẩn được khảo sát là Am và Am + Ac, với tỷ lệ hiện diện là 23,44%. Sự đa kháng kháng sinh sẽ gây khó khăn trong việc lựa chọn sử dụng kháng sinh phù hợp trong phòng, điều trị bệnh cho đàn vật nuôi. Báo cáo về tình trạng đa kháng thuốc cũng được tìm thấy

ở 7/11 chủng *P. multocida* phân lập ở các loài động vật khác nhau, trong đó có dê đã được ghi nhận tại Thổ Nhĩ Kỳ (Guller & ctv., 2013). Kháng đa thuốc có thể xảy ra trên vi khuẩn nếu phải tiếp xúc với một loại kháng sinh liên tục, hoặc do sự tiếp nhận các yếu tố di truyền kháng thuốc thông qua plasmid, hoặc transposon (Tenover, 2006). Do đó, sử dụng kháng sinh đúng mục đích sẽ giúp hạn chế tình trạng kháng đa thuốc xảy ra.

Bảng 4. Tỷ lệ kiểu hình đề kháng kháng sinh của *P. multocida* phân lập trên dê (n = 64)

Số kháng sinh kháng	Kiểu hình đề kháng	Số mẫu dương tính	Tỷ lệ (%)
1	Am	15	23,44
	Ac	2	3,13
	Bt	2	3,13
2	Am + Ac	15	23,44
	Am + Bt	1	1,56
	Am + Cz	1	1,56
	Ge + Bt	1	1,56
3	Am + Ac + Bt	1	1,56
4	Am + Ge + Ci + Bt	1	1,56
			($P < 0,001$)
Tổng		39	60,94

3.3. Kết quả hiện diện của gene đề kháng kháng sinh trên *P. multocida* phân lập từ dê

Bảng 5 trình bày kết quả hiện diện của gene đề kháng kháng sinh trên 64 chủng *P. multocida*. Gene *sulIII* là gene hiện diện phổ biến nhất (67,19%) và *tetA* là gene có sự hiện diện thấp nhất (10,94%). Khi nghiên cứu về sự xuất hiện của các gene kháng kháng sinh ở vi khuẩn đã ghi nhận vi khuẩn có hai kiểu biến đổi để thích nghi và tồn tại bao gồm đột biến ở những vật chất di truyền trong tế bào vi khuẩn và tiếp nhận gene từ những chủng vi khuẩn khác cùng chung hệ sinh thái (Munita & ctv., 2016). Điều đó giải thích cho sự không tương đồng về kết quả kháng sinh đồ và kết quả khảo sát tỷ lệ hiện diện các gene kháng kháng sinh. Gene *sulIII* có tỷ lệ hiện diện cao nhất mặc dù tỷ lệ đề kháng với kháng sinh nhóm sulfonamide thấp (9,38%). Ngoài việc tiếp hợp gene kháng thuốc từ cá thể khác, việc ít tiếp xúc với kháng sinh nhóm sulfonamide cũng là nguyên nhân khiến sự biểu hiện kiểu hình kháng

thuốc của các chủng *P. multocida* còn thấp. Gene *blaROB* quy định tính kháng của vi khuẩn đối với nhóm beta-lactam, chỉ hiện diện ở 14/64 chủng (21,88%) nhưng *P. multocida* lại được ghi nhận là đã đề kháng khá cao với ampicillin. Theo Levy & Marshall (2004), nhiều gene khác nhau có thể quy định cùng một loại cơ chế kháng thuốc ở vi khuẩn. Vì vậy, sự đề kháng ampicillin ở *P. multocida* có thể bị chi phối bởi không chỉ một gene *blaROB* mà còn bởi những gene kháng nhóm beta-lactam khác. Ngoài ra, gene *tetA* được ghi nhận hiện diện khá ít trên *P. multocida* phân lập từ động vật. Nghiên cứu của Babetsa & ctv. (2012) về mức phổ biến của các gene kháng nhóm tetracycline đã cho thấy có 18/100 chủng *P. multocida* phân lập từ động vật đề kháng với tetracycline, tuy nhiên không tìm thấy gene *tetA*. Vì vậy, việc khảo sát sự hiện diện của các gene đề kháng kháng sinh trên vi khuẩn *P. multocida* nhằm cung cấp thông tin dịch tễ và quản lý sự lưu hành của gene mã hóa sự đề kháng thuốc.

Bảng 5. Hiện diện gene đề kháng kháng sinh trên *P. multocida* phân lập trên dê (n = 64)

Nhóm kháng sinh	Gene	Số mẫu dương tính	Tỷ lệ (%)	P
Beta-lactam	<i>blaROB</i>	14	21,88	< 0,001
Aminoglycoside	<i>aadB</i>	26	40,63	
Tetracycline	<i>tetA</i>	7	10,94	
Sulfonamide	<i>sulIII</i>	43	67,19	

Bảng 6. Tỷ lệ hiện diện kiểu gene đề kháng kháng sinh trên *P. multocida* phân lập trên dê (n = 64)

Số gene đề kháng	Kiểu gene	Số chủng dương tính	Tỷ lệ (%)
1	<i>blaROB</i>	2	3,13
	<i>aadB</i>	7	10,94
	<i>sulIII</i>	13	20,31
	<i>tetA</i>	1	1,56
2	<i>blaROB + aadB</i>	1	1,56
	<i>blaROB + sulIII</i>	7	10,94
	<i>aadB + sulIII</i>	15	23,44
	<i>tetA + sulIII</i>	3	4,69
3	<i>blaROB + aadB + sulIII</i>	2	3,13
	<i>blaROB + tetA + sulIII</i>	2	3,13
	<i>aadB + tetA + sulIII</i>	1	1,56
Tổng		54	84,38

Mười một kiểu gene kháng kháng sinh đã ghi nhận được ở 54/64 (84,38%) chủng *P. multocida* (Bảng 6); trong đó kiểu ghép gene *aadB + sulIII* xuất hiện nhiều nhất, chiếm tỷ lệ 23,44%. Sự truyền gene ngang của vi khuẩn là nguyên nhân chính khiến vi khuẩn có khả năng mang nhiều hơn một gene đề kháng. Hầu như các gene đề kháng kháng sinh đều nằm trên các plasmid; sự kết hợp giữa những phân vùng giúp các vật chất di truyền di chuyển từ tế bào vi khuẩn này sang tế bào vi khuẩn khác (Ilangoan & ctv., 2015). Sự tồn tại của các gene kháng thuốc trên vi khuẩn bị ảnh hưởng bởi sự tương thích hoặc không tương thích về cơ chế sao chép của plasmid. Hai gene có sự tương đồng về cơ chế sao chép không thể tồn tại trong cùng một tế bào (Carattoli & ctv., 2005). Thông qua cơ chế này, mức độ đa dạng về kiểu gene đa kháng thuốc trên vi khuẩn trở nên biến đổi. Những nghiên cứu về kiểu gene đa kháng kháng sinh ở *P. multocida* trên dê khá ít,

tuy nhiên, ở một số nghiên cứu khác như của Alhamami & ctv. (2021) về gene đề kháng thuốc của *P. multocida* trên bò tại Úc cho thấy các kiểu hình ghép gene đề kháng đồng thời nhóm tetracycline và macrolide rất phổ biến. Sự xuất hiện của các kiểu ghép gene đề kháng kháng sinh chính là tiền đề cho sự biểu hiện những kiểu hình đa kháng kháng sinh trên vi khuẩn. Do đó, việc kiểm soát các chủng *P. multocida* mang gene đề kháng kháng sinh cần được kiểm soát để nhằm hạn chế sự phát tán ra môi trường chăn nuôi.

4. Kết Luận

Vi khuẩn *P. multocida* hiện diện cao trên dê tại các trại chăn nuôi khảo sát ở TP. Cần Thơ, chiếm tỷ lệ 49,48%, điều này cho thấy nguy cơ gây bệnh cao cho đàn dê tại đây. Mặt khác, vi khuẩn *P. multocida* trên dê đã có biểu hiện đề kháng cao đối với kháng sinh ampicillin và nhiều kiểu hình đa kháng được ghi nhận. Ngoài ra, các

chủng *P. multocida* có thể mang nhiều gene để kháng kháng sinh, trong đó gene *sulIII* và kiểu ghép gene *aadB* + *sulIII* là phổ biến nhất. Nghiên cứu đã cho thấy sự cần thiết trong việc quản lý sự hiện diện của các chủng *P. multocida* để kháng kháng sinh trên đàn dê nhằm bảo vệ sức khỏe đàn vật nuôi và hạn chế tình trạng đề kháng kháng sinh trong chăn nuôi.

Lời Cảm Ơn

Nghiên cứu này được thực hiện và có sự đồng thuận công bố của tất cả tác giả.

Lời Cảm Ơn

Đề tài này được tài trợ bởi Đại học Cần Thơ, Mã số: TSV2023-144.

Tài Liệu Tham Khảo (References)

- Alhamami, T., Chowdhury, P. R., Gomes, N., Carr, M., Veltman, T., Khazandi, M., Mollinger, J., Deutscher, A. T., Turni, C., Mahdi, L., Venter, H., Abraham, S., Djordjevic, S. P., & Trott, D. J. (2022). First emergence of resistance to macrolides and tetracycline identified in *Mannheimia haemolytica* and *Pasteurella multocida* isolates from beef feedlots in Australia. *Microorganisms* 9(6), 1322. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9061322>.
- Assefa, G. A., & Kelkay, M. Z. (2018). Goat pasteurellosis: serological analysis of circulating *Pasteurella* serotypes in Tanqua Aberegelle and Kola Tembien Districts, Northern Ethiopia. *BMC Research Notes* 11, 485. <https://doi.org/10.1186/s13104-018-3606-0>.
- Babetsa, M., Sandalakis, V., Vougidou, C., Zdragas, A., Sivropoulou, A., Psaroulaki, A., & Ekateriniadou, L. V. (2012). Tetracycline resistance genes in *Pasteurella multocida* isolates from bovine, ovine, caprine and swine pneumonic lungs originated from different Greek prefectures. *African Journal of Microbiology Research* 6(17), 3917-3923. <https://doi.org/10.5897/AJMR12.208>.
- Bennett, P. M. (2009). Plasmid encoded antibiotic resistance: acquisition and transfer of antibiotic resistance genes in bacteria. *British Journal of Pharmacology* 153(1), 347-357. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0707607>.
- Carattoli, A., Bertini, A., Villa, L., Fallo, V., Hopkins, K. L., & Threlfall, E. J. (2005). Identification of plasmids by PCR-based replicon typing. *Journal of Microbiological Methods* 63(3), 219-228. <https://doi.org/10.1016/j.jmimet.2005.03.018>.
- Guiler, L., Gunduz, K., & Sarisahin, A. S. (2013). Capsular typing and antimicrobial susceptibility of *Pasteurella multocida* isolated from different hosts. *Kafkas Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi* 19(5), 843-849. <https://doi.org/10.9775/kvfd.2013.8936>.
- Hailu, S. M., Kitila, D. B., Gameda, A. E., & Tarekegn, M. (2017). *Pasteurella* organism: Its isolation and identification from pneumonic lungs of goats in Ethiopia. *Journal of Advanced Veterinary and Animal Research* 4(2), 147-154. <https://doi.org/10.5455/javar.2017.d202>.
- Ilangovan, A., Connery, S., & Waksman, G. (2015). Structural biology of the Gram-negative bacterial conjugation systems. *Trends in Microbiology* 23(5), 301-310. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2015.02.012>.
- Kandimalla, K., Awati, B., Putty, K., Ram, V. K. S., Yella, N. R., Patil, N. A., Bhojar, R., Choudapur, M. K., Karate A., Lubavat, G., Akkaldevi, J., & Ganji, V. (2022). Evaluation of biofilm formation capacity of *Pasteurella multocida* and its relationship with antibiotic resistance. *Indian Journal of Veterinary Sciences and Biotechnology* 18(5), 68-74. <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2017001000001>.
- Levy, S. B., & Marshall, B. (2004). Antibacterial resistance worldwide: causes, challenges and responses. *Nature Medicine* 10, 122-129. <https://doi.org/10.1038/nm1145>.
- Marru, H. D., Anijajo, T. T., & Hassen, A. A. (2013). A study on Ovine pneumonic pasteurellosis: Isolation and identification of *Pasteurellae* and their antibiogram susceptibility pattern in

- Haramaya District, Eastern Hararghe, Ethiopia. *BMC Veterinary Research* 9, 239. <https://doi.org/10.1186/1746-6148-9-239>.
- Mellon, M., Benbrook, C., & Benbrook, K. L. (2001). *Hogging it: Estimates of antimicrobial abuse in livestock*. Massachusetts, USA: Union of Concerned Scientists.
- Munita, J. M., & Arias, C. A. (2016). Mechanisms of antibiotic resistance. *Microbiology Spectrum* 4(2). <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.VMBF-0016-2015>.
- Nguyen, D. T., Le, L., Dao, D. H., Dang, V. T., Truong, C. T., & Le D. H. (2008). Study on the role of *Mannheimia haemolytica* and *Pasteurella multocida* causing Pasteurellosis in sheep and goats in Ninh Thuan, Khanh Hoa, Dak Lak provinces. *Vietnam Journal of Agriculture and Rural Development* 5, 46-51.
- Sahay, S., Natesan, K., Prajapati, A., Kalleshmurthy, T., Shome, B. R., Rahman, H., & Shome, R. (2020). Prevalence and antibiotic susceptibility of *Mannheimia haemolytica* and *Pasteurella multocida* isolated from ovine respiratory infection: A study from Karnataka, Southern India. *Veterinary World* 13(9), 1947-1954. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2020.1947-1954>.
- Sarangi, L. N., Thomas, P., Gupta, S. K., Priyadarshini A., Kumar S., Nagaleekar V. K., A. Kumar, & Singh V. P. (2015). Virulence gene profiling and antibiotic resistance pattern of Indian isolates of *Pasteurella multocida* of small ruminant origin. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases* 38, 33-39. <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2014.11.003>.
- Tenover, F. C. (2006). Mechanisms of antimicrobial resistance in bacteria. *American Journal of Medicine* 119(6), 3-10. <https://doi.org/10.1016/j.ajic.2006.05.219>.
- Valadan, M., Jabbari, A., Niroumand, M., Tahamtan, Y., & Bani Hashemi, S. (2014). Isolation and identification of *Pasteurella multocida* from sheep & goat in Iran. *Archives of Razi Institute* 69(1), 47-55. <https://doi.org/10.7508/ari.2014.01.007>.

Evaluation of the protective efficacy of inactivated vaccines from wild-type *Streptococcus agalactiae* (GBS) on red Tilapia (*Oreochromis* sp.)

Hau V. Le¹, Mai T. Tran², Co V. Trinh³, Hieu C. N. Bui¹, & Thao P. H. Ngo¹

¹Department of Aquacultural Biotechnology, Biotechnology Center of Ho Chi Minh City, Ho Chi Minh City, Vietnam

²Faculty of Biological Sciences, Nong Lam University, Ho Chi Minh City, Vietnam

³Faculty of Applied Sciences, Ton Duc Thang University, Ho Chi Minh City, Vietnam

ARTICLE INFO

Research Paper

Received: April 25, 2023

Revised: August 10, 2023

Accepted: September 06, 2023

Keywords

Haemorrhagic disease

Inactivated vaccine

Oreochromis sp.

Red tilapia

Streptococcus agalactiae

Corresponding author

Le Van Hau

Email:

lvhau.snn@tphcm.gov.vn

ABSTRACT

Streptococcus agalactiae causing eye edema and haemorrhagic disease on red tilapia is a serious problem for the aquaculture industry. The experiment was conducted to evaluate the protective efficacy of formalin-inactivated *S. agalactiae* AG5 (Group B *Streptococcus*, GBS) vaccine on red tilapia (*Oreochromis* sp.) by feeding method. The experiment was arranged in a completely randomized design and fish were fed vaccine-mixed feeds with different concentrations of 10^4 ; 10^5 ; 10^6 ; 10^7 ; 10^8 CFU/g of feed, respectively. At 3 weeks after being fed vaccines, fish were infected with wild-type *S. agalactiae* AG5 strain by injecting 100 μ L of medium containing a dose of $LD_{50} = 6.87 \times 10^3$ CFU/mL into the abdomen. The effectiveness of relative percentage survival (RPS) protection was determined within 1 week after infection. Samples of dead fish were recorded with symptoms and brain samples were cultured on TSA medium and incubated at 28°C for 24 h. The colonies were examined using PCR test with F1/IMOD-specific primer pairs. The results showed that the inactivated *S. agalactiae* AG5 (GBS) vaccine had the highest protective effect on red tilapia of 50% at the vaccine dose of 10^7 CFU/g of feed. The study also showed that red tilapia had an immune response with the mean antibody titers in the vaccine treatments, ranging from 2.24 ± 0.20 to 3.59 ± 0.42 ($P < 0.05$).

Cited as: Le, H. V., Tran, M. T., Trinh, C. V., Bui, H. C. N., & Ngo, T. P. H. (2024). Evaluation of the protective efficacy of inactivated vaccines from wild-type *Streptococcus agalactiae* (GBS) on red Tilapia (*Oreochromis* sp.). *The Journal of Agriculture and Development* 23(1), 25-39.

Đánh giá hiệu quả bảo vệ của vắc-xin bất hoạt từ *Streptococcus agalactiae* (GBS) hoang dại trên cá rô phi đỏ (*Oreochromis* sp.)

Lê Văn Hậu^{1*}, Trần Thị Mai², Trịnh Văn Có³, Bùi Nguyễn Chí Hiếu¹ & Ngô Huỳnh Phương Thảo¹

¹Phòng Công Nghệ Sinh Học Thủy Sản, Trung Tâm Công Nghệ Sinh Học TP.HCM, TP. Hồ Chí Minh

²Khoa Khoa Học Sinh Học, Trường Đại Học Nông Lâm TP.HCM, TP. Hồ Chí Minh

³Khoa Khoa Học Ứng Dụng, Trường Đại Học Tôn Đức Thắng, TP. Hồ Chí Minh

THÔNG TIN BÀI BÁO

Bài báo khoa học

Ngày nhận: 25/04/2023

Ngày chỉnh sửa: 10/08/2023

Ngày chấp nhận: 06/09/2023

Từ khóa

Bệnh phù mắt xuất huyết

Cá rô phi đỏ

Oreochromis sp.

Streptococcus agalactiae

Vắc-xin bất hoạt

Tác giả liên hệ

Lê Văn Hậu

Email:

lvhau.snn@tphcm.gov.vn

TÓM TẮT

Vi khuẩn *Streptococcus agalactiae* gây bệnh phù mắt, xuất huyết trên cá rô phi đỏ đang là vấn đề gây thiệt hại nghiêm trọng cho ngành nuôi trồng thủy sản. Nghiên cứu được thực hiện nhằm đánh giá hiệu quả bảo vệ của vắc-xin *S. agalactiae* AG5 (thuộc nhóm B, GBS) bất hoạt bằng formol trên cá rô phi đỏ (*Oreochromis* sp.) bằng phương pháp cho ăn. Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên và cá được cho ăn thức ăn đã trộn vắc-xin với nồng độ lần lượt là 10^4 ; 10^5 ; 10^6 ; 10^7 ; 10^8 CFU/g. Sau 3 tuần, tiến hành cảm nhiễm với chủng *S. agalactiae* AG5 bằng phương pháp tiêm $100 \mu\text{L}$ vào ổ bụng theo liều $\text{LD}_{50} = 6,87 \times 10^3$ CFU/mL, theo dõi trong 1 tuần sau cảm nhiễm để xác định hiệu quả bảo vệ RPS. Mẫu cá chết được ghi nhận triệu chứng và cấy ria mẫu não trên môi trường TSA, ủ ở 28°C trong 24 giờ. Sau đó, các khuẩn lạc được kiểm tra bằng PCR với cặp primer đặc hiệu F1/IMOD. Kết quả cho thấy vắc-xin bất hoạt *S. agalactiae* AG5 (GBS) cho hiệu quả bảo vệ trên cá rô phi đỏ cao nhất là 50% ở liều vắc-xin nồng độ 10^7 CFU/g. Đồng thời, nghiên cứu cho thấy cá rô phi đỏ có đáp ứng miễn dịch với hiệu giá kháng thể trung bình ở các nghiệm thức sử dụng vắc-xin từ $2,24 \pm 0,20$ đến $3,59 \pm 0,42$ ($P < 0,05$).

1. Đặt Vấn Đề

Ở nước ta những năm gần đây, cá rô phi đỏ (*Oreochromis* sp.) được nuôi trồng phổ biến và rộng rãi ở các tỉnh miền Đông và Tây Nam Bộ, mang lại nguồn giá trị kinh tế lớn. Tuy nhiên, việc chuyển đổi cơ cấu nuôi trồng sang nuôi thâm canh đã gây nên nhiều hệ lụy đối với môi trường, nghiêm trọng hơn là gây ra nhiều loại dịch bệnh. Một trong những bệnh nguy hiểm đối với cá rô phi đỏ (*Oreochromis* sp.) là bệnh

phù mắt, xuất huyết do vi khuẩn *Streptococcus agalactiae* gây ra. Bệnh có tần suất xuất hiện từ 95 - 100% ở các tháng có nhiệt độ cao với tỷ lệ gây chết cộng dồn lên đến 42 - 100% đàn cá nuôi, làm thiệt hại nghiêm trọng cho nghề nuôi cá rô phi tại Việt Nam; do việc dùng kháng sinh không đúng cách, vi khuẩn kháng kháng sinh nên điều trị bệnh bằng kháng sinh không hiệu quả (Pham & ctv., 2013). Vì vậy, việc tìm ra giải pháp thay thế cho kháng sinh để phòng bệnh phù mắt, xuất

huyết trên cá rô phi an toàn, hiệu quả và giảm thiểu ô nhiễm môi trường là vô cùng cần thiết.

Vắc-xin bất hoạt thường được tạo ra từ việc làm mất khả năng lây nhiễm của mầm bệnh thông qua các quá trình như nhiệt độ, bức xạ hay sử dụng formol (Munang'andu & ctv., 2014; Ma & ctv., 2019). Vắc-xin bất hoạt được xem là an toàn do kháng nguyên của chúng không có khả năng lây nhiễm, ổn định và chi phí thấp (Biering & ctv., 2005; Baxter, 2007). Vắc-xin phòng bệnh do *S. agalactiae* ở cá rô phi đã được nghiên cứu và ứng dụng phổ biến tại nhiều nơi trên thế giới (Evans & ctv., 2004; Giordano & ctv., 2010; Chen & ctv., 2012). Phương pháp chế tạo vắc-xin bất hoạt bằng formol được áp dụng rộng rãi và được nhiều nhà khoa học áp dụng hiện nay. Trong nghiên cứu này, chúng tôi sử dụng chủng *Streptococcus agalactiae* AG5 (Group B *Streptococcus*, GBS) hoang dại phân lập từ mẫu bệnh phẩm cá rô phi đỏ nuôi bè tại huyện Chợ Mới, tỉnh An Giang để điều chế vắc-xin bất hoạt bằng formol nhằm hướng đến nâng cao hiệu quả bảo vệ RPS của vắc-xin trong phòng bệnh phù mát, xuất huyết trên cá rô phi đỏ.

2. Vật Liệu và Phương Pháp Nghiên Cứu

2.1. Vật liệu

Chủng vi khuẩn *S. agalactiae* AG5 được phân lập trên mẫu cá rô phi đỏ nuôi bè tại Chợ Mới, An Giang và đã được định danh sinh học phân tử (Le & ctv., 2022).

Hóa chất sử dụng trong phòng thí nghiệm: TSA (Tryptone soya agar, Himedia); TSB (Tryptone soya broth, Himedia), formol 37% (Merk), $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ (Merk).

Hệ thống thí nghiệm được bố trí tại phòng thí nghiệm thuộc Trung tâm Công nghệ Sinh học TP. Hồ Chí Minh, gồm bể composite 500 lít và 1.000 lít được dùng để ương cá thí nghiệm từ cá bột và bể nhựa 60 lít được dùng để bố trí các

thí nghiệm. Trước khi sử dụng, bể được vệ sinh kỹ bằng xà phòng và chlorine, phơi khô, sau đó cấp nước vào bể và sục khí trước khi bố trí cá thí nghiệm và trong thời gian thực hiện thí nghiệm.

Cá bột được mua từ trại sản xuất cá rô phi ở Tiền Giang được nuôi trong bể composite 500 lít theo quy trình nuôi cá sạch bệnh tại Trung tâm Công nghệ Sinh học TP.HCM. Cá trọng lượng 5 - 7 g/con được sử dụng cho các thử nghiệm, cá được kiểm tra ngẫu nhiên bằng cách mổ quan sát bệnh tích và xác định không nhiễm bệnh bằng cách cấy ria mẫu nội tạng và não trên môi trường TSA, ủ ở 28°C, trong 24 giờ. Quan sát hình thái nếu có xuất hiện khuẩn lạc nghi ngờ mọc lên môi trường sẽ được kiểm tra bằng và PCR với cặp primer đặc hiệu cho chủng *S. agalactiae*, sản phẩm được điện di trên gel agarose 1,5%.

2.2.1. Định danh, đặc điểm sinh hóa của chủng *S. agalactiae* AG5

Định danh chủng *S. agalactiae* AG5 thuộc Group B *Streptococcus* (GBS) với mỗi đặc hiệu: F-GBS/R-GBS có trình tự F-GBS: 5'-CGCTGAGGTTTGGTGTTTACA-3'; R-GBS: 5'-CACTCCTACCAACGTTCTTC-3' (Mousavi & ctv., 2016). Chu kỳ nhiệt của phản ứng bao gồm: 94°C trong 5 phút; sau đó thực hiện 94°C trong 30 giây, 56°C trong 1 phút, 72°C trong 1 phút, lặp lại chu kỳ trên trong 30 lần; 7 phút ở 72°C. Sản phẩm PCR sau khi khuếch đại được điện di trên gel 1% agarose (abm) trong dung dịch đệm TAE 0,5X (10 mM Tris, 5 mM acetate, 0,1 mM EDTA). Sản phẩm khuếch đại đặc hiệu với DNA của vi khuẩn *S. agalactiae* (Group B *Streptococcus*, GBS) có kích thước tương ứng 405 bp.

Xác định kiểu huyết thanh: Sử dụng theo hướng dẫn Kit Strep-B-Latex (GBS; Đan Mạch).

Kiểm tra khả năng dung huyết: Cấy ria khuẩn lạc trên môi trường thạch 5% máu cừu (Công ty

TNHH Nam Khoa). Ủ 28°C trong 48 giờ sau đó xác định kiểu dung huyết α , β (tan thạch máu), γ (không làm tan thạch máu).

2.1.3. Chuẩn bị vắc-xin bất hoạt

Chủng vi khuẩn *S. agalactiae* AG5 thuần được nhân sinh khối trong môi trường TSB và lắc 250 vòng/phút, 28°C, 24 giờ. Dịch nuôi cấy được ly tâm ở 4.000 vòng/phút, 15 phút, 4°C để loại bỏ dịch nổi thu sinh khối, sau đó sinh khối được huyền phù trong nước muối sinh lý (0,85% NaCl) với thể tích bằng với thể tích ban đầu. Kiểm tra mật độ vi khuẩn bằng phương pháp đo mật độ quang học ở bước sóng 620 nm ($OD = 1,1 - 1,2$ tương ứng mật độ 10^9 CFU/mL) và trải đĩa ủ ở điều kiện 28°C trong 24 giờ, sau đó đếm khuẩn lạc.

Tiếp tục, dịch vi khuẩn được bất hoạt bằng dung dịch formol 37% với thể tích là 625 μ L formol/50 mL dung dịch huyền phù, sử dụng máy khuấy từ trong 24 giờ, trong tủ 4°C nhằm đảm bảo ổn định tính kháng nguyên (Munang'andu &

ctv., 2014; Ma & ctv., 2019); bổ sung 1 mL dung dịch $Na_2S_2O_5$ 15% để trung hòa formol trong 72 giờ. Dung dịch vi khuẩn bất hoạt được ly tâm ở 4.000 vòng/phút, 15 phút, 4°C để loại bỏ dịch nổi, sau đó huyền phù trong nước muối sinh lý 0,85% với thể tích bằng với thể tích ban đầu. Dịch khuẩn được rửa thêm 2 lần để loại bỏ hoàn toàn formalin. Khả năng sống sót của vi khuẩn sau khi bất hoạt được kiểm tra bằng cách trải dịch khuẩn trên đĩa môi trường TSA, ủ 28°C trong thời gian 24 giờ. Vi khuẩn bất hoạt hoàn toàn (không có khuẩn lạc phát triển trên đĩa TSA) mới được sử dụng làm vắc-xin. Cuối cùng sinh khối được huyền phù trong nước muối sinh lý 0,85% và pha loãng đến $OD_{620} \sim 1,1 - 1,2$ (mật độ vi khuẩn tương đương 10^9 CFU/mL). Bảo quản dịch khuẩn bất hoạt ở 4°C.

2.1.4. Chuẩn bị thức ăn cho cá

Sử dụng thức ăn công nghiệp dạng viên dành cho cá rô phi, trộn theo công thức nêu tại Bảng 1. Thời gian bảo quản thức ăn đã trộn vắc-xin là 1 tuần ở 4°C.

Bảng 1. Công thức phối trộn vắc-xin *S. agalactiae* AG5 bất hoạt vào thức ăn

Nghiệm thức (NT) (CFU/g)	Nồng độ cuối vắc-xin	Công thức thành phần phối trộn	Ghi chú
NT1	10^8	1 mL vắc-xin gốc (10^9 CFU/mL) + 4 mL nước muối sinh lý 0,85% sau đó trộn với 10 g thức ăn	Sấy 41°C trong thời gian 60 phút. Độ ẩm Rh = $11 \pm 0,5\%$
NT2	10^7	1 mL vắc-xin (đã pha loãng thành nồng độ 10^8 CFU/mL) + 4 mL nước muối sinh lý 0,85% sau đó trộn với 10 g thức ăn	
NT3	10^6	1 mL vắc-xin (đã pha loãng thành nồng độ 10^7 CFU/mL) + 4 mL nước muối sinh lý 0,85% sau đó trộn với 10 g thức ăn	
NT4	10^5	1 mL vắc-xin (đã pha loãng thành nồng độ 10^6 CFU/mL) + 4 mL nước muối sinh lý 0,85% sau đó trộn với 10 g thức ăn	
NT5	10^4	1 mL vắc-xin (đã pha loãng thành nồng độ 10^5 CFU/mL) + 4 mL nước muối sinh lý 0,85% sau đó trộn với 10 g thức ăn	

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Xác định LD₅₀ của chủng *S. agalactiae* AG5 hoang dại

Chủng vi khuẩn *S. agalactiae* AG5 được lấy ra từ tủ -80°C, tiến hành cấy ria hoạt hoá trên đĩa môi trường TSA, ủ ở 28°C trong thời gian 24 giờ. Chủng được tiếp tục tăng sinh trong môi trường TSB từ khuẩn lạc, lắc 250 rpm ở điều kiện 28°C trong thời gian 24 giờ. Thực hiện ly tâm 4.000 rpm, 4°C với thời gian 10 phút. Thu cận loại bỏ dịch nổi, sau đó huyền phù cận với nước muối sinh lý 0,85% sau cho OD = 1,1 - 1,2 (mật độ tương ứng 10⁹ CFU/mL). Tiến hành pha loãng giảm 10 lần, trải 100 µL dịch pha loãng trên đĩa môi trường TSA, ủ ở 28°C trong thời gian 24 giờ và đếm khuẩn lạc kiểm tra mật độ.

Thí nghiệm được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên gồm 6 nghiệm thức, trong đó: 5 nghiệm thức NT1, NT2, NT3, NT4, NT5 tiêm với chủng vi khuẩn *S. agalactiae* AG5 lần lượt tương ứng 5 nồng độ 10⁷; 10⁶; 10⁵; 10⁴; 10³ CFU/mL; nghiệm thức đối chứng (NT6) tiêm nước muối sinh lý 0,85%. Mỗi nghiệm thức lặp lại 3 lần, mật độ 10 con/lần lặp lại, tiêm với lượng 100 µL/cá, trọng lượng cá thí nghiệm 5 - 7 g/con. Dịch khuẩn được tiêm vào phần bụng phía dưới của vây bụng, hướng về phía trước một góc 45°. Sau đó, cá được thả lại bể nuôi 60 lít và theo dõi, ghi nhận biểu hiện triệu chứng và số lượng cá chết trong vòng 14 ngày. Cá được cho ăn ngày 2 lần, lượng thức ăn cho ăn tương đương 5% trọng lượng của cá. Cá chết theo từng ngày sẽ được thu nhận, những mẫu cá có biểu hiện đặc trưng như lồi mắt được mổ và cấy dịch ổ bụng và não cá trên môi trường TSA ủ 28°C trong thời gian 24 giờ. Hình thái khuẩn lạc được quan sát và kiểm tra bằng PCR với cặp mồi đặc hiệu F1/IMOD có trình tự F1 (5' GAGTTTGATCATGGGTCAG 3') và IMOD (5' ACCAACATGTGTTAATTACTC 3') (Channarong & ctv., 2012); chu kì nhiệt của phản ứng bao gồm: 95°C trong 5 phút; sau đó

thực hiện 95°C trong 1 phút, 58°C trong 1 phút, 72°C trong 1 phút, lặp lại chu kỳ trên trong 35 lần; 7 phút ở 72°C. Sản phẩm PCR sau khi khuếch đại được điện di trên gel 1% agarose (abm) trong dung dịch đệm TAE 0,5X (10 mM Tris, 5 mM acetate, 0,1 mM EDTA). Sản phẩm khuếch đại đặc hiệu với DNA của vi khuẩn *S. agalactiae* có kích thước tương ứng 220 bp.

Xác định LD₅₀ chủng vi khuẩn *S. agalactiae* AG5 hoang dại theo phương pháp của Reed & Muench (1938) theo công thức:

$$LD_{50} = 10^{a-x}$$

Trong đó:

a là số lũy thừa mà tại đó vi khuẩn gây chết cá thấp nhất (trên 50%)

x được tính dựa vào công thức:

$$x = (Pa - 50) / (Pa - Pu)$$

Với Pa là tỉ lệ cận trên và Pu là tỉ lệ cận dưới của nồng độ gây chết 50%.

2.2.2. Đánh giá tính an toàn của vắc-xin trên cá rô phi

Bố trí thí nghiệm: Thí nghiệm được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên gồm 3 nghiệm thức, trong đó có 1 nghiệm thức đối chứng, cá được cho ăn thức ăn không trộn vắc-xin (Đối chứng âm); 2 nghiệm thức còn lại cá được cho ăn thức ăn đã trộn vắc-xin ở 2 nồng độ 10⁸ và 10⁹ CFU/g (Bảng 2). Mỗi nghiệm thức lặp lại 3 lần, mật độ 20 con/bể 60 lít, phòng có máy lạnh điều hoà nhiệt độ ổn định ở 28°C, có hệ thống thổi khí và cấp thoát nước độc lập cho từng bể nuôi. Cá được cho ăn 1 lần duy nhất vào ngày bắt đầu thử nghiệm và theo dõi liên tục trong 3 tuần. Nếu không gây chết cá thì vắc-xin được đánh giá an toàn cho vật chủ.

Bảng 2. Bố trí thí nghiệm đánh giá tính an toàn của vắc-xin bất hoạt bằng phương pháp cho ăn

Nghiệm thức (NT) (CFU/g)	Nồng độ	Số lần lặp lại	Số cá mỗi bể thí nghiệm (con)
NT1	10 ⁹	3	20
NT2	10 ⁸	3	20
Đối chứng âm	-	3	20

2.2.3. Đánh giá hiệu quả bảo vệ của vắc-xin bằng phương pháp cho ăn

Cho cá ăn thức ăn trộn vắc-xin tạo miễn dịch

Thí nghiệm gồm 7 nghiệm thức. Trong đó, 5 nghiệm thức, cá được cho ăn thức ăn đã trộn vắc-xin với nồng độ lần lượt là 10⁴; 10⁵; 10⁶; 10⁷; 10⁸ CFU/g. Ở nghiệm thức đối chứng dương, cá được ăn với thức ăn không trộn vắc-xin nhưng được tiêm công độc với chủng *S. agalactiae* AG5. Ở nghiệm thức đối chứng âm, cá được cho ăn thức ăn không trộn vắc-xin và không công độc với chủng *S. agalactiae* AG5. Mỗi nghiệm thức lặp lại 3 lần với mật độ cá là 20 con/bể, có hệ thống thổi khí và cấp thoát nước độc lập cho từng bể nuôi. Cá được cho ăn thức ăn trộn vắc-xin 1 lần/tuần, lượng thức ăn cho ăn tương đương 5% trọng lượng của cá, cho ăn lặp lại liên tục trong vòng 3 tuần. Nước trong bể sẽ thay 3 ngày một lần, thay 50 - 80% lượng nước. Thí nghiệm được thực hiện trong phòng có máy lạnh điều hòa nhiệt độ ổn định ở 28°C (phù hợp với nhiệt độ gây độc của vi khuẩn gây bệnh).

Xác định hiệu quả bảo vệ RPS của vắc-xin bất hoạt

Sau 21 ngày kể từ ngày cho ăn thức ăn trộn vắc-xin theo các nồng độ khác nhau, cá được gây cảm nhiễm với vi khuẩn *S. agalactiae* AG5 bằng phương pháp tiêm liều LD₅₀ và theo dõi trong vòng 1 tuần. Cá chết theo từng ngày được thu nhận, mẫu cá có biểu hiện đặc trưng sẽ được mổ quan sát và cấy ria dịch bụng và não cá trên môi trường TSA, ủ ở 28°C trong 24 giờ. Hình thái

vi khuẩn lạc được quan sát và kiểm tra bằng PCR với cặp primer đặc hiệu F1/IMOD.

Hiệu quả bảo vệ được xác định thông qua tỷ lệ sống tương đối RPS (Relative percentage survival) theo công thức của Amend (1981):

$$RPS (\%) = (1 - A/B) \times 100$$

(A: Tỷ lệ cá chết của nghiệm thức sử dụng vắc-xin; B: Tỷ lệ cá chết của nghiệm thức đối chứng).

2.2.4. Xác định hiệu quả kháng thể

Ly trích huyết thanh: Sử dụng kim tiêm 1 mL, lấy máu tại mạch chủ cuống đuôi cho vào ống eppendorf 1,5 mL và để yên 2 - 3 giờ ở 4°C, sau đó ly tâm 6.000 vòng/phút trong 5 phút. Thu huyết thanh và sử dụng thực hiện phản ứng ngưng kết kháng nguyên - kháng thể.

Chuẩn bị kháng nguyên: vi khuẩn *S. agalactiae* AG5 được tăng sinh và bất hoạt bằng formol, rửa sạch formol bằng nước muối sinh lý và bảo quản trong 4°C (tương tự 2.1.3)

Phản ứng vi ngưng kết kháng nguyên - kháng thể: Được thực hiện trên đĩa nhựa (microplate) 96 giếng theo phương pháp của Roberson (1990). Dùng 40 µL nước muối sinh lý 0,85% cho vào các giếng đã đánh số từ 2 đến 12, cho 40 µL huyết thanh vào giếng số 1 và 2. Từ giếng 2 trở đi, pha loãng huyết thanh bằng nước muối sinh lý với nồng độ pha loãng bằng ½. Cuối cùng, 40 µL vắc-xin được cho vào các giếng và trộn đều bằng pipet. Mỗi đĩa 96 giếng có sử dụng một đối chứng

dương và một đối chứng âm (nước muối sinh lý 0,85%). Để yên 4 - 5 giờ ở nhiệt độ phòng. Kết quả dương tính (+) khi đáy giếng tạo thành một lớp ngưng kết trải rộng và kết quả âm tính (-) khi đáy giếng chỉ có một chấm nhỏ màu trắng. Hiệu giá kháng thể là tần số xuất hiện kháng thể ở độ pha loãng cao nhất có hiện tượng ngưng kết. Hiệu giá kháng thể trung bình (HGKTTB) là số trung bình của hiệu giá kháng thể trong cùng một nghiệm thức (Tu & ctv., 2013; Nguyen & ctv., 2019).

2.2.5. Phương pháp xử lý số liệu

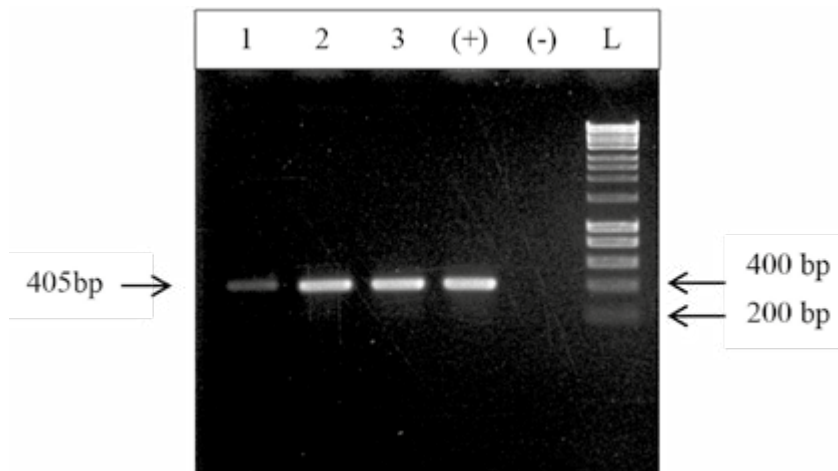
Tất cả các dữ liệu được xử lý phân tích ANOVA một nhân tố và phép thử Duncan ở

mức ý nghĩa $P < 0,05$ và vẽ biểu đồ bằng phần mềm GraphPad Prism 9.

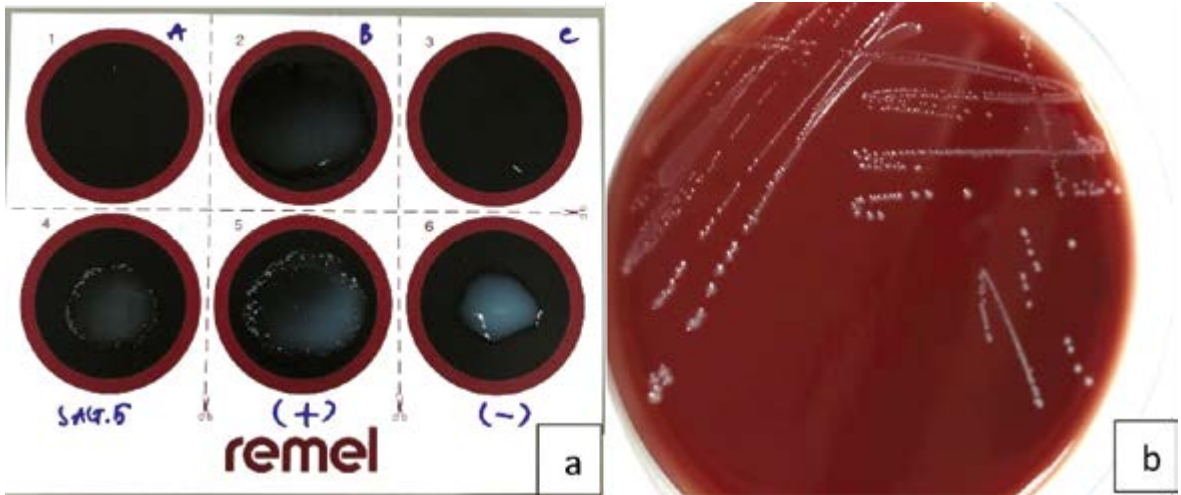
3. Kết Quả và Thảo Luận

3.1. Định danh, đặc điểm sinh hóa chủng vi khuẩn *S. agalactiae* AG5

Kết quả định danh chủng *S. agalactiae* AG5 thuộc Group B *Streptococcus* (GBS) với mỗi F-GPS/R-GPS cho kích thước sản phẩm tương ứng 405 bp (Hình 1). Chủng vi khuẩn *S. agalactiae* AG5 cho phản ứng ngưng kết (GBS) ở Hình 2.



Hình 1. Kết quả điện di PCR các mẫu DNA *S. agalactiae* với cặp primer đặc hiệu GBS: F-GBS/R-GBS. Giếng 1 - 3: DNA *S. agalactiae* VL40, AG5, Q9.9; Giếng (+): Đối chứng dương *S. agalactiae* GBS được cung cấp bởi Đại học Nông Lâm Huế; Giếng (-): Đối chứng âm; Giếng (L): Thang DNA chuẩn 1 kb.



Hình 2. Chủng vi khuẩn *S. agalactiae* AG5 cho phản ứng ngưng kết (GBS) (a); chủng vi khuẩn *S. agalactiae* AG5 cho kết quả dung huyết γ (không gây tan huyết) trên môi trường thạch máu cừu 5% (b).

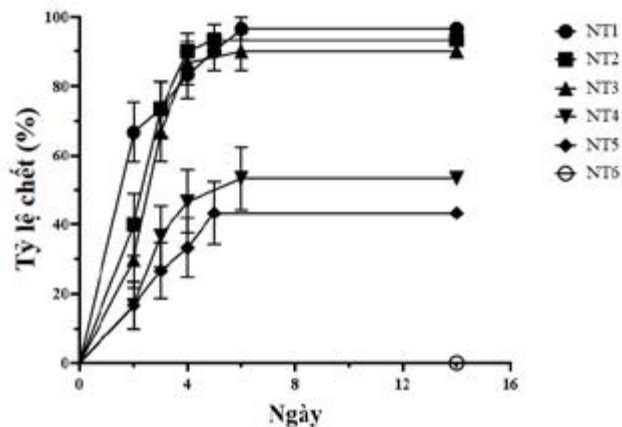
3.2. Vắc-xin bất hoạt từ chủng vi khuẩn *S. agalactiae* AG5

Sinh khối vi khuẩn *S. agalactiae* AG5 sau lên men được huyền phù với nước muối sinh lý có giá trị OD là 1,2 với mật độ tương ứng sau trải kiểm tra mật độ đạt $2,3 \times 10^9$ CFU/mL. Sau khi bất hoạt bằng formol, vắc-xin được trải kiểm tra trên môi trường TSA và không thấy mọc khuẩn lạc, điều đó cho thấy chủng vi khuẩn *S. agalactiae*

AG5 đã hoàn toàn bất hoạt và không có khả năng gây bệnh cho vật chủ.

3.3. Giá trị LD_{50} của chủng vi khuẩn *S. agalactiae* AG5

Sau 14 ngày thí nghiệm cảm nhiễm với chủng vi khuẩn *S. agalactiae* AG5 tỷ lệ cá chết được trình bày ở Hình 3.



Hình 3. Tỷ lệ cá chết tích lũy (%) khi tiêm chủng vi khuẩn *S. agalactiae* AG5 hoang dại ở các nồng độ vi khuẩn khác nhau vào ổ bụng cá trong thời gian 14 ngày theo dõi.

Bảng 3. Kết quả xác định liều gây chết 50% (LD₅₀) của chủng *S. agalactiae* AG5 hoang dại trên cá rô phi đỏ giống

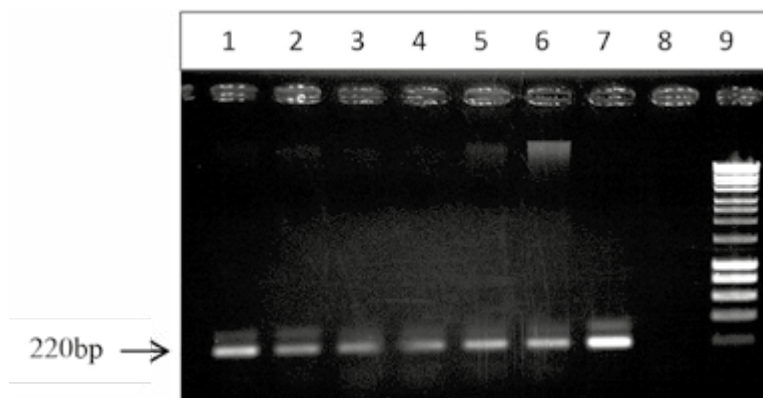
Nghiệm thức (NT)	Nồng độ (CFU/mL)	Tỷ lệ cá chết (%) ± độ lệch chuẩn
NT1	10 ⁷	96,67*** ± 4,71
NT2	10 ⁶	93,33*** ± 9,43
NT3	10 ⁵	90,00*** ± 8,16
NT4	10 ⁴	53,33** ± 17,00
NT5	10 ³	43,33* ± 4,71
Đối chứng	0	0

Ghi chú: * Khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$), ** Khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P < 0,01$), *** khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P < 0,001$).

Trong thử nghiệm xác định LD₅₀ của chủng vi khuẩn *S. agalactiae* AG5 bằng phương pháp tiêm vào ổ bụng, tỷ lệ cá chết sau khi tiêm với chủng vi khuẩn *S. agalactiae* AG5 ở các nồng độ 10³; 10⁴; 10⁵; 10⁶; 10⁷ CFU/mL lần lượt là 43,33 ± 4,71%; 53,33 ± 17,00%; 90,00 ± 8,16%; 93,33 ± 9,43%; 96,67 ± 4,71%, không có cá chết ở nghiệm thức đối chứng âm (tỷ lệ cá chết là 0%; Bảng 3). Phân tích số liệu bằng phần mềm GraphPad Prism 9 cho thấy các nghiệm thức có ý nghĩa

thống kê ($P < 0,001$). Giá trị LD₅₀ của chủng vi khuẩn *S. agalactiae* AG5 được xác định là 6,87 x 10³ CFU/mL.

Các khuẩn lạc cấy ria từ mẫu cá chết được tách DNA và kiểm tra bằng PCR với cặp mồi đặc hiệu, sản phẩm được điện di cho kết quả có kích thước tương ứng 220 bp (Hình 4.). Có thể thấy cá chết trong thử nghiệm nguyên nhân là do *S. agalactiae* AG5 gây ra.



Hình 4. Kết quả điện di PCR khuẩn lạc sau khi công độc với cặp primer đặc hiệu F1/IMOD. Giếng 1 - 6: DNA khuẩn lạc cấy ria từ mẫu cá chết; Giếng 7: Đối chứng (+) *S. agalactiae* được cung cấp bởi Đại học Nông Lâm Huế; Giếng 8: Đối chứng (-); Giếng 9: Thang DNA chuẩn 1 kb.

3.4. Kết quả đánh giá tính an toàn của vắc-xin trên cá rô phi

Bảng 4. Tỷ lệ cá sống ở thử nghiệm đánh giá tính an toàn của vắc-xin trên cá rô phi giống bằng phương pháp cho ăn

Nghiệm thức (NT)	Vắc-xin	Nồng độ vắc-xin (CFU/g)	Tỷ lệ sống (%) ± độ lệch chuẩn
NT1	<i>S. agalactiae</i> AG5 bất hoạt	10 ⁹	100 ± 0,0
NT2	<i>S. agalactiae</i> AG5 bất hoạt	10 ⁸	100 ± 0,0
NT3	Đối chứng âm	0	100 ± 0,0

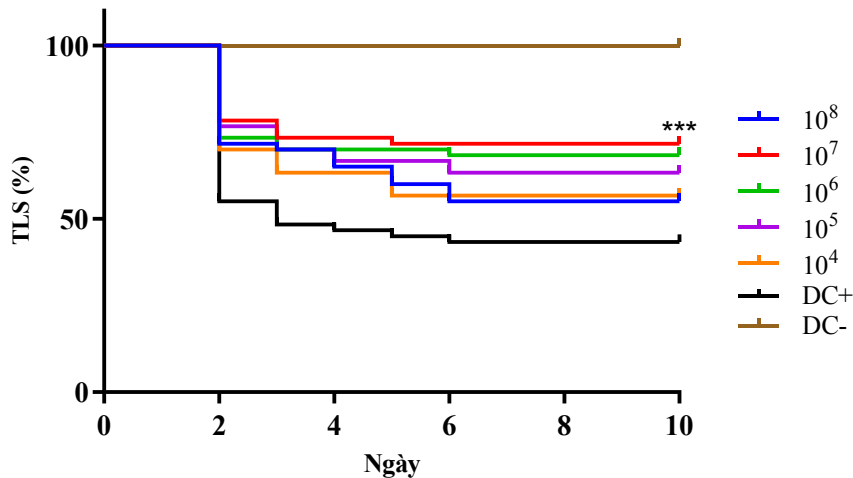
Tình trạng của cá sau 3 tuần tiêm vắc-xin: cá bơi nhanh nhẹn, phản ứng nhanh với tiếng động, vây và đuôi không bị mòn rách, thân cá không có vết trầy xước hay xuất huyết. Tỷ lệ sống của cá ở các nghiệm thức tiêm vắc-xin là 100% (Bảng 4).

Như vậy, vắc-xin bất hoạt tạo từ chủng vi khuẩn *S. agalactiae* AG5 hoàn toàn an toàn cho cá.

3.5. Hiệu quả bảo vệ RPS của vắc-xin bất hoạt bằng phương pháp cho ăn



Hình 5. Hệ thống thử nghiệm hiệu quả bảo vệ RPS (relative percentage survival) vắc-xin bất hoạt chủng *S. agalactiae* AG5 trên cá rô phi đực 5 - 7 g/con (trái); trọng lượng và kích cỡ cá rô phi đực dùng trong thử nghiệm (phải).



Hình 6. Tỷ lệ sống (TLS) sót tích lũy thử nghiệm đánh giá hiệu quả bảo vệ RPS (relative percentage survival) sau cảm nhiễm chủng *S. agalactiae* AG5 hoang dại liều LD₅₀.

Kết quả cảm nhiễm với chủng vi khuẩn *S. agalactiae* AG5 ở nồng độ LD₅₀ được thể hiện ở Bảng 5. Các số liệu đã được xử lý thống kê cho thấy có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P < 0,001$).

Bảng 5. Tỷ lệ cá chết và hiệu quả bảo vệ của vắc-xin bằng phương pháp cho ăn

Nghiệm thức (NT)	Nồng độ vắc-xin (CFU/g)	Tỷ lệ cá chết (%) ± độ lệch chuẩn	Relative percentage survival (RPS) (%)
NT1	10 ⁸	45,00 ^{ns} ± 7,01	20,59
NT2	10 ⁷	28,33 ^{***} ± 2,36	50,00
NT3	10 ⁶	31,67 ^{***} ± 2,36	44,11
NT4	10 ⁵	36,67 ^{**} ± 2,36	35,29
NT5	10 ⁴	43,33 ^{ns} ± 6,24	23,54
NT6 (Đối chứng (+))	0	56,67 ± 4,71	-
NT7 (Đối chứng (-))	0	00,00	-

Ghi chú: ** Khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P < 0,01$), *** khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P < 0,001$), ns không khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P > 0,05$).

Dựa vào Bảng 5. có thể thấy rằng, trong điều kiện phòng thí nghiệm, vắc-xin bất hoạt từ vi khuẩn *S. agalactiae* AG5 nồng độ 10⁴; 10⁵; 10⁶ và 10⁸ CFU/g có tỷ lệ cá chết trên 30%, hiệu quả bảo vệ RPS dưới 45% có thể do cơ thể của cá dung nạp một lượng lớn kháng nguyên vượt mức cho phép

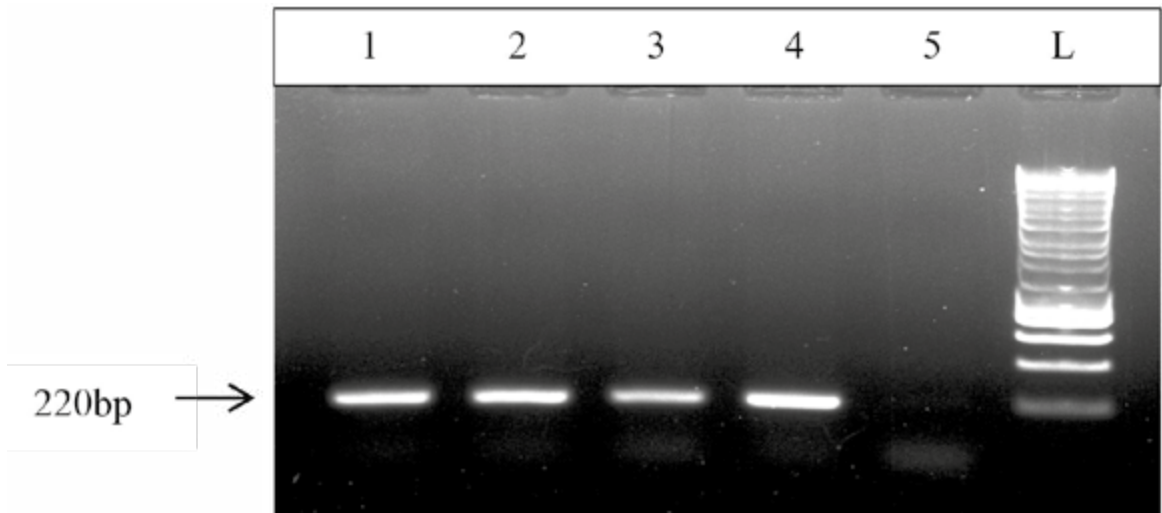
nên ảnh hưởng khả năng sinh miễn dịch trong cơ thể. Ở nghiệm thức sử dụng thức ăn trộn vắc-xin bất hoạt ở nồng độ 10⁷ CFU/g, hiệu quả bảo vệ cao nhất đạt 50%. Vắc-xin tiêm được xem có hiệu quả khi có chỉ số RPS cao hơn 60% (Amend, 1981). Đối với vắc-xin cho ăn cho thấy hiệu quả

bảo vệ RPS thấp hơn vắc-xin tiêm, nghiên cứu ảnh hưởng vắc-xin *S. agalactiae* bất hoạt trên cá rô phi đốm áp dụng thông qua phương pháp cho ăn, hiệu quả bảo vệ RPS chỉ đạt 45% (Ismail & ctv., 2016). So với kết quả trong nghiên cứu này cho thấy vắc-xin *S. agalactiae* AG5 bất hoạt có tỉ lệ hiệu quả bảo vệ RPS cao hơn. Khuyến cáo cần điều chỉnh lượng vắc-xin bất hoạt ở nồng độ 10^7 CFU/g thức ăn để mang lại hiệu quả tốt nhất.

Cá chết theo từng ngày được thu nhận, mẫu cá có biểu hiện đặc trưng được mổ và cấy ria mẫu não cá trên môi trường TSA, ủ ở 28°C trong vòng 24 giờ, xuất hiện khuẩn lạc tương tự *S. agalactiae* (Hình 7). Kết quả điện di sản phẩm PCR khuẩn lạc với cặp mồi F1/IMOD từ mẫu cá chết ở các nghiệm thức đều cho kết quả dương tính với *S. agalactiae* khi có kích thước sản phẩm tương ứng 220 bp (Hình 8). Điều này cho thấy cá chết trong thử nghiệm là do vi khuẩn *S. agalactiae* AG5 gây ra.



Hình 7. Khuẩn lạc vi khuẩn *S. agalactiae* AG5 được cấy ria từ dịch ở bụng và não cá chết sau 24 giờ ủ ở 28°C.



Hình 8. Kết quả điện di sản phẩm PCR khuẩn lạc phân lập từ mẫu cá chết với cặp primer F1/IMOD. Giếng 1 - 3: DNA mẫu cá chết; Giếng 4: ĐC (+); DNA *S. agalactiae*; Giếng 5: ĐC (-); Giếng L: thang DNA chuẩn 1 kb.

Theo nghiên cứu của Nguyen & Dang (2019), bằng phương pháp tiêm cá với vắc-xin *S. agalactiae* bất hoạt, hiệu lực của vắc-xin là 80,1% ở nghiệm thức tiêm 0,05 mL vắc-xin/cá và 88,1% ở 2 nghiệm thức tiêm 0,1 mL và 0,2 mL vắc-xin/cá; thí nghiệm tiêm vắc-xin *S. agalactiae* bất hoạt của Nguyen & ctv. (2019), hiệu quả đạt 62,5%. Một nghiên cứu khác của nhóm tác giả Ho & ctv. (2019) khi tiến hành làm thử nghiệm đánh giá tính an toàn và hiệu lực của vắc-xin Han-Streptila từ chủng *S. agalactiae* với phương pháp tiêm trên cá rô phi có khối lượng từ 10 g/con trở lên, hiệu quả đạt 66,9% sau 24 tuần. Phương pháp cho ăn trên cá có khối lượng từ 2,5 g/con trở lên hiệu quả đạt 63,9% sau 24 tuần. Như vậy, có thể thấy hiệu quả bảo vệ mà phương pháp tiêm vắc-xin mang lại cao hơn so với phương pháp cho ăn thức ăn chứa vắc-xin. Nguyên nhân là khi sử dụng phương pháp tiêm, vắc-xin đi trực tiếp vào cơ thể cá, làm cho lượng kháng thể sinh ra nhiều dẫn đến hiệu quả bảo vệ cao. Còn đối với phương pháp cho ăn, một nhược điểm của phương pháp này là việc không đồng nhất về hiệu quả đã được nhiều nghiên cứu chỉ ra do các kháng nguyên sẽ bị giảm đi do ảnh hưởng của các enzyme tiêu hóa trong ruột cá (Hart & ctv., 1988; Nakanishi & Ototake, 1997). Tuy nhiên, phương pháp tiêm

để gây stress cho cá, đòi hỏi cá phải có kích thước lớn trong khi dịch bệnh thường xuất hiện trong giai đoạn sớm của cá. Hơn nữa, phải thực hiện tiêm trên từng cá thể, do đó người dân phải có trang thiết bị, mất nhiều thời gian, khó áp dụng cho ao nuôi diện rộng. Còn phương pháp cho ăn tuy hiệu quả bảo vệ thấp hơn nhưng đơn giản về yêu cầu kỹ thuật, dễ áp dụng cho các ao nuôi có diện tích lớn, mật độ cao, tốn ít công lao động, chi phí thấp, thời gian xử lý ngắn, ít gây tổn hại cho cá và không phải phụ thuộc vào kích thước của cá. Vì vậy, tùy theo hoàn cảnh thực tế mà ta lựa chọn phương pháp sử dụng vắc-xin phù hợp.

3.6. Hiệu giá kháng thể

Hiệu giá kháng thể trung bình (HGKTTB) ở cá rô phi đo trước khi sử dụng vắc-xin ở tất cả các nghiệm thức có giá trị từ $0,20 \pm 0,04$ đến $0,24 \pm 0,03$ khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($P > 0,05$). Kết quả sau 3 tuần sử dụng vắc-xin bằng phương pháp cho ăn cho thấy tất cả các nghiệm thức có sử dụng vắc-xin đều tăng (dao động $2,24 \pm 0,20$ đến $3,59 \pm 0,42$) và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức đối chứng không sử dụng vắc-xin $0,27 \pm 0,14$ ($P < 0,05$). Kết quả cho thấy cá rô phi đo có đáp ứng miễn dịch với vắc-xin *S. agalactiae* AG5 bất hoạt được thể hiện tại Bảng 6.

Bảng 6. Hiệu giá kháng thể trung bình của cá rô phi đo trước và sau khi cảm nhiễm với *S. agalactiae* AG5

Nghiệm thức (NT)	Trước khi cho ăn vắc-xin	Sau khi ăn vắc-xin 3 tuần, trước cảm nhiễm	Sau cảm nhiễm 10 ngày
NT1	$0,22 \pm 0,03^{aA}$	$2,24 \pm 0,20^{aB}$	$2,18 \pm 0,06^{aB}$
NT2	$0,22 \pm 0,05^{aA}$	$3,76 \pm 0,43^{dB}$	$3,59 \pm 0,42^{dB}$
NT3	$0,24 \pm 0,03^{aA}$	$3,29 \pm 0,23^{bB}$	$2,91 \pm 0,16^{bC}$
NT4	$0,21 \pm 0,04^{aA}$	$3,19 \pm 0,13^{bB}$	$2,94 \pm 0,14^{bB}$
NT5	$0,20 \pm 0,04^{aA}$	$3,43 \pm 0,31^{cB}$	$3,22 \pm 0,23^{cB}$
Đối chứng +	$0,21 \pm 0,02^{aA}$	$0,27 \pm 0,14^{aA}$	$0,21 \pm 0,14^{aA}$

Ghi chú: Các số liệu có ký tự khác nhau trong cùng một cột (a, b, c) hoặc một hàng (A, B, C) thì khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$).

Hiệu quả vắc-xin được đánh giá thông qua việc định lượng mức kháng thể và đánh giá tỉ lệ sống của cá cho ăn vắc-xin sau khi cảm nhiễm với tác nhân gây bệnh (Caipang & ctv., 2009). Kết quả nghiên cứu này tương tự với báo cáo của Nguyen & Dang (2019) và Le & ctv. (2021) sau 3 tuần tiêm vắc-xin bắt hoạt cho thấy các lô cá sử dụng vắc-xin tạo đáp ứng miễn dịch với hiệu giá kháng thể trung bình có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$) so với cá không tiêm vắc-xin. Tuy nhiên, kết quả trong nghiên cứu này cho thấy hiệu quả bảo vệ và hiệu giá kháng thể thấp hơn, có thể do phương pháp cho ăn không tạo đáp ứng miễn dịch tốt cho cá bằng phương pháp tiêm.

4. Kết Luận

Nghiên cứu này đã tạo được vắc-xin bắt hoạt từ chủng hoang dại *S. agalactiae* AG5 (GBS) bằng formol với mật độ vi khuẩn tương đương 10^9 CFU/mL. Kết quả vắc-xin được đánh giá an toàn cho cá với hiệu quả bảo vệ RPS khi cho ăn vắc-xin bắt hoạt ở nồng độ 10^4 ; 10^5 ; 10^6 và 10^8 CFU/g có tỷ lệ cá chết trên 30%, hiệu quả bảo vệ dưới 45%. Ở nghiệm thức sử dụng nồng độ 10^7 CFU/g, hiệu quả bảo vệ cao nhất đạt 50%. Kết quả nghiên cứu cho thấy cá rô phi đỏ có đáp ứng miễn dịch sau 3 tuần cho ăn vắc-xin với hiệu giá kháng thể trung bình ở các nghiệm thức sử dụng vắc-xin từ $2,24 \pm 0,20$ đến $3,59 \pm 0,42$.

Lời Cam Đoan

Chúng tôi cam đoan bài báo do nhóm tác giả thực hiện và chưa từng được công bố trong bất kỳ nghiên cứu nào khác.

Tài Liệu Tham Khảo (References)

- Amend, D. F. (1981). Potency testing of fish vaccines. *Developments in Biological Standardization* 49, 447-454.
- Baxter, D. (2007). Active and passive immunity, vaccine types, excipients and licensing. *Occupational Medicine* 57(8), 552-556. <https://doi.org/10.1093/occmed/kqm110>.
- Biering, E., Villoing, S., Sommerset, I., & Christie, K. E. (2005). Update on viral vaccines for fish. *Developments in Biologicals* 121, 97-113.
- Caipang, C. M. A., Brinchmann, M. F., & Kiron, V. (2009). Profiling gene expression in the spleen of Atlantic cod, *Gadus morhua* upon vaccination with *Vibrio anguillarum* antigen. *Comparative biochemistry and physiology. Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology* 153(3), 261-267. <https://doi.org/10.1016/j.cbpb.2009.03.005>.
- Channarong, R., Pattanapon, K., Nopadon, P., & Janenuj, W. (2012). Duplex PCR for simultaneous and unambiguous detection of *Streptococcus iniae* and *Streptococcus agalactiae* associated with *Streptococcosis* of cultured Tilapia in Thailand. *Thai Journal of Veterinary Medicine* 42(2), 153-158.
- Chen, M., Wang, R., Li, L. P., Liang, W. W., Li, J., Huang, Y., Lei, A. Y., Huang, W. Y., & Gan, X. (2012). Screening vaccine candidate strains against *Streptococcus agalactiae* of tilapia based on PFGE genotype. *Vaccine* 30(42), 6088-6092. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2012.07.044>.
- Evans, J. J., Klesius, P. H., & Shoemaker, C. A. (2004). Efficacy of *Streptococcus agalactiae* (group B) vaccine in tilapia (*Oreochromis niloticus*) by intraperitoneal and bath immersion administration. *Vaccine* 22(27-28), 3769-3773. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2004.03.012>.
- Giordano, L. G. P., Muller, E. E., Klesius, P., & Silva, V. G. D. (2010). Efficacy of an experimentally inactivated *Streptococcus agalactiae* vaccine in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) reared in Brazil. *Aquaculture Research* 41(10), 1539-1544. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2009.02449.x>.
- Hart, S., Wrathmell, A., Harris, J. E., & Grayson, T. H. (1988). Gut immunology in fish: A review. *Developmental and Comparative Immunology* 12, 453-480. [https://doi.org/10.1016/0145-305x\(88\)90065-1](https://doi.org/10.1016/0145-305x(88)90065-1).

- Ismail, M. S., Siti-Zahrah, A., Ridzuan, M. S. M., Azmai, M. N. A., Firdaus-Nawi, M., & ZamriSaad, M. (2016). Feed-based vaccination regime against streptococcosis in red tilapia, *Oreochromis niloticus* x *Oreochromis mossambicus*. *BMC Veterinary Research* 12(1), 194. <https://doi.org/10.1186/s12917-016-0834-1>.
- Le, H. V., Pham, M. T. H., Le, H. L. P., & Ngo, T. H. P. (2022). Screening antagonistic *Bacillus* spp. strains against *Streptococcus agalactiae* causing popeye and hemorrhage in Tilapia (*Oreochromis* sp.). *Hue University of Agriculture and Forestry Journal of Agricultural Science and Technology* 6(1), 2751-2761. <https://doi.org/10.46826/huaf-jasat.v6n1y2022.796>.
- Le, K. M., Tu, D. T., Bui, H. T. B., Seng, E. K., Hian, S. K., Tran, H. T. T., & Dang, T. T. M. (2021). Evaluation of the immunological effectiveness of the vaccine against hemorrhagic disease caused by *Aeromonas hydrophila* on catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*). *Can Tho University Journal of Science* 57(3B), 181-190. <https://doi.org/10.22144/ctu.jvn.2021.100>.
- Ma, J., Bruce, T. J., Jones, E. M., & Cain, K. D. (2019). A review of fish vaccine development strategies: Conventional methods and modern biotechnological approaches. *Microorganisms* 7(11), 569. <https://doi.org/10.3390/microorganisms7110569>.
- Mousavi, S. M., Hosseini, S. M., Mashouf, R. Y., & Arabestani, M. R. (2016). Identification of group B streptococci using 16S rRNA, cfb, scpB, and atr genes in pregnant women by PCR. *Acta Medica Iranica* 54(12), 765-770.
- Munang'andu, H. M., Mutoloki, S., & Evensen, Ø. (2014). Non-replicating vaccines. In Gudding, G., Lillehaug, A., & Evensen, Ø. (Eds.). *Fish vaccination* (22-32). <https://doi.org/10.1002/9781118806913>.
- Nakanishi, T., & Ototake, M. (1997). Antigen uptake and immune response after immersion vaccination. *Developments in Biological Standardization* 90, 59-68.
- Nguyen, P. N., Nguyen, L. T. H., Nguyen, H. T. X., Sandra, A., Janina, Z. C., & Kim, D. T. (2019). Protection of formalin-killed vaccine against *Streptococcus agalactiae* (serotype III) in Tilapia (*Oreochromis* sp.). *Science and Technology Journal of Agriculture and Rural Development* 22, 100-108.
- Nguyen, U. H. N., & Dang, O. T. H. (2019). Immune responses in tilapia (*Oreochromis niloticus*) vaccinated with in-activated *Streptococcus agalactiae* vaccine. *Can Tho University Journal of Science* 55(4B), 123-131. <https://doi.org/10.22144/ctu.jvn.2019.116>.
- Pham, Q. H., Ho, T. T., Nguyen, V. H., Huynh, L. T. M., & Le, K. V. (2013). Biochemical characteristics of *Streptococcus* spp. isolated from tilapia with hemorrhagic disease in some Northern provinces of Vietnam. *Journal of Science and Development* 11(4), 506-513.
- Reed, L. J., & Muench, H. A. (1938). A simple method of estimating fifty percent end points. *American Journal of Epidemiology* 27(3), 493-497. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aje.a118408>.
- Roberson, B. B. (1990). Bacterial agglutination. In Stolen, J. S., Fletcher, T. C., Anderson, D. P., Roberson, B. S., & van Muiswinkel, W. B. (Eds.). *Techniques in fish immunology* (1st ed., 1-86). New Jersey, USA: SOS Publications.
- Tu, D. T., Tran, C. H., Nguyen, U. H. N., & Ma, T. L. D. (2013). The immune response ability of striped catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*) against *Edwardsiella ictaluri*. *Can Tho University Journal of Science* 26, 269-276.

Establishment and evaluation of the fluid therapy in the treatment of diseases in dogs

Vy H. K. Nguyen¹, Quang M. Tran¹, Thao T. P. Tran¹, Tuan A. Kieu¹, Minh V. Dang², Vinh Q. Nguyen², Hoa T. Q. Nguyen^{1,3}, & Thuong T. Nguyen^{1*}

¹Faculty of Animal Science and Veterinary Medicine, Nong Lam University, Ho Chi Minh City, Vietnam

²Veterinary Hospital, Nong Lam University, Ho Chi Minh City, Vietnam

³An Viet Veterinary Service Company Limited, Ho Chi Minh City, Vietnam

ARTICLE INFO

Research Paper

Received: October 24, 2023

Revised: November 21, 2023

Accepted: November 27, 2023

Keywords

Dehydration level

Dogs

Fluid therapy

Glucose therapy

Ringer lactate therapy

*Corresponding author

Nguyen Thi Thuong

Email:

thuong.nguyenthi@hcmuaf.edu.vn

ABSTRACT

The objective of this study was to establish and evaluate fluid therapy for treatment of diseases in dogs. The study was conducted from 12/2022 to 05/2023 in Petcare and Nong Lam University Veterinary Hospitals, Ho Chi Minh City. The methodology involved assessing dehydration levels of 5%, 7%, 10 - 12%, & 15%, calculating the required fluid volume, and evaluating effects of fluid therapy in disease cases. A total of 251 cases included 95 cases at Petcare Veterinary Hospital and 156 cases at Nong Lam University Veterinary Hospital. The results showed that the digestive disease group had the highest rate at 63.75% in cases using fluid infusion, and the infectious diseases with the rate of 19.92%. Dehydration status of cases was most commonly observed at 5 - 10%, with the 10% level accounting for the highest rate at 37.85%, followed by 7% (29.48%), 5% (21.12%), and the 12% dehydration was the lowest rate (11.16%). The effects of fluid therapy on these cases showed a recovery rate of 67.73%, a disease remission rate of 15.14%, and a death rate of 17.13%. The average treatment duration was 6.49 days for recovery cases, 7.87 days for disease remission, and 4.49 days for death cases. The highest recovery rate was 31 - 35% at 7 - 10% dehydration levels while the death rate was as high as 55.81% at 10% dehydration. The treatment effects were high by using the fluid therapy that combined ringer lactate or saline 0.9% with glucose 5%.

Cited as: Nguyen, V. H. K., Tran, Q. M., Tran, T. T. P., Kieu, T. A., Dang, M. V., Nguyen, V. Q., Nguyen, H. T. Q., & Nguyen, T. T. (2024). Establishment and evaluation of the fluid therapy in the treatment of diseases in dogs. *The Journal of Agriculture and Development* 23(1), 40-50.

Xây dựng và đánh giá liệu pháp truyền dịch trong điều trị bệnh trên chó

Nguyễn Hà Khánh Vy¹, Trần Minh Quang¹, Trần Thị Phương Thảo¹, Kiều Anh Tuấn¹, Đặng Văn Minh², Nguyễn Quang Vinh², Nguyễn Thị Quỳnh Hoa^{1,3} & Nguyễn Thị Thương^{1*}

¹Khoa Chăn Nuôi Thú Y, Trường Đại Học Nông Lâm TP.HCM, TP. Hồ Chí Minh

²Bệnh Viện Thú Y, Trường Đại Học Nông Lâm TP.HCM, TP. Hồ Chí Minh

³Công Ty TNHH MTV Dịch Vụ Thú Y An Việt, TP. Hồ Chí Minh

THÔNG TIN BÀI BÁO

Bài báo khoa học

Ngày nhận: 24/10/2023

Ngày chỉnh sửa: 21/11/2023

Ngày chấp nhận: 27/11/2023

Từ khóa

Chó

Mức độ mất nước

Truyền dịch

Truyền glucose

Truyền ringer lactate

*Tác giả liên hệ

Nguyễn Thị Thương

Email:

thuong.nguyenthi@hcmuaf.edu.

vn

TÓM TẮT

Mục tiêu nghiên cứu là xây dựng và đánh giá liệu pháp truyền dịch trong điều trị các nhóm bệnh trên chó. Đề tài được thực hiện từ tháng 12/2022 đến tháng 05/2023 tại Bệnh viện Thú y Petcare và Bệnh viện Thú y, Trường Đại học Nông Lâm TP.HCM. Áp dụng phương pháp đánh giá tình trạng mất nước 5%, 7%, 10 - 12% & 15%, tính lượng nước cần bù và đánh giá hiệu quả truyền dịch trong các ca bệnh khảo sát. Tổng số 251 ca bệnh có 95 ca tại Bệnh viện Thú y Petcare và 156 ca tại Bệnh viện Thú y, Trường Đại học Nông Lâm TP.HCM. Kết quả cho thấy nhóm bệnh tiêu hóa có tỉ lệ cao nhất 63,75% trong các ca bệnh có sử dụng liệu pháp truyền dịch, kể đến là các bệnh truyền nhiễm với tỉ lệ 19,92%. Tình trạng mất nước phổ biến 5 - 10%, trong đó mức 10% chiếm tỉ lệ cao nhất 37,85%, kể đến là mức 7% (29,48%) và 5% (21,12%), và mức 12% chiếm tỉ lệ thấp (11,16%). Hiệu quả truyền dịch trong các ca bệnh có tỉ lệ khỏi bệnh đạt 67,73%, bớt bệnh 15,14% và tỉ lệ chết là 17,13%. Số ngày điều trị trung bình ở các ca khỏi bệnh là 6,49 ngày, bớt bệnh là 7,87 ngày và chết là 4,49 ngày. Tỉ lệ khỏi bệnh cao nhất 31 - 35% ở mức độ mất nước 7 - 10%, trong khi đó tỉ lệ chết cao đến 55,81% ở tỉ lệ mất nước 10%. Hiệu quả điều trị cao khi sử dụng liệu pháp truyền dịch kết hợp ringer lactate hay nước muối sinh lý 0,9% kết hợp với glucose 5%.

1. Đặt Vấn Đề

Hiện nay, liệu trình truyền dịch cho chó mèo tại các Phòng khám và Bệnh viện Thú y đã và đang được thực hiện, tuy nhiên, một liệu trình truyền dịch cụ thể chưa được xây dựng và thiết lập. Nhằm đáp ứng nhu cầu này, đề tài xây dựng và đánh giá liệu pháp truyền dịch nhằm nâng cao hiệu quả điều trị trên chó được thực hiện. Pham & ctv. (2006) đánh giá việc dùng các dung

dịch để truyền tĩnh mạch cho vật nuôi bệnh như nước muối sinh lý, chất điện giải ringer lactate, glucose, hay oresol cấp qua đường uống là rất cần thiết, góp phần quan trọng nâng cao hiệu quả điều trị (Wellman & ctv., 2006; Wanamaker & Massey, 2008; DiBartola, 2011). Các trường hợp bệnh lý thường gặp dẫn đến mất nước như ói, tiêu chảy, sốt, bỏ ăn, mất máu cấp tính, viêm ruột (Maddison & ctv., 2014; Nguyen, 2015).

Việc lựa chọn dịch truyền trong các ca bệnh được quyết định bởi nhu cầu của thú bệnh, bao gồm thể tích dịch truyền, tốc độ truyền, thành phần dịch truyền và đường truyền (Muir & ctv., 2011; Davis & ctv., 2013; Hughston, 2016). Do đó, phương pháp đánh giá mức độ mất nước thú bệnh (Davis & ctv., 2013) và thiết lập công thức tính lượng nước cần bù trong điều trị (Davis & ctv., 2013; Hughston, 2016) sẽ mang lại hiệu quả cao, ngăn các diễn biến xấu của quá trình bệnh lý, loại bỏ nguyên nhân gây bệnh, giúp thú phục hồi sức khỏe (Vu, 2013; Maddison & ctv., 2014). Đây là những thông tin ứng dụng hữu ích trong chăm sóc và điều trị thú y thú nhỏ nói chung, trên chó mèo nói riêng. Và cũng sẽ là tiền đề cho những nghiên cứu tiếp theo góp phần xây dựng, thiết lập và đánh giá các liệu pháp truyền dịch, truyền máu trên chó mèo, nhằm mang lại hiệu quả trong điều trị bệnh liên quan truyền dịch và huyết học trên chó mèo.

2. Vật Liệu và Phương Pháp Nghiên Cứu

Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện từ tháng 12 năm 2022 đến tháng 5 năm 2023 tại TP. Hồ Chí Minh với 2 địa điểm gồm Bệnh viện Thú y Petcare (phường Thảo Điền, quận 2) và Bệnh viện Thú y, Trường Đại học Nông Lâm TP. Hồ Chí Minh (phường Linh Trung, TP. Thủ Đức).

Nội dung nghiên cứu và phương pháp thực hiện

Nội dung nghiên cứu gồm: (1) Đánh giá tình trạng mất nước của các ca bệnh trên chó: Phương pháp đánh giá độ mất nước 5%, 7%, 10 - 12% và 15%; và thiết lập công thức tính lượng nước cần bù theo % mất nước của cơ thể; (2) Đánh giá hiệu quả truyền dịch trong các ca bệnh khảo sát: Phân loại các trường hợp chỉ định truyền dịch và các loại dịch truyền, và đánh giá hiệu quả truyền dịch trong các ca bệnh.

Phương pháp thực hiện

Nội dung 1: Đánh giá tình trạng mất nước của các ca bệnh trên chó: Đánh giá tình trạng mất nước của cơ thể để xác định lượng nước cần bù. Đánh giá sự mất nước cơ thể thông qua các dấu hiệu đặc trưng: da giảm đàn hồi, niêm mạc khô, thời gian lấp đầy mao mạch tăng (2 - 3 giây), nhân cầu trũng vào quỹ đạo, tứ chi lạnh, mạch nhanh và yếu, có thể thay đổi ý thức (Davis & ctv., 2013).

Phương pháp đánh giá độ mất nước theo Davis & ctv. (2013) như sau:

- Độ mất nước 5%: da giảm đàn hồi ít (kiểm tra vùng da phủ trên mấu gai của các đốt sống thắt lưng), niêm mạc mũi hơi khô, mắt bình thường.

- Độ mất nước 7%: da giảm độ đàn hồi vừa phải, niêm mạc khô, da quanh mắt trũng sâu (cảm giác như mắt lồi ra), tăng thời gian lấp đầy mao mạch 2 - 3 giây (mạch nhanh yếu).

- Độ mất nước 10 - 12%: da mất hoàn toàn độ đàn hồi, niêm mạc cực kỳ khô, thời gian lấp đầy mao mạch chậm, mắt trũng sâu (lồi mắt nghiêm trọng), mắt mờ, có dấu hiệu sốc, nhịp tim nhanh tứ chi lạnh, mạch nhanh và yếu, hạ huyết áp, có thể thay đổi ý thức.

- Độ mất nước 15%: không còn sự sống.

Lưu ý: Phương pháp đánh giá độ mất nước của cơ thể cần chú ý có sự khác biệt trên chó có điểm thể trạng gầy ốm hoặc béo phì.

Công thức tính lượng nước cần bù: lượng nước cần bù phải dựa trên ba giá trị: lượng nước cần bù theo % cơ thể bị mất, lượng nước cần duy trì trong 24 giờ, và lượng nước mất liên tục trong quá trình bệnh (Davis & ctv., 2013; Hughston, 2016).

Công thức tính V (lượng nước bù) theo % cơ thể bị mất = m (trọng lượng chó) x % mất nước

Ví dụ: chó 30 kg mất 10% nước, V (lượng nước bù) = $30 \times 10\% = 3$ kg nước ≈ 3 lít nước cần bổ sung cho cơ thể ở mức độ mất nước này.

Ngoài ra, phương pháp tương tự để tính V (lượng nước bù) theo % mất nước của cơ thể:

Mất nước 5% = 50 mL/kg/24 giờ để thay thế mức độ nước thiếu hụt trong cơ thể.

Mất nước 7% = 70 mL/kg/24 giờ để thay thế mức độ nước thiếu hụt trong cơ thể.

Mất nước 10% = 100 mL/kg/24 giờ để thay thế mức độ nước thiếu hụt trong cơ thể.

Hơn nữa, cần phải cộng thêm lượng nước cần để duy trì trong 24 giờ, như sau: chó nhỏ: 60 mL/kg, chó trung bình đến lớn: 50 mL/kg, chó rất lớn: 40 mL/kg.

Ví dụ: Chó 30 kg (chó lớn) mất nước 5%

(1) V nước bù = 30×50 mL = 1.500 mL = 1,5 lít nước (lượng nước bù tính theo mức độ mất nước 5%)

(2) V nước duy trì = 30×50 mL = 1.500 mL = 1,5 lít nước (lượng nước duy trì 24 giờ)

-> Tổng lượng dịch truyền trong 24 giờ là 3 lít nước.

-> Thời gian truyền = 3.000 mL / 24 giờ = 125 mL/giờ.

Đối với lượng nước mất liên tục do ói, tiêu chảy, phân, nước tiểu, thoát hơi qua da khi bị sốt, tổn thất qua hô hấp, lượng nước mất đó cũng sẽ được tính trong tổng thể tích dịch cần truyền.

Tốc độ dịch truyền: Máy truyền dịch là một giải pháp lý tưởng cho phương pháp truyền dịch. Máy truyền dịch cung cấp một lượng dịch ổn định và đều đặn. Bộ truyền dịch cung cấp số giọt/ml dịch truyền, phổ biến là 15 giọt/mL, 45.000 giọt/24 giờ, 1.875 giọt/ giờ, 31,25 giọt/phút, 1 giọt/2 giây. Ví dụ: 3.000 mL / 24 giờ với

số giọt 15 giọt/mL.

Các chỉ tiêu khảo sát đánh giá tình trạng mất nước của các ca bệnh trên chó theo nhóm bệnh (hô hấp, tiêu hóa, tiết niệu, sản khoa, ngoại khoa, truyền nhiễm,...), tình trạng mất nước (5%, 7%, 10%, 12%, 15%), giới tính (đực, cái), giống (nội, ngoại), hình thức nuôi (nhốt, thả rong), loại dịch truyền (muối sinh lý 0,9%, ringer lactate, glucose 5%, uống oresol), tốc độ truyền dịch, số lần truyền/ca, số lần truyền/ngày, thời gian truyền/ca.

Nội dung 2: Đánh giá hiệu quả truyền dịch trong các ca bệnh khảo sát

Phân loại các trường hợp chỉ định truyền dịch và các loại dịch truyền, bao gồm dịch truyền nước sinh lý 0,9%, ringer lactate, glucose 5%, và dịch truyền dạng uống oresol. Và đánh giá hiệu quả truyền dịch trong các ca bệnh này.

Các nhóm bệnh chỉ định truyền dịch được căn cứ vào nguyên nhân bệnh, thể trạng thú, mức độ mất nước, tình trạng bệnh (Davis & ctv., 2013). Bao gồm nhóm bệnh truyền nhiễm (vi khuẩn, vi rút) và nhóm bệnh không truyền nhiễm như bệnh lý chức năng hệ thống tiêu hóa, tiết niệu (suy gan, suy thận), ngộ độc (thức ăn, nước uống, chất hóa học,...), chống shock (nhiệt, thuốc, mất máu do tổn thương,...).

Các loại dịch truyền và chỉ định: Theo Davis & ctv. (2013), dựa vào tiền sử bệnh, tình trạng bệnh, khám lâm sàng và kết quả các xét nghiệm sẽ xác định được nhu cầu dịch truyền trên thú trong điều trị. Trong đó, dịch truyền dung dịch muối đẳng trương (nước muối sinh lý 0,9%) thường được dùng trong các trường hợp thú mất máu cấp tính, viêm ruột tiêu chảy cấp, nôn ói nhiều (Maddison & ctv., 2014; Nguyen, 2015). Dịch truyền chất điện giải (ringer lactate) dùng trong trường hợp bệnh làm cơ thể bị mất nước và chất điện giải như ói mửa, tiêu chảy liên tục và nghiêm trọng, không truyền quá 0,5 mL/kg/giờ

(không truyền nhanh) (Wanamaker & Massey, 2008; DiBartola, 2011). Trong khi đó, dung dịch glucose đẳng trương (5%) dùng trong các trường hợp khi cơ thể thú bị suy nhược và mất nước nhiều (Wellman & ctv., 2006). Thêm vào đó, dung dịch oresol dùng trong trường hợp bệnh làm cơ thể bị mất nước và chất điện giải, cung cấp qua đường uống, không có tác dụng với thú non sữa, nhưng có tác dụng với thú tiêu chảy.

Đánh giá hiệu quả truyền dịch trong các ca bệnh chỉ định. Các chỉ tiêu khảo sát đánh giá hiệu quả điều trị theo nhóm bệnh, lứa tuổi, giới tính, giống, hình thức nuôi, mức độ mất nước của cơ thể, và hiệu quả điều trị theo loại dịch truyền chỉ định trong các ca bệnh.

2.4. Xử lý thống kê

Số liệu được xử lý thống kê bằng Minitab version 17 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. Đánh giá tình trạng mất nước của các ca bệnh trên chó

Tổng số 251 ca bệnh khảo sát tại 2 địa điểm tại TP. Hồ Chí Minh, trong đó 95 ca bệnh tại Bệnh viện Thú y Petcare và 156 ca tại Bệnh viện Thú y Trường Đại học Nông Lâm TP. Hồ Chí Minh. Các triệu chứng lâm sàng ghi nhận đánh giá tình trạng mất nước như da giảm độ đàn hồi, niêm mạc khô, thời gian lấp đầy mao mạch tăng (2 - 3 giây), nhãn cầu trũng sâu,... Các ca bệnh sử dụng liệu pháp truyền dịch gồm các nhóm bệnh được trình bày qua Bảng 1.

Bảng 1. Các nhóm bệnh sử dụng biện pháp truyền dịch trong điều trị

Nhóm bệnh	Số ca bệnh (con)	Tỉ lệ (%)
Hô hấp	3	1,20
Tiêu hóa	160	63,75
Tiết niệu	25	9,96
Sản khoa	10	3,98
Ngoại khoa	1	0,40
Truyền nhiễm	50	19,92
Không rõ nguyên nhân	2	0,80
Tổng số ca bệnh	251	100

Kết quả Bảng 1 cho thấy trong tổng số 251 ca bệnh có sử dụng liệu pháp truyền dịch, tỉ lệ cao nhất 63,75% các ca bệnh có triệu chứng liên quan bệnh đường tiêu hóa, kế đến là 19,92% các ca bệnh truyền nhiễm. Ngoài ra, các nhóm bệnh khác cũng sử dụng liệu pháp truyền dịch như bệnh liên quan tiết niệu, sản khoa, hô

hấp, can thiệp ngoại khoa dựa vào kết quả đánh giá mức độ mất nước của cơ thể thú bệnh. Tình trạng mất nước trên các ca bệnh được đánh giá và trình bày qua Bảng 2. Tình trạng mất nước trong khảo sát chủ yếu tập trung ở các mức độ từ 5 - 10%, trong đó độ mất nước 10% chiếm tỉ lệ cao nhất 37,85% các ca bệnh, kế đến là mức 7%

(29,48%) và 5% (21,12%), và mức độ 12% chiếm tỉ lệ thấp (11,16%). Phương pháp điều trị có sử dụng liệu pháp truyền dịch không có sự khác biệt

giữa các yếu tố về giới tính (đực, cái) và giống (nội, ngoại), tuy nhiên có sự khác biệt về hình thức nuôi nhốt và thả rong ($P < 0,05$) (Bảng 2).

Bảng 2. Tỉ lệ các ca bệnh theo các yếu tố khảo sát (n = 251)

Chỉ tiêu		Số ca	Tỉ lệ (%)	P
Tình trạng mất nước	5%	53	21,12	
	7%	74	29,48	
	10%	95	37,85	
	12%	28	11,16	
	15%	1	0,40	
Giới tính	Cái	136	54,18	0,061
	Đực	115	45,82	
Giống	Nội	132	52,59	0,246
	Ngoại	119	47,41	
Hình thức nuôi	Nhốt	161	64,14	< 0,001
	Thả rong	90	35,86	

Qua đánh giá mức độ mất nước cơ thể của các ca bệnh và tùy thuộc vào tình trạng nhóm bệnh, Bác sĩ điều trị sẽ chỉ định loại dịch truyền và thể tích truyền/lần, số lần trong ngày, tốc độ truyền (Davis & ctv., 2013). Kết quả thống kê được trình bày qua Bảng 3. Có 186 ca bệnh cần truyền dịch sử dụng Glucose 5% trong liệu pháp điều trị với thể tích glucose trung bình là 75 mL/ca. Kế đến là ringer lactate có 142 ca với trung bình 104 mL/ca và muối sinh lý 0,9% có 116 ca với trung bình 116 mL/ca. Tốc độ truyền dịch từ 2 - 5 giây/giọt, trong đó hầu hết các ca bệnh áp

dụng tốc độ 2 giây/giọt (186 ca), có 4 ca sử dụng 5 giây/giọt (Bảng 3), đây là các ca bệnh cần bù nước nhanh với độ mất nước 10%, sốt cao 40 - 41°C, ói, tiêu chảy, hoặc tiêu chảy máu.

Đồng thời kết quả Bảng 4 cho thấy trong 251 ca bệnh có truyền dịch thì tổng số lần truyền là 356 lần, với trung bình là 1,42 lần truyền/ca bệnh. Trong đó trung bình số ngày truyền là 3,47 ngày/ca bệnh, tổng thời gian trung bình truyền dịch cho một ca là 125,55 phút với tốc độ truyền trung bình là 2,37 giây/giọt ở các ca bệnh.

Bảng 3. Các loại dịch truyền sử dụng trong các ca bệnh

Chỉ tiêu truyền dịch		Tổng lượng dịch truyền (mL)	Số ca bệnh (con)	Trung bình/ca (mL/ca)
Các loại dịch truyền (mL)	Muối sinh lý 0,9%	13.440	116	116
	Ringer lactate	14.745	142	104
	Glucose 5%	13.980	186	75
	Oresol	4.650	21	221
Tốc độ truyền (giây/giọt)	2 giây/giọt		186	
	3 giây/giọt		42	
	4 giây/giọt		19	
	5 giây/giọt		4	

Bảng 4. Trung bình số lần, ngày, thời gian và tốc độ truyền dịch trong ca bệnh

Truyền dịch	Tổng số	Trung bình/ca bệnh
Tổng số lần truyền (lần)	356	1,42
Tổng số ngày truyền (ngày)	870	3,47
Tổng thời gian truyền dịch (phút)	31.514	125,55
Tốc độ truyền (giây/giọt)	594	2,37

3.2. Đánh giá hiệu quả truyền dịch trong các ca bệnh chỉ định

Để đánh giá hiệu quả điều trị của liệu pháp truyền dịch trong các ca bệnh, kết quả điều trị được chia ra 3 mức độ, gồm điều trị thành công (khỏi bệnh), giảm bớt triệu chứng bệnh (bớt bệnh) và điều trị không khỏi bệnh (chết). Hiệu quả điều trị phân tích theo nhóm bệnh được trình bày qua Bảng 5. Kết quả cho thấy, tỉ lệ khỏi bệnh đạt 67,73%, bớt bệnh 15,14% và tỉ lệ chết là 17,13%.

Hiệu quả điều trị khỏi bệnh cao nhất ở các ca bệnh liên quan sản khoa đạt 90%, kể đến là các

bệnh liên quan tiêu hóa với 78,13%, và các bệnh truyền nhiễm là 50%. Trong khi đó, các bệnh liên quan hệ tiết niệu hiệu quả điều trị khỏi bệnh chỉ đạt 28%, đa số các ca bệnh tiết niệu ghi nhận kết quả bớt bệnh với 48%. Các ca bệnh điều trị không đạt hiệu quả, dẫn đến bệnh không thuyên giảm, hoặc bệnh trở nên trầm trọng và hậu quả là thú chết, cao nhất là nhóm bệnh truyền nhiễm 36%, kể đến là bệnh tiết niệu 24% và tỉ lệ chết khoảng 10% các bệnh tiêu hóa. Các nhóm phân loại bệnh khác như hô hấp, ngoại khoa và không rõ nguyên nhân vì số ca bệnh ít, nên số liệu chỉ mang tính chất ghi nhận.

Bảng 5. Hiệu quả điều trị theo nhóm bệnh

Nhóm bệnh	Số ca bệnh (con)	Hiệu quả điều trị					
		Khỏi bệnh		Bớt bệnh		Chết	
		n (con)	%	n (con)	%	n (con)	%
Hồ hấp	3	3	100	0	0	0	0
Tiêu hóa	160	125	78,13	18	11,25	17	10,63
Tiết niệu	25	7	28,00	12	48,00	6	24,00
Sản khoa	10	9	90,00	0	0,00	1	10,00
Ngoại khoa	1	0	0	1	100	0	0
Truyền nhiễm	50	25	50,00	7	14,00	18	36,00
Không rõ nguyên nhân	2	1	50,00	0	0,00	1	50,00
Tổng	251	170	67,73	38	15,14	43	17,13

Bảng 6. Hiệu quả điều trị theo các chỉ tiêu khảo sát

Chỉ tiêu khảo sát		Hiệu quả điều trị		
		Khỏi bệnh	Bớt bệnh	Chết
Số ca	n (con, n = 251)	170	38	43
Số ngày điều trị	n (ngày, n = 1.595)	1.103	299	193
	Trung bình/ca (ngày/ca, $\bar{X} = 6,35$)	6,49	7,87	4,49
Số lần truyền dịch/ngày (%)	1 lần	76,03	13,01	10,96
	2 lần	56,19	18,10	25,71
Lứa tuổi (%)	< 1 tuổi	70,71	12,14	17,14
	> 1 tuổi	63,96	18,92	17,12
Giới tính (%)	Cái	69,85	16,18	13,97
	Đực	65,22	13,91	20,87
Giống (%)	Nội	69,70	9,09	21,21
	Ngoại	65,55	21,85	12,61
Hình thức nuôi (%)	Nhốt	64,60	19,88	15,53
	Thả rong	73,33	6,67	20,00

Trong khảo sát 251 ca bệnh áp dụng liệu pháp truyền dịch, thời gian điều trị trung bình là 6,35 ngày/ca. Kết quả điều trị theo các chỉ tiêu khảo sát được trình bày qua Bảng 6. Số ngày điều trị trung bình ở các ca khỏi bệnh là 6,49 ngày, các ca chỉ giảm bớt triệu chứng là 7,87 ngày do hiệu quả điều trị chưa đạt nên kéo dài thời gian

điều trị và truyền dịch. Ngoài ra, thời gian điều trị của các ca chết chỉ 4,49 ngày. Số ngày điều trị các ca bệnh còn tùy thuộc vào mức độ bệnh (bệnh nặng, nhẹ), giai đoạn bệnh, và tình trạng sức khỏe thú nên thời gian và hiệu quả điều trị, cũng như mức độ phục hồi cơ thể sẽ khác nhau. Số lần truyền dịch trong ngày phụ thuộc vào chủ

Bảng 7. Hiệu quả điều trị khảo sát theo mức độ mất nước cơ thể trong các ca bệnh

Mức độ mất nước	Hiệu quả điều trị					
	Khỏi bệnh		Bớt bệnh		Chết	
	n (con)	%	n (con)	%	n (con)	%
5%	40	23,53	10	26,32	3	6,98
7%	54	31,76	11	28,95	9	20,93
10%	60	35,29	11	28,95	24	55,81
12%	16	9,41	5	13,16	7	16,28
15%	0	0	1	2,63	0	0
Tổng	170	100	38	100	43	100

nuôi có khả năng mang đến phòng khám 2 lần/ngày hay không đối với trường hợp điều trị ngoại trú. Vì vậy, đa số các ca bệnh được truyền dịch 2 lần/ngày là các ca được lưu bệnh điều trị tại Bệnh viện. Ngoài ra, khảo sát hiệu quả điều trị khỏi bệnh theo lứa tuổi, nhóm dưới 1 tuổi hiệu quả khỏi bệnh 70,71%, nhóm trên 1 tuổi 63,96%. Kết quả điều trị cho thấy không có sự khác biệt lớn hiệu quả điều trị giữa các chỉ tiêu khảo sát giới tính, giống và hình thức chăn nuôi (Bảng 6).

Mức độ mất nước của cơ thể thú trong các ca bệnh thể hiện tình trạng bệnh, mức độ bệnh và thời gian bệnh, cũng như tình trạng sức khỏe thú tại thời điểm điều trị. Kết quả Bảng 7 cho thấy tỉ lệ khỏi bệnh cao nhất 31 - 35% ở mức độ mất nước 7 - 10%, trong khi đó tỉ lệ chết cao đến 55,81% ở tỉ lệ mất nước 10%. Trong khảo sát có 43 trường hợp chết phân bố ở các mức độ mất nước từ 5 - 12%. Theo Mazzaferro (2006), tỉ lệ chết không chỉ phụ thuộc vào tình trạng mất nước của cơ thể, còn phụ thuộc vào tình trạng bệnh, mức độ bệnh, thời gian bệnh và tình trạng sức khỏe thú bệnh.

Theo Davis & ctv. (2013), liệu pháp truyền dịch được điều chỉnh phù hợp từng cá thể thú bệnh và liên tục theo dõi, cũng như đánh giá lại hiệu quả điều trị nhằm có những điều chỉnh phù

hợp tình trạng bệnh với nhu cầu thú bệnh. Nhu cầu này có thể thay đổi tùy thuộc vào tình trạng bệnh như cấp tính hoặc mãn tính, bệnh lý của bệnh (thiếu nước, mất cân bằng điện giải, áp suất keo của máu,...) và tình trạng bệnh đi kèm. Kết quả Bảng 8 trình bày hiệu quả điều trị ở 170 ca khỏi bệnh, kết quả đánh giá theo loại dịch truyền cho thấy tỉ lệ khỏi bệnh cao nhất 35,88% là các ca bệnh sử dụng liệu pháp kết hợp dịch truyền điện giải ringer lactate và glucose 5% với số ngày điều trị trung bình là 8,97 ngày/ca. Kế đến là 22,94% ca khỏi bệnh với liệu pháp truyền muối sinh lý 0,9% kết hợp glucose 5% với thời gian điều trị trung bình 6,38 ngày/ca. Nhìn chung, các ca bệnh sử dụng truyền dịch ringer lactate hay nước muối sinh lý 0,9% và kết hợp với glucose 5% đều cho hiệu quả khỏi bệnh cao ở các nhóm ca bệnh này. Theo Lagutchik & ctv. (1998), khảo sát trên 109 con chó bệnh cho thấy 76% số chó bị bệnh có nồng độ lactate tăng cao sẽ sống sót và hồi phục. Ngoài ra, truyền dịch làm tăng chỉ số tim và giảm sức cản mạch máu, sử dụng ringer lactate còn làm giảm hematocrit máu, nồng độ huyết sắc tố trong máu, nồng độ protein và albumin toàn phần trong huyết thanh, áp suất thẩm thấu keo và độ nhớt của máu toàn phần (Aarnes & ctv., 2009; Muir & ctv., 2011).

Bảng 8. Hiệu quả điều trị khỏi bệnh khảo sát theo các loại dịch truyền (n = 170 ca khỏi bệnh)

Khỏi bệnh	Số ca (con)	Tổng số ngày điều trị (ngày)	Số ngày điều trị trung bình/ca (ngày/ca)	Tỉ lệ khỏi bệnh (%)
Muối SL 0,9%	17	137	8,06	10,00
Muối SL 0,9% & RL	2	2	1,00	1,18
Muối SL 0,9% & glucose 5%	39	249	6,38	22,94
Muối SL 0,9% & RL + glucose 5%	23	95	4,13	13,53
RL & glucose 5%	61	547	8,97	35,88
RL	3	36	12,00	1,76
Glucose 5%	4	4	1,00	2,35
Oresol	21	33	1,57	12,35

RL: Ringer lactate, SL: sinh lý.

4. Kết Luận

Trong các nhóm bệnh chỉ định liệu pháp truyền dịch trên chó thì nhóm bệnh liên quan hệ tiêu hóa có tỉ lệ cao nhất (63,75%) và kế đến là nhóm bệnh truyền nhiễm (19,92%). Tình trạng mất nước 5 - 10% chiếm đa số trong các ca bệnh, cao nhất 37,75% ở mức 10% mất nước. Tỉ lệ khỏi bệnh đạt 67,73%, bớt bệnh 15,14% và tỉ lệ chết là 17,13% trong các ca bệnh. Số ngày điều trị trung bình là 6,35 ngày/ca. Tỉ lệ khỏi bệnh ở mức độ mất nước 7 - 10% là 31 - 35%, trong khi tỉ lệ mất nước 10% có tỉ lệ chết cao lên đến 55,81%. Điều trị có hiệu quả cao khi sử dụng kết hợp ringer lactate hay nước muối sinh lý 0,9% kết hợp với glucose 5% trong liệu pháp truyền dịch ở các ca bệnh trên chó.

Lời Cảm Ơn

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

Lời Cảm Ơn

Nhóm tác giả chân thành cảm ơn Trường Đại học Nông Lâm TP. Hồ Chí Minh đã tài trợ kinh phí, tạo điều kiện thực hiện nghiên cứu này trong Đề tài Khoa học và Công nghệ cấp cơ sở Mã số CS-SV23-CNTY-08.

Tài Liệu Tham Khảo (References)

- Aarnes, T. K., Bednarski, R. M., Lerche, P., Hubbell, J. A., & Muir, W. W. (2009). Effect of intravenous administration of lactated ringer's solution or hetastarch for the treatment of isoflurane-induced hypotension in dogs. *American Journal of Veterinary Research* 70(11), 1345-1353. <https://doi.org/10.2460/ajvr.70.11.1345>.
- Davis, H., Jensen, T., Johnson, A., Knowles, P., Meyer, R., Rucinsky, R., & Shafford, H. (2013). 2013 AAHA/AAFP fluid therapy guidelines for dogs and cats. *Journal of the American Animal Hospital Association* 49(3), 149-159.
- DiBartola, S. P. (2011). *Fluid, electrolyte, and acid-base disorders in small animal practice* (4th ed.). Retrieved May 1, 2023, from <https://>

www.asia.elsevierhealth.com/fluid-electrolyte-and-acid-base-disorders-in-small-animal-practice-9781437706543.html.

- Hughston, L. (2016). The basics of fluid therapy for small animal veterinary technicians. *Today's Veterinary Technician* 1(4), 22-30.
- Lagutchik, M. S., Ogilvie, G. K., Hackett, T. B., & Wingfield, W. E. (1998). Increased lactate concentrations in III and injured dogs. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care* 8(2), 117-127. <https://doi.org/10.1111/j.1476-4431.1998.tb00052.x>.
- Maddison, J. E., Church, D. B., Sajuthi, K. C., & Huynh, T. T. N. (2014). Improving skills in diagnosing dog and cat diseases (Part 1: Vomiting). *Journal of Veterinary Science and Technology* 21(8), 71-75.
- Mazzaferro, E. (2006). Fluid therapy: The critical balance between life and death. *NAVCA Clinician's Brief* 2006, 73-75.
- Muir, W. W., Kijawornrat, A., Ueyama, Y., Radecki, S. V., & Hamlin, R. L. (2011). Effects of intravenous administration of lactated Ringer's solution on hematologic, serum biochemical, rheological, hemodynamic, and renal measurements in healthy isoflurane-anesthetized dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 239(5), 630-637. <https://doi.org/10.2460/javma.239.5.630>.
- Nguyen, M. T. B. (2015). Determining the need of fluid infusion in the treatment of digestive disorders in dogs at the veterinary hospital, Can Tho University. *Journal of Veterinary Science and Technology* 22(4), 16-23.
- Pham, N. T., Ho, V. N., & Chu, D. T. (2006). *Internal medicine of cattle*. Ha Noi, Vietnam: Ha Noi Publishing House.
- Vu, Q. N. (2003). Clinical examination in dogs and cats. *Journal of Veterinary Science and Technology* 20(8), 79-93.
- Wanamaker, B. P., & Massey, K. (2008). *Applied pharmacology for veterinary technicians* (4th ed.). Missouri, USA: Elsevier.
- Wellman, M. L., DiBartola, S. P., & Kohn, C. W. (2006). Chapter 1 - Applied physiology of body fluids in dogs and cats. In DiBartola, S. P. (Ed.). *Fluid, electrolyte, and acid-base disorders in small animal practice* (3rd ed., 3-26). <https://doi.org/10.1016/B0-72-163949-6/50004-7>.

The leaf litter consumption and occurrence of sesarmid crab *Parasesarma plicatum* (Latreille, 1803) on habitats in Can Gio mangrove forest

Anh T. Nguyen¹, Luong C. Vu², & Hoa P. Nguyen^{2*}

¹Joint Vietnam - Russia Tropical Science and Technology Research Center - South Branch, Ho Chi Minh City, Vietnam

²Faculty of Fisheries, Nong Lam University, Ho Chi Minh City, Vietnam

ARTICLE INFO

Research Paper

Received: August 17, 2023

Revised: October 06, 2023

Accepted: October 12, 2023

Keywords

Can Gio mangrove forest

Habitat

Leaf litter consumption

Occurrence

Parasesarma plicatum

*Corresponding author

Nguyen Phu Hoa

Email: phuhoa@hcmuaf.edu.vn

ABSTRACT

The experiment was conducted from September to December, 2022 to identify the consumption of *Parasesarma plicatum* (Latreille, 1803) on different *Rhizophora apiculata* leaf litter conditions (senescent: yellowish in color, decomposition: red brown and black brown color) in a 72-h experiment with 2 crab sizes. The experiment was designed with 6 treatments and 5 replicates. Each treatment used 5 crabs which were provided with 1 type of leaves as their food. The treatments included T1: 5 bigger size crab + yellowish leaf, T2: 5 bigger size crab + reddish brown leaf, T3: 5 bigger size crab + black brown leaf, T4: 5 small crabs + yellowish leaf, T5: 5 small crabs + reddish brown leaf, and T6: 5 small crabs + black brown leaf. The results showed that the consumption of black brown leaf litter of the bigger size crab was the highest in weight and significantly different from all other treatments. It also showed that *Parasesarma plicatum* did not like to eat yellowish leaf litter in all treatments. In addition, there was not a statistically significant difference in leaf litter consumption among smaller crab groups. The research on the occurrence of sesarmid crabs in Can Gio mangrove forest identified two suitable habitats for sesarmid crabs according to tidal elevation, mangrove type and environmental factors. The main factors affecting the occurrence of sesarmid crabs in the habitats were the coverage of shading trees and the mangrove type (*Rhizophora apiculata*, *Ceriops decandra*, *Avicennia officinalis*, *Avicennia marina* and *Lumnitzera racemosa*). Thus, *Parasesarma plicatum* could play an important role in the detrital food web in Can Gio mangrove forest.

Cited as: Nguyen, A. T., Vu, L. C., & Nguyen, H. P. (2024). The leaf litter consumption and occurrence of sesarmid crab *Parasesarma plicatum* (Latreille, 1803) on habitats in Can Gio mangrove forest. *The Journal of Agriculture and Development* 23(1), 51-63.

Khảo sát sự tiêu thụ lá rụng và hiện diện của còng *Parasesarma plicatum* (Latreille, 1803) trong các sinh cảnh của rừng ngập mặn Cần Giờ

Nguyễn Tuấn Anh¹, Vũ Cẩm Lương² & Nguyễn Phú Hòa^{2*}

¹Trung Tâm Nhiệt Đới Việt Nga, Chi Nhánh Phía Nam, TP. Hồ Chí Minh

²Khoa Thủy Sản, Trường Đại Học Nông Lâm TP.HCM, TP. Hồ Chí Minh

THÔNG TIN BÀI BÁO

Bài báo khoa học

Ngày nhận: 17/08/2023

Ngày chỉnh sửa: 06/10/2023

Ngày chấp nhận: 12/10/2023

Từ khóa

Hiện diện

Parasesarma plicatum

Rừng ngập mặn Cần Giờ

Sinh cảnh

Sự tiêu thụ lá rụng

*Tác giả liên hệ

Nguyễn Phú Hòa

Email: phuhoa@hcmuaf.edu.vn

TÓM TẮT

Nghiên cứu được thực hiện từ 09/2012 đến 12/2022 nhằm xác định sự tiêu thụ lá rụng của *Parasesarma plicatum* (Latreille, 1803) trên các điều kiện khác nhau của lá *Rhizophora apiculata* (lá già: màu vàng, lá đang phân hủy: màu nâu đỏ và nâu đen) trong 72 giờ thí nghiệm ở 2 kích cỡ còng khác nhau. Thí nghiệm được bố trí kiểu ngẫu nhiên với 6 nghiệm thức (NT) và 5 lần lặp lại. Mỗi NT gồm 5 con còng và 1 loại lá làm thức ăn. Các NT gồm NT1: 5 còng lớn + lá vàng, NT2: 5 còng lớn + lá nâu đỏ, NT3: 5 còng lớn + lá nâu đen, NT4: 5 còng nhỏ + lá vàng, NT5: 5 còng nhỏ + lá nâu đỏ, NT6: 5 còng nhỏ + lá nâu đen. Kết quả cho thấy còng lớn ăn lá đang phân hủy (lá nâu đen) nhiều nhất và sai khác có ý nghĩa thống kê so với các NT còn lại. Còng *Parasesarma plicatum* cũng không thích lá già (màu vàng) ở cả 2 cỡ còng. Ngoài ra, sự tiêu thụ các loại lá khác nhau của còng nhỏ cũng không có sự khác biệt. Sự hiện diện của còng *Parasesarma plicatum* ở rừng ngập mặn (RNM) Cần Giờ đã cho thấy có 2 nơi cư trú thích hợp của còng *Parasesarma plicatum* theo độ cao triều, loại RNM và các yếu tố môi trường. Các yếu tố chính ảnh hưởng đến xuất hiện của *Parasesarma plicatum* trong các sinh cảnh là độ che phủ của cây che bóng và loại cây RNM (đước, chà quánh, mắm đen, mắm trắng, cóc trắng). Như vậy, *Parasesarma plicatum* có vai trò quan trọng trong chu trình thức ăn đang phân hủy ở RNM Cần Giờ.

1. Đặt Vấn Đề

Rừng ngập mặn (RNM) là vùng đất ngập nước trong vùng triều giới hạn trong các khu vực nhiệt đới và cận nhiệt đới. Các hệ sinh thái (HST) rừng ngập mặn chiếm ít hơn một phần trăm (1%) của bề mặt trái đất, nhưng về mặt sinh thái, lý học và kinh tế rất quan trọng. Rừng ngập mặn là một trong những HST tự nhiên có năng suất sinh học cao nhất (Sandilyan & Kathiresan,

2012). Rừng ngập mặn ở Việt Nam có vai trò quan trọng trong việc đóng góp vào năng suất sinh học vùng cửa sông ven biển, thông qua cung cấp một lượng lớn sinh khối cơ bản để duy trì sự tồn tại của HST cả về ý nghĩa môi trường và kinh tế (Phan & ctv., 1999). Bên cạnh đó, RNM còn có vai trò bảo vệ bờ biển, chống lại xói mòn, chống lại gió bão,... RNM còn là nơi cung cấp thức ăn và là nơi cư trú của nhiều loài thủy sản quan trọng có giá trị thương mại cao. Tuy nhiên,

theo nghiên cứu của FAO (2007) từ năm 1980 tới 2005 tổng diện tích RNM trên toàn thế giới đã sụt giảm trên 30% do các hoạt động của con người, nên nó cần được tìm hiểu và có biện pháp bảo vệ tốt hơn.

Các mảnh vụn hữu cơ rơi xuống từ rừng ngập mặn là nguồn dưỡng chất cho toàn bộ hệ sinh thái ven bờ. Tuy nhiên, hiện nay vẫn không có nhiều nghiên cứu về quá trình giải phóng các thành phần này từ lá phân hủy và những vai trò của các nhóm sinh vật trong rừng ngập mặn. Xác lá bị phân cắt nhờ sự tiêu thụ hoạt động của động vật thân mềm, chân đầu và nhóm cua còng (Chandra & Keith, 2008). Các nhân tố sinh học trong các bãi lầy cửa sông, ven biển đã góp phần đáng kể trong việc hình thành và phân bố rừng ngập mặn. Xáo trộn sinh học là một trong những quá trình chính làm thay đổi cấu trúc nền trầm tích cũng như sự phân bố thực vật trong hệ sinh thái rừng ngập mặn. Hoạt động sống của nhóm cua Brachyuran là một yếu tố chính gây ra xáo trộn sinh học rừng ngập mặn.

Nhóm còng là động vật đặc hữu của HST rừng ngập mặn, chúng nắm giữ vai trò rất lớn liên quan trực tiếp tới sự duy trì, cân bằng và

phát triển của hệ sinh thái RNM. Tại Việt Nam cho đến hiện nay, các công trình nghiên cứu về lĩnh vực này còn ít, chưa xác định được giá trị, lợi ích mà chúng mang lại. Vì vậy, nghiên cứu sự tiêu thụ lá rụng của còng và hiện diện của chúng trong mối liên hệ nguồn thức ăn và môi trường sống là thật sự cần thiết, để thấy rõ vai trò của nhóm động vật này trong chu trình dinh dưỡng vật chất ở hệ sinh thái rừng ngập mặn.

2. Vật Liệu và Phương Pháp Nghiên Cứu

2.1. Nội dung 1: Khảo sát sự tiêu thụ lá rụng của còng *Parasesarma plicatum*

Bố trí thí nghiệm

Thu thập mẫu còng *Parasesarma plicatum* (Latreille, 1803) sống, kích cỡ trưởng thành, số lượng 150 con (75 còng lớn và 75 còng nhỏ). Còng lớn có trọng lượng trung bình là 62,10 g và chiều rộng mai trung bình là 12,45 mm. Còng nhỏ có trọng lượng trung bình là 33,71 g và chiều rộng mai trung bình là 9,99 mm. Trọng lượng và chiều rộng mai của còng trong các nghiệm thức được trình bày trong Bảng 1.

Bảng 1. Trọng lượng và chiều rộng mai của còng trong các nghiệm thức

Nghiệm thức (NT)	Trọng lượng còng (g/con)	Chiều rộng mai (cm/con)
NT1	12,08 ^a ± 0,39	2,44 ^a ± 0,01
NT2	12,42 ^a ± 0,56	2,50 ^a ± 0,08
NT3	12,76 ^a ± 0,74	2,53 ^a ± 0,05
NT4	6,67 ^b ± 0,15	1,97 ^b ± 0,04
NT5	6,75 ^b ± 0,13	2,00 ^b ± 0,04
NT6	6,81 ^b ± 0,11	2,02 ^b ± 0,04

Các giá trị là giá trị trung bình ± độ lệch chuẩn, n = 5.

Các trung bình có cùng ký tự chữ trên cùng một cột chỉ sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê (P > 0,05).

Lá sử dụng thí nghiệm là lá cây đước đôi (*Rhizophora apiculata*), đây là cây chiếm ưu thế tại sinh cảnh phân bố của *P. plicatum* (Latreille, 1803), lá được nhặt trên sàn rừng tại địa điểm thu mẫu còng với 03 loại là lá già (màu vàng), lá rụng màu nâu đỏ và lá rụng màu nâu đen (Hình 1). Thí nghiệm được bố trí ngẫu nhiên gồm 6

thí nghiệm thức và 5 lần lặp lại. Mỗi thí nghiệm thức gồm 5 con còng và 1 loại lá. Trong đó: NT1: 5 còng lớn + lá vàng; NT2: 5 còng lớn + lá nâu đỏ; NT3: 5 còng lớn + lá nâu đen; NT4: 5 còng nhỏ + lá vàng; NT5: 5 còng nhỏ + lá nâu đỏ; NT6: 5 còng nhỏ + lá nâu đen.



Hình 1. Các loại lá dùng trong thí nghiệm.

Tiến hành thí nghiệm

Cho 05 con còng vào một bể nuôi nhựa hình tròn, đường kính 30 cm, nuôi trong phòng kín, không đập nắp và không cho ăn trong 24 giờ trước khi thí nghiệm. Cho vào mỗi bể còng lớn 12 g và mỗi bể còng nhỏ 5 g mỗi loại lá, chọn mẫu lá có màu sắc như nhau theo từng thí nghiệm thức. Thí nghiệm tiến hành trong 72 giờ, sau mỗi 8 giờ thí nghiệm cân lại trọng lượng của lá.

Công thức tính khối lượng lá do còng ăn như sau:

$$X (g) = X_0 - X_1$$

Trong đó: X: Khối lượng lá do còng ăn; X_0 : Khối lượng lá trước thí nghiệm; X_1 : Khối lượng lá sau mỗi 8 giờ thí nghiệm.

Thí nghiệm này giúp xác định được loại lá ưa thích của còng và tốc độ tiêu thụ thức ăn ở các giai đoạn phát triển khác nhau của còng.

2.2. Nội dung 2: Sự phân bố của còng *P. plicatum* trong các sinh cảnh ở rừng ngập mặn Cần Giờ

Mô tả sinh cảnh

Các yếu tố môi trường cơ bản và thành phần thực vật ở các sinh cảnh được mô tả trong Bảng 2.

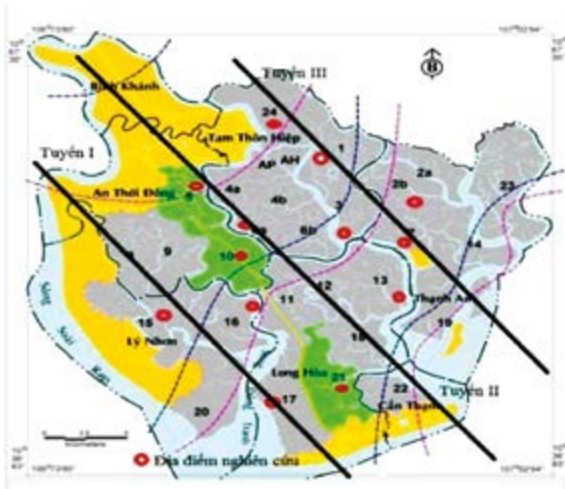
Bảng 2. Các thông số môi trường và thành phần thực vật tại các sinh cảnh khảo sát

Đặc điểm	Sinh cảnh 1	Sinh cảnh 2	Sinh cảnh 3
Độ cao (m)	0,3 - 0,4	0,4 - 1,1	1,1 - 1,8
Nhiệt độ đất (°C)	30,42 ± 0,44	27,61 ± 4,63	28,33 ± 1,11
Độ mặn đất (S‰)	23,67 ± 5,06	23,85 ± 8,33	25,29 ± 5,50
pH đất	6,64 ± 0,36	6,11 ± 1,10	6,40 ± 0,27
Thời gian ngập nước (ngày/tháng)	10 - 19	4 - 9	2 - 4
Thành phần thực vật	mắm trắng, bần trắng, bần chua và đước	đước, dà quánh, cóc trắng, mắm đen, mắm trắng, bần trắng	đước, dà hôi, dà quánh, chà là, ráng, mắm đen, mắm trắng và cóc trắng

Phân vùng thu mẫu

Căn cứ bản đồ độ cao địa hình, lập 3 đường thẳng theo hướng Tây Bắc - Đông Nam gọi tắt là tuyến I, II, III. Trên mỗi tuyến chọn các tiểu khu đại diện dọc theo tuyến bảo đảm mang tính đại diện và có thể triển khai thu mẫu đước (Hình 2). Số tiểu khu lựa chọn khảo sát thu mẫu là 13/24

tiểu khu (Bảng 3). Ở mỗi tiểu khu bố trí 03 ô mẫu với kích thước là 1 m² (1 x 1 m) (phương pháp của Kochev, 2013), khoảng cách giữa các ô mẫu tối thiểu là 50 m (Hình 3). Mẫu đước thu 4 đợt/năm, đợt 1 vào tháng 2 - 3, đợt 2 là tháng 5 - 6, đợt 3 là tháng 8 - 9, đợt 4 là tháng 11 - 12. Mỗi đợt thu diễn ra trong 15 - 20 ngày và thu mẫu lúc thủy triều rút.



Hình 2. Vị trí các tiểu khu thu mẫu.



Hình 3. Ô thu mẫu.

Bảng 3. Phân vùng khảo sát thu mẫu

STT	Tuyến	Tiểu khu	Tổng số ô mẫu	Sinh cảnh		
				1	2	3
Tuyến I	21	6	9	6		
1	I	15	6		3	3
2	I	16	9	3	3	3
3	I	17	6	3	3	
Tuyến II	33	3	18	12		
4	II	5	6		3	3
5	II	10	6		6	
6	II	13	6		3	3
7	II	21	6		3	3
8	II	6a	9	3	3	3
Tuyến III	21	0	12	9		
9	III	3	3		3	
10	III	1	3		3	
11	III	2b	6		3	3
12	III	7	3			3
13	III	24	6		3	3
Tổng	75	9	39	27		
Tỷ lệ (%)	100	12	52	36		

Phương pháp thu mẫu

Tại các ô thu mẫu tiến hành quan sát bằng mắt thường, một lần quan sát tối thiểu 15 phút, đếm số lượng còng, đếm số lượng hang trong các ô thu mẫu và thu mẫu toàn bộ trong các ô quan sát, đào từng lớp 10 cm theo chiều sâu cho tới 30 cm để thu mẫu còng.

Phương pháp phân tích

Các mẫu còng thu thập được phân loại ra từng nhóm riêng cho từng ô thu mẫu, đo kích thước, quan sát hình thái ngoài, đếm số lượng thu được. Dựa theo tài liệu của Dai & Yang (1991) để định danh và mô tả thành phần loài. Từ đó, xác định

sự hiện diện của còng tại Cần Giờ theo đặc điểm sinh thái vùng triều tại đây.

2.3. Phương pháp xử lý số liệu

Sử dụng phần mềm MS excel nhập và xử lý số liệu thu được (trung bình, Min, max). Tất cả các phân tích thống kê được thực hiện bằng phần mềm SPSS Statistics version 20. Sử dụng phân tích phương sai hai yếu tố (Two way ANOVA) là kích cỡ còng và loại lá để đánh giá sự khác biệt giữa các nghiệm thức tiêu thụ lá và Tukey's honestly significant different (Tukey test) để so sánh sự khác biệt có ý nghĩa giữa từng cặp nghiệm thức thí nghiệm ($P < 0,05$).

3. Kết Quả và Thảo Luận

3.1. Sự tiêu thụ lá rụng của còng *Parasesarma plicatum*

Còng lớn ở NT lá nâu đen (NT3) có sự tiêu thụ lá rụng trung bình mỗi 8 giờ thí nghiệm cao nhất (1,04 g/8 giờ), tiếp theo là NT lá nâu đỏ (NT2) (0,74 g/8 giờ), cuối cùng là nghiệm thức lá vàng (NT1) (0,38 g/8 giờ). Kết quả cho thấy các

nghiệm thức còng lớn có sự tiêu thụ lá rụng khác biệt có ý nghĩa thống kê. Đối với còng nhỏ ở ba NT lá vàng (NT4), lá nâu đỏ (NT5) và lá nâu đen (NT6) có sự tiêu thụ lá rụng trung bình mỗi 8 giờ thí nghiệm khác biệt không có ý nghĩa thống kê, tương ứng là 0,12 g/8 giờ; 0,15 g/8 giờ và 0,20 g/8 giờ. Giữa các NT có còng lớn và còng nhỏ có sự tiêu thụ lá rụng trung bình mỗi 8 giờ thí nghiệm khác biệt có ý nghĩa thống kê (Bảng 4).

Bảng 4. Sự tiêu thụ lá rụng của 05 còng *Parasesarma plicatum*

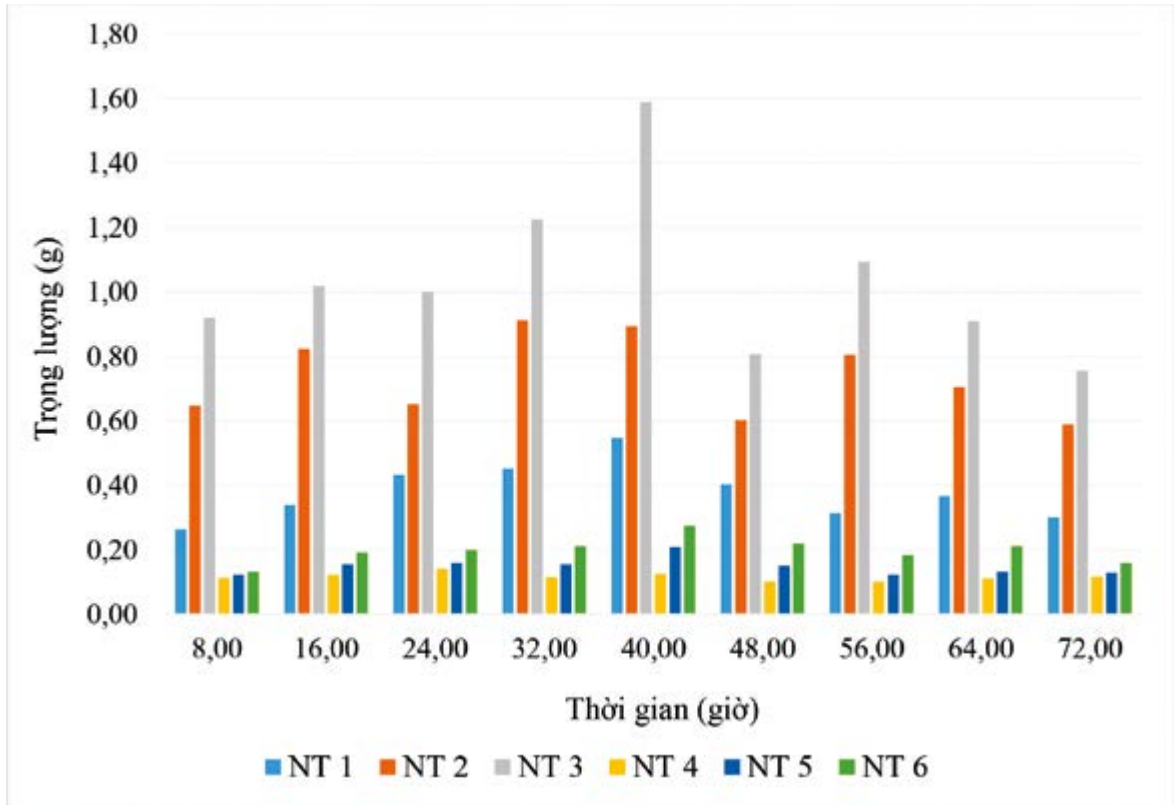
Nghiệm thức	Trọng lượng lá tiêu thụ trung bình mỗi 8 giờ (g)	Trọng lượng lá tiêu thụ sau 72 giờ (g)
NT 1	0,38 ^a ± 0,02	3,43 ^a ± 0,17
NT 2	0,74 ^b ± 0,04	6,63 ^b ± 0,33
NT 3	1,04 ^c ± 0,08	9,32 ^c ± 0,76
NT 4	0,12 ^d ± 0,00	1,06 ^d ± 0,04
NT 5	0,15 ^d ± 0,01	1,34 ^d ± 0,12
NT 6	0,20 ^d ± 0,01	1,79 ^d ± 0,10

Các giá trị là giá trị trung bình ± độ lệch chuẩn, n = 5.

Các trung bình có cùng ký tự chữ khác nhau trên cùng một cột chỉ sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê (P > 0,05).

Bên cạnh đó, còng lớn ở NT lá nâu đen (NT3) có sự tiêu thụ lá rụng sau 72 giờ thí nghiệm cao nhất với 9,32 g; tiếp theo là NT lá nâu đỏ (NT2) với 6,63 g; cuối cùng là nghiệm thức lá vàng (NT1) với 3,43 g. Kết quả cho thấy các nghiệm thức còng lớn có sự tiêu thụ lá rụng khác biệt có ý nghĩa thống kê. Đối với còng nhỏ ở ba NT lá vàng (NT4), lá nâu đỏ (NT5) và lá nâu đen (NT6) có sự tiêu thụ lá rụng sau 72 giờ thí nghiệm khác biệt không có ý nghĩa thống kê, tương ứng là 1,06 g; 1,34 g và 1,79 g. Giữa các NT có còng lớn và còng nhỏ có sự tiêu thụ lá rụng sau 72 giờ thí nghiệm khác biệt có ý nghĩa thống kê (Bảng 4). Như vậy, còng lớn thích ăn lá nâu đen hơn, trong khi còng nhỏ ăn không phân biệt các loại lá.

Đối với còng lớn, ở nghiệm thức lá vàng (NT1) thì ở thời điểm 40 giờ có sự tiêu thụ lá rụng cao nhất (0,55 g) và thấp nhất là ở thời điểm 8 giờ với 0,26 g; ở nghiệm thức lá nâu đỏ (NT2) thì ở thời điểm 32 giờ có sự tiêu thụ lá rụng cao nhất (0,91 g) và thấp nhất là ở thời điểm 48 giờ với 0,60 g; ở nghiệm thức lá nâu đen (NT3) thì ở thời điểm 40 giờ có sự tiêu thụ lá rụng cao nhất (1,59 g) và thấp nhất là ở thời điểm 48 giờ với 0,81 g (Hình 4).



Hình 4. Sự tiêu thụ lá rụng trong từng khoảng 8 giờ thí nghiệm của còng *Parasesarma plicatum* ở các mốc thời gian khác nhau.

Đối với còng nhỏ, ở nghiệm thức lá vàng (NT4) thì ở thời điểm 24 giờ có sự tiêu thụ lá rụng cao nhất (0,14 g) và thấp nhất là ở thời điểm 48 giờ và 56 giờ với 0,10 g; ở nghiệm thức lá nâu đỏ (NT5) thì ở thời điểm 40 giờ có sự tiêu thụ lá rụng cao nhất (0,21 g) và thấp nhất là ở thời điểm 8 giờ và 56 giờ với 0,12 g; ở nghiệm thức lá nâu đen (NT6) thì ở thời điểm 40 giờ có sự tiêu thụ lá rụng cao nhất (0,32 g) và thấp nhất là ở thời điểm 8 giờ với 0,13 g (Hình 4). Cả hai nghiệm thức còng lớn và còng nhỏ đều cho thấy sự tiêu thụ lá rụng cao nhất vào khoảng thời gian 40 giờ tương ứng thời điểm 2 giờ sáng và thấp nhất vào khoảng thời gian 8 giờ và 48 giờ tương ứng thời điểm 8 giờ và 10 giờ sáng. Điều này chứng tỏ, còng *Parasesarma plicatum* ưa thích kiếm ăn vào ban đêm, ban ngày hoạt động kiếm ăn kém hơn đêm.

Sau thời gian thí nghiệm, kết quả cho thấy còng ở nghiệm thức lá nâu đen có sự tiêu thụ lá rụng cao nhất, tiếp theo là còng ở nghiệm thức lá nâu đỏ, sau cùng là còng ở nghiệm thức lá vàng. Ở các nghiệm thức còng lớn và còng nhỏ có sự tiêu thụ lá rụng khác biệt có ý nghĩa thống kê. Như vậy, sự tiêu thụ lá rụng của còng *Parasesarma plicatum* ở rừng ngập mặn Cần Giờ phụ thuộc vào loại lá và trọng lượng còng. Kết quả của nghiên cứu này tương tự với nghiên cứu của Thongtham & ctv. (2005) về cân bằng carbon và nitơ của cua mề ăn lá (*Neoepisesarma versicolor*) cung cấp các nguồn thức ăn khác nhau. Cua được cho ăn lá tươi (màu xanh lá cây), lá già (màu vàng) và một phần đã bị phân hủy (màu nâu) của cây đước *Rhizophora apiculata*. Kết quả cho thấy tỷ lệ ăn và tiêu hóa (về trọng

lượng khô) là cao nhất đối với cua ăn lá nâu so với cua ăn lá xanh và lá vàng.

Nghiên cứu của Tran & ctv. (2011a, 2011b) cho thấy tại khu vực nghiên cứu, còng *Perisesarma eumolpe* là loài ăn tạp nhưng có xu hướng ăn thực vật là chính. Ở cả hai mùa, *Perisesarma eumolpe* trong vùng rừng chủ yếu ăn lá đước, tỷ lệ lá trong bao tử cao nhất so với các loại thức ăn khác và cao hơn so với những con ở ngoài vùng gầy đổ, đồng thời độ no của bao tử còng trong rừng cũng cao hơn. Sự tiêu thụ lá rụng của *Perisesarma eumolpe* chiếm khoảng 5,2 - 24,44% trọng lượng lá ban đầu trong 24 giờ. Sự tiêu thụ lá xanh của những cá thể sống ở khu vực gầy đổ luôn cao hơn ở rừng nguyên trạng đã cho thấy khi không có nguồn thức ăn thì chúng có thể tiêu thụ bất cứ nguồn thức ăn nào hiện diện trong môi trường sống của mình. Tuy nhiên, lá nâu mới là nguồn thức ăn ưa thích của chúng trong số các dạng lá rụng. Cùng một dạng lá nhưng tùy vào khu vực mà có sự tiêu thụ khác nhau đã cho thấy *Perisesarma eumolpe* là loài tiêu thụ những loại thức ăn sẵn có trong môi trường để duy trì quá trình sinh trưởng và phát triển của chúng.

Robertson (1986) đã phát hiện ra rằng, 28% lượng lá rụng trung bình hàng ngày ($0,02 \text{ g/m}^2$) đã bị loại bỏ bởi loài cua ăn lá *Sesarma messa* và khoảng 78% lượng lá đã được tiêu thụ trong vòng 6 giờ sau khi chôn cất. Nghiên cứu của Dirk & ctv. (2003) về các yếu tố chính ảnh hưởng đến sự luân chuyển của lá rừng ngập mặn, đặc biệt

là vai trò của loài cua ăn lá *Ucides cordatus*, đã được đánh giá tại một khu vực rừng ngập mặn ven sông gần Bragança (Pará, Bắc Brazil). Kết quả cho thấy sự phân hủy của lá trên mặt đất hàng ngày là khoảng $0,06 \text{ g/m}^2$, không phân biệt loài, môi trường sống hoặc địa điểm tiếp xúc. Lượng này chiếm dưới 3% tổng lượng lá rụng. Sinh khối lá rụng trung bình hiện diện trên mặt đất hàng ngày là $0,01 \text{ g/m}^2$. Khi rừng ngập mặn bị ngập (trung bình 10 ngày mỗi tháng), lượng lá rụng và trụ mầm bị cuốn trôi khi triều cường lớn gấp 10 và 17 lần so với khi triều cường. Tuy nhiên, lá rụng đi theo thủy triều và phân hủy cùng nhau tạo nên ít hơn 39% lượng lá rụng hàng năm. Phần lớn số còn lại rõ ràng đã bị *Ucides* loại bỏ. Mỗi con cua tiêu thụ khoảng 1,30 g DW lá rụng và trụ mầm mỗi ngày. Vì mật độ trung bình của những con cua này là $1,38 \text{ con/m}^2$.

3.2. Sự hiện diện của còng *P. plicatum* trong các sinh cảnh ở rừng ngập mặn Cần Giờ

Các mẫu còng thu thập ở 3 sinh cảnh được phân loại thành 12 loài (Hình 5), trong đó loài còng *P. plicatum* chỉ xuất hiện ở sinh cảnh 2 và 3. Ở sinh cảnh 2 tương ứng với độ cao là 0,4 - 1,1 m, trong tổng số 316 mẫu còng thu thập được có 31 mẫu thuộc về loài *P. plicatum* chiếm 9,81%. Ở sinh cảnh 3 tương ứng với độ cao là 1,1 - 1,8 m, trong tổng số 232 mẫu còng thu thập được có 98 mẫu thuộc về loài *P. plicatum* chiếm tỷ lệ cao nhất với 42,24% (Bảng 5).

Bảng 5. Thành phần loài và số lượng bắt gặp cùng họ Sesarmidae khảo sát được ở các sinh cảnh

STT	Loài	Sinh cảnh 1		Sinh cảnh 2		Sinh cảnh 3	
		Số lượng (cá thể)	Tỷ lệ (%)	Số lượng (cá thể)	Tỷ lệ (%)	Số lượng (cá thể)	Tỷ lệ (%)
1	<i>Perisesarma eumolpe</i> (De Man, 1895)	9	42,86	145	45,89	35	15,09
2	<i>Parasesarma bidens</i> (De Haan, 1835)	5	23,81	66	20,89	35	15,09
3	<i>Neosesarma gemmiferum</i> (Tweedie, 1936)	4	19,05	5	1,58	0	0
4	<i>Parasesarma lanchesteri</i> (Tweedie, 1936)	2	9,52	3	0,95	0	0
5	<i>Perisesarma semperi</i> (Bürger, 1893)	0	0	56	17,72	50	21,55
6	<i>Parasesarma plicatum</i> (Latreille, 1803)	0	0	31	9,81	98	42,24
7	<i>Clistocoeloma merguense</i> (De Man, 1888)	0	0	6	1,90	10	4,31
8	<i>Sarmatium germani</i> (A. Milne Edward, 1869)	0	0	1	0,32	1	0,43
9	<i>Neosarmatium bidentatum</i> (Rahayu & Davie, 2006)	0	0	1	0,32	0	0
10	<i>Episesarma singaporense</i> (Tweedie, 1936)	0	0	1	0,32	0	0
11	<i>Episesarma versicolor</i> (Tweedie, 1936)	0	0	1	0,32	2	0,86
12	<i>Episesarma mederi</i> (H. Milne Edwards, 1853)	0	0	0	0	1	0,43
Tổng		21	100	316	100	232	100



(A) Sinh cảnh 3



Phần mai



Phần bụng



Càng



Chân bò



Nốt sần trên càng



Lược càng

(B) Hình thái bên ngoài của còng *Parasesarma plicatum*

Hình 5. Các loài còng trong họ Sesarmidae ở các sinh cảnh.

Như vậy, ở sinh cảnh 1 có đặc điểm địa hình là khu vực bãi bồi không có cây rừng mà phơi trực tiếp dưới ánh mặt trời nên nhiệt độ đất rất cao là 30,4°C, có thời gian ngập lâu nhất và thành phần thực vật chiếm ưu thế là mắm trắng và bần chua. Với hiện trạng sinh cảnh không có nhiều thức ăn, đặc biệt lá rụng trên sàn rừng đã phân hủy lâu, đây là môi trường không phù hợp cho còng *P. plicatum* sinh sống, hoàn toàn phù hợp với nội dung nghiên cứu trên. Ở sinh cảnh 2 và 3 có các cây rừng che phủ, các yếu tố môi trường ở mức phù hợp với thành phần thực vật chiếm ưu thế là cây đước đôi (*Rhizophora apiculata*), lá rụng có thời gian phân hủy trên sàn rừng nên loài *P. plicatum* hoàn toàn chiếm ưu thế ở sinh cảnh 3. Ở sinh cảnh 2, sự xuất hiện của *P. plicatum* với tỉ lệ bắt gặp ít hơn có thể do sự thời gian ngập lâu hơn, không tạo điều kiện còng lên sàn rừng ăn thức ăn. Sự khác nhau về sự phân bố các loài còng *P. plicatum* trong họ Sesarmidae ở ba sinh cảnh là do có sự khác nhau về thời gian ngập, mức ngập của thủy triều, nhiệt độ, độ mặn và pH của đất. Kết quả trên hoàn toàn phù hợp với công bố của Ravichandran & ctv. (2011), sự phân bố của còng rừng ngập mặn phụ thuộc nhiều yếu tố như độ mặn, thể nền, thời gian ngập của thủy triều, sự cạnh tranh sinh học, lượng mưa,... Họ Sesarmidae phân bố tập trung vùng trung triều nơi có thể nền bùn, bùn cát, nơi có cây rừng che phủ.

4. Kết Luận

Nghiên cứu đã cho thấy còng lớn tiêu thụ lá nâu đen cao nhất và sai khác có ý nghĩa thống kê so với các nghiệm thức còn lại và với nghiệm thức còng nhỏ. Ở nghiệm thức lá vàng, cả 2 cỡ còng đều tiêu thụ rất ít. Ở sinh cảnh 2, tỷ lệ bắt gặp còng *P. plicatum* chiếm 9,81% và cao nhất với 42,24% ở sinh cảnh 3. Như vậy, sự hiện diện của còng *Parasesarma plicatum* ở rừng ngập mặn Cần Giờ phụ thuộc độ cao triều, độ che phủ của cây che bóng, loại cây rừng ngập mặn (đước, dà

quánh, mắm đen, mắm trắng, cóc trắng,...) và các yếu tố môi trường (độ cao trên 0,4 m; nhiệt độ từ 27 - 28°C; độ mặn từ 23 - 25‰). Như vậy, *Parasesarma plicatum* có vai trò quan trọng trong chu trình thức ăn đang phân hủy ở rừng ngập mặn Cần Giờ.

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)

- Chandra, P. S. K., & Keith, A. M. (2008). *Feeding selectivity of sesarmid crabs from northern Australian mangrove forests* (research report). Curtin University of Technology, Western Australia, Australia.
- Dai, A. Y., & Yang, S. L. (1991). *Crabs of the China sea*. New York, USA: Springer-Verlag.
- FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). (2007). *The world's mangroves 1980-2005*. Rome, Italy: FAO.
- Kochey, K. J. (2013). *Determination of thermal tolerance, density and distribution of the mangrove crabs, perisesarma guttatum (sesarmidae) and uca urvillei (ocypodidae) at gazi-bay, Kenya* (Unpublished master's thesis). Kenyatta University, Nairobi, Kenya.
- Phan, H. N., Tran, B. V., Vien, N. N., Hoang, S. T., Vu, T. T., Le, T. T., Nguyen, T. H., Mai, T. S., & Le, T. X. (1999). *Vietnam's mangrove forests*. Ha Noi, Vietnam: Agricultural Publishing House.
- Ravichandran, S., Fredrick, W. S., Khan, S. A., & Balasubramanian, T. (2011). Diversity of mangrove crabs in South and South East Asia. *Journal of Oceanography and Marine Environmental System* 1(1), 1-7.
- Robertson, A. I. (1986). Leaf-burying crabs: their influence on energy flow and export from a mangrove forest (*Rhizophora* spp.) in northeastern Australia. *Journal of Experimental*

- Marine Biology and Ecology* 102(2-3), 237-248. [https://doi.org/10.1016/0022-0981\(86\)90179-6](https://doi.org/10.1016/0022-0981(86)90179-6).
- Sandilyan, S., & Kathiresan, K. (2012). Mangrove conservation: a global perspective. *Biodiversity and Conservation* 21, 3523-3542. <https://doi.org/10.1007/s10531-012-0388-x>.
- Thongtham, N., & Kristensen, E. (2005). Carbon and nitrogen balance of leaf-eating sesarimid crabs (*Neopisesarma versicolor*) offered different food sources. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 65(1-2), 213-222. <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2005.05.014>.
- Tran, M. N. D., Karen Diele, & Triet Tran. (2011a). Biodiversity and role of Brachyuran crabs in leaf litter decomposition on typhoon destroyed areas at Can Gio mangrove, Ho Chi Minh City. *Science and Technology Development Journal* 14(3), 146-153.
- Tran, M. N. D., Nguyen, H. D., & Do, H. T. T. (2011b). Comparison of *Perisesarma Eumolpe's* food composition and food rate between undamaged and damaged areas at Can Gio mangrove, Ho Chi Minh City. *Science and Technology Development Journal* 9(5), 780-786.

Production of essential oils and sugar-rich hydrolysate from betel leaves (*Piper betle*)**Truc T. T. Tran¹, Anh T. V. Nguyen¹, Dong N. T. Le², Vinh D. H. Nguyen¹, & Ly T. P. Trinh^{1,2*}**¹Faculty of Biological Sciences, Nong Lam University, Ho Chi Minh City, Vietnam²Research Institute for Biotechnology and Environment, Nong Lam University, Ho Chi Minh City, Vietnam**ARTICLE INFO****Research Paper**

Received: May 04, 2023

Revised: July 21, 2023

Accepted: August 02, 2023

Keywords

Antibacterial capacity

Antioxidant activity

Betel leaves

Chemical compositions

Essential oils

***Corresponding author**

Trinh Thi Phi Ly

Email: phily@hcmuaf.edu.vn

ABSTRACT

The study was carried out to fully utilize betel leaves for the extraction of essential oils and production of sugar-rich hydrolysates from the betel leaves residues. Essential oils in the betel leaves were extracted by hydrodistillation and the betel leaves residues were enzymatically hydrolyzed to obtain sugar-rich hydrolysates. Antioxidant and antibacterial activity of the essential oils and the hydrolysates were investigated. Chemical composition analysis of the betel leaves showed that they contained 2.23% reducing sugars, 21.10% polysaccharides, 68.01 mg/g phenolics, 6.17 mg/g flavonoids, 12.05% ash, and 1.63% tannins. Betel essential oils content was 3.14%, with the main components being eugenol (50.37%), γ -muurolene (9.65%), and α -copaene (8.22%). Betel essential oils exhibited antioxidant activity with the IC_{50} of 0.13 mg/mL and antibacterial capacity against three strains of bacteria, including *Escherichia coli*, *Samonella* sp. and *Bacillus cereus*. The enzymatic hydrolysis of betel leaves residues using Ultraflo Max with a ratio of enzyme to substrate of 5% for 96 h produced the highest amount of reducing sugars of 10.66 g/L containing 48.31% glucose. The results suggest that betel leaves residues hydrolysate can be used as carbon sources for fermentation processes to produce value-added commodities in further investigation.

Cited as: Tran, T. T. T., Nguyen, A. T. V., Le, D. N. T., Nguyen, V. D. H., & Trinh, L. T. P. (2024). Production of essential oils and sugar-rich hydrolysate from betel leaves (*Piper betle*). *The Journal of Agriculture and Development* 23(1), 64-75.

Nghiên cứu thu nhận tinh dầu và dịch đường từ lá Trầu (*Piper betle*)

Trần Thị Thanh Trúc¹, Nguyễn Thị Vân Anh¹, Lê Nguyễn Thanh Đông²,
Nguyễn Dương Hoàng Vinh¹ & Trịnh Thị Phi Ly^{1,2*}

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

²Viện Nghiên Cứu Công Nghệ Sinh Học và Môi Trường, Trường Đại Học Nông Lâm TP.HCM, TP. Hồ Chí Minh

THÔNG TIN BÀI BÁO

Bài báo khoa học

Ngày nhận: 04/05/2023

Ngày chỉnh sửa: 21/07/2023

Ngày chấp nhận: 02/08/2023

Từ khóa

Kháng khuẩn

Kháng oxy hóa

Lá Trầu

Thành phần hóa học

Tinh dầu

*Tác giả liên hệ

Trịnh Thị Phi Ly

Email: phily@hcmuaf.edu.vn

TÓM TẮT

Nghiên cứu được tiến hành để thu nhận tinh dầu lá Trầu và dịch thủy phân giàu đường từ bã lá Trầu, nhằm tận dụng triệt để nguồn nguyên liệu. Tinh dầu lá Trầu được chiết xuất bằng phương pháp chưng cất lôi cuốn hơi nước, bã lá Trầu còn lại được thủy phân bằng enzyme để thu nhận dịch đường. Kết quả phân tích thành phần hóa học cho thấy lá Trầu chứa 2,23% đường khử tự do; 21,10% polysaccharide; 68,01 mg/g phenolic tổng số; 6,17 mg/g flavonoid tổng số; 12,05% tro và 1,63% tannin. Hàm lượng tinh dầu trong lá Trầu đạt 3,14% với các thành phần chính gồm eugenol (50,37%), γ -muurolene (9,65%) và α -copaene (8,22%). Tinh dầu lá Trầu thể hiện hoạt tính chống oxy hóa với $IC_{50} = 0,13$ mg/mL. Tinh dầu lá Trầu có tiềm năng sử dụng như chất kháng khuẩn với khả năng ức chế *Escherichia coli*, *Salmonella* sp. và *Bacillus cereus*. Hàm lượng đường khử cao nhất đạt 10,66 g/L trong điều kiện thủy phân bã lá Trầu bằng Ultraflo Max với tỉ lệ enzyme/cơ chất là 5% trong 96 giờ, trong đó glucose chiếm 48,31%. Kết quả cho thấy dịch thủy phân bã lá Trầu có thể là nguồn cung cấp carbon cho các quá trình lên men nhằm tạo ra những sản phẩm có giá trị.

1. Đặt Vấn Đề

Cây Trầu (*Piper betle*) là một cây thuốc truyền thống được phân bố chủ yếu ở khu vực nhiệt đới; trong đó lá Trầu là bộ phận được nghiên cứu và sử dụng rộng rãi nhất. Trong y học cổ truyền, lá Trầu được sử dụng làm nước súc miệng ở Ấn Độ và Thái Lan, điều trị các vấn đề về răng miệng, đau đầu, viêm khớp ở Malaysia, nước ép lá Trầu được dùng để điều trị các bệnh về da ở Sri Lanka.

Ngoài ra, lá Trầu còn được sử dụng làm thuốc ho, thuốc bổ hoặc chất làm se (Joeseof & ctv., 1996; Arambewela & ctv., 2010; Chowdhury & ctv., 2020). Các ứng dụng của lá Trầu có liên quan đến đặc tính kháng khuẩn và kháng nấm của chúng. Tinh dầu và chiết xuất lá Trầu có khả năng ức chế sự phát triển của vi nhiều loại vi khuẩn Gram âm như *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella*

pneumonia; Gram dương như *Staphylococcus aureus*, *Propionibacterium acnes*, *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus epidermidis*, *Enterobacter faecalis*; cũng như các loài nấm, bao gồm cả những loại nấm kháng đa thuốc và gây ra các bệnh nghiêm trọng như *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus parasiticus*, *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis*, *Epidermophyton floccosum*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton rubrum*, *Microsporum canis* (Nayaka & ctv., 2021). Thành phần hóa học của tinh dầu lá Trầu rất đa dạng tùy thuộc vào nguồn gốc, tuổi cây và thời gian thu hoạch. Kết quả phân tích thành phần tinh dầu lá Trầu Ấn Độ chứa chủ yếu nhóm phenylpropanoid như acetyl eugenol, eugenol, chavicol và safrole. Trong khi đó, tinh dầu lá Trầu từ các nghiên cứu khác chứa các hợp chất phổ biến như estragole, linalool, α -copaene, anethole, and caryophyllene α -terpinene, 1,8-cineole, β -caryophyllene, α -humulene, allyl pyrocatechol, allylcatechol, methyl eugenol, estragol (methyl chavicol), chavibetol, chavibetol acetate, safrol, 4-allyl-2-methoxy-phenolacetate và 3-allyl-6-methoxyphenol (Madhumita & ctv., 2019; Salehi & ctv., 2019). Ngoài tinh dầu, lá Trầu còn chứa đa dạng các thành phần khác như steroids, tannins, proteins, amino acids, flavonoids, terpenoids, saponin và carbohydrates. Lá Trầu được xem là nguồn thảo dược phong phú và tiềm năng trong ngành công nghiệp thực phẩm và dược phẩm. Tuy nhiên các nghiên cứu trước đây chỉ tập trung vào việc khai thác tinh dầu và các hợp chất thứ cấp từ chiết xuất lá Trầu trong khi đó một lượng lớn bã lá Trầu còn lại sau các quá trình chiết xuất thải ra môi trường gây những tác động tiêu cực. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm sử dụng triệt để nguồn lá Trầu để thu nhận tinh dầu và dịch thủy phân giàu đường từ bã lá Trầu có tiềm năng phát triển sản phẩm siro lá Trầu cũng như là nguồn carbon cho các quá trình lên men. Nghiên cứu còn cung cấp thông tin về thành phần hóa

học của lá Trầu địa phương cũng như đề xuất một hướng thu nhận các nhóm hợp chất sơ cấp từ lá Trầu góp phần mở rộng hướng ứng dụng và hạn chế ô nhiễm môi trường.

2. Vật Liệu và Phương Pháp Nghiên Cứu

2.1. Vật liệu

Lá Trầu được thu mua tại chợ Bà Điểm, huyện Hóc Môn, Thành phố Hồ Chí Minh. Lá tươi trưởng thành, không bị sâu bệnh, nấm mốc, rửa sạch, để ráo nước. Lá tươi được xay nhuyễn trước khi chiết tinh dầu. Sau khi chiết tinh dầu, bã lá Trầu được sấy cho đến khi độ ẩm dưới 13%, xay nhuyễn, rây qua rây có đường kính 1 mm và xác định độ ẩm trước khi tiến hành các thí nghiệm tiếp theo.

Các loại enzyme như Celluclast (700 EGU/g), Ultraflo Max (250 FXU-S/g) và Viscozyme (100 FBG/g) được cung cấp bởi Novozyme. Các chất chuẩn bao gồm glucose và xylose của Sigma-Aldrich. 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), 3,5- acid dinitrosalicylic (DNS), Folin-Ciocalteu, acid gallic, và acid ascorbic của Merck (New Jersey, Mỹ).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Định lượng polyphenol tổng số

Lá Trầu được sấy khô ở 50°C, xay nhuyễn và xác định độ ẩm trước khi tiến hành phân tích các thành phần hóa học. Bọt lá Trầu khô được chiết kiệt với ethanol 70% dưới sự hỗ trợ của sóng siêu âm với công suất 500 W. Hàm lượng polyphenol tổng số được xác định dựa trên phản ứng oxy hóa - khử giữa các hợp chất polyphenol với thuốc thử Folin - Ciocalteu (Singleton & ctv., 1999). Hút 0,1 mL dịch chiết lá Trầu cho vào ống nghiệm, thêm 0,1 mL thuốc thử Folin - Ciocalteu, để yên trong 5 phút, thêm vào 0,3 mL dung dịch Na_2CO_3 20% lắc đều, sau đó thêm 4,5 mL nước cất. Để yên

trong 60 phút rồi đem đo màu ở bước sóng 735 nm. Gallic acid được sử dụng làm chất chuẩn.

2.2.2. Định lượng flavonoid tổng số

Hàm lượng flavonoid được xác định thông qua phản ứng màu với các muối kim loại. Độ hấp thụ của phức hợp này được ghi nhận bằng thiết bị quang phổ hấp thụ phân tử thông qua phản ứng tạo màu với hỗn hợp $\text{CH}_3\text{COOK} - \text{AlCl}_3$ (Shraim & ctv., 2021). Hút 0,5 mL dịch chiết lá Trầu cho vào ống nghiệm, thêm 1,5 mL ethanol 96%, để yên trong 5 phút, thêm 0,1 mL AlCl_3 10% lắc đều để yên trong 6 phút. Tiếp tục thêm 0,1 mL CH_3COOK 1 M và 2,8 mL nước cất. Để yên trong 15 phút, đo độ hấp thụ của hỗn hợp ở bước sóng 430 nm. Quercetin được sử dụng làm chất chuẩn.

2.2.3. Định lượng đường khử tự do

Hàm lượng đường khử được xác định bằng phương pháp quang phổ hấp thụ phân tử thông qua phản ứng màu với thuốc thử 3,5-Dinitrosalicylic acid (DNS) (Miller, 1959). Thuốc thử DNS được chuẩn bị bằng cách hòa tan hoàn toàn 1 g DNS cùng với 30 g $\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6\text{KNa} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ và 0,5 g Na_2SO_3 trong 80 mL NaOH 0,5 N ở 50°C trong bình định mức 100 mL. Sau đó, dung dịch được để nguội ở nhiệt độ phòng, tiếp tục thêm vào 0,5 g phenol và định mức đến vạch. Hút 1 mL mẫu vào ống nghiệm, thêm 1 mL DNS. Hỗn hợp được đun ở 100°C trong 5 phút và làm lạnh nhanh dưới vòi nước. Sau khi nguội hoàn toàn thêm 3 mL nước cất, lắc đều và đo độ hấp thụ ở bước sóng 505 nm. D-Glucose được sử dụng làm chất chuẩn.

2.2.4. Định lượng tannin

Hàm lượng tannin được xác định theo phương pháp chuẩn độ của Lowenthal, với thuốc thử indigo carmine (AOAC, 1970). Chuẩn độ cả mẫu thử và mẫu trắng bằng KMnO_4 0,1 N cho đến khi dung dịch chuyển từ màu xanh lam sang

màu xanh lục và khi chuyển sang màu vàng rơm thì kết thúc.

2.2.5. Định lượng polysaccharide

Lá Trầu sau khi loại bỏ các chất trích ly (extractives) được thủy phân hoàn toàn bằng acid theo qui trình của Sluiter & ctv. (2008). Hàm lượng polysaccharide được xác định bằng phương pháp quang phổ hấp thụ phân tử thông qua xác định tổng đường khử trong dịch thủy phân acid với thuốc thử DNS.

2.2.6. Chiết xuất và phân tích thành phần tinh dầu lá Trầu

Tinh dầu lá Trầu được chiết xuất bằng phương pháp chưng cất lôi cuốn hơi nước có hỗ trợ của sóng siêu âm (30 phút) với tỉ lệ nguyên liệu tươi: nước là 1:4 (w/v) trong 4 giờ (Nguyen & ctv., 2016). Sau khi quá trình chưng cất kết thúc, thu dịch trong ống hứng vào bình chiết. Thêm vào bình chiết 50 mL n-hexan, lắc đều, để lắng, dịch trong bình chiết sẽ tách thành 2 lớp, thu lớp phía trên vào bình cầu, lớp phía dưới tiếp tục lắc lần 2 bằng 50 mL n-hexan, thu phần phía trên gộp vào bình chiết. Tinh dầu được thu nhận bằng cách cô quay chân không để loại bỏ dung môi.

Tinh dầu lá Trầu được pha loãng với n-hexan và lọc qua màng PTFE 0,2 μm . Thành phần hóa học của tinh dầu lá Trầu được phân tích bằng phương pháp sắc ký khí ghép khối phổ (GC-MS Agilent 6890N/5973). Cột mao quản DB-5 MS (J&W) dài 30 m, đường kính trong 0,25 mm với pha tĩnh dày 0,25 μm . Khí mang là heli với tốc độ dòng 1,0 mL/phút. Nhiệt độ buồng tiêm mẫu là 220°C và nhiệt độ đầu dò MSD là 280°C. Chương trình nhiệt độ phân tích trên sắc ký như sau: nhiệt độ ban đầu 40°C, giữ trong 10 phút; tăng 4°C/phút đến 200°C; tăng 2°C/phút đến 220°C. Thể tích mẫu tiêm 1 μL bằng kỹ thuật tiêm không chia dòng. Phổ khối lượng của các thành phần

trong tinh dầu được so sánh với phổ chuẩn lưu trữ trên thư viện NIST 14. Hàm lượng tương đối của các chất được tính toán dựa trên phần trăm diện tích peak.

2.2.7. Phương pháp thủy phân bã lá Trầu

Bã lá Trầu sau khi chiết xuất tinh dầu được lọc tách, sấy khô và thủy phân bằng ba loại enzyme khác nhau là Viscozyme (100 FBG/g), Celluclast (700 EGU/g) và Ultraflo Max (250 FXU-S/g). Sử dụng 2 g mẫu kết hợp với 50 ml dung dịch đệm sodium citrate 0,01 M ở pH 5,0; sau đó thêm enzyme vào với tỉ lệ enzyme:cơ chất là 5%. Quy trình thủy phân thực hiện ở 50°C trong máy lắc ổn nhiệt. Quá trình thủy phân được theo dõi bằng cách đo hàm lượng đường khử giải phóng ra ở các thời điểm 0; 24; 48; 72; 96; 120 giờ (Gama & ctv., 2015; Andlar & ctv., 2016). Sau khi xác định được enzyme hiệu quả nhất, tiến hành khảo sát liều lượng enzyme với tỉ lệ enzyme:cơ chất từ 1 - 5%.

Các mẫu dịch thủy phân được ly tâm 4.000 vòng trong 5 phút bằng máy ly tâm Z206A (Hermle, Đức). Thu lấy phần dịch nổi, tiến hành phản ứng màu với thuốc thử DNS và định lượng đường khử tổng số bằng hệ thống quang phổ UV-Vis với chất chuẩn là glucose (50 - 300 mg/L). Thành phần đường đơn như glucose và xylose trong dịch thủy phân bã lá Trầu được xác định bằng kỹ thuật sắc ký lỏng cao áp (Agilent 1200 Infinity II, Hoa Kỳ). Cột Rezex RPM – Monosaccharide Pb+2 (8%) có kích thước 100 x 7,8 mm được ổn định ở 85°C. Đầu dò chiết suất (RI) được gia nhiệt ở 35°C. Pha động là nước với tốc độ dòng 0,2 mL/phút.

2.2.8. Khảo sát hoạt tính chống oxy hóa

Hoạt tính chống oxy hóa được khảo sát thông qua khả năng bắt giữ các gốc tự do 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) (Blois, 1958; Bondet &

ctv., 1997). Các gốc tự do DPPH tự do có độ hấp thụ cực đại tại bước sóng 517 nm và có màu tím. Khi gốc tự do DPPH bắt cặp với một electron từ chất chống oxy hóa thì dung dịch sẽ chuyển qua màu vàng. Tiến hành phản ứng bằng hút 0,5 mL mẫu thử vào các ống nghiệm có chứa sẵn 3 mL ethanol 96%, tiếp tục thêm vào 1 mL DPPH 0,5 mM pha trong methanol và lắc đều. Hỗn hợp được để yên trong tối 30 phút và đo độ hấp thụ ở bước sóng 517 nm. Thực hiện song song một mẫu đối chứng âm bằng cách thay mẫu thử bằng nước cất. Chất đối chiếu là ascorbic acid được pha trong nước cất ở nồng độ 10 - 50 mg/L.

2.2.9. Khảo sát hoạt tính kháng khuẩn

Khả năng kháng khuẩn của tinh dầu lá Trầu và dịch thủy phân bã lá Trầu được xác định bằng phương pháp khuếch tán đĩa giấy của Kirby - Bauer (Bauer & ctv., 1959) thực hiện khảo sát trên ba chủng vi khuẩn là *E. coli*, *Salmonella* sp. và *B. cereus*. Đĩa giấy vô trùng (đường kính 5 mm) được thấm qua tinh dầu sau đó đặt lên bề mặt thạch có chứa vi khuẩn, đối chứng âm là đĩa giấy không chứa tinh dầu và đối chứng dương là đĩa giấy chứa kháng sinh tetracycline 0,2%.

3. Kết Quả và Thảo Luận

3.1. Thành phần hóa học của lá Trầu

Thành phần hóa học của lá Trầu thay đổi tùy thuộc vào nguồn gốc, tuổi cây, điều kiện khí hậu thổ nhưỡng và thời gian thu hoạch. Kết quả định lượng một số thành phần hóa học của lá Trầu thu thập ở Hóc Môn thể hiện trong Bảng 1. Polyphenol và flavonoid là những hợp chất quan trọng đã được chứng minh có nhiều hoạt tính sinh học như khả năng kháng nấm, kháng khuẩn và kháng virus (Montenegro-Landívar & ctv., 2021). Một số nghiên cứu trước đây cho thấy flavonoid có hoạt tính chống oxy hóa mạnh, bên cạnh đó còn có khả năng ức chế quá trình hình

thành vách tế bào nấm, polyphenol ngăn cản tổng hợp màng tế bào vi sinh vật (Makhuvele & ctv., 2020). Kết quả cho thấy lá Trầu chứa hàm lượng polyphenol cao 68,01 mg/g và 6,17 mg/g flavonoid có tiềm năng sử dụng làm chất chống oxy hóa, kháng nấm và kháng khuẩn (Glevitzky & ctv., 2019). Hàm lượng tinh dầu lá Trầu tươi đạt 0,47% (w/w), tương đương 3,14% tính trên nguyên liệu khô. Kết quả này cao hơn so với 0,18% hàm lượng tinh dầu lá Trầu tươi thu thập ở Ấn Độ khi chiết xuất bằng phương pháp chưng cất hơi nước (Madhumita & ctv., 2019). Theo nghiên cứu của Huynh & ctv. (2015), hàm lượng tinh dầu lá Trầu Hóc Môn thay đổi theo thời điểm thu hoạch trong năm dao động trong khoảng 0,26 - 0,33% khi chưng cất có bổ sung muối vào nước, trong đó hàm lượng tinh dầu lá Trầu đạt cao nhất 0,32 - 0,33% vào tháng 8 đến tháng 12. Lá Trầu trong nghiên cứu này được thu hái vào tháng 8 là thời điểm phù hợp để thu nhận

tinh dầu. Tinh dầu có màu vàng, mùi đặc trưng, nóng, vị cay, tỷ trọng 0,8514 g/mL, nhẹ hơn nước. Tannin, là các hợp chất polyphenol có vị đắng hiện diện 1,63% trong lá Trầu, có khả năng gây ngán ăn đối với một số côn trùng gây hại (Sharma & ctv., 2021). Ngoài ra, lá Trầu còn chứa hàm lượng cao carbohydrate với 2,23% đường khử tự do và 21,10% polysaccharide. Các nghiên cứu hiện nay hầu như tập trung vào chiết xuất tinh dầu lá Trầu mà chưa khai thác các thành phần có tiềm năng khác. Kết quả phân tích thành phần hóa học cho thấy các hợp chất chiết xuất từ lá Trầu có thể sử dụng làm chất kháng oxy hóa, kháng nấm, kháng khuẩn và là nguồn cung cấp carbon cho các mục đích khác (Glevitzky & ctv., 2019). Sử dụng triệt để các thành phần trong lá Trầu không chỉ mang lại hiệu quả kinh tế mà còn giảm thiểu gánh nặng cho môi trường.

3.2. Thành phần hóa học của tinh dầu lá Trầu

Bảng 1. Kết quả định lượng các nhóm chất trong lá Trầu

Chỉ tiêu ¹	Đơn vị	Hàm lượng
Polyphenol	mg/g	68,01 ± 0,86
Tinh dầu	%	3,14 ± 0,02
Flavonoid	mg/g	6,17 ± 0,12
Đường khử tự do	%	2,23 ± 0,07
Polysaccharide	%	21,10 ± 0,10
Tannin	%	1,63 ± 0,03
Tro tổng số	%	12,05 ± 0,02

¹Kết quả được tính trên mẫu khô kiệt, thể hiện dưới dạng giá trị trung bình (± SEM) của ba lần lặp lại.

Kết quả phân tích thành phần hóa học tinh dầu lá Trầu ở Bảng 2 và Hình 1 cho thấy tinh dầu chứa 17 thành phần chính chủ yếu thuộc nhóm terpenoid và dẫn xuất phenol. Eugenol là thành phần chính của tinh dầu lá Trầu chiếm 50,37%. Eugenol là một hợp chất thơm được ứng dụng

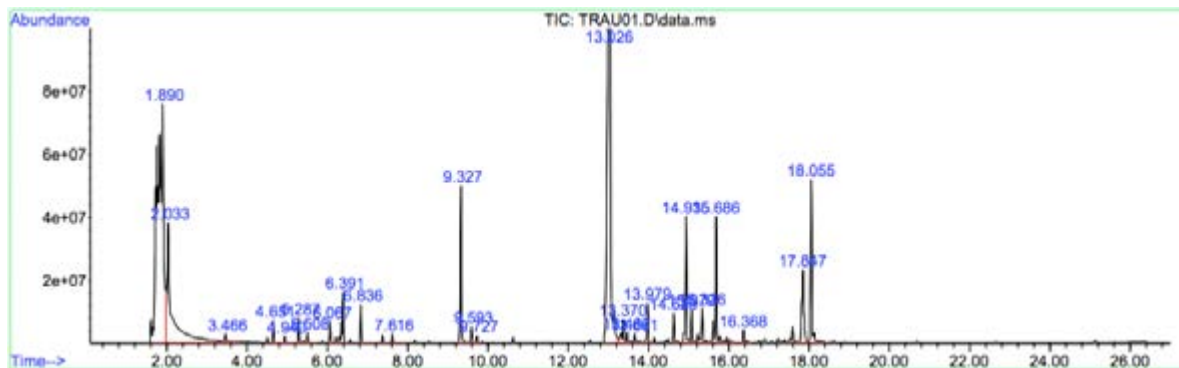
rộng rãi trong thực phẩm và hương liệu. Ngoài ra, eugenol còn có dược tính cao được xem như một chất kháng viêm, kháng oxy hóa, kháng khuẩn và giảm đau (Muruganandam, 2017). Kết quả tương tự cũng được công bố bởi Madhumita (2019) trong đó eugenol chiếm 46,02% thành phần tinh

dầu lá Trầu. Các hợp chất thuộc nhóm terpenoid chiếm hàm lượng cao trong tinh dầu lá Trầu bao gồm γ -muurolene, δ -cadinene, T.-cadinol có mùi thơm đặc trưng, thường được sử dụng trong nước hoa, dầu gội, mỹ phẩm và chất tẩy rửa (Lesage-Meessen & ctv., 2015). β -phellandrene chiếm 2,17% là thành phần kháng khuẩn chính trong tinh dầu cây họ Cam quýt (Okunowo & ctv., 2013). Caryophyllene được biết đến như chất bảo quản trong thực phẩm. Ngoài ra các hợp chất này còn có đặc tính kháng khuẩn, xua đuổi

côn trùng và ức chế sự phát triển của nấm da *in vitro* (Fidy & ctv., 2016). So sánh với các nghiên cứu của Nguyen & ctv. (2016), Arambewela & ctv. (2005) và Madhumita & ctv. (2019) cho thấy tinh dầu lá Trầu trong nghiên cứu này chứa các thành phần đặc trưng phổ biến của lá Trầu mặc dù khác biệt về hàm lượng các hợp chất. Các thành phần trong tinh dầu lá Trầu được báo cáo có hoạt tính sinh học và có tiềm năng ứng dụng trong nhiều lĩnh vực.

Bảng 2. Thành phần hóa học của tinh dầu lá Trầu

STT	Thời gian (phút)	Thành phần	%	STT	Thời gian (phút)	Thành phần	%
1	5,29	β -Phellandrene	2,17	10	14,63	Humulene	1,81
2	6,06	α -Terpinene	1,06	11	14,93	γ -Muurolene	9,65
3	6,39	Eucalyptol	3,09	12	15,68	δ -Cadinene	6,48
4	6,84	γ -Terpinene	2,08	13	16,37	α -Farnesene	0,73
5	9,59	α -Terpinolene	1,33	14	16,89	beta-Gurjunene	0,95
6	13,02	Eugenol	50,37	15	17,58	Cubenene	1,29
7	13,36	β -Elemene	2,41	16	17,84	tau-Cadinol	5,46
8	13,66	Tridecanal	0,67	17	18,05	α -Copaene	8,22
9	13,98	Caryophyllene	2,11	18			

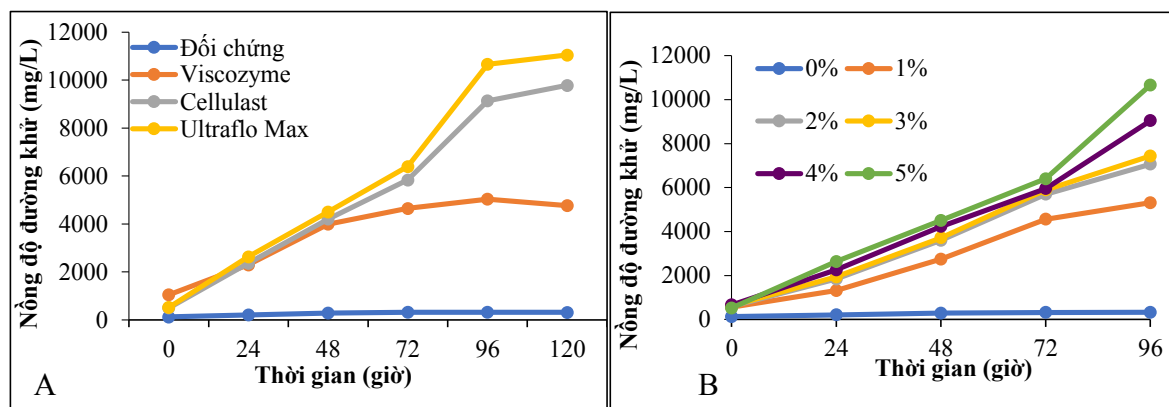


Hình 1. Sắc ký đồ GC-MS phân tích thành phần tinh dầu lá Trầu.

3.3. Kết quả thủy phân bã lá Trầu

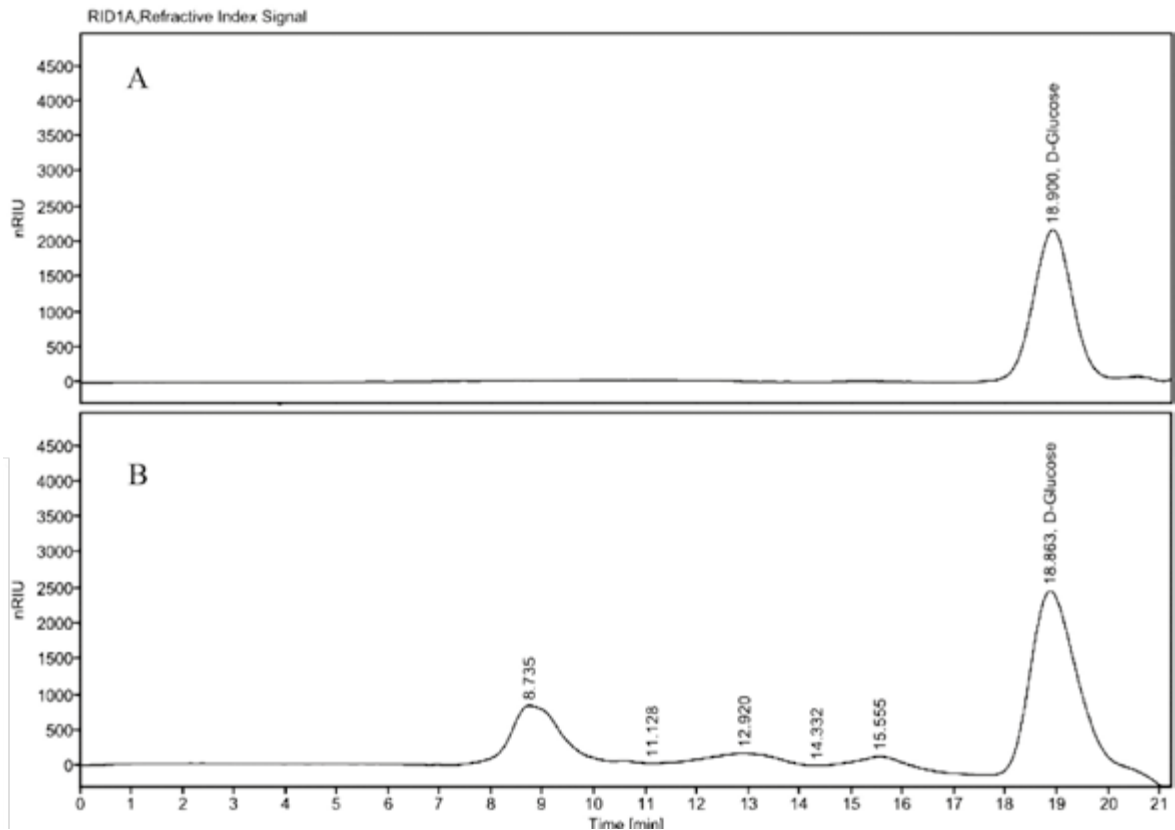
Bã lá Trầu sau khi chiết xuất tinh dầu được lọc tách, sấy khô và thủy phân bằng Viscozyme, Celluclast và Ultraflo Max trong 120 giờ với tỉ lệ enzyme:cơ chất là 5%. Đây là các loại enzyme thương mại phổ biến được ứng dụng rộng rãi trong công nghiệp. Ultraflo Max là hỗn hợp enzyme chứa beta-glucanase và arabinoxylanase; Viscozyme chứa thành phần chính là pectinase, ngoài ra còn có β -glucanase, hemicellulase và xylanase; trong khi Celluclast chỉ chứa cellulase. Kết quả thể hiện trong Hình 2 cho thấy hàm lượng đường khử tăng dần từ 0 giờ tới 120 giờ trừ nghiệm thức đối chứng (không bổ sung enzyme). Hàm lượng đường khử cao nhất khi sử dụng enzyme Ultraflo Max (11,04 g/L) sau 120 giờ thủy phân, vượt trội so với Celluclast và Viscozyme và cao gấp 34 lần so với nghiệm thức đối chứng (0,32 g/L). Hiệu quả thủy phân phụ thuộc vào thành phần nguyên liệu và enzyme sử dụng. Nghiên cứu cho thấy Ultraflo Max cho hiệu quả thủy phân bã lá Trầu cao hơn Celluclast và Viscozyme. Ultraflo Max là enzyme thủy phân hiệu quả nhiều loại nguyên liệu khác nhau như bã củ cải ngọt, bã bia, bã trái cây (Berlowska & ctv., 2015; Paz & ctv., 2019; Favaretto & ctv., 2023). Sử dụng enzyme để thủy phân phụ phẩm của các quá trình chế biến nông sản hoặc phụ

phẩm nông nghiệp đang thu hút nhiều nghiên cứu nhằm khai thác trực tiếp hoặc chuyển hóa nguồn nguyên liệu này thành sản phẩm có giá trị. Kết quả nghiên cứu cho thấy hàm lượng đường khử thu nhận được khi sử dụng Ultraflo Max sau 96 giờ (10,66 g/L) và 120 giờ (11,04 g/L) không có khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$). Do đó, enzyme Ultraflo Max được sử dụng thủy phân bã lá Trầu nhằm thu nhận dịch đường. Liều lượng enzyme đóng vai trò quan trọng trong quá trình thủy phân. Hàm lượng đường khử tăng khi tăng lượng enzyme Ultraflo Max từ 1 - 5%. Kết quả Hình 2 cho thấy ở nghiệm thức bổ sung 1% enzyme cho hàm lượng đường khử thấp nhất (5,31 g/L) và cao nhất ở nghiệm thức bổ sung 5% enzyme Ultraflo Max (10,66 g/L), trong khi đối chứng chỉ đạt 0,32 g/L sau 96 giờ thủy phân. Liều lượng Ultraflo Max 5% được xem là tỷ lệ tối ưu để thủy phân bã lá Trầu trong nghiên cứu này. Kết quả phân tích đường đơn (Hình 3) trong dịch thủy phân bã lá Trầu cho thấy glucose chiếm khoảng 48,31% trong dịch đường với nồng độ 5,15 g/L, các loại đường khác chưa được xác định trong nghiên cứu này. Glucose được xem là nguồn carbon phù hợp và tối ưu cho nhiều loại vi sinh vật, do đó chúng tôi định hướng sử dụng dịch thủy phân bã lá Trầu làm môi trường lên men trong nghiên cứu tiếp theo.



Hình 2. Kết quả thủy phân bã lá Trầu.

A: Ảnh hưởng của loại enzyme; B: Ảnh hưởng của liều lượng enzyme Ultraflo Max.



Hình 3. Sắc ký đồ phân tích đường trong dịch thủy phân.

(A) chất chuẩn glucose; (B) dịch thủy phân.

3.4. Hoạt tính chống oxy hóa và kháng khuẩn

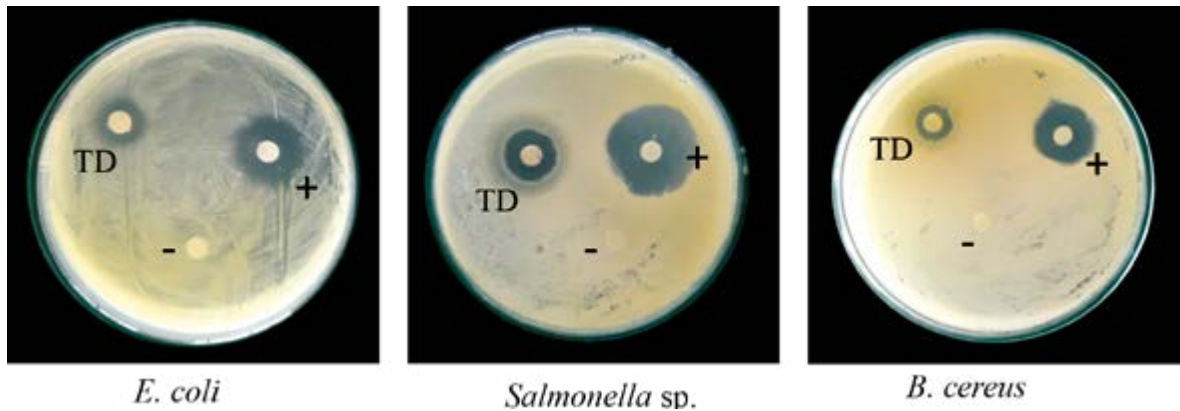
Khả năng chống oxy hóa của tinh dầu và dịch thủy phân bã lá Trầu được xác định bằng thử nghiệm bắt gốc tự do DPPH. Kết quả cho thấy tinh dầu có khả năng chống oxy hóa với $IC_{50} = 0,13$ mg/mL, thấp hơn so với chất đối chiếu acid ascorbic ($IC_{50} = 0,038$ mg/mL). Tuy nhiên, khả năng chống oxy hóa của tinh dầu lá Trầu cao hơn một số nguyên liệu khác như tinh dầu Thiên Niên Kiện (*Homalomena occulta*) với $IC_{50} = 58,05$ mg/mL hoặc tinh dầu Gừng (*Zingiber montanum*) với $IC_{50} = 0,545$ mg/mL (Tran & ctv., 2014; Trinh, 2023). Thành phần tinh dầu lá Trầu chứa 50,37% eugenol là một phenolic được chứng minh có hoạt tính chống oxy hóa và bắt

gốc tự do mạnh trong nhiều nghiên cứu (Salehi & ctv., 2019).

Tinh dầu lá Trầu thể hiện hoạt tính kháng với cả ba chủng vi khuẩn *E. coli*, *Salmonella* sp. và *B. cereus* (Hình 4). Trong đó, tinh dầu thể hiện khả năng ức chế *Salmonella* sp. mạnh nhất với đường kính vòng vô khuẩn đạt 8,33 mm và kháng *E. coli* yếu hơn với đường kính vòng vô khuẩn 7,67 mm. *B. cereus* kém nhạy với đường kính vòng vô khuẩn nhỏ nhất 6,33 mm. Tinh dầu lá Trầu được báo cáo có khả năng kháng nhiều chủng vi sinh vật gây bệnh bao gồm vi khuẩn Gram (-), (+), nấm men và nấm sợi như *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*, *Candida albicans*, *Aspergillus*

niger và *Fusarium oxysporum* (Nayaka & ctv., 2021). Eugenol trong tinh dầu lá Trầu được chứng minh là thành phần có khả năng bất hoạt các enzyme trên thành tế bào vi khuẩn và nấm, làm tăng tính thấm của màng tế bào dẫn đến sự rò rỉ các chất nội bào (Madhumita & ctv., 2019; Gulcin, 2021).

Trong khi đó, thành phần chủ yếu của dịch thủy phân bã lá Trầu là các loại đường khử, các polyphenol và flavonoid bị phân hủy trong quá trình chưng cất tinh dầu vì vậy dịch thủy phân bã Trầu gần như không có khả năng chống oxy hóa ($IC_{50} = 4,91 \text{ mg/mL}$) và không thể hiện hoạt tính kháng các chủng vi khuẩn khảo sát.



Hình 4. Hoạt tính kháng khuẩn của tinh dầu lá Trầu.
(+) Tetracycline 0,2%; (-) Nước khử ion; (TD) Tinh dầu.

4. Kết Luận

Hàm lượng tinh dầu trong lá Trầu đạt 3,14%, tinh dầu chứa các thành phần chính như eugenol (50,37%), γ -muurolene (9,65%) và α -copaene (8,22%). Tinh dầu lá Trầu có hoạt tính chống oxy hóa với giá trị IC_{50} là 0,13 mg/mL, đồng thời thể hiện tính kháng với ba chủng vi khuẩn là *Escherichia coli*, *Salmonella sp.* và *Bacillus cereus* với đường kính vòng vô khuẩn lần lượt là 7,67 mm, 8,33 mm và 6,33 mm. Bã lá Trầu được thủy phân bằng Ultraflo Max với tỉ lệ enzyme:cơ chất là 5% trong 96 giờ thu được lượng đường khử cao nhất 10,66 g/L, trong đó glucose chiếm 48,31%.

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)

- Arambewela, L., Kumaratunga, K. G. A., & Dias, K. (2005). Studies on piper beetle of Sri Lanka. *Journal of The National Science Foundation of Sri Lanka* 33(2), 133-139. <https://doi.org/10.4038/jnsfr.v33i2.2343>.
- Arambewela, L. S., Arawawala, M. L., Withanage, D., & Kulathunga, S. (2010). Efficacy of betel cream on skin ailments. *Journal of Complementary and Integrative Medicine* 7(1). <https://doi.org/10.2202/1553-3840.1391>.
- Bauer, A. W., Perry, D. M., & Kirby, W. M. (1959). Single-disk antibiotic-sensitivity testing of staphylococci: An analysis of technique and results. *AMA Archives of Internal Medicine* 104(2), 208-216. <https://doi.org/10.1001/archinte.1959.00270080034004>.
- Berlowska, J., Binczarski, M., Dudkiewicz, M., Kalinowska, H., Witonska, I. A., & Stanishevsky, A. V. (2015). A low-cost method for obtaining

- high-value bio-based propylene glycol from sugar beet pulp. *RSC Advances* 5(3), 2299-2304. <https://doi.org/10.1039/C4RA12839G>.
- Blois, M. S. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* 181(4617), 1199-1200.
- Bondet, V., Brand-Williams, W., & Berset, C. L. W. T. (1997). Kinetics and mechanisms of antioxidant activity using the DPPH. free radical method. *LWT-Food Science and Technology* 30(6), 609-615. <https://doi.org/10.1006/fstl.1997.0240>.
- Chowdhury, U., & Baruah, P. K. (2020). Betelvine (Piper betle L.): A potential source for oral care. *Current Botany* 11, 87-92. <https://doi.org/10.25081/cb.2020.v11.6130>.
- Favaretto, D. P. C., Rempel, A., Lanzini, J. R., Silva, A. C. M., Lazzari, T., Barbizan, L. D., & Treichel, H. (2023). Fruit residues as biomass for bioethanol production using enzymatic hydrolysis as pretreatment. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 39(6), 144. <https://doi.org/10.1007/s11274-023-03588-2>.
- Fidy, K., Fiedorowicz, A., Strzdała, L., & Szumny, A. (2016). β -caryophyllene and β -caryophyllene oxide-natural compounds of anticancer and analgesic properties. *Cancer Medicine* 5(10), 3007-3017. <https://doi.org/10.1002/cam4.816>.
- Glevitzky, I., Dumitrel, G. A., Glevitzky, M., Pasca, B., Otrisal, P., Bungau, S., & Popa, M. J. R. C. (2019). Statistical analysis of the relationship between antioxidant activity and the structure of flavonoid compounds. *Revista de Chimie* 70(9), 3103-3107. <https://doi.org/10.37358/RC.19.9.7497>.
- Gulçin, I. (2011). Antioxidant activity of eugenol: A structure-activity relationship study. *Journal of Medicinal Food* 14(9), 975-985. <https://doi.org/10.1089/jmf.2010.0197>.
- Huynh, K. T., Tran, N. N. C., Ha, M. T., Nguyen, K. N., Do, V. H., Tran, T. N. T., Pham, T. A., & Chu, P. N. S. (2015). Essential oils and biological activity of *Piper betle* L. leaves. *Journal of Analytical Sciences* 20(3), 80-90.
- Joesoef, M. R., Sumampouw, H., Linnan, M., Schmid, S., Idajadi, A., & Louis, M. S. (1996). Douching and sexually transmitted diseases in pregnant women in Surabaya, Indonesia. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 174(1), 115-119. [https://doi.org/10.1016/S0002-9378\(96\)70382-4](https://doi.org/10.1016/S0002-9378(96)70382-4).
- Lesage-Meessen, L., Bou, M., Sigoillot, J. C., Faulds, C. B., & Lomascolo, A. (2015). Essential oils and distilled straws of lavender and lavandin: A review of current use and potential application in white biotechnology. *Applied Microbiology and Biotechnology* 99, 3375-3385. <https://doi.org/10.1007/s00253-015-6511-7>.
- Madhumita, M., Guha, P., & Nag, A. (2019). Extraction of betel leaves (*Piper betle* L.) essential oil and its bio-actives identification: Process optimization, GC-MS analysis and anti-microbial activity. *Industrial Crops and Products* 138, 111578. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.111578>.
- Makhuvele, R., Naidu, K., Gbashi, S., Thipe, V. C., Adebo, O. A., & Njobeh, P. B. (2020). The use of plant extracts and their phytochemicals for control of toxigenic fungi and mycotoxins. *Heliyon* 6(10). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e05291>.
- Miller, G. L. (1959). Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Chemistry* 31(3), 426-428. <https://doi.org/10.1021/ac60147a030>.
- Montenegro-Landívar, M. F., Tapia-Quirós, P., Vecino, X., Reig, M., Valderrama, C., Granados, M., Cortina, J. L., & Saurina, J. (2021). Polyphenols and their potential role to fight viral diseases: An overview. *Science of The Total Environment* 801, 149719. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.149719>.
- Muruganandam, L., Krishna, A., Reddy, J., & Nirmala, G. S. (2017). Optimization studies on extraction of phytocomponents from betel leaves. *Resource-Efficient Technologies* 3(4), 385-393. <https://doi.org/10.1016/j.refit.2017.02.007>.
- Nayaka, N. M. D. M. W., Sasadara, M. M. V., Sanjaya, D. A., Yuda, P. E. S. K., Dewi, N. L. K. A. A.,

- Cahyaningsih, E., & Hartati, R. (2021). Piper betle (L): Recent review of antibacterial and antifungal properties, safety profiles, and commercial applications. *Molecules* 26(8), 2321. <https://doi.org/10.3390/molecules26082321>.
- Nguyen, T. C., Nguyen, T. N. C., Pham, K. N., Do, D. P., Duong, T. K, & Nguyen, T. T. T. (2016). Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils from leaves of *Piper betel* L. *Can Tho University Journal of Sciences* 45a, 28-32. <https://doi.org/10.22144/ctu.jvn.2016.508>.
- Okunowo, W. O., Oyedeji, O., Afolabi, L. O., & Matanmi, E. (2013). Essential oil of grape fruit (*Citrus paradisi*) peels and its antimicrobial activities. *American Journal of Plant Sciences* 4(7B), 1-9. <https://doi.org/10.4236/ajps.2013.47A2001>.
- Paz, A., Outeiriño, D., Guerra, N. P., & Domínguez, J. M. (2019). Enzymatic hydrolysis of brewer's spent grain to obtain fermentable sugars. *Bioresource Technology* 275, 402-409. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.12.082>.
- Pham, T. A. H. (2003). *Biochemical technique*. Ho Chi Minh City, Vietnam: National University of Ho Chi Minh City Publishing House.
- Pham, T. K., Nguyen, T. T, & Tran, V. T. (1998). *Lectures on medicinal plants II*. Ha Noi University of Pharmacy, Ha Noi, Vietnam.
- Pradhan, D., Suri, K. A., Pradhan, D. K., & Biswasroy, P. (2013). Golden heart of the nature: *Piper betle* L. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* 1(6), 147-167.
- Salehi, B., Zakaria Z.A., Gyawali R., Ibrahim S.A., Rajkovic J., Shinwari Z.K., Khan T., Sharifi-Rad J., Ozleyen A., & Turkdonmez E. (2019). Piper species: A comprehensive review on their phytochemistry, biological activities and applications. *Molecules* 24(7), 1364. <https://doi.org/10.3390/molecules24071364>.
- Sharma, K., Kumar, V., Kaur, J., Tanwar, B., Goyal, A., Sharma, R., Gat, Y., & Kumar, A. (2021). Health effects, sources, utilization and safety of tannins: A critical review. *Toxin Reviews* 40(4), 432-444. <https://doi.org/10.1080/15569543.2019.1662813>.
- Shraim, A. M., Ahmed, T. A., Rahman, M. M., & Hijji, Y. M. (2021). Determination of total flavonoid content by aluminum chloride assay: A critical evaluation. *LWT* 150, 111932. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111932>.
- Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventós, R. M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology* 299, 152-178. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99017-1](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1).
- Sluiter, A., Hames, B., Ruiz, R., Scarlata, C., Sluiter, J., Templeton, D., & Crocker, D. L. A. P. (2008). Determination of structural carbohydrates and lignin in biomass. *Laboratory Analytical Procedure* 1617(1), 1-16.