

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 Phượng	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 Effect of eggshell powder and phosphorus on growth and yield of MD7 groundnut variety in spring season in Phu Xuyen, Ha Noi
Trang H. Duong, Lan N. Vu, Huyen T. Nguyen, Giang V. Tong, & Thang N. Vu
Ảnh hưởng của bột vỏ trứng và phân lân đến sinh trưởng và năng suất của giống lạc MD7 trong vụ xuân tại Phú Xuyên, Hà Nội
Dương Huyền Trang, Vũ Ngọc Lan, Nguyễn Thu Huyền, Tống Văn Giang & Vũ Ngọc Thắng
- 14 Evaluation of specific combining ability and heterosis of 6 melon (*Cucumis melo* L. var. *inodorus*) self-pollinated lines at the 5th generation
Duy N. Le, Nien C. Nguyen, Loan T. Ha, Quynh D. Phan, & Cuong H. Doan
Đánh giá khả năng phối hợp riêng và ưu thế lai của 6 dòng dưa lê (*Cucumis melo* L. var. *inodorus*) tự phối đời S₅
Lê Nhứt Duy, Nguyễn Châu Niên, Hà Thị Loan, Phan Diễm Quỳnh & Đoàn Hữu Cường
- 28 Morphological characteristics of *Bracon hebetor* (Hymenoptera: Braconidae), a larval parasitoid of coconut Black Headed Caterpillar *Opisina arenosella* Walker (Lepidoptera: Xyloryctidae)
Hoang K. Le
Đặc điểm hình thái loài ong *Bracon hebetor* (Hymenoptera: Braconidae) ký sinh ấu trùng sâu đầu đen hại dừa *Opisina arenosella* Walker (Lepidoptera: Xyloryctidae)
Lê Khắc Hoàng

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

- 39 Antibacterial activity of the black soldier fly (*Hermetia illucens*) larva protein hydrolysates against some pathogenic bacterial strains on freshwater fish
Nhu L. K. Nguyen, Duyen T. M. Tran, Tam P. B. Nguyen, & Thy T.T. Ho
Xác định khả năng kháng khuẩn dịch đạm thủy phân của nhộng ruồi lính đen (*Hermetia illucens*) lên một số chủng vi khuẩn gây bệnh trên cá nuôi nước ngọt
Nguyễn Lam Kim Như, Trần Thị Mỹ Duyên, Nguyễn Phạm Băng Tâm & Hồ Thị Trường Thy
- 49 The effect of water hardness on the development of embryo and larvae of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*)
Ly H. Tien, & Kieu T. Nguyen
Ảnh hưởng của độ cứng lên sự phát triển phôi và ấu trùng của cá mè trắng (*Hypophthalmichthys molitrix*)
Tiến Hải Lý & Nguyễn Thị Kiều
- 57 Application of conjunctival graft surgery in the treatment of corneal ulcers in dogs
Tan N. Nguyen, Ba Q. Phan, & Thuong T. Nguyen
Ứng dụng phẫu thuật ghép củng kết mạc trong điều trị viêm loét giác mạc trên chó
Nguyễn Nhật Tân, Phan Quang Bá & Nguyễn Thị Thương

Effect of eggshell powder and phosphorus on growth and yield of MD7 groundnut variety in spring season in Phu Xuyen, Ha Noi

Trang H. Duong¹, Lan N. Vu¹, Huyen T. Nguyen², Giang V. Tong³, & Thang N. Vu^{1*}

¹Faculty of Agronomy, Vietnam National University of Agriculture, Ha Noi, Vietnam

²Plant Clinic, Vietnam National University of Agriculture, Ha Noi, Vietnam

³Faculty of Agriculture, Forestry, and Fisheries, Hong Duc University, Thanh Hoa, Vietnam

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Research Paper Received: May 04, 2023 Revised: October 13, 2023 Accepted: October 23, 2023 Keywords Eggshell powder Groundnut Growth Phosphorus Yield *Corresponding author Vu Ngoc Thang Email: vungocthang@vnua.edu.vn	The experiment was conducted to evaluate the effect of eggshell powder and phosphorus on growth and yield of MD7 groundnut variety in the spring season in Phu Xuyen, Ha Noi. The two-factor experiment was laid out in a split-plot design with three replications. The main plot consisted of three rates of eggshell powder (0, 300, 500 kg/ha). The sub-plot included three rates of phosphorus (30, 60, 90 kg/ha). The results showed that the growth and yield of plants fertilized with eggshell powder were higher than those with unfertilized eggshell powder. In addition, the growth traits and yield of MD7 groundnut variety increased with increasing phosphorus fertilizer doses from 30 kg P₂O₅/ha to 90 kg P₂O₅/ha under the same fertilized or unfertilized eggshell powder conditions. Briefly, the results indicated that the rate of 500 kg eggshell powder/ha combined with 90 kg P₂O₅/ha was suitable for MD7 groundnut variety to grow, develop and produce the highest yield in the spring season in Phu Xuyen, Ha Noi.

Cited as: Duong, T. H., Vu, L. N., Nguyen, H. T., Tong, G. V., & Vu, T. N. (2024). Effect of eggshell powder and phosphorus on growth and yield of MD7 groundnut variety in spring season in Phu Xuyen, Ha Noi. *The Journal of Agriculture and Development* 23(2), 1-13.

Ảnh hưởng của bột vỏ trứng và phân lân đến sinh trưởng và năng suất của giống lạc MD7 trong vụ xuân tại Phú Xuyên, Hà Nội

Dương Huyền Trang¹, Vũ Ngọc Lan¹, Nguyễn Thu Huyền², Tống Văn Giang³ & Vũ Ngọc Thắng^{1*}

¹Khoa Nông Học, Học Viện Nông Nghiệp Việt Nam, Hà Nội

²Bệnh Viện Cây Trồng, Học Viện Nông Nghiệp Việt Nam, Hà Nội

³Khoa Nông Lâm Ngư Nghiệp, Trường Đại Học Hồng Đức, Thanh Hóa

THÔNG TIN BÀI BÁO

Bài báo khoa học

Ngày nhận: 04/05/2023

Ngày chỉnh sửa: 13/10/2023

Ngày chấp nhận: 23/10/2023

Từ khóa

Bột vỏ trứng

Lạc

Lân

Năng suất

Sinh trưởng

*Tác giả liên hệ

Vũ Ngọc Thắng

Email:

vungocthang@vnua.edu.vn

TÓM TẮT

Thí nghiệm được tiến hành nhằm đánh giá ảnh hưởng của bột vỏ trứng và phân lân đến sinh trưởng và năng suất của giống lạc MD7 trong điều kiện vụ xuân tại Phú Xuyên, Hà Nội. Thí nghiệm 2 nhân tố được bố trí theo kiểu lô chính - lô phụ (Split-plot design) với 3 lần lặp lại. Nhân tố thứ nhất là 3 lượng bón bột vỏ trứng (0, 300 và 500 kg/ha), nhân tố thứ hai là 3 lượng lân bón (30, 60 và 90 kg/ha). Kết quả nghiên cứu cho thấy cây trồng ở nghiệm thức được bón bột vỏ trứng sinh trưởng và cho năng suất cao hơn so với nghiệm thức không bón. Ngoài ra trên cùng một điều kiện có bón hoặc không bón bột vỏ trứng, các chỉ tiêu sinh trưởng và năng suất của giống lạc MD7 tăng với lượng lân bón tăng dần từ 30 kg/ha đến 90 kg/ha. Tóm lại, kết quả nghiên cứu đã chỉ ra rằng, lượng bón bột vỏ trứng 500 kg/ha kết hợp với 90 kg P_2O_5 /ha là phù hợp để giống lạc MD7 sinh trưởng, phát triển và mang lại năng suất cao nhất trong vụ xuân tại Phú Xuyên, Hà Nội.

1. Đặt Vấn Đề

Cây lạc (*Arachis hypogaea* L.) là cây công nghiệp ngắn ngày được trồng phổ biến ở hơn 110 quốc gia với tổng diện tích là 32,7 triệu ha và sản lượng 53,9 triệu tấn (FAOSTAT, 2023). Việt Nam nằm trong top 20 quốc gia sản xuất lạc với tổng diện tích 165.200 ha và tổng sản lượng hàng năm là 430.400 tấn (FAOSTAT, 2023). Ở Việt Nam, cây lạc được trồng phổ biến ở các tỉnh thành trong cả nước nhằm thay thế các loại cây trồng ít hiệu quả và kém bền vững (Vu & ctv., 2022).

Canxi là một trong những chất dinh dưỡng quan trọng cho quá trình sinh trưởng và phát triển, đặc biệt quá trình hình thành và phát triển của quả lạc (Cheema & ctv., 1991). Nhiều nghiên cứu chỉ ra rằng, sự thiếu hụt canxi là nguyên nhân chính làm tăng tỷ lệ hạt lép và quả khó vào chắc dẫn đến làm giảm năng suất lạc (Ntare & ctv., 2008; Kamara & ctv., 2010). Trong những năm gần đây, việc sử dụng bột vỏ trứng làm nguồn cung cấp canxi bón cho cây trồng nói chung và cây lạc nói riêng trở nên phổ biến ở nhiều nơi trên

thế giới (Park & ctv., 2007; Faridi & Arabhosseini, 2018; Vu & ctv., 2022). Bột vỏ trứng là nguồn canxi tự nhiên rất tốt và có chứa một lượng nhỏ các khoáng chất khác (Kingori, 2011) có lợi cho sự sinh trưởng và phát triển của cây trồng, đặc biệt kích thích sự phát triển bộ rễ. Bên cạnh đó, tác dụng của bột vỏ trứng trong cải thiện lý hóa tính của đất cũng đã được chứng minh bởi nhiều tác giả như Amu & ctv. (2005) và Munirwan & ctv. (2019). Đồng thời, tác giả Faridi & Arabhosseini (2018) cho rằng, việc tái chế chất thải từ vỏ trứng để tạo thành nguồn phân bón cung cấp canxi và các hợp chất khác cho cây trồng sẽ mang lại hiệu quả kinh tế. Các kết quả nghiên cứu ứng dụng bón bột vỏ trứng giúp tăng sinh trưởng và năng suất của một số cây trồng như trên cây cà chua (Taufique & ctv., 2014), ớt đỏ (Tri, 2018), đậu phaseolus vulgaris (Radha & Karthikeyan, 2019), đậu xanh (Nguyen & ctv., 2020a) và lạc (Nguyen & ctv., 2020b; Vu & ctv., 2022)... Tuy nhiên, các nghiên cứu về hiệu quả của việc kết hợp giữa bột vỏ trứng và lân tác động đến sinh trưởng và năng suất của giống lạc MD7 tại địa phương còn hạn chế. Do đó, mục tiêu của nghiên cứu này nhằm xác định lượng bón bột vỏ trứng và phân lân phù hợp đến sinh trưởng và năng suất của giống lạc

MD7 trong vụ Xuân tại Phú Xuyên, Hà Nội, qua đó góp phần hoàn thiện quy trình thâm canh lạc tại địa phương.

2. Vật Liệu và Phương Pháp Nghiên Cứu

2.1. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Thí nghiệm được thực hiện tại Phú Xuyên, Hà Nội trên đất phù sa cổ không được bồi đắp. Thời gian triển khai thí nghiệm trong vụ xuân từ tháng 2 đến tháng 6 năm 2021.

2.2. Vật liệu nghiên cứu

Vật liệu thí nghiệm là giống lạc MD7 do Bộ môn miễn dịch, Viện Khoa học Kỹ thuật Nông nghiệp Việt Nam tuyển chọn. Giống MD7 có đặc điểm cây dạng đứng, thời gian sinh trưởng vụ Xuân từ 120 - 125 ngày, khối lượng hạt lớn, tỷ lệ nhân cao, năng suất đạt từ 3,0 - 3,5 tấn/ha.

Phân lân Lâm Thao, phân vi sinh Sông Gianh, đạm urê và kali clorua được sử dụng cho thí nghiệm. Bột vỏ trứng được cung cấp bởi công ty Green Techno 21 của Nhật Bản. Các thành phần dinh dưỡng và hàm lượng amino axit trong bột vỏ trứng được trình bày tại Bảng 1.

Bảng 1. Các thành phần trong bột vỏ trứng

Thành phần chính				Hàm lượng amino acid/100 g protein			
Độ ẩm	1,57%	Fe	0,017%	Arginine	151 mg	Alanine	96 mg
N	0,74%	Cu	0,0002%	Lysine	68 mg	Glysin	152 mg
P ₂ O ₅	0,26%	Zn	0,0001%	Histidine	96 mg	Burorin	118 mg
K ₂ O	0,08%	Mo	0,0001%	Phenylalanine	41 mg	Glutamate	241 mg
Ca(CO ₃) ₂	88,08%	Ni	≥ 0,0002%	Tyrosine	52 mg	Serine	111 mg
Mg-citrate	0,57%	Cr	≥ 0,001%	Leusine	109 mg	Threonine	97 mg
Alkalinity	50,18%	Ti	≥ 0,01%	Isoleusine	62 mg	Aspartate	157 mg
Mn-citrate	0,01%	Protein	2,1%	Methionine	42 mg	Tryptophan	46 mg
B-citrate	≥0,002%	pH	10,1	Valine	124 mg	Cystein	60 mg

Nguồn: Số liệu được phân tích từ công ty Green Techno 21.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

Thí nghiệm 2 nhân tố được bố trí theo kiểu lô chính - lô phụ (Split-plot design) với 3 lần nhắc lại. Nhân tố thứ nhất là 3 lượng bón bột vỏ trứng (0, 300 và 500 kg/ha), nhân tố thứ hai là 3 lượng bón phân lân (30, 60 và 90 kg P_2O_5 /ha). Diện tích mỗi ô thí nghiệm là 10 m². Nền phân bón cho 1 ha là: 30 kg N + 60 kg K_2O + 1.000 kg phân hữu cơ vi sinh Sông Gianh. Bón lót vào thời điểm trước khi gieo trồng với lượng bón: bột vỏ trứng + phân lân + phân vi sinh Sông Gianh + 1/2 lượng đạm + 1/2 lượng kali. Bón thúc lần 1 khi cây có từ 2 đến 3 lá thật với lượng còn lại 1/2 lượng đạm + 1/2 lượng kali.

Các chỉ tiêu theo dõi theo Quy chuẩn kỹ thuật Quốc gia về khảo nghiệm giá trị canh tác và sử

dụng giống lạc QCVN 01-57: 2011/BNNPTNN của Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn bao gồm:

Các chỉ tiêu sinh trưởng: khả năng tích lũy chất khô của cây (g/cây), diện tích lá (dm²) và chỉ số diện tích lá (m² lá/m² đất), số lượng nốt sần (nốt/cây) và khối lượng nốt sần hữu hiệu (g/cây). Các chỉ tiêu này được đánh giá ở thời kỳ cây con, thời kỳ bắt đầu ra hoa và thời kỳ quả chắc với 5 cây/ô thí nghiệm. Cây thu về được đếm tổng số nốt sần và cân khối lượng nốt sần. Diện tích lá của cây được đánh giá bằng phương pháp cân nhanh như sau: Toàn bộ khối lượng lá tươi của cây thu về được cân và quy đổi diện tích lá từ khối lượng tươi của 1 dm² lá. Từ số liệu diện tích lá tiếp tục quy đổi sang chỉ số diện tích lá theo công thức sau:

$$\text{Chỉ số diện tích lá (LAI)} = \frac{(\text{Mật độ cây}) * (\text{Diện tích lá của 1 cây})}{\text{Diện tích ô thí nghiệm}}$$

Năng suất và các yếu tố cấu thành năng suất: Tổng số quả/cây (quả), tỷ lệ quả chắc (%), khối lượng 100 quả (g), khối lượng 100 hạt (g), tỷ lệ nhân (%), năng suất cá thể (g/cây), năng suất lý thuyết (tấn/ha), năng suất thực thu (tấn/ha). Các chỉ tiêu này được đánh giá tại thời điểm thu hoạch với 10 cây/ô thí nghiệm.

Số liệu thu thập được phân tích và xử lý thống kê theo phương pháp phân tích phương sai (ANOVA) so sánh sự sai khác giữa các giá trị trung bình bằng giá trị sai khác nhỏ nhất (LSD) ở mức ý nghĩa $\alpha = 0,05$ sử dụng chương trình IRRISTAT 5.0.

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Ảnh hưởng của lượng bón bột vỏ trứng và lân đến khả năng tích lũy chất khô

Khả năng tích lũy chất khô của giống lạc MD7 tăng dần qua các thời kỳ và đạt giá trị cao vào thời kỳ quả chắc. Có sự khác biệt có ý nghĩa

thống kê giữa các lượng bón bột vỏ trứng đến khả năng tích lũy chất khô của giống lạc MD7 ở thời kỳ cây con và thời kỳ ra hoa. Trong khi đó, ở thời kỳ quả chắc chỉ có sự sai khác có ý nghĩa thống kê giữa lượng bón 500 kg/ha bột vỏ trứng so với công thức không bón. Trong nghiên cứu này, khi tăng lượng bón bột vỏ trứng thì khả năng tích lũy chất khô của giống lạc MD7 có xu hướng tăng lên (Bảng 2). Kết quả nghiên cứu này cũng tương đồng với kết quả nghiên cứu của tác giả Nguyen & ctv. (2020b) và họ cho rằng, bột vỏ trứng làm tăng các chỉ tiêu sinh trưởng như chiều cao cây, chiều dài cành, số lá/thân chính và khối lượng sinh khối của lạc. Bên cạnh đó, khi nghiên cứu ảnh hưởng của lượng bón bột vỏ trứng đến sinh trưởng và năng suất của cây đậu Phaseolus vulgaris tác giả Radha & Karthikeyan (2019) cũng cho thấy khi bón một lượng nhỏ vỏ trứng giúp tăng cường sinh trưởng và phát triển của cây. Kết quả nghiên cứu cho thấy trong cùng một điều kiện bón bột vỏ trứng, khả năng

tích lũy chất khô tại thời kỳ ra hoa và thời kỳ quả chắc là tương tự giữa hai liều lượng bón 60 kg P_2O_5 /ha và 90 kg P_2O_5 /ha, tuy nhiên đều cao hơn và khác biệt ý nghĩa thống kê so với mức bón 30 kg P_2O_5 /ha. So sánh tương tác giữa lượng bón

bột vỏ trứng và lân kết quả cho thấy lượng bón 500 kg/ha bột vỏ trứng kết hợp với 90 kg/ha P_2O_5 cho khả năng tích lũy chất khô của giống lạc MD7 đạt giá trị cao nhất.

Bảng 2. Ảnh hưởng của lượng bón bột vỏ trứng và lân đến khả năng tích lũy chất khô của giống lạc MD7

Lượng bột vỏ trứng (kg/ha)	Lượng lân bón (kg/ha)	Chất khô (g/cây)		
		Thời kỳ cây con	Thời kỳ ra hoa	Thời kỳ quả chắc
0	30	1,78 ^d	10,18 ^c	18,05 ^d
	60	2,15 ^d	12,19 ^b	21,21 ^c
	90	3,01 ^c	12,66 ^{ab}	24,02 ^{ab}
300	30	2,17 ^d	11,70 ^{bc}	22,42 ^{bc}
	60	3,72 ^b	12,98 ^{ab}	24,26 ^{ab}
	90	4,26 ^a	13,64 ^{ab}	25,25 ^a
500	30	3,25 ^c	12,55 ^{ab}	23,03 ^b
	60	4,01 ^{ab}	13,27 ^{ab}	24,78 ^a
	90	4,42 ^a	13,92 ^a	25,42 ^a
Trung bình lượng bột vỏ trứng (Ca)	0	2,31 ^c	11,68 ^c	21,09 ^b
	300	3,38 ^b	12,77 ^b	23,98 ^a
	500	3,89 ^a	13,25 ^a	24,41 ^a
Trung bình lượng lân (P)	30	2,40 ^c	11,48 ^b	21,17 ^b
	60	3,29 ^b	12,81 ^a	23,42 ^a
	90	3,90 ^a	13,41 ^a	24,90 ^a
CV (%)		7,20	7,10	6,40
$LSD_{0,05} P^*Ca$		0,43	1,57	1,68
$LSD_{0,05} Ca$		0,42	1,06	1,33
$LSD_{0,05} P$		0,13	1,17	1,58

Ghi chú: Ca: Bột vỏ trứng; P: Lân; Trong cùng một nhóm giá trị, các số có cùng ký tự chỉ sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($P > 0,05$).

3.2. Ảnh hưởng của lượng bón bột vỏ trứng và lân đến diện tích lá và chỉ số diện tích lá

Kết quả Bảng 3 cho thấy có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa công thức bón 90 kg phân lân/ha so với công thức bón 30 kg/ha về diện tích lá và chỉ số diện tích lá của giống lạc MD7. Tuy nhiên, không có sự sai khác có ý nghĩa thống kê về chỉ số diện tích lá của giống lạc MD7 giữa công thức bón 60 kg phân lân/ha so với công thức bón 30 kg/ha ở thời kỳ ra hoa và thời kỳ quả chắc. Khi tăng lượng lân bón từ 30 kg/ha lên 90 kg/ha thì diện tích lá và chỉ số diện tích lá cũng có xu hướng tăng lên. Kết quả nghiên cứu này cũng tương tự như kết quả nghiên cứu trước đây trên cây đậu tương của nhóm tác giả Doan & ctv. (2017) và cho rằng, khi tăng hàm lượng lân bón từ 30 kg/ha lên 120 kg/ha thì diện tích lá và chỉ số diện tích lá cũng có xu hướng tăng lên.

Bên cạnh đó, diện tích lá và chỉ số diện tích lá giữa các công thức bón bột vỏ trứng khác

biệt có ý nghĩa thống kê so với công thức không bón. Tuy nhiên, không có sự sai khác có ý nghĩa thống kê về diện tích lá và chỉ số diện tích lá giữa công thức bón 500 kg/ha so với công thức bón 300 kg/ha, ngoại trừ chỉ số diện tích lá thời kỳ cây con. Khi tăng lượng bón bột vỏ trứng thì diện tích lá và chỉ số diện tích lá của giống lạc MD7 cũng có xu hướng tăng lên, ngoại trừ diện tích lá và chỉ số diện tích lá ở thời kỳ quả chắc (Bảng 3). Kết quả nghiên cứu này cũng tương đồng với kết quả nghiên cứu của tác giả Nguyen & ctv. (2020b) cũng như của tác giả Nguyen & ctv. (2020a). So sánh tương tác giữa lượng bón bột vỏ trứng và lân kết quả cho thấy tại thời kỳ cây con lượng bón 500 kg/ha bột vỏ trứng kết hợp với 90 kg/ha P_2O_5 cho diện tích lá và chỉ số diện tích lá của giống lạc MD7 đạt giá trị cao nhất. Tuy nhiên, tại thời kỳ ra hoa và thời kỳ quả vào chắc diện tích lá và chỉ số diện tích lá của giống lạc MD7 đạt giá trị cao nhất được quan sát ở lượng bón 300 kg/ha bột vỏ trứng kết hợp với 90 kg/ha P_2O_5 .

Bảng 3. Ảnh hưởng của lượng bón bột vỏ trứng và lân đến diện tích lá và chỉ số diện tích lá của giống lạc MD7

Lượng bột vỏ trứng (kg/ha)	Lượng lân bón (kg/ha)	Thời kỳ cây con		Thời kỳ ra hoa		Thời kỳ quả chắc	
		Diện tích lá (dm ² /cây)	LAI (m ² lá/m ² đất)	Diện tích lá (dm ² /cây)	LAI (m ² lá/m ² đất)	Diện tích lá (dm ² /cây)	LAI (m ² lá/m ² đất)
0	30	2,11 ^c	0,63 ^d	6,57 ^c	1,97 ^b	11,42 ^c	3,43 ^b
	60	2,40 ^{bc}	0,72 ^c	7,25 ^{bc}	2,18 ^b	12,36 ^b	3,71 ^b
	90	2,52 ^b	0,76 ^c	7,92 ^b	2,38 ^{ab}	12,65 ^b	3,80 ^{ab}
300	30	2,61 ^b	0,78 ^c	8,09 ^b	2,43 ^{ab}	13,01 ^{ab}	3,90 ^{ab}
	60	2,81 ^{ab}	0,84 ^{bc}	8,86 ^{ab}	2,66 ^a	13,31 ^{ab}	3,99 ^{ab}
	90	3,01 ^a	0,90 ^{ab}	9,11 ^a	2,73 ^a	13,73 ^a	4,12 ^a
500	30	2,87 ^{ab}	0,86 ^b	8,13 ^b	2,44 ^{ab}	13,14 ^{ab}	3,94 ^{ab}
	60	2,98 ^a	0,89 ^{ab}	9,04 ^{ab}	2,71 ^a	13,35 ^{ab}	4,01 ^{ab}
	90	3,09 ^a	0,93 ^a	9,08 ^a	2,72 ^a	13,39 ^{ab}	4,02 ^{ab}
Trung bình lượng bột vỏ trứng (Ca)	0	2,34 ^b	0,70 ^c	7,25 ^b	2,18 ^b	12,14 ^b	3,65 ^b
	300	2,81 ^a	0,84 ^b	8,69 ^a	2,61 ^a	13,35 ^a	4,00 ^a
	500	2,98 ^a	0,89 ^a	8,75 ^a	2,62 ^a	13,29 ^a	3,99 ^a
Trung bình lượng lân (P)	30	2,53 ^c	0,76 ^c	7,60 ^b	2,28 ^a	12,52 ^b	3,76 ^b
	60	2,73 ^b	0,82 ^b	8,38 ^a	2,52 ^a	13,01 ^a	3,90 ^{ab}
	90	2,87 ^a	0,86 ^a	8,70 ^a	2,61 ^a	13,26 ^a	3,98 ^a
CV (%)		4,90	7,10	5,30	8,70	6,20	5,80
LSD _{0,05} P*Ca		0,32	0,06	0,94	0,42	0,78	0,38
LSD _{0,05} Ca		0,22	0,04	0,72	0,38	0,34	0,32
LSD _{0,05} P		0,10	0,03	0,51	0,36	0,44	0,21

Ghi chú: Ca: Bột vỏ trứng; P: Lân; Trong cùng một nhóm giá trị, các số có cùng ký tự chỉ sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($P > 0,05$).

3.3. Ảnh hưởng của lượng bón bột vỏ trứng và lân đến khả năng hình thành nốt sần

Số lượng và khối lượng nốt sần của giống lạc MD7 ở các công thức tăng dần qua các thời kỳ và đạt giá trị cao vào thời kỳ quả chắc. Có sự sai khác giữa mức lân bón về số lượng và khối lượng nốt sần ở các thời kỳ theo dõi khác nhau. Khi tăng lượng lân bón thì số lượng và khối lượng nốt sần cũng có xu hướng tăng ở tất cả các thời kỳ theo dõi. Số lượng và khối lượng nốt sần của giống lạc MD7 đạt giá trị cao nhất được quan sát ở mức lân bón 90 kg/ha. So sánh giữa các công thức bón bột vỏ trứng kết quả cho thấy sự khác

biệt có ý nghĩa thống kê giữa mức bón bột vỏ trứng 500 kg/ha so với công thức không bón về số lượng và khối lượng nốt sần. Tuy nhiên tại thời kỳ cây con số lượng và khối lượng nốt sần không có sự sai khác có ý nghĩa ở mức bón bột vỏ trứng 300 kg/ha so với không bón cũng như không có sự sai khác có ý nghĩa ở các mức bón bột vỏ trứng 500 kg/ha so mức bón 300 kg/ha. So sánh tương tác giữa lượng bón bột vỏ trứng và lân kết quả cho thấy lượng bón 500 kg/ha bột vỏ trứng kết hợp với 90 kg/ha P_2O_5 cho số lượng và khối lượng nốt sần của giống lạc MD7 đạt giá trị cao nhất ở tất cả các thời kỳ theo dõi (Bảng 4).

Bảng 4. Ảnh hưởng của lượng bón bột vỏ trứng và lân đến khả năng hình thành nốt sần của giống lạc MD7

Lượng bột vỏ trứng (kg/ha)	Lượng lân bón (kg/ha)	Thời kỳ cây con		Thời kỳ ra hoa		Thời kỳ quả chắc	
		Số lượng nốt sần hữu hiệu (nốt/cây)	Khối lượng nốt sần (g/cây)	Số lượng nốt sần hữu hiệu (nốt/cây)	Khối lượng nốt sần (g/cây)	Số lượng nốt sần hữu hiệu (nốt/cây)	Khối lượng nốt sần (g/cây)
0	30	14,51 ^d	0,03 ^b	44,12 ^g	0,15 ^b	77,54 ^e	0,36 ^b
	60	17,47 ^c	0,05 ^b	50,05 ^f	0,17 ^{ab}	99,69 ^d	0,49 ^a
	90	19,80 ^{bc}	0,06 ^{ab}	55,12 ^e	0,19 ^{ab}	108,65 ^c	0,53 ^a
300	30	18,17 ^{bc}	0,06 ^{ab}	53,91 ^e	0,18 ^{ab}	103,91 ^c	0,52 ^a
	60	20,85 ^b	0,07 ^{ab}	61,46 ^c	0,21 ^{ab}	109,16 ^{bc}	0,53 ^a
	90	23,80 ^a	0,08 ^{ab}	69,57 ^a	0,24 ^{ab}	115,14 ^b	0,55 ^a
500	30	20,78 ^b	0,07 ^{ab}	58,46 ^d	0,26 ^{ab}	109,80 ^{bc}	0,53 ^a
	60	23,61 ^a	0,08 ^{ab}	64,90 ^b	0,28 ^a	111,95 ^{bc}	0,56 ^a
	90	24,87 ^a	0,09 ^a	71,25 ^a	0,29 ^a	121,69 ^a	0,58 ^a
Trung bình lượng bột vỏ trứng (Ca)	0	17,26 ^b	0,05 ^b	49,76 ^b	0,17 ^a	95,29 ^c	0,46 ^b
	300	20,94 ^{ab}	0,07 ^{ab}	61,65 ^a	0,21 ^b	109,40 ^b	0,53 ^{ab}
	500	23,09 ^a	0,08 ^a	64,87 ^a	0,28 ^a	114,48 ^a	0,56 ^a
Trung bình lượng lân (P)	30	17,82 ^b	0,05 ^b	52,16 ^c	0,20 ^c	97,08 ^c	0,47 ^b
	60	20,64 ^{ab}	0,07 ^a	58,80 ^b	0,22 ^b	106,93 ^b	0,53 ^{ab}
	90	22,82 ^a	0,08 ^a	65,31 ^a	0,24 ^a	115,16 ^a	0,55 ^a
CV (%)		5,90	7,20	4,90	9,00	9,10	6,90
LSD _{0,05} P*Ca		2,71	0,03	2,94	0,12	5,78	0,11
LSD _{0,05} Ca		4,42	0,02	7,90	0,02	4,34	0,08
LSD _{0,05} P		4,10	0,01	5,40	0,01	3,34	0,05

Ghi chú: Ca: Bột vỏ trứng; P: Lân; Trong cùng một nhóm giá trị, các số có cùng ký tự chỉ sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($P > 0,05$).

3.4. Ảnh hưởng của lượng bón bột vỏ trứng và lân đến các yếu tố cấu thành năng suất

So sánh giữa các công thức bón bột vỏ trứng kết quả cho thấy giống lạc MD7 ở công thức được bón bột vỏ trứng luôn có các chỉ tiêu về tổng số quả/cây, tỉ lệ quả chắc/cây, khối lượng 100 quả, khối lượng 100 hạt và tỷ lệ nhân cao hơn so với công thức không được bón bột vỏ trứng. Tuy nhiên, chỉ có sự sai khác có ý nghĩa thống kê về tổng số quả/cây, tỉ lệ quả chắc/cây, khối lượng 100 hạt và tỷ lệ nhân của giống lạc MD7 giữa mức bón bột vỏ trứng 500 kg/ha hoặc mức bón 300 kg/ha so với công thức không bón bột vỏ trứng, trong khi đó không có sự sai khác có ý nghĩa giữa mức bón bột vỏ trứng 500 kg/ha so với mức bón 300 kg/ha với tổng số quả/cây, khối lượng 100 quả, 100 hạt và tỷ lệ nhân.

So sánh giữa các công thức bón lân kết quả cho thấy không có sự sai khác có ý nghĩa thống

kê giữa mức lân bón 90 kg/ha so với mức lân bón 60 kg/ha đến tổng số quả/cây, tỉ lệ quả chắc/cây, khối lượng 100 quả, khối lượng 100 hạt và tỷ lệ nhân cũng như không có sự sai khác có ý nghĩa thống kê giữa mức lân bón 60 kg/ha so với công thức không bón đến tổng số quả/cây và tỷ lệ nhân. Tuy nhiên, có sự sai khác có ý nghĩa giữa mức lân bón 90 kg/ha so với mức lân bón 30 kg/ha đến tổng số quả/cây, tỉ lệ quả chắc/cây, khối lượng 100 quả, khối lượng 100 hạt và tỷ lệ nhân của giống lạc MD7.

So sánh tương tác giữa lượng bón bột vỏ trứng và lân kết quả cho thấy lượng bón 500 kg/ha bột vỏ trứng kết hợp với 90 kg/ha P_2O_5 cho tổng số quả/cây, tỉ lệ quả chắc/cây, khối lượng 100 quả, khối lượng 100 hạt và tỷ lệ nhân của giống lạc MD7 đạt giá trị cao nhất (Bảng 5).

Bảng 5. Ảnh hưởng của lượng bón bột vỏ trứng và lân đến các yếu tố cấu thành năng suất của giống lạc MD7

Lượng bột vỏ trứng (kg/ha)	Lượng lân bón (kg/ha)	Tổng số quả/cây (quả)	Tỷ lệ quả chắc/cây (%)	P ₁₀₀ quả (g)	P ₁₀₀ hạt (g)	Tỷ lệ nhân (%)
0	30	13,07 ^b	66,67 ^b	139,77 ^b	49,12 ^b	70,29 ^b
	60	14,05 ^{ab}	68,19 ^b	141,04 ^b	50,08 ^b	71,02 ^b
	90	14,92 ^{ab}	69,32 ^{ab}	141,51 ^{ab}	50,42 ^b	71,26 ^{ab}
300	30	14,36 ^{ab}	68,51 ^b	141,03 ^b	52,12 ^{ab}	73,91 ^{ab}
	60	15,25 ^{ab}	70,24 ^{ab}	143,42 ^{ab}	52,73 ^a	73,53 ^{ab}
	90	16,06 ^a	72,01 ^{ab}	144,05 ^{ab}	53,21 ^a	73,88 ^{ab}
500	30	15,43 ^{ab}	71,88 ^{ab}	143,50 ^{ab}	52,76 ^a	73,53 ^{ab}
	60	16,04 ^a	72,79 ^a	144,53 ^a	53,75 ^a	74,38 ^{ab}
	90	16,17 ^a	72,84 ^a	144,79 ^a	53,96 ^a	74,54 ^a
Trung bình lượng bột vỏ trứng (Ca)	0	14,01 ^b	68,06 ^c	140,77 ^b	49,87 ^b	70,86 ^b
	300	15,22 ^a	70,25 ^b	142,27 ^{ab}	52,68 ^a	73,77 ^a
	500	15,88 ^a	72,50 ^a	144,27 ^a	53,49 ^a	74,15 ^a
Trung bình lượng lân (P)	30	14,29 ^b	69,02 ^b	141,43 ^b	51,33 ^b	72,58 ^b
	60	15,11 ^{ab}	70,40 ^a	142,99 ^a	52,19 ^a	72,98 ^{ab}
	90	15,72 ^a	71,39 ^a	143,45 ^a	52,53 ^a	73,23 ^a
CV (%)		6,30	7,30	4,80	5,90	6,10
LSD _{0,05} P*Ca		2,38	3,42	3,45	2,18	3,41
LSD _{0,05} Ca		1,01	2,10	2,16	2,55	2,07
LSD _{0,05} P		1,22	1,24	1,26	0,85	0,63

Ghi chú: Ca: Bột vỏ trứng; P: Lân; Trong cùng một nhóm giá trị, các số có cùng ký tự chỉ sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($P > 0,05$).

3.5. Ảnh hưởng của lượng bón bột vỏ trứng và lân đến năng suất

Kết quả cho thấy có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các công thức bón bột vỏ trứng và công thức không bón bột vỏ trứng về năng suất cá thể, năng suất lý thuyết và năng suất thực thu (Bảng 6). Khi tăng lượng bón bột vỏ trứng thì năng suất cá thể, năng suất lý thuyết và năng suất thực thu có xu hướng tăng lên. Tuy nhiên, không có sự sai khác có ý nghĩa thống kê giữa công thức bón 300 kg/ha bột vỏ trứng so với công thức bón

500 kg/ha bột vỏ trứng về năng suất cá thể.

Có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa mức lân bón 90 kg/ha và 30 kg/ha về năng suất cá thể, năng suất lý thuyết và năng suất thực thu. Tuy nhiên, không có sự sai khác có ý nghĩa thống kê giữa mức lân bón 90 kg/ha so với mức lân bón 60 kg/ha về năng suất cá thể, năng suất lý thuyết và năng suất thực thu cũng như không có sự sai khác có ý nghĩa thống kê giữa mức lân bón 60 và 30 kg/ha về năng suất cá thể, năng suất lý thuyết và năng suất thực thu. Ngoài ra, khi tăng hàm lượng lân

bón thì năng suất cá thể, năng suất lý thuyết và năng suất thực thu cũng có xu hướng tăng lên.

Nhìn chung, năng suất thực thu của các công thức dao động trong khoảng 2,44 - 3,41 tấn/ha, năng suất thực thu cao nhất (3,41 tấn/ha) được quan sát ở công thức bón bột vỏ trứng 500 kg/

ha kết hợp với lượng lân bón 90 kg/ha, tiếp đến là công thức bón 500 kg/ha bột vỏ trứng kết hợp với lượng lân bón 60 kg/ha đạt 3,38 tấn/ha. Năng suất thực thu thấp nhất (2,44 tấn/ha) được quan sát ở công thức không bón bột vỏ trứng kết hợp với lượng lân bón 30 kg/ha (Bảng 6).

Bảng 6. Ảnh hưởng của lượng bón bột vỏ trứng và lân đến năng suất của giống lạc MD7

Lượng bột vỏ trứng (kg/ha)	Lượng lân bón (kg/ha)	NSCT (g/cây)	NSLT (tấn/ha)	NSTT (tấn/ha)
0	30	12,18 ^c	3,65 ^c	2,44 ^c
	60	13,51 ^{bc}	4,05 ^c	2,70 ^{bc}
	90	14,64 ^b	4,39 ^{bc}	2,93 ^b
300	30	13,87 ^{bc}	4,16 ^{bc}	2,78 ^{bc}
	60	15,36 ^{ab}	4,61 ^b	3,07 ^{ab}
	90	16,66 ^{ab}	5,00 ^{ab}	3,33 ^{ab}
500	30	15,92 ^{ab}	4,78 ^{ab}	3,18 ^{ab}
	60	16,87 ^{ab}	5,06 ^{ab}	3,38 ^a
	90	17,05 ^a	5,12 ^a	3,41 ^a
Trung bình lượng bột vỏ trứng (Ca)	0	13,44 ^b	4,03 ^c	2,69 ^c
	300	15,30 ^a	4,59 ^b	3,06 ^b
	500	16,61 ^a	4,99 ^a	3,32 ^a
Trung bình lượng lân (P)	30	13,99 ^b	4,20 ^b	2,80 ^b
	60	15,25 ^a	4,57 ^{ab}	3,05 ^{ab}
	90	16,12 ^a	4,84 ^a	3,22 ^a
CV (%)		10,20	8,70	9,40
$LSD_{0,05} P*Ca$		2,30	0,45	0,41
$LSD_{0,05} Ca$		1,54	0,37	0,25
$LSD_{0,05} P$		1,17	0,41	0,35

Ghi chú: NSCT: Năng suất cá thể; NSLT: Năng suất lý thuyết; NSTT: Năng suất thực thu; Ca: Bột vỏ trứng; P: Lân; Trong cùng một nhóm giá trị, các số có cùng ký tự chỉ sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($P > 0,05$).

4. Kết Luận và Đề Nghị

4.1. Kết luận

Trong cùng một điều kiện có bón hoặc không bón bột vỏ trứng, khi bón lần với hàm lượng từ 60 đến 90 kg/ha thì các chỉ tiêu sinh trưởng như khả năng tích lũy chất khô, diện tích lá, khả năng hình thành nốt sần và năng suất và các yếu tố cấu thành năng suất của giống lạc MD7 được cải thiện rõ rệt. Bên cạnh đó, trong cùng một điều kiện bón lần, giống lạc MD7 được bón bột vỏ trứng với hàm lượng từ 300 đến 500 kg/ha cho các chỉ tiêu sinh trưởng và năng suất cao hơn so với không bón bột vỏ trứng. Kết quả nghiên cứu đã xác định được lượng bón bột vỏ trứng 500 kg/ha kết hợp với 60 kg P_2O_5 /ha là phù hợp cho giống lạc MD7 sinh trưởng, phát triển và mang lại năng suất cao nhất trong vụ xuân tại Phú Xuyên, Hà Nội.

4.2. Đề nghị

Cần tiến hành đánh giá thêm ảnh hưởng của các lượng bón bột vỏ trứng và lân đến sinh trưởng và năng suất của lạc ở các thời vụ khác nhau trên các nền đất khác nhau để có kết luận chính xác hơn.

Lời Cam Đoan

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

Tài liệu tham khảo (References)

Amu, O. O., Fajobi, A. B., & Oke, B. O. (2005). Effect of eggshell powder on the stabilization potential of lime on an expansive clay soil. *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences* 1, 80-84. <http://doi:10.3923/jas.2005.1474.1478>.

Cheema, N. M., Ahmad, G., Khan, M. A., & Chaudhary, G. A. (1991). Effect of gypsum on

the pod yield in groundnut. *Pakistan Journal of Agricultural Research* 12(3), 165-168.

- Doan, V. L., Vu, D. C., & Vu, Q. S. (2017). Effect of fertilizer doses on winter-grown soybean on alluvial soils in Trieu Son district, in Thanh Hoa province. *Vietnam Journal of Agriculture Sciences* 15(12), 1690-1698.
- FAOSTAT (Food and Agriculture Organization of the United Nations Statistical Databases) (2023). Crops and livestock products. Retrieved February 12, 2023, from <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL>.
- Faridi, H., & Arabhosseini, A. (2018). Application of eggshell wastes as valuable and utilizable products. *Research in Agriculture Engineering* 64(2), 104-114. <http://doi:10.17221/6/2017-RAE>.
- Kamara, E. G. (2010). *Effect of calcium and phosphorus fertilization on the growth, yield and seed quality of two groundnut varieties* (Unpublished master's thesis). Kwame Nkrumah University of Science and Technology, Kumasi, Ghana.
- King'ori, A. M. (2011). A review of the uses of poultry eggshells and shell membranes. *International Journal of Poultry Science* 10(11), 908-912.
- Munirwan, R. P., Jaya, R. P., Munirwansyah, M., & Ruslan, R. (2019). Performance of eggshell powder addition to clay soil for stabilization. *International Journal of Recent Technology and Engineering* 8(3s3), 532-535. <http://doi:10.35940/ijrte.C1094.1183S319>.
- Ntare, B. R., Diallo, A. T., Ndjeunga, A. T., & Waliyar, F. (2008). *Groundnut seed production manual*. Andhra Pradesh, India: International Crops Research institute for the Semi-Arid Tropics (ICRISAT).
- Nguyen, D. X., Tran, A. T., Vu, N. T., Nguyen, N. Q., & Le, T. T. C. (2020a). Effect of eggshell powder on growth and yield of mungbean variety DX14 cultivated in winter crop 2019 at Gia Lam, Ha Noi. *Journal of Vietnam Agricultural Science and Technology* 6(115), 21-26.

- Nguyen, T. T. T., Vu, N. T., Le, T. T. C., Tran, A. T., Vu, D. C., Shimo, K., & Shugo, H. (2020b). Effect of eggshell powder on growth and yield of groundnut variety L27 in autumn-winter season in Gia Lam, Hanoi. *Journal of Vietnam Agricultural Science and Technology* 4(113), 107-115.
- Park, H. J., Jeong, S. W., Yang, J. K., Kim, B. J., & Lee, S. M. (2007). Removal of heavy metals using waste eggshell. *Journal of Environmental Sciences* 19, 1436-1441. [https://doi.org/10.1016/S1001-0742\(07\)60234-4](https://doi.org/10.1016/S1001-0742(07)60234-4).
- Radha, T., & Karthikeyan, G. (2019). Hen eggshell waste as fertilizer for the growth of phaseolus vulgaris (Cowpea seeds). *Research Journal of Life Sciences, Bioinformatics, Pharmaceutical and Chemical Sciences* 51(1), 398-406.
- Taufique, T., Shiam, I. H., Mehraj, H., Nishizawa, T., & Uddin, A. F. M. J. (2014). Performance of bari tomato 14 to different levels chicken eggshell as a source of calcium. *International Journal of Business, Social and Scientific Research* 2(2), 148-152.
- Tri, K. (2018). Effect of rice husk ash and eggshell on the growth and yield of red chili (*Capsicum annuum* L.). *Journal of Academic Research and Science* 3(1), 46-52.
- Vu, N. T., Dinh, T. H., Tran, A. T., Le, T. T. C., Vu, T. T. H., Nguyen, T. T. T., Pham, T. A., Vu, N. L., Shimo, K., Shugo, H., Kim, I. S., & Jang, D. C. (2022). Eggshell powder as calcium source on growth and yield of groundnut (*Arachis hypogaea* L.). *Plant Production Science* 25(4), 413-420. <https://doi.org/10.1080/1343943X.2022.2120506>.

Evaluation of specific combining ability and heterosis of 6 melon (*Cucumis melo* L. var. *inodorus*) self-pollinated lines at the 5th generation

Duy N. Le^{1*}, Nien C. Nguyen², Loan T. Ha¹, Quynh D. Phan¹, & Cuong H. Doan¹

¹Department of Crop Experience, Biotechnology Center of Ho Chi Minh City, Ho Chi Minh City, Vietnam

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

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Research Paper	The study was carried out from August 2022 to February 2023 at the Biotechnology Center of Ho Chi Minh City with the objective of determining inbred melon lines with high combining ability and heterosis. The experiment was executed in plastic house condition and laid out in a completely randomized design with single factor with 3 replications, including 16 treatments corresponding to 15 hybrid combinations from 6 melon self-pollinated lines at the 5th generation (S₅) and Kim Hong Ngoc variety as control. The results indicated that the melon line DLE06 used as female showed a high positive specific combining ability (SCA) for both fruit weight and the Brix of fruit with the DLE04 line used as male (THL14). Two hybrid combinations with high heterosis for fruit weight and the Brix of fruit flesh, including THL11 (1416.7 g; 16.33%) and THL14 (1520.0 g; 16.57%). Briefly, THL14 shows good growth and development potential in plastic houses, with morphological characteristics meeting the consumers' preferences, and has potential to be developed into a new variey for production.
Received: August 25, 2023	
Revised: November 06, 2023	
Accepted: November 20, 2023	
Keywords	
Heterosis	Cited as: Le, D. N., Nguyen, N. C., Ha, L. T., Phan, Q. D., & Doan, C. H. (2024). Evaluation of specific combining ability and heterosis of 6 melon (<i>Cucumis melo</i> L. var. <i>inodorus</i>) self-pollinated lines at the 5 th generation. <i>The Journal of Agriculture and Development</i> 23(2), 14-27.
Melon	
Self-pollinated line	
Specific combining ability	
*Corresponding author	
Le Nhut Duy	
Email:	
dylanlee2803@gmail.com	

Đánh giá khả năng phối hợp riêng và ưu thế lai của 6 dòng dưa lê (*Cucumis melo* L. var. *inodorus*) tự phối đời S₅

Lê Nhựt Duy^{1*}, Nguyễn Châu Niên², Hà Thị Loan¹, Phan Diễm Quỳnh¹ & Đoàn Hữu Cường¹

¹Phòng Thực Nghiệm Cây trồng, Trung Tâm Công Nghệ Sinh Học TP.HCM, TP. Hồ Chí Minh

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

THÔNG TIN BÀI BÁO

Bài báo khoa học

Ngày nhận: 25/08/2023

Ngày chỉnh sửa: 06/11/2023

Ngày chấp nhận: 20/11/2023

Từ khóa

Dòng tự phối

Dưa lê

Khả năng phối hợp riêng

Ưu thế lai

*Tác giả liên hệ

Lê Nhựt Duy

Email:

dylanlee2803@gmail.com

TÓM TẮT

Nghiên cứu được thực hiện từ tháng 08/2022 đến tháng 2/2023 tại Trung tâm Công nghệ sinh học Thành phố Hồ Chí Minh với mục tiêu xác định các dòng dưa lê tự phối có khả năng phối hợp riêng (KNPHR) và ưu thế lai (UTL) cao về khối lượng quả và độ Brix. Thí nghiệm được tiến hành trong điều kiện nhà màng, bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên (CRD), đơn yếu tố (giống) với 3 lần lặp lại, gồm 16 nghiệm thức tương ứng với 15 tổ hợp lai (THL) đơn từ 6 dòng dưa lê tự phối thế hệ S₅ và giống dưa lê Kim Hồng Ngọc được sử dụng làm đối chứng. Kết quả cho thấy dòng dưa lê DLE06 dùng làm dòng mẹ với dòng DLE04 làm bố (THL14) có KNPHR cao về khối lượng quả (KLQ) và độ Brix. Hai THL đạt UTL về các tính trạng KLQ và độ Brix là THL11 (1416,7 g; 16,33%), THL14 (1520,0 g; 16,57%). Giống THL14 có tiềm năng sinh trưởng, phát triển tốt trong nhà màng, các đặc điểm hình thái như khối lượng quả, màu sắc vỏ quả - thịt quả, độ Brix phù hợp thị hiếu của người tiêu dùng, có triển vọng để phát triển thành giống mới để đưa vào sản xuất.

1. Đặt Vấn Đề

Dưa lê (*Cucumis melo* L. var. *inodorus*), một loại cây rau ăn quả ngắn ngày thuộc họ bầu bí, dù mới du nhập vào nước ta trong vài thập kỷ trở lại đây nhưng đã mang lại hiệu quả cao trong sản xuất nông nghiệp. Đặc biệt với kỹ thuật canh tác trong nhà màng, mô hình mang những lợi ích như tiết kiệm nước tưới, hạn chế tác động thời tiết, bảo tồn tài nguyên đất, tiết kiệm năng lượng, kiểm soát dịch hại và hạn chế thuốc hoá học phòng trừ sâu bệnh hại (Aznar-Sánchez & ctv., 2020).

Diện tích trồng dưa lê tại Việt Nam đang dần mở rộng do thị trường tiêu thụ khá tốt, giá cả ổn định nhưng nguồn hạt giống vẫn còn phụ thuộc vào nhập khẩu. Trong khi các giống dưa lê địa phương (dưa lê trắng Hà Nội, dưa lê mật Bắc Ninh, dưa lê Hải Dương) cho năng suất thấp, thịt quả mỏng và mềm, chất lượng chưa cao cùng với khả năng thích ứng của giống nhập nội với từng vùng sinh thái còn là một trở ngại (Vu & Hoang, 2012). Một số công ty giống cây trồng đã nhập nội và đưa vào sản xuất các giống dưa lê lai F1 như: Thu Mật, Thiên Hương, Thu Hoa, Kim Cô Nương, Nữ Thần, Kim Cúc hay Ngọc Thanh

Thanh cho năng suất cao, quả to, đa dạng về màu sắc và hình dạng (Truong & ctv., 2019). Các công ty giống sử dụng giống nhập nội vì các nghiên cứu về giống dưa lê ưu thế lai tại Việt Nam còn hạn chế, chất lượng hạt giống lai phụ thuộc rất lớn vào nguồn vật liệu làm bố mẹ, trong khi nguồn này chủ yếu do các tập đoàn đa quốc gia sản xuất và nắm giữ.

Trong những năm gần đây, các nghiên cứu về cây dưa lê chủ yếu thể hiện qua việc khảo sát các đặc điểm sinh trưởng, phát triển, đánh giá khả năng thích nghi và xây dựng quy trình canh tác. Một số ít các nghiên cứu về chọn tạo các dòng tự phối để tạo nguồn vật liệu bố mẹ và lai tạo giống mới như: Ngo & ctv. (2020) đánh giá các tổ hợp lai (THL) đơn từ dòng dưa lê tự phối, kết quả ghi nhận một số THL có khả năng sinh trưởng tốt, năng suất cao, chống chịu bệnh phấn trắng và sương mai; Nguyen & ctv. (2022) đã đánh giá ưu thế lai và khả năng phối hợp (KNPH) của 10 dòng dưa lê tự phối, kết quả đã xác định được một số dòng dưa lê có KNPH chung cao về năng suất và khối lượng trung bình quả, hàm lượng chất rắn hòa tan và thời gian sinh trưởng. Việc nghiên cứu và sản xuất giống dưa lê dù đang được quan tâm và bước đầu mang lại những kết quả nhất định. Tuy nhiên, kết quả đạt được chỉ phù hợp với điều kiện canh tác phía Bắc và chưa đủ để sản xuất hạt giống đại trà phục vụ nhu cầu

người sản xuất và chất lượng nông sản của người tiêu dùng, đặc biệt là khu vực phía Nam.

Gần đây Trung tâm Công nghệ sinh học TP.HCM đã thực hiện nghiên cứu dòng thuần dưa lê và chọn được các dòng dưa lê có triển vọng làm bố mẹ trong các phép lai đơn. Kế thừa thành quả trên, nghiên cứu này được thực hiện nhằm đánh giá đặc điểm nông học, KNPHR và ưu thế lai về năng suất và chất lượng dựa vào các THL luân giao từ sáu dòng dưa lê tự phối ưu tú nhằm chọn ra dòng dưa lê làm bố mẹ phục vụ công tác lai tạo giống ưu thế lai F1 cho năng suất cao và phẩm chất tốt, phù hợp với điều kiện sản xuất trong nhà màng tại TP.HCM.

2. Vật Liệu và Phương Pháp Nghiên Cứu

2.1. Vật liệu

Các dòng dưa lê tự phối đời S5 sử dụng trong nghiên cứu do Trung tâm Công nghệ Sinh học TP.HCM chọn lọc từ 06 giống dưa lê F1 nhập nội được mã hóa lần lượt là DLE01, DLE02, DLE03, DLE04, DLE05, DLE06 (Bảng 1). Áp dụng phương pháp luân giao một nửa giữa 06 dòng dưa lê theo công thức $p(p-1)/2$ (trong đó p là số dòng tự phối) để tạo 15 tổ hợp lai (THL). Sử dụng giống Kim Hồng Ngọc (F1) được Công ty hạt giống Đông Tây nhập nội từ Thái Lan làm đối chứng (ĐC).

Bảng 1. Một số tính trạng chính của 06 dòng dưa lê trong thí nghiệm đời S5 và đối chứng

Dòng	Nguồn gốc	Dạng quả	Màu vỏ quả	Màu thịt	Khối lượng quả TB (g)	Độ Brix (%)
DLE01	Cẩm Ngọc	Tròn cao	Trắng	Cam	815	13,4
DLE02	Bạch Kim	Elip	Trắng điểm xanh	Trắng	1.170	12,8
DLE03	Kim Cô Nương	Tròn	Vàng đậm	Cam	1.320	15,4
DLE04	Bạch Ngọc	Elip	Vàng nhạt	Trắng	1.210	14,3
DLE05	Ánh Sao	Elip	Vàng điểm xanh	Trắng	1.140	15,2
DLE06	Kim Hoàng Hậu	Elip	Vàng đậm	Cam	1.250	14,0
ĐC	Kim Hồng Ngọc	Tròn	Vàng đậm	Cam	1.500	15,0

TB: trung bình; ĐC: đối chứng.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện từ tháng 08/2022 đến tháng 02/2023 tại Trung tâm Công nghệ sinh học Thành phố Hồ Chí Minh. Thí nghiệm được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên (CRD), một yếu tố (giống) gồm 16 nghiệm thức với 3 lần lặp lại, tương ứng với 15 THL đơn (Bảng 2) và giống dưa lê Kim Hồng Ngọc được chọn làm đối chứng. Diện tích mỗi ô cơ sở là 10 m², mỗi ô trồng 2 hàng, mỗi hàng 20 cây (tương ứng 40 cây/ô), cây x cây là 50 cm, hàng x hàng là 100 cm. Mật độ cây khoảng 33.300 cây/ha. Diện tích toàn

khu thí nghiệm: 460 m² (gồm ô cơ sở và hàng bảo vệ).

Các chỉ tiêu sinh trưởng, phát triển, hình thái được áp dụng theo hướng dẫn thực hiện các khảo nghiệm về tính khác biệt, tính đồng nhất và tính ổn định (DUS) của UPOV (2014). Canh tác trên giá thể xơ dừa (100%), áp dụng phương pháp tưới nhỏ giọt với kỹ thuật chăm sóc và chế độ dinh dưỡng được thực hiện theo quy trình canh tác dưa lê trong nhà màng của Trung tâm Công nghệ sinh học TP.HCM.

Bảng 2. Sơ đồ lai luân giao 6 dòng dưa lê tự phối theo chiều thuận

♀ ♂	DLE02	DLE03	DLE04	DLE05	DLE06
DLE01	THL01	THL02	THL04	THL07	THL11
DLE02		THL03	THL05	THL08	THL12
DLE03			THL06	THL09	THL13
DLE04				THL10	THL14
DLE05					THL15

Chỉ tiêu chính và phương pháp theo dõi:

- Các chỉ tiêu sinh trưởng, phát triển

+ Thời gian ra hoa đực và hoa cái (ngày): Tính từ lúc gieo hạt đến khi cây có 50% số hoa đực và hoa cái.

+ Thời gian thu hoạch (ngày): Tính từ lúc trồng đến khi thu hoạch.

- Các yếu tố cấu thành năng suất

+ Tỷ lệ đậu quả (%) = (tổng số quả đậu/tổng số quả được thụ phấn) x 100

+ Khối lượng quả (g): Cân quả sau khi thu hoạch.

+ Năng suất thực thu (tấn/ha) = (Khối lượng của 1 ô cơ sở/ diện tích ô cơ sở)/10 (10 là hệ số

quy đổi từ kg sang tấn và từ m² sang ha).

+ Năng suất lý thuyết (tấn/ha): (Khối lượng quả x Tổng số cây/ha)/106. Trong đó: 106 là hệ số quy đổi từ đơn vị của quả từ g → tấn.

- Các yếu tố cấu thành chất lượng quả

+ Chiều dài, đường kính, độ dày thịt quả (cm): Sử dụng thước kẹp để đo chiều dài, đường kính và độ dày thịt của quả sau khi thu hoạch. Mỗi lần đo 20 quả/ô cơ sở.

+ Màu vỏ quả, thịt quả: Quan sát bằng mắt thường khi thu hoạch lấy chỉ tiêu.

+ Độ giòn, mùi thơm: Đánh giá bằng cảm quan. Hội đồng đánh giá gồm 5 người, đánh giá độc lập và ghi nhận xét vào phiếu soạn sẵn.

+ Độ Brix (%): Đo bằng máy ATOGO (đo sau thu hoạch 1, 3, 6 ngày. Mỗi lần đo 20 quả/ô cơ sở.

Số liệu thu thập được phân tích phương sai (ANOVA) và trắc nghiệm phân hạng Duncan

trên phần mềm R phiên bản 4.2.1. Sử dụng ứng dụng “DiallelAnalysisR” để phân tích KNPHR của các THL diallel theo mô hình 1, phương pháp 4 (Griffing, 1956):

$$x_{ij} = u + g_i + g_j + s_{ij} + \frac{1}{bc} \sum_{k=1}^b \sum_{l=1}^c e_{ijkl} \quad \begin{cases} i, j = 1, \dots, p, \\ k = 1, \dots, b, \\ l = 1, \dots, c, \end{cases}$$

Trong đó: u : giá trị trung bình tính trạng của quần thể; g_i : KNPH chung của dòng i ; g_j : KNPH chung của dòng j ; s_{ij} : KNPH riêng giữa dòng i và j ; e_{ijkl} : sai số quan sát ở cá thể thứ ij ở các lần lặp lại và ô cơ sở; p , b và c lần lượt là dòng bố mẹ, số lần lặp lại và số ô cơ sở

Giá trị ưu thế lai chuẩn (HS) được tính theo công thức: $HS(\%) = \frac{F_1 - S}{S} \times 100$

Trong đó: F_1 : giá trị tính trạng của con lai F_1 ; S : giá trị tính trạng của giống ĐC

3. Kết Quả và Thảo Luận

3.1. Đặc điểm sinh trưởng và phát triển của 15 THL

Thời gian sinh trưởng, phát triển

Kết quả theo dõi thời gian sinh trưởng, phát triển của các THL đưa lê được trình bày ở Bảng 2 cho thấy các THL và giống ĐC Kim Hồng Ngọc có thời gian ra hoa đực từ 26,3 - 31,0 ngày sau gieo (NSG), THL14 ra hoa đực sớm nhất (26,3 NSG), các THL08 và THL10 có thời gian ra hoa đực muộn nhất (31,0 NSG). Thời gian ra hoa cái của các THL dao động từ 33,3 đến 36,3 NSG. Các THL13 (33,3 NSG), THL14 (33,7 NSG), THL06 (34,0 NSG), THL01 (34,7 NSG), THL02 (34,7 NSG), THL15 (34,7 NSG), THL09 (35,0 NSG) có thời gian ra hoa cái sớm hơn ĐC (35,3 NSG). Trong đó, THL13 ra hoa cái sớm nhất

(33,3 NSG), các THL08 và THL05 có thời gian ra hoa đực muộn nhất (36,3 NSG). Nhìn chung, thời gian ra hoa cái tương đối đồng loạt giúp cây đậu quả đồng đều, dễ chăm sóc, thu hoạch đồng loạt, ổn định về mặt chất lượng quả; khoảng cách thời gian hoa đực, hoa cái nở chênh lệch ngắn từ 4 - 5 ngày giúp thuận lợi trong việc lên kế hoạch lai tạo.

Thời gian sinh trưởng (TGST) tính từ lúc gieo hạt đến lúc thu hoạch của các THL đưa lê trong thí nghiệm dao động từ 67,3 đến 72,7 NSG (Bảng 3). Trong đó, THL06 (67,3 NSG) và THL14 (67,7 NSG) ngắn hơn so với TGST của giống ĐC (68,7 NSG), tuy nhiên, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê. Các THL có TGST dài hơn ĐC gồm THL08 (72,7 NSG), THL10 (72,3 NSG), THL12 (72,0 NSG), THL05 (71,6 NSG), sự khác biệt không ý nghĩa thống kê.

Bảng 3. Thời gian gian sinh trưởng, phát triển của 15 THL lai dưa lê và giống đối chứng (ĐC)

THL	Thời gian ra hoa đực (ngày sau gieo)	Thời gian ra hoa cái (ngày sau gieo)	Thời gian sinh trưởng (ngày)
THL01	28,3 ^{cd}	34,7 ^{abcd}	69,3 ^{bcd}
THL02	27,7 ^{cde}	34,7 ^{abcd}	68,3 ^{cd}
THL03	27,3 ^{de}	35,7 ^{ab}	70,3 ^{bcd}
THL04	28,0 ^{cd}	35,3 ^{abc}	69,3 ^{bcd}
THL05	30,3 ^{ab}	36,3 ^a	71,7 ^{ab}
THL06	29,0 ^{cd}	34,0 ^{bcd}	67,3 ^d
THL07	30,3 ^{ab}	35,3 ^{abc}	70,3 ^{abc}
THL08	31,0 ^a	36,3 ^a	72,7 ^a
THL09	29,0 ^{bc}	35,0 ^{abcd}	68,3 ^{cd}
THL10	31,0 ^a	35,7 ^{ab}	72,3 ^{abc}
THL11	30,0 ^{ab}	35,5 ^{abc}	68,3 ^{cd}
THL12	29,0 ^{bc}	35,7 ^{ab}	72,0 ^a
THL13	27,0 ^{de}	33,3 ^d	68,7 ^{cd}
THL14	26,3 ^e	33,7 ^{cd}	67,7 ^d
THL15	28,3 ^{cd}	34,7 ^{abcd}	69,0 ^{cd}
ĐC	27,3 ^{de}	35,3 ^{abc}	68,7 ^{cd}
CV (%)	2,25	2,15	1,37
Ftính	15,31 ^{**}	3,97 ^{**}	9,57 ^{**}

Trong cùng 1 cột, giá trị trung bình có cùng kí tự khác biệt không có ý nghĩa; ns: khác biệt không có ý nghĩa;
*: khác biệt ở mức $\alpha = 0,05$; **: khác biệt ở mức $\alpha = 0,01$.

Các yếu tố cấu thành năng suất và năng suất

Kết quả ở Bảng 4 cho thấy tỉ lệ đậu quả của các THL dao động từ 74,67% đến 99,00%. Tỉ lệ đậu quả cao nhất là THL01 (99,0%), THL14 (99,00%). Các THL còn lại có tỉ lệ đậu quả dao động từ 74,67% đến 98,00%, khác biệt không có ý nghĩa với ĐC.

Khối lượng quả (KLQ) của các THL dao động từ 1.062,00 đến 1.520,00 g, trong đó các THL14 (1.520,0 g), THL02 (1.476,7 g), THL03 (1.451,7 g), THL11 (1.416,7 g) là những THL cao hơn so với giống ĐC (1.383,7 g), tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê. Các THL07 (1.100,0 g), THL10 (1.093,3 g), THL01 (1.087,6 g), THL04

(1.062,0 g) có KLQ thấp hơn giống ĐC và khác biệt có ý nghĩa thống kê.

Năng suất lý thuyết (NSLT) của THL14 (57,00 tấn/ha), THL02 (55,38 tấn/ha), THL03 (54,44 tấn/ha) và THL11 (53,13 tấn/ha) cao hơn so với giống ĐC Kim Hồng Ngọc (51,89 tấn/ha), tuy nhiên, sự khác biệt không ý nghĩa thống kê. Các THL05 (46,13 tấn/ha), THL06 (50,25 tấn/ha), THL08 (45,06 tấn/ha), THL09 (50,64 tấn/ha), THL12 (50,51 tấn/ha) và THL13 (46,38 tấn/ha) có NSLT thấp hơn giống ĐC, nhưng sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê. Các THL10 (41,00 tấn/ha), THL01 (40,79 tấn/ha), THL04 (39,83 tấn/ha) là những THL có năng suất thấp và khác biệt ý nghĩa thống kê với ĐC.

Năng suất thực thu (NSTT) của các THL dao động trong khoảng 29,86 đến 40,15 tấn/ha, trong đó các THL có NSTT cao hơn ĐC (37,34 tấn/ha) lần lượt là THL02 (40,15 tấn/ha), THL03 (40,07 tấn/ha), THL06 (39,87 tấn/ha), THL09 (38,23 tấn/ha), THL13 (38,13 tấn/ha), THL05 (37,37 tấn/ha), và THL14 (37,29 tấn/ha), tuy nhiên, sự khác biệt không ý nghĩa thống kê. Tương tự, THL11 (36,65 tấn/ha), THL15 (36,12 tấn/ha), THL08 (35,90 tấn/ha) là các THL có NSTT thấp hơn ĐC, nhưng sự khác biệt không ý nghĩa thống kê.

Bảng 4. Tỷ lệ đậu quả, khối lượng quả và năng suất của 15 THL dưa lê và giống đối chứng (ĐC)

Tên	Tỷ lệ đậu quả (%)	Khối lượng quả (g)	Năng suất lý thuyết (tấn/ha)	Năng suất thực thu (tấn/ha)
THL01	99,00	1087,7 ^e	40,79 ^{ef}	31,69 ^{de}
THL02	95,67	1476,7 ^{ab}	55,38 ^{ab}	40,15 ^a
THL03	74,67	1451,7 ^{abc}	54,44 ^{abc}	40,08 ^a
THL04	85,67	1062,0 ^e	39,83 ^e	29,86 ^e
THL05	95,67	1230,0 ^{b-e}	46,13 ^{b-e}	37,37 ^{a-d}
THL06	91,00	1340,0 ^{a-d}	50,25 ^{a-d}	39,87 ^{ab}
THL07	93,33	1100,0 ^{de}	41,25 ^{de}	33,37 ^{cde}
THL08	93,33	1201,7 ^{cde}	45,06 ^{cde}	35,90 ^{a-d}
THL09	93,33	1350,3 ^{abc}	50,64 ^{abc}	38,23 ^{abc}
THL10	98,00	1093,3 ^e	41,00 ^e	34,09 ^{b-e}
THL11	93,33	1416,7 ^{abc}	53,13 ^{abc}	36,65 ^{a-d}
THL12	91,22	1347,0 ^{abc}	50,51 ^{abc}	34,29 ^{a-e}
THL13	89,00	1236,7 ^{b-e}	46,38 ^{b-e}	38,13 ^{abc}
THL14	99,00	1520,0 ^a	57,00 ^{ab}	39,37 ^{ab}
THL15	81,3	1295,0 ^{a-e}	48,56 ^{a-e}	36,12 ^{a-d}
ĐC	91,00	1383,7 ^{abc}	51,89 ^{abc}	37,34 ^{a-d}
CV (%)	2,97	7,56	7,56	6,27
F _{tính}	1,72ns	6,97**	6,97**	5,40**

Trong cùng 1 cột, giá trị trung bình có cùng kí tự khác biệt không có ý nghĩa; ns: khác biệt không có ý nghĩa; *: khác biệt ở mức $\alpha = 0,05$; **: khác biệt ở mức $\alpha = 0,01$.

Đặc điểm hình thái quả

Đặc điểm quả là một chỉ tiêu quan trọng đánh giá hình dạng, màu sắc và chất lượng thịt quả. Kết quả ghi nhận THL01, THL04 và THL09 có dạng quả tròn; THL02, THL03, THL07 và THL11 có dạng tròn cao; các THL còn lại và ĐC có dạng hình elip (Bảng 5).

Chiều dài quả của các THL dao động từ 14,13 đến 17,87 cm, THL14 có chiều dài quả dài nhất (17,87 cm), THL05 (17,77 cm). Chiều dài quả ở các THL06 (16,27 cm), THL02 (16,20 cm), THL13 (15,87 cm), THL07 (15,57 cm), THL01 (15,20 cm) và THL04 (15,13 cm) ngắn hơn giống ĐC (16,70 cm) và khác biệt có ý nghĩa thống kê.

Đường kính quả của các THL thay đổi từ 12,20 đến 15,57 cm; THL09 có đường kính quả lớn nhất (15,57 cm), THL08 có đường kính quả nhỏ nhất (12,20 cm). Riêng THL13 (12,50 cm), THL12 (12,30 cm), THL15 (12,30 cm) và THL08 (12,20 cm) có đường kính quả nhỏ hơn và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với ĐC (14,63 cm).

Về màu sắc vỏ quả: THL01, THL03 và THL07 có vỏ quả nền trắng, điểm xanh; THL02 và THL04 có vỏ quả nền trắng; THL06, THL13, THL14, THL15 và ĐC có vỏ quả màu vàng; THL08, THL09 và THL12 có vỏ quả nền vàng, điểm xanh. Riêng THL05, THL10 và THL11 có màu vỏ quả không đồng nhất (trắng pha), không được thị trường ưa chuộng (Hình 1).

Bảng 5. Đặc điểm quả của 15 THL dưa lê và giống đối chứng (ĐC)

Tên	Dạng quả	Chiều dài quả (cm)	Đường kính quả (cm)	Màu vỏ quả	Màu thịt quả
THL01	Tròn	15,20 ^d	14,36 ^{a-d}	Trắng điểm xanh	Cam nhạt
THL02	Tròn cao	16,20 ^{bcd}	14,60 ^{abc}	Trắng	Cam
THL03	Tròn cao	17,17 ^{ab}	15,40 ^{ab}	Trắng điểm xanh	Cam nhạt
THL04	Tròn	14,13 ^d	14,03 ^{a-e}	Trắng	Cam
THL05	Elip	17,77 ^a	15,53 ^{b-e}	Trắng pha vàng, điểm xanh	Trắng
THL06	Elip	16,27 ^{bcd}	13,07 ^{cde}	Vàng	Cam
THL07	Tròn cao	15,57 ^{cd}	13,40 ^{b-e}	Trắng điểm xanh	Cam nhạt
THL08	Elip	17,07 ^{ab}	12,20 ^e	Vàng điểm xanh	Trắng
THL09	Tròn	16,77 ^{a-d}	15,57 ^a	Vàng điểm xanh	Cam nhạt
THL10	Elip	17,17 ^{ab}	13,57 ^{b-e}	Trắng pha vàng, điểm xanh	Trắng
THL11	Tròn cao	17,30 ^{ab}	14,93 ^{abc}	Trắng pha vàng	Cam
THL12	Elip	16,77 ^{abc}	12,30 ^e	Vàng điểm xanh	Cam
THL13	Elip	15,87 ^{bcd}	12,50 ^{de}	Vàng	Cam
THL14	Elip rộng	17,87 ^a	14,40 ^{a-d}	Vàng	Cam
THL15	Elip rộng	16,83 ^{abc}	12,30 ^e	Vàng	Cam nhạt
ĐC	Elip	16,70 ^{abc}	14,63 ^{abc}	Vàng	Cam
CV (%)	-	3,37	5,67	-	-
Ftính	-	6,65 ^{**}	6,08 ^{**}	-	-

Trong cùng 1 cột, giá trị trung bình có cùng kí tự khác biệt không có ý nghĩa; ns: khác biệt không có ý nghĩa; *: khác biệt ở mức $\alpha = 0,05$; **: khác biệt ở mức $\alpha = 0,01$.

Màu sắc thịt quả của các THL thuộc 2 nhóm màu là cam và trắng. Các THL01, THL02, THL03, THL04, THL06, THL07, THL09, THL11, THL12, THL13, THL14, THL15 có thịt

quả màu cam; THL02, THL04, THL06, THL13, THL14 có thịt quả màu cam đậm. Các THL05, THL08 và THL10 có thịt quả màu trắng.



Hình 1. Dạng quả, màu sắc vỏ quả và thịt quả của các THL đưa lên và giống đối chứng (ĐC).

Nhìn chung, hình dạng quả, màu sắc vỏ quả, thịt quả của đa số THL phù hợp với thị hiếu người tiêu dùng Việt Nam, đặc biệt là dạng quả

tròn, tròn cao hoặc elip, vỏ quả cam trơn hoặc trắng có điểm xanh, thịt quả màu cam được ưa chuộng nhiều hơn.

Chất lượng quả**Bảng 6.** Chất lượng quả của 15 THL dưa lê và giống đối chứng (ĐC)

Tên	Độ dày thịt quả (cm)	Độ giòn	Mùi thơm	Brix (%)		
				1 NSTH	3 NSTH	6 NSTH
THL01	2,57 ^{c-f}	+++	Thơm nhẹ	15,23 ^{de}	15,60 ^{cde}	14,83 ^{d-g}
THL02	3,03 ^a	++++	Thơm nhẹ	14,57 ^e	14,90 ^e	13,73 ^{fg}
THL03	3,13 ^a	+++	Thơm	16,67 ^{bc}	17,33 ^{ab}	16,93 ^{ab}
THL04	2,83 ^{abc}	++++	Thơm nhẹ	15,43 ^{cde}	15,47 ^{de}	15,17 ^{cde}
THL05	3,03 ^a	+++	Thơm nhẹ	11,50 ^f	12,50 ^{de}	11,70 ^h
THL06	2,50 ^{def}	++++	Thơm	14,03 ^e	14,60 ^e	13,70 ^g
THL07	2,33 ^{ef}	+++	Thơm nhẹ	18,57 ^a	18,53 ^a	17,80 ^a
THL08	2,30 ^f	+++	Thơm nhẹ	14,23 ^e	14,60 ^e	13,83 ^{fg}
THL09	2,70 ^{bcd}	+++	Thơm nhẹ	16,47 ^{bcd}	16,97 ^b	16,33 ^{bc}
THL10	2,40 ^{def}	+++	Thơm nhẹ	14,67 ^e	15,10 ^e	14,27 ^{efg}
THL11	2,37 ^{ef}	++++	Thơm	16,33 ^{bcd}	16,37 ^{bcd}	16,00 ^{bcd}
THL12	2,87 ^{ab}	++++	Thơm nhẹ	17,03 ^b	17,10 ^b	16,67 ^{ab}
THL13	2,63 ^{d-e}	++++	Thơm	14,57 ^e	15,60 ^{cde}	15,00 ^{def}
THL14	3,03 ^a	++++	Thơm nhẹ	16,57 ^{bcd}	16,73 ^{bc}	14,90 ^{bcd}
THL15	2,43 ^{def}	+++	Thơm nhẹ	15,20 ^{de}	15,47 ^{de}	15,00 ^{def}
ĐC	3,10 ^a	++++	Thơm nhẹ	15,17 ^{de}	15,77 ^{cde}	14,90 ^{d-g}
CV (%)	4,50	-	-	3,73	3,02	3,39
Ftính	18,32 ^{**}	-	-	23,14 ^{**}	26,26 ^{**}	25,98 ^{**}

Trong cùng 1 cột, giá trị trung bình có cùng kí tự khác biệt không có ý nghĩa; **: khác biệt ở mức $\alpha = 0,01$. +++++: rất giòn; ++++: giòn; ++: khá giòn; +: mềm. NSTH: ngày sau thu hoạch.

Độ dày thịt quả ở các THL dao động từ 2,30 đến 3,13 cm, Trong đó, THL03 (3,13 cm) có độ dày thịt quả lớn hơn giống ĐC (3,10 cm); các THL02 (3,03 cm), THL05 (3,03 cm), THL14 (3,03 cm), THL12 (2,87 cm), THL04 (2,83 cm) có độ dày thịt quả nhỏ hơn giống ĐC nhưng khác biệt không ý nghĩa thống kê. Thịt quả ở các THL được đánh giá ở mức giòn đến rất giòn, đặc biệt là THL02, THL04, THL06, THL11, THL12, THL13, THL14 và ĐC. Các THL đều có mùi thơm từ nhẹ đến vừa, riêng THL03, THL06, THL11, THL13 có mùi thơm đặc trưng hơn các THL còn lại.

Độ Brix ở các THL sau các lần đo thay đổi rõ rệt. Thời điểm 1 NSTH: độ Brix của các THL dao động từ 11,50% đến 18,57% và sự khác biệt rất có ý nghĩa thống kê. Trong đó các THL07 (18,57%), THL12 (17,03%), THL03 (16,67%) có độ Brix cao hơn và khác biệt rất có ý nghĩa so với ĐC. Thời điểm 3 NSTH: các THL07 (18,53%), THL03 (17,53%), THL12 (17,10%), THL09 (16,97%) là các THL có độ Brix cao hơn và khác biệt so với giống ĐC (15,77%). Thời điểm 6 NSTH: THL07 (17,80%), THL03 (16,93%), THL12 (16,67%), THL09 (16,33%) là các THL có độ Brix cao hơn và khác biệt rất có ý nghĩa so với giống ĐC (14,90%).

Nhìn chung, ở thời điểm 3 NSTH, độ Brix của các THL tăng hơn so với thời điểm 1 NSTH, tuy nhiên ở thời điểm 6 NSTH, độ Brix có xu hướng giảm xuống. THL07 có độ Brix cao nhất ở cả ba lần đo, kể đến là THL12 và THL03, cả 3 THL này vượt trội về độ Brix thịt quả so với giống ĐC.

3.2. KNPHR ở tính trạng khối lượng quả và độ Brix của 06 dòng dưa lê

Giá trị KNPHR là tiêu chí đánh giá các dòng tự phối nhằm tìm ra dòng làm bố hoặc mẹ trong các THL đơn. Giá trị KNPHR biểu thị phần đóng góp vào ưu thế lai của từng cặp bố mẹ, dòng có

KNPHR riêng cao có ý nghĩa lớn đối với chọn giống dưa, cho lợi thế về năng suất và độ Brix đối với THL dưa lưới được tạo thành (Anne & ctv., 2011; Huynh & ctv., 2021).

Khối lượng quả

Khối lượng quả (KLQ) là một trong những chỉ tiêu quyết định trong chọn giống cây trồng nói chung và dưa lê nói riêng. Giá trị KNPHR về khối lượng của các dòng dưa lê bố mẹ được chọn theo hướng dương [SCA > 0, GCA (general combining ability) > 0] dùng làm vật liệu lai tạo để con lai có năng suất cao.

Bảng 7. Giá trị KNPHR (SCA) về khối lượng quả của các dòng dưa lê bố mẹ đời S₅

$\begin{matrix} \text{♀} \\ \text{♂} \end{matrix}$	DLE02	DLE03	DLE04	DLE05	DLE06
DLE01	-106,72	147,95 *	-114,22	-24,97	97,95 ns
DLE02		79,20 ns	10,03 ns	32,95 ns	-15,47
DLE03			-14,30	47,28 ns	-260,13
DLE04				-57,22	175,70**
DLE05					1,95 ns

ns: không có ý nghĩa, *: có ý nghĩa mức $\alpha = 0,05$; **: có ý nghĩa mức $\alpha = 0,01$. KNPHR: khả năng phối hợp riêng; SCA: specific combining ability.

Kết quả đánh giá KNPHR về KLQ (Bảng 7) cho thấy: Có 8 trong số 15 THL dưa lê có giá trị KNPHR về KLQ dương (SCA > 0), trong đó KNPHR của THL14 (DLE06/DLE04) có giá trị lớn nhất với độ tin cậy 99%. Kể đến là THL02 (DLE03/DLE01) có KNPHR riêng ở độ tin cậy 95%. Kết quả này cho thấy hiệu ứng trội phụ thuộc vào tương tác gen giữa dòng làm bố mẹ trong phép lai và giữ vai trò quan trọng trong việc kiểm soát tính trạng năng suất của cây trồng (Phan, 2016; Nguyen & ctv., 2022).

Độ Brix

Tương tự với tính trạng khối lượng quả, KNPHR của các dòng dưa lê bố mẹ về độ Brix

thịt quả được chọn theo hướng dương nhằm tạo ra con lai có độ Brix cao. Giá trị KNPHR về độ Brix thịt quả (Bảng 8) cho thấy có 7 trong số 15 THL có giá trị KNPHR dương, trong đó có 4 THL có giá trị KNPHR cao với độ tin cậy 99% lần lượt là THL03 (DLE03/DLE02), THL07 (DLE05/DLE01), THL12 (DLE06/DLE02), THL14 (DLE06/DLE04).

Xét ở cả hai tính trạng khối lượng quả và độ Brix thịt quả, kết quả cho thấy chỉ có một số dòng có KNPHR ở cả hai tính trạng theo hướng dương. Điều này phù hợp với nghiên cứu của Doan (2017), Nguyen (2022) và Nguyen & ctv. (2022).

Bảng 8. Giá trị KNPHR (SCA) về độ Brix thịt quả của các dòng dưa lê bố mẹ đời S₅

♀ \ ♂	DLE02	DLE03	DLE04	DLE05	DLE06
DLE01	-0,360	-1,435	0,457 ns	1,857 **	-0,518
DLE02		2,032 **	- 2,110	-1,110	1,548 **
DLE03			0,015 ns	0,715 ns	-1,327
DLE04				-0,060	1,698 **
DLE05					-1,402

ns: không có ý nghĩa, **: có ý nghĩa mức $\alpha = 0,01$. KNPHR: khả năng phối hợp riêng; SCA: specific combining ability.

3.3. Ưu thế lai chuẩn của 15 THL dưa lê

Khối lượng quả

Ưu thế lai chuẩn về KLQ được đánh giá dựa trên việc so sánh KLQ của các THL với KLQ của giống ĐC. Các THL có UTL chuẩn biến động

từ -23,25 đến 9,85%. Trong đó, có 4/15 THL có UTL mang giá trị dương lần lượt là THL11 (2,38%), THL03 (4,91%), THL02 (6,72%), THL14 (9,85%).

Bảng 9. Ưu thế lai chuẩn (HS) về khối lượng quả và độ Brix của các THL dưa lê

Tên	Khối lượng quả (g)	HS (%)	Độ Brix (%)	HS (%)
THL01	1087,7	-21,39	15,23	0,40
THL02	1476,7	6,72	14,57	-3,96
THL03	1451,7	4,91	13,03	-14,11
THL04	1062,0	-23,25	15,43	1,71
THL05	1230,0	-11,11	11,50	-24,19
THL06	1340,0	-3,16	14,03	-7,51
THL07	1100,0	-20,50	18,57	22,41
THL08	1201,7	-13,15	14,23	-6,20
THL09	1350,3	-2,41	16,47	8,57
THL10	1093,3	-20,98	14,67	-3,30
THL11	1416,7	2,38	16,33	7,65
THL12	1347,0	-2,65	17,03	12,26
THL13	1236,7	-10,62	14,57	-3,96
THL14	1520,0	9,85	16,57	9,23
THL15	1295,0	-6,41	15,20	0,20
Đối chứng	1383,7	-	15,17	-

Độ Brix

Ưu thế lai chuẩn về độ Brix được đánh giá dựa trên việc so sánh độ Brix của các THL với độ Brix của giống ĐC tại thời điểm 1 NSTH. Các THL có UTL chuẩn biến động từ -24,19% đến 22,41%. Trong đó, có 8/15 THL có UTL mang giá trị dương lần lượt là THL15 (0,20%), THL01 (0,40%), THL04 (1,71%), THL11 (7,65%), THL09 (8,57%), THL14 (9,23%), THL03 THL12 (12,26%), THL07 (22,41%). Thí nghiệm đã xác định được 2 THL đạt UTL dương về các tính trạng KLQ và độ Brix là THL14 (DLE06/DLE04) và THL11 (DLE06/DLE01). Kết quả này cho thấy vai trò làm mẹ của dòng DLE06 và vai trò làm bố và mẹ của dòng DLE01, DLE04 trong các THL cho ưu thế lai cao.

3.4. Ý nghĩa của KNPHR trong chọn tạo giống ưu thế lai

Mục đích cơ bản trong chương trình tạo giống lai là xác định dòng mới mà khi lai với dòng khác

sẽ tạo ra con lai có tính trạng mong muốn vượt trội so với bố, mẹ hoặc giống đang phổ biến trên thị trường. Giá trị ưu thế lai chuẩn (HS) là chỉ tiêu quan trọng, có ý nghĩa trong thực tiễn sản xuất nhằm xác định được các THL mới có ưu thế hơn so với giống hiện đang trồng phổ biến ngoài sản xuất (Ngo & ctv., 2020).

Kết quả phân tích KNPHR và đánh giá UTL chuẩn của 15 THL từ 06 dòng đưa lên tự phối cho thấy: THL14, THL02 vừa có KNPHR theo hướng dương, đồng thời đạt UTL chuẩn cao so với ĐC về tính trạng KLQ. Trong khi THL03, THL07, THL12 và THL14 vừa có KNPHR theo hướng dương, đồng thời đạt UTL chuẩn cao so với ĐC về độ Brix. Đặc biệt, THL14 có UTL tốt nhất về ở cả hai tính trạng KLQ và độ Brix từ các dòng có KNPHR với nhau, chứng tỏ việc sử dụng những dòng bố mẹ có KNPHR cao trong lai tạo có thể nâng cao hiệu quả của việc xác định các THL (Bảng 10) vượt trội trong chọn tạo giống cây trồng.

Bảng 10. Một số đặc điểm chính của THL triển vọng so với dòng bố, mẹ và đối chứng (ĐC)

Tên	Dạng quả	Màu vỏ quả	Màu thịt quả	Khối lượng TB quả (g)	Độ Brix (%)
Dòng bố	Elip	Vàng nhạt	Trắng	1.210,0	14,3
Dòng mẹ	Elip	Vàng đậm	Cam	1.250,0	14,0
ĐC	Elip	Vàng	Cam	1.383,7	15,2
THL14	Elip	Vàng	Cam	1.520,0	16,6

TB: trung bình

4. Kết Luận

Ở tính trạng KLQ, 2 THL có KNKH riêng có ý nghĩa theo hướng dương gồm THL14 (DLE06/DLE04), THL02 (DLE03/DLE01). Ngoài ra, có 4 THL có KNKH riêng rất có ý nghĩa theo hướng dương gồm THL03 (DLE03/DLE02), THL07 (DLE05/DLE01), THL12 (DLE06/DLE02), THL14 (DLE06/DLE04). Hai THL đạt

UTL dương ở cả hai tính trạng KLQ và độ Brix là THL14 (DLE06/DLE04) và THL11 (DLE06/DLE01).

Giống THL14 có khả năng sinh trưởng, phát triển tốt trong điều kiện nhà màng tại TP.HCM, phù hợp thị hiếu người tiêu dùng (dạng quả elip rộng, vỏ vàng, ruột quả màu cam), phẩm chất quả cao (độ Brix 16,6%, rất giòn, thơm nhẹ), đạt

năng suất cao (39,37 tấn/ha). Đây là THL được đánh giá có triển vọng nhất để phát triển thành giống mới để đưa vào sản xuất.

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)

- Anne, K. D. A., Nunes, G. H. D. S., Queiróz, M. A. D., Pereira, E. W. L., & Costa Filho, J. H. D. (2011). Diallel analysis of yield and quality traits of melon fruits. *Crop Breeding and Applied Biotechnology* 11(4), 313-319. <https://doi.org/10.1590/S1984-70332011000400004>.
- Aznar-Sánchez, J. A., Velasco-Muñoz, J. F., López-Felices, B., & Román-Sánchez, I. M. (2020). An analysis of global research trends on greenhouse technology: Towards sustainable agriculture. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 17(2), 664. <https://doi.org/10.3390/ijerph17020664>.
- Doan, C. H. (2017). *Evaluation of combining ability of some self-pollinated lines at 15 generation* (Unpublished master's thesis). Nong Lam University, Ho Chi Minh City, Vietnam.
- Griffing, B. (1956). Concept of general and specific combining ability in relation to diallel crossing systems. *Australian Journal of Biological Sciences* 9(4), 463-493. <https://doi.org/10.1071/BI9560463>.
- Huynh, T. Q., Vo, D. T., Hoang, H. D., Tran, L. V., To, T. T. T., & Le, M. T. T. (2021). Evaluation of the specific combining ability (SCA) for yield and brix of seven *Cucumis melo*. L inbred lines of the sixth generation. *The Journal of Agriculture and Development* 20(2), 1-9. <https://doi.org/10.52997/jad.1.02.2021>.
- Ngo, H. T., Nguyen, H. T. H., Tran, H. T., Pham, H. T. M., & Vu, H. N. (2020). Breeding result for yellow oriental melon. *The Science and Technology Journal of Agriculture and Rural Development* (special issue), 111-117.
- Nguyen, A. N. T., Pham, T. Q., Vu, B. T. X., Vu, L. V., & Nguyen, T. D. (2022). Heterosis, and combining ability in agronomic traits of melon inbred lines. *Vietnam Journal of Agricultural Sciences* 20(6), 709-721.
- Nguyen, T. K. (2022). *Comparison and evaluation of the combining ability of some promising rockmelon hybrids (Cucumis melo L.) cultivated in the greenhouse in Ho Chi Minh City* (Unpublished master's thesis). Nong Lam University, Ho Chi Minh City, Vietnam.
- Phan, T. K. (2016). *Principles of plant breeding*. Ho Chi Minh City, Vietnam: Agricultural Publishing House.
- Truong, H. T. H., Tran, L. N., & Nguyen, T. D. (2019). Comparison growth, yield, and quality of some varieties of melon (*Cucumis melo* L.) F1 under greenhouse conditions in spring-summer crop 2018 in Thua Thien Hue. *Hue University Journal of Science: Agriculture and Rural Development* 128(3a), 57-66. <https://doi.org/10.26459/hueuni-jard.v128i3A.4965>.
- UPOV (International Union for the Protection of New Varieties of Plants). (2014). International union for the protection of new varieties of plants: Guidelines for the conduct of tests for distinctness, uniformity, and stability: *Cucumis melo* L. Retrieved October 2, 2023, from <https://www.upov.int/edocs/tgdocs/en/tg104.pdf>.
- Vu, L. V., & Hoang, D. D. (2011). Evaluation for growth, development, and yield of some melon varieties introduced from China in Gialam, Hanoi. *The Journal of Science and Development* 10(2), 238-243.

Morphological characteristics of *Bracon hebetor* (Hymenoptera: Braconidae), a larval parasitoid of coconut Black Headed Caterpillar *Opisina arenosella* Walker (Lepidoptera: Xyloryctidae)

Hoang K. Le

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

ARTICLE INFO

Research Paper

Received: October 02, 2023

Revised: October 24, 2023

Accepted: November 20, 2023

Keywords

Biological control

Black headed caterpillar

Bracon hebetor

Coconut tree

Opisina arenosella

Corresponding author

Le Khac Hoang

Email:

lkhoang@hcmuaf.edu.vn

ABSTRACT

The *Bracon hebetor* is an essential natural enemy in suppressing the coconut black-headed caterpillar (BHC) *Opisina arenosella*, which was common in coconut field in Ben Tre province. Under laboratory conditions, with six-instar larvae of BHC as a host, the adult body of *B. hebetor* was yellow-brown and the male's antennae were longer than those of the female, with oblong and rectangular shapes consisting of 17 - 20 segments, while the female's antennae were square-shaped with 11 - 14 segments. The abdomen of *B. hebetor* was pale yellow, with its last segment being dark brown. Females of *B. hebetor* were larger than males. The average body length of females and males was 3.2 ± 0.17 mm and 3.0 ± 0.18 mm, respectively. The average body length of 2-day-old pupae was 3.0 ± 0.20 mm and that of 3-day-old larvae was 3.5 ± 0.21 mm. The average length of egg was 0.7 ± 0.07 mm. The findings of this study helped provide information on the identification of *B. hebetor* larval parasitic wasps on the BHC host, aiding in the search for natural enemies of BHC in coconut fields. Additionally, the research also facilitated the exploration of the biological and ecological aspects of this natural adversary in Vietnam.

Cited as: Le, H. K. (2024). Morphological characteristics of *Bracon hebetor* (Hymenoptera: Braconidae), a larval parasitoid of coconut Black Headed Caterpillar *Opisina arenosella* Walker (Lepidoptera: Xyloryctidae). *The Journal of Agriculture and Development* 23(2), 28-38.

Đặc điểm hình thái loài ong *Bracon hebetor* (Hymenoptera: Braconidae) ký sinh ấu trùng sâu đầu đen hại dừa *Opisina arenosella* Walker (Lepidoptera: Xyloryctidae)

Lê Khắc Hoàng

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

THÔNG TIN BÀI BÁO

Bài báo khoa học

Ngày nhận: 02/10/2023

Ngày chỉnh sửa: 24/10/2023

Ngày chấp nhận: 20/11/2023

Từ khóa

Bracon hebetor

Cây dừa

Đấu tranh sinh học

Opisina arenosella

Sâu đầu đen

Tác giả liên hệ

Lê Khắc Hoàng

Email:

lkhoang@hcmuaf.edu.v

TÓM TẮT

Loài ong *Bracon hebetor* là thiên địch quan trọng trong kiểm soát sâu đầu đen *Opisina arenosella* hại dừa, có tần suất xuất hiện cao ở các vườn dừa tại Bến Tre. Ở điều kiện phòng thí nghiệm, trên ký chủ là ấu trùng sâu đầu đen tuổi 6, cơ thể thành trùng ong *B. hebetor* có màu vàng nâu, thành trùng đực có râu đầu dài hơn thành trùng cái, roi râu của thành trùng đực hình chữ nhật thuôn dài có từ 17 - 20 đốt, thành trùng cái roi râu có hình vuông có từ 11 - 14 đốt. Bụng ong có màu vàng nhạt, đốt cuối bụng màu nâu thẫm. Thành trùng ong *B. hebetor* cái có kích thước lớn hơn thành trùng ong *B. hebetor* đực, chiều dài thành trung bình của thành trùng cái và thành trùng đực lần lượt là $3,2 \pm 0,17$ mm và $3,0 \pm 0,18$ mm. Nhộng 2 ngày tuổi dài trung bình là $3,0 \pm 0,20$ mm và ấu trùng 3 ngày tuổi dài trung bình $3,5 \pm 0,21$ mm. Trứng dài trung bình $0,7 \pm 0,07$. Kết quả nghiên cứu này đã góp phần cung cấp thông tin về nhận dạng ong ký sinh ấu trùng *B. hebetor* trên ký chủ sâu đầu đen trong quá trình điều tra phát hiện thiên địch sâu đầu đen trong vườn dừa và hỗ trợ cho quá trình nghiên cứu đặc điểm sinh học và sinh thái loài thiên địch này tại Việt Nam.

1. Đặt Vấn Đề

Sâu đầu đen *O. arenosella*, là loài sâu hại ngoại lai, xuất hiện và gây Bến Tre từ cuối năm 2020 (Le & ctv., 2022), sau đó nhanh chóng bùng phát và lây lan đến các tỉnh phụ cận Bến Tre như Tiền Giang, Vĩnh Long, Trà Vinh (Mai, 2022). Theo ghi nhận tại một số quốc gia khác trên thế giới như Myanmar, Bangladesh vào những năm 2006 - 2008, thiệt hại trên vườn dừa do sâu đầu đen gây ra lên đến khoảng 83% (Mohan & ctv., 2010), gần đây nhất là tại Thái Lan sâu đầu đen gây thiệt hại lên đến 45% năng suất dừa vào năm 2010 - 2017 (Chomphukhiao, 2018).

Tại Việt Nam, ngay khi sâu đầu đen xuất hiện các nghiên cứu đã được thực hiện và bước đầu xây dựng được một số giải pháp kiểm soát theo hướng sinh học bền vững. Kết quả điều tra đánh giá thành phần thiên địch của sâu đầu đen tại Bến Tre đã ghi nhận được 10 loài thiên địch, trong đó, loài ong *B. hebetor* cho thấy có tiềm năng kiểm soát sâu đầu đen tại Bến Tre (Nguyen & ctv., 2023). Nghiên cứu này được tiến hành nhằm mô tả đặc điểm hình thái loài ong ký sinh *B. hebetor* ký sinh trên ấu trùng sâu đầu đen, cung cấp thêm dữ liệu về hình thái loài ong này để giúp nhận diện chính xác thiên địch trên vườn dừa tại Việt Nam.

2. Vật Liệu và Phương Pháp Nghiên Cứu

2.1. Vật liệu và đối tượng nghiên cứu

Vật liệu thí nghiệm: ong ký sinh *B. hebetor*, sâu đầu đen *O. arenosella*, lá dừa tươi (lá được lấy từ tàu lá 1 đến tàu lá thứ 5 tính từ dưới gốc lên); Dụng cụ nhân nguồn sâu đầu đen và ong *B. hebetor*: lồng nhân nuôi kích thước 50 x 50 x 50 cm, hộp nhựa hình chữ nhật kích thước 25 x 15 x 8,5 cm (nắp hộp có lưới thoáng khí); Dụng cụ thí nghiệm: hộp nhựa hình trụ tròn kích thước 6,5 x 3,2 cm (đường kính đáy x cao; nắp hộp có lưới thoáng khí); hộp nhựa hình chữ nhật kích thước 25 x 15 x 8,5 cm (nắp hộp có lưới thoáng khí); panh gấp côn trùng, đĩa petri (đường kính 9 cm), dụng cụ ghim mẫu; Thiết bị sử dụng: Kính hiển vi soi nổi KTST - 978PRO, Đài Loan (độ phóng đại từ 17 - 110 X), máy đo nhiệt độ và độ ẩm (HOB0 MX1101 - Hoa Kỳ). Điều kiện nghiên cứu: nhiệt độ phòng thí nghiệm $28 \pm 2^\circ\text{C}$ và ẩm độ $70 \pm 5\%$, thời gian chiếu sáng 12 giờ.

2.2. Phương Pháp Nghiên Cứu

2.2.1. Nhân nuôi quần thể sâu đầu đen và ong ký sinh

Ấu trùng sâu đầu đen được nhân nuôi trên lá dừa tươi trong hộp nhựa kích thước 25 x 15 x 8,5 cm, nắp có lưới thoáng khí và được thay lá 2 ngày/lần cho đến khi ấu trùng hóa nhộng. Sau khi nhộng vũ hóa, thành trùng được cho bắt cặp và giao phối trong lồng nhân nuôi kích thước 50 x 50 x 50 cm có các miếng khăn giấy kích thước 1,5 x 20 cm cho thành trùng đẻ trứng. Hằng ngày bổ sung thức ăn là mật ong 30% và thu trứng sâu để tiến hành nuôi thế hệ tiếp theo. Thu đến thế hệ sâu đầu đen thứ 3 tiến hành làm thí nghiệm.

Ong ký sinh *B. hebetor* được nhân nguồn trong các hộp nhựa kích thước 25 x 15 x 8,5 cm, nắp có lưới thoáng khí chứa 50 ấu trùng sâu đầu đen tuổi 6 và 50 thành trùng ong *B. hebetor* đã giao phối trong 24 giờ (35 thành trùng cái, 15 thành trùng đực), hằng ngày bổ sung thức

ăn là mật ong 30%. Thu đến thế hệ thứ 3 tiến hành làm thí nghiệm.

2.2.2. Phương pháp xác định đặc điểm hình thái của ong ký sinh *B. hebetor*

Cho 30 cặp ong *B. hebetor* đã giao phối, tiếp xúc với 50 ấu trùng sâu đầu đen tuổi 6 trong 24 giờ, trong hộp nhựa chữ nhật (kích thước 25 x 15 x 8,5 cm, nắp có lưới thoáng khí). Tiến hành gấp ấu trùng sâu đã bị ký sinh vào các hộp nhựa hình trụ tròn kích thước 6,5 x 3,2 cm; có nắp lưới thoáng khí và chỉ để lại ngẫu nhiên 1 trứng ong/ ấu trùng sâu đầu đen để tiếp tục theo dõi. Hằng ngày ghi nhận và mô tả các chỉ tiêu đặc điểm hình thái ong *B. hebetor*.

Chỉ tiêu theo dõi: hình dạng, màu sắc, kích thước các pha trứng, ấu trùng, nhộng. Đối với thành trùng mô tả hình dạng, màu sắc các bộ phận gồm đầu, râu đầu, cánh, chân sau, ống đẻ trứng, bộ phận giao phối, chiều rộng sải cánh, chiều dài đốt chày chân sau và xác định giới tính.

2.3. Phương Pháp Xử Lý Số Liệu

Số liệu được tổng hợp bằng phần mềm Microsoft Excel 2010.

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Đặc điểm hình thái pha trứng

Trứng ong *B. hebetor* mới đẻ có màu trắng đục, hình bầu dục thuôn dài, vỏ trứng nhẵn và rất mỏng. Trứng sẽ chuyển sang màu trắng trong sau khi được đẻ từ 20 - 30 giờ do phần phôi bên trong được hình thành (Hình 1). Trứng ong *B. hebetor* có chiều dài trung bình là $0,7 \pm 0,07$ mm, chiều rộng trung bình là $0,2 \pm 0,03$ mm (Bảng 1), lớn hơn đáng kể so với mô tả của Chomphukhiao (2018) trên hai ký chủ ấu trùng sâu đầu đen *O. arenosella* và ấu trùng ngài gạo *Corcyra cephalonica*, trứng ong *B. hebetor* có chiều dài và chiều rộng trung bình lần lượt là $0,53 \pm 0,02$ mm và $0,15 \pm 0,00$ mm; $0,51 \pm$

0,03 mm và $0,15 \pm 0,00$ mm. Nghiên cứu của Pezzini & ctv. (2017) trên ấu trùng *Ephestia kuehniella*, chiều dài và chiều rộng biến động

từ $0,52 \pm 0,05$ mm và $0,12 \pm 0,01$ mm. Như vậy, chiều dài và chiều rộng trứng ong *B. hebetor* phụ thuộc nhiều vào loại ký chủ.

Bảng 1. Kích thước cơ thể các pha phát dục của ong *B. hebetor* ký sinh trên ấu trùng sâu đầu đen *O. arenosella*

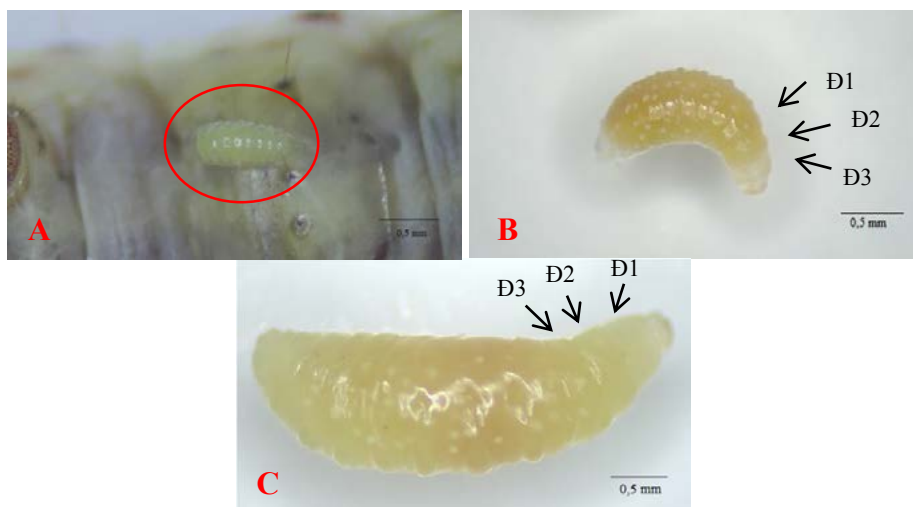
Các pha phát dục	N	Chiều dài (mm)		Chiều rộng (mm)	
		Biến động	TB $\pm$ SD	Biến động	TB $\pm$ SD
Trứng	50	0,53 - 0,83	$0,7 \pm 0,07$	0,16 - 0,26	$0,2 \pm 0,03$
Ấu trùng 1 ngày tuổi	50	0,44 - 1,67	$1,1 \pm 0,28$	0,15 - 0,57	$0,4 \pm 0,11$
Ấu trùng 2 ngày tuổi	50	1,26 - 4,06	$2,9 \pm 0,70$	0,48 - 1,88	$1,0 \pm 0,25$
Ấu trùng 3 ngày tuổi	50	3,14 - 3,82	$3,5 \pm 0,21$	1,09 - 1,39	$1,2 \pm 0,09$
Tiền nhộng 1 ngày tuổi	48	2,83 - 3,79	$3,2 \pm 0,22$	1,04 - 1,39	$1,2 \pm 0,09$
Tiền nhộng 2 ngày tuổi	48	2,83 - 3,47	$3,1 \pm 0,21$	1,01 - 1,31	$1,2 \pm 0,10$
Nhộng 1 ngày tuổi	47	2,70 - 3,38	$3,1 \pm 0,17$	0,98 - 1,38	$1,2 \pm 0,09$
Nhộng 2 ngày tuổi	47	2,41 - 3,31	$3,0 \pm 0,20$	1,03 - 1,40	$1,2 \pm 0,08$
Thành trùng đực	26	2,60 - 3,31	$3,0 \pm 0,18$	0,66 - 0,91	$0,8 \pm 0,07$
Thành trùng cái	21	2,76 - 3,50	$3,2 \pm 0,17$	0,68 - 0,99	$0,8 \pm 0,10$

Ghi chú: N: số mẫu theo dõi; TB: trung bình; SD: độ lệch chuẩn.



Hình 1. Trứng ong *B. hebetor*.

3.2. Đặc điểm hình thái pha ấu trùng



Hình 2. Giai đoạn ấu trùng ong *B. hebetor*. A: ấu trùng 1 ngày tuổi; B: ấu trùng 2 ngày tuổi; C: ấu trùng 3 ngày tuổi; Đ1, Đ2, Đ3: đốt ngực thứ nhất, thứ hai và thứ ba.

Hình 2 và Bảng 1 cho thấy, ấu trùng ong *B. hebetor* 1 ngày tuổi mới nở có hình bầu dục, màu trắng ngà và hơi trong, phần ngực thuôn dài hơn phần bụng, không có lông, cơ thể mỏng nước và mềm yếu. Ấu trùng ong *B. hebetor* 1 ngày tuổi có chiều dài trung bình là $1,1 \pm 0,28$ mm, chiều rộng trung bình là $0,4 \pm 0,11$ mm. Ấu trùng 2 ngày tuổi xuất hiện những hạt dự trữ chất béo màu vàng nhạt dọc khắp bụng và ngực, những hạt này liên tục lớn lên theo kích thước của ấu trùng. Ấu trùng 2 ngày tuổi có cơ thể căng mỏng, phần ngực và đuôi còn trong, chiều dài trung bình là $2,9 \pm 0,70$ mm, chiều rộng trung bình là $1,0 \pm 0,25$ mm. Ấu trùng 3 ngày tuổi có hình bầu dục, cơ thể ấu trùng căng đầy, 2 bên bụng xuất hiện nhiều khối lipid hơn ấu trùng 2 ngày

tuổi. Ấu trùng có màu vàng đục, trong ruột chứa thức ăn đang tiêu hóa màu vàng hoặc nâu nhạt. Ấu trùng 3 ngày tuổi có chiều dài trung bình là $3,5 \pm 0,21$ mm, chiều rộng trung bình là $1,2 \pm 0,09$ mm. Kích thước giai đoạn ấu trùng của ong *B. hebetor* đa phần phụ thuộc vào loại ký chủ, ấu trùng tuổi 1 đến tuổi 3 trên ký chủ *E. kuehniella* có chiều dài biến động từ $0,44 \pm 0,07$ mm - $1,87 \pm 0,28$ mm và chiều rộng biến động từ $0,10 \pm 0,01$ mm đến $0,6 \pm 0,08$ mm (Pezzini & ctv., 2017); trên ký chủ *O. arenosella* và *C. cephalonica* chiều dài và chiều rộng ong *B. hebetor* trung bình lần lượt biến động từ $0,59 \pm 0,12$ mm đến $2,66 \pm 0,34$ mm và $0,21 \pm 0,05$ mm đến $0,89 \pm 0,14$ mm; $0,56 \pm 0,09$ đến $2,68 \pm 0,30$ mm và $0,19 \pm 0,02$ đến $0,92 \pm 0,13$ mm (Chomphukhiao, 2018).

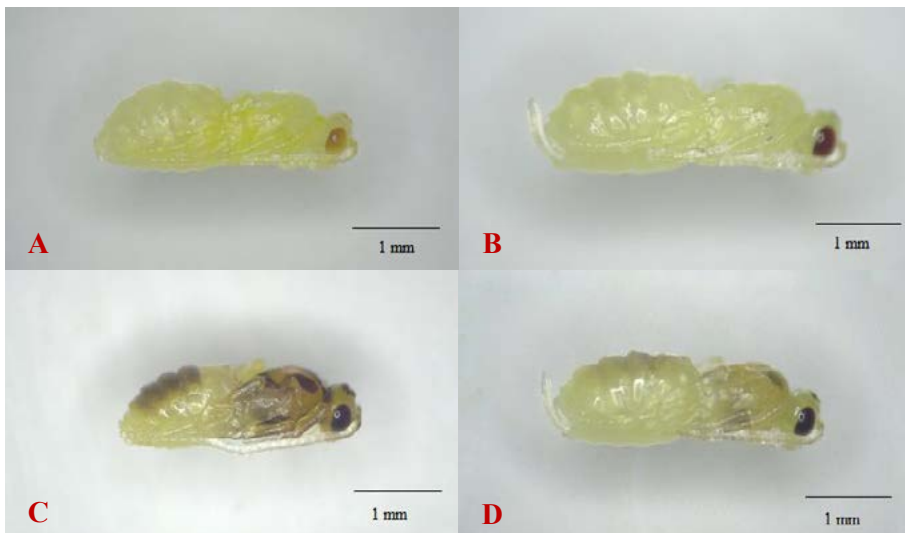
3.3. Đặc điểm hình thái pha nhộng



Hình 3. Tiễn nhộng ong *B. hebetor*. A: tiễn nhộng 1 ngày tuổi; B: tiễn nhộng 2 ngày tuổi.

Trước khi hóa nhộng, ong *B. hebetor* trải qua giai đoạn tiễn nhộng có sự biến đổi về hình dạng, màu sắc và kích thước. Nhộng của ong *B. hebetor* là dạng nhộng trần, có thể phân biệt được giới tính từ ngày thứ nhất sau khi hóa nhộng. Giai đoạn tiễn nhộng 1 ngày tuổi có màu vàng nhạt, có bụng màu đỏ nâu hoặc nâu nhạt. Sau khi bắt đầu tạo kén, ấu trùng ong nằm im và bắt đầu đào thải phân ra ngoài, cơ thể cong, co lại, da nhăn nheo (Hình 3). Tiễn nhộng 1 ngày tuổi có chiều dài trung bình là $3,2 \pm 0,22$ mm, chiều rộng trung bình là $1,2 \pm 0,09$ mm. Tiễn nhộng 2 ngày tuổi, cơ thể duỗi thẳng, da nhăn nheo, cơ thể mềm yếu. Đầu nhộng ong *B. hebetor* bắt

đầu phát triển ở đốt ngực thứ nhất, phần ngực và bụng nhộng hiện lên do ong bắt đầu phân chia các bộ phận của cơ thể. Tiếp tục tiêu hóa thức ăn trong ruột và đào thải phân ra ngoài. Ở một số cá thể, những khối lipid chìm vào bên trong, da căng bóng khi sắp hóa nhộng. Tiễn nhộng 2 ngày tuổi ong *B. hebetor* có chiều dài trung bình là $3,1 \pm 0,21$ mm, chiều rộng trung bình là $1,2 \pm 0,10$ mm. Trên ký chủ *E. kuehniella* giai đoạn tiễn nhộng ong *B. hebetor* có chiều dài và chiều rộng trung bình lần lượt là $2,90 \pm 0,18$ mm và $0,84 \pm 0,03$ (Pezzini & ctv., 2017), nhỏ hơn đáng kể so với nghiên cứu này.



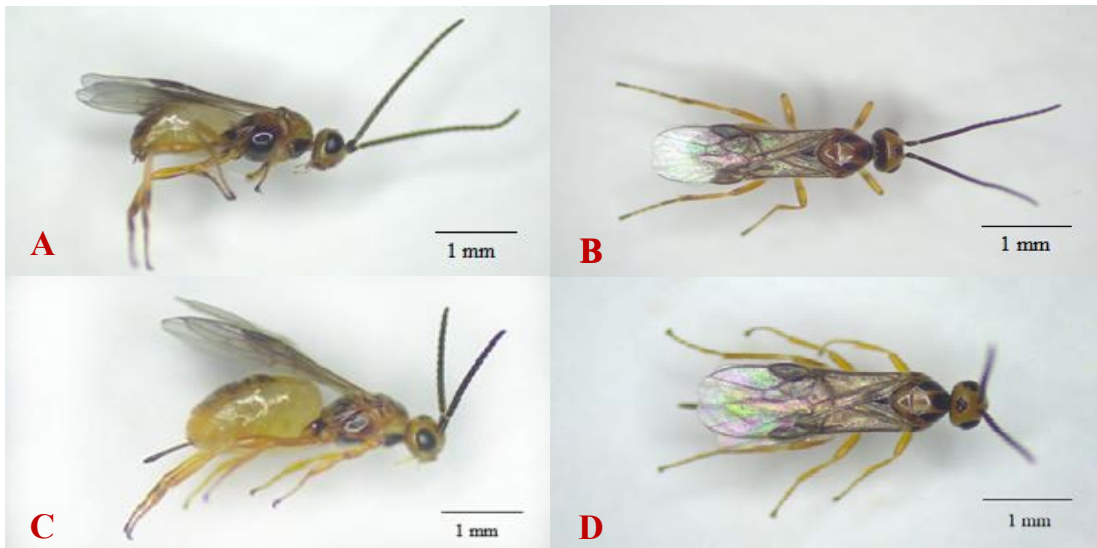
Hình 4. Nhộng ong ký sinh *B. hebetor*. A: nhộng đực 1 ngày tuổi; B: nhộng cái 1 ngày tuổi. C: nhộng đực 2 ngày tuổi; D: nhộng cái 2 ngày tuổi.

Nhộng 1 ngày tuổi có mắt kép màu nâu nhạt, mắt đơn màu nâu nhạt xuất hiện trên đỉnh đầu nhộng. Các phần phụ phát triển hoàn thiện và nhộng có thể quan sát được giới tính của ong khi ong cái có cơ quan sinh sản kéo dài ra còn ong đực thì không có bộ phận này (Hình 4). Nhộng tiếp tục co cơ thể lại và đào thải phân, chiều dài trung bình là $3,1 \pm 0,17$ mm, chiều rộng trung bình là $1,2 \pm 0,09$ mm. Nhộng 2 ngày tuổi có màu vàng xám, một số ấu trùng chuyển màu nâu đen ở các bộ phận như đầu, ngực và mảnh lưng. Cơ thể nhộng trở nên cứng cáp hơn. Khi nhộng còn màu vàng, kích thước của nhộng giảm dần đến khi chuyển sang màu nâu. Nhộng có chiều dài

trung bình là $3,0 \pm 0,20$ mm, chiều rộng trung bình là $1,2 \pm 0,08$ mm.

3.4. Đặc điểm hình thái thành trùng

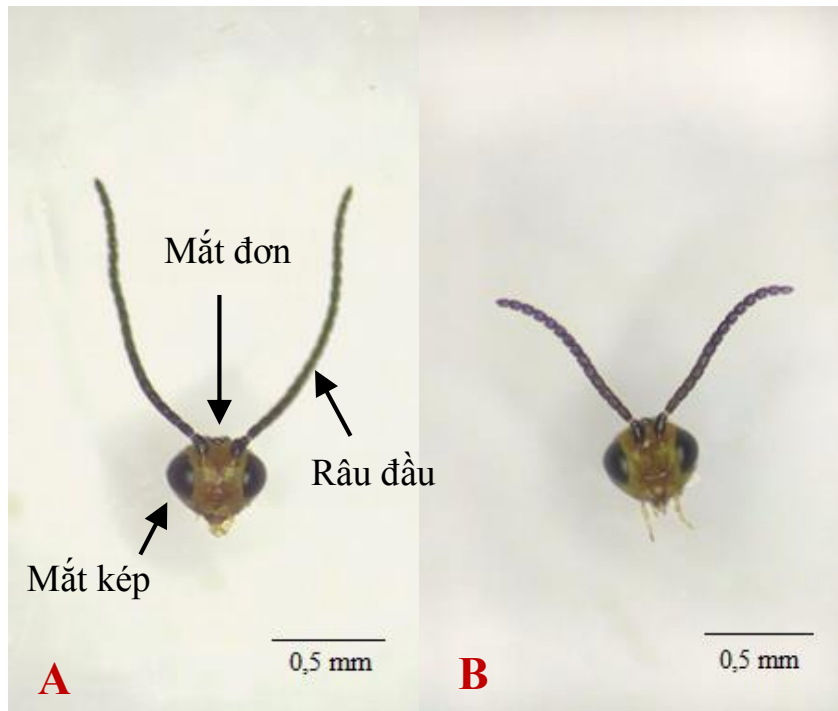
Thành trùng ong *B. hebetor* có màu vàng nâu xen lẫn những mảng màu đen, cơ thể được bao phủ một lớp lông tơ ngắn và mỏng. Thành trùng đực có kích thước cơ thể với chiều dài trung bình là $3,0 \pm 0,18$ mm, chiều rộng trung bình là $0,8 \pm 0,07$ mm. Thành trùng cái có kích thước lớn hơn thành trùng đực với chiều dài trung bình là $3,2 \pm 0,17$ mm, chiều rộng trung bình là $0,8 \pm 0,10$ mm (Hình 5 và Bảng 1).



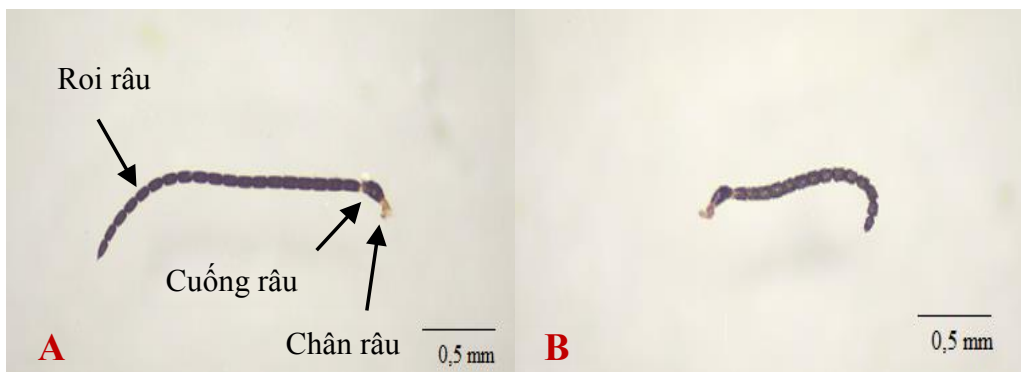
Hình 5. Thành trùng ong *B. hebetor*. A, B: thành trùng đực ong *B. hebetor*; C, D: thành trùng cái ong *B. hebetor*.

Đầu ong *B. hebetor* có màu vàng trùng với màu cơ thể, có hình tam giác gồm 2 mắt kép màu đen đối xứng nhau (Hình 6). Giữa 2 mắt kép là cặp râu đầu và 3 mắt đơn màu nâu nằm trên đỉnh đầu, phía dưới là miệng, miệng thuộc kiểu gặm

nhai. Ngoài ra, phần đầu được bao phủ bởi một lớp lông tơ màu vàng. Đầu của thành trùng đực nhọn và sẫm màu hơn, cặp râu đầu xếp xa hơn thành trùng cái.



Hình 6. Đầu ong *B. hebetor*. A: đầu ong *B. hebetor* đực; B: đầu ong *B. hebetor* cái.

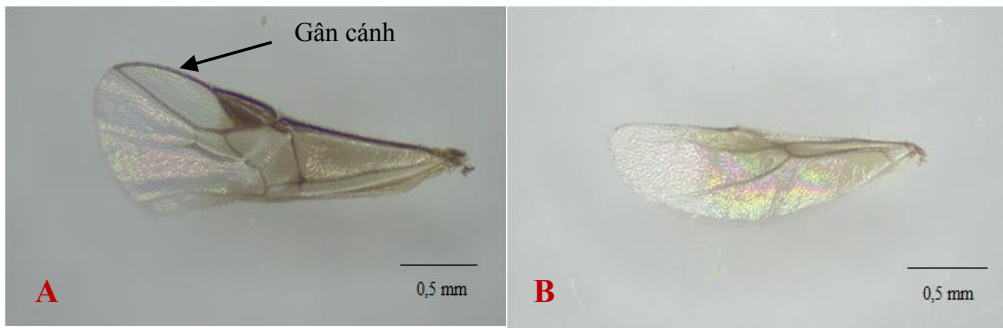


Hình 7. Râu đầu ong ký sinh *B. hebetor*. A: râu đầu thành trùng đực; B: râu đầu thành trùng cái.

Râu đầu ong *B. hebetor* có dạng sợi chỉ gồm 3 bộ phận: chân râu, cuống râu và roi râu. Thành trùng đực có râu đầu dài hơn thành trùng cái, roi râu của thành trùng đực có 17 - 20 đốt hình chữ nhật thuôn dài trong khi thành trùng cái có 11 - 14 đốt hình vuông (Hình 7), kết quả này có sự tương đồng so với nghiên cứu của Chomphukhiao (2018) khi nghiên cứu đặc điểm

hình thái phần đầu ong *B. hebetor* ký sinh trên hai ký chủ ấu trùng sâu đầu đen *O. arenosella* và ấu trùng ngài gạo *C. cephalonica*.

Bảng 2 và Hình 8 cho thấy chiều dài sải cánh của thành trùng đực tương tự thành trùng cái. Cụ thể, sải cánh của thành trùng đực có chiều dài trung bình là $5,6 \pm 0,28$ mm và thành trùng cái có sải cánh dài trung bình $5,6 \pm 0,35$ mm.

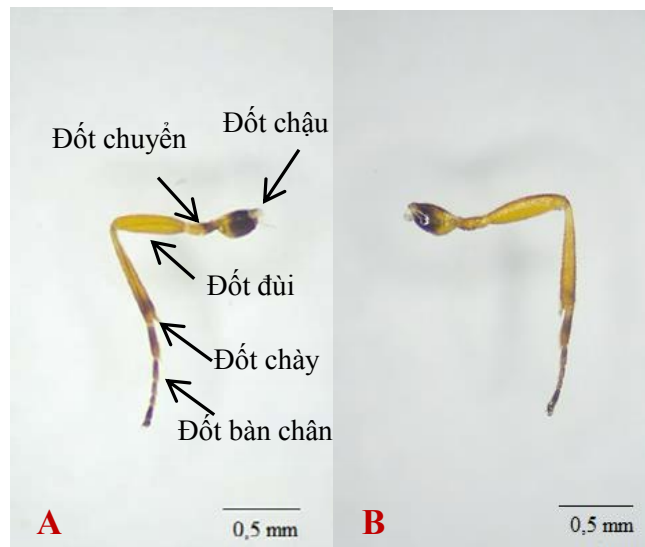


Hình 8. Cánh ong *B. hebetor*. A: cánh trước ong *B. hebetor*; B: cánh sau ong *B. hebetor*.

Bảng 2. Chiều dài sải cánh và đốt chày chân sau ong *B. hebetor*

Chỉ tiêu	Thành trùng đực		Thành trùng cái	
	Biến động	TB $\pm$ SD	Biến động	TB $\pm$ SD
Sải cánh (mm)	5,10 - 6,21	5,6 $\pm$ 0,28	4,82 - 6,29	5,9 $\pm$ 0,35
Đốt chày chân sau (mm)	0,64 - 0,93	0,8 $\pm$ 0,08	0,72 - 0,99	0,9 $\pm$ 0,07

Ghi chú: TB: trung bình; SD: độ lệch chuẩn; số mẫu theo dõi: N ong đực = 26, N ong cái = 21.



Hình 9. Chân sau ong *B. hebetor*. A: chân sau thành trùng đực; B: chân sau thành trùng cái.

Thành trùng ong *B. hebetor* có chân kiểu bò, các đôi chân trước nhỏ và ngắn hơn chân sau. Chân ong *B. hebetor* được cấu tạo từ đốt chậu, đốt chuyển, đốt đùi, đốt chày và đốt bàn chân (Hình 9). Đốt chậu hình bầu dục, phình to màu vàng đen; đốt chuyển linh hoạt có màu vàng ở

thành trùng cái và màu vàng nâu ở thành trùng đực; đốt đùi thuần dài, hình trụ màu vàng; đốt chày dài và mảnh hơn đốt đùi màu vàng, cuối đốt loang màu nâu nhạt và xuất hiện 1 gai cứng; đốt bàn chân do 5 đốt nhỏ tạo thành màu vàng nâu, cuối đốt bàn chân là móng vuốt nhọn được

phủ lông cứng và ngắn màu đen. Chân sau thành trùng đục đậm màu hơn thành trùng cái và có kích thước tương tự nhau. Cụ thể, chiều dài trung bình đốt chày chân sau của thành trùng đục là $0,8 \pm 0,08$ mm, chiều dài trung bình của thành trùng cái là $0,9 \pm 0,07$ mm.

Bụng của ong *B. hebetor* có màu vàng nâu, có 6 đốt, đốt thứ 5 và thứ 6 có các cơ quan sinh sản và hậu môn (Hình 10). Thành trùng có mảnh bụng trên hóa cứng màu vàng nhạt xen lẫn nâu

đen, mảnh bụng dưới là da mềm có thể phồng lên hoặc xẹp xuống. Lớp da này giúp bụng thành trùng thay đổi kích thước một cách linh hoạt khi tìm kiếm vật chủ. Có thể phân biệt thành trùng đục và thành trùng cái bằng cách quan sát phần phụ của bụng. Thành trùng cái có lông đuôi dài và mảnh (máng đẻ trứng), có ống đẻ trứng (ống dẫn nọc độc) kéo dài còn thành trùng đục thì không có đặc điểm này. Bụng của thành trùng đục nhỏ hơn và tối màu hơn thành trùng cái.



Hình 10. Bụng thành trùng ong *B. hebetor*. A: thành trùng đục; B: thành trùng cái.



Hình 11. Bộ phận sinh dục ong *B. hebetor*. A: bộ phận sinh dục đục; B: bộ phận sinh dục cái.

Bộ phận sinh dục ngoài của thành trùng đực là dương cụ, có hình phiến dẹt được đốt bụng thứ 5 bao bọc (Hình 11A). Bộ phận sinh dục ngoài hay bộ phận đẻ trứng của thành trùng cái có kích thước lớn hơn thành trùng đực, gồm các phiến đẻ trứng ở đốt bụng thứ 5 được phân hóa thành thành 1 cặp đuôi hay máng đẻ trứng, ống đẻ trứng hay ống dẫn nọc độc (Hình 11B). Thông thường các phiến đẻ trứng này cuộn xếp lại với nhau nhưng khi ký sinh hoặc hù dọa kẻ thù, thành trùng cái sẽ uốn bụng ra phía trước để lộ ống đẻ trứng và máng đẻ trứng

4. Kết Luận

Trên ký chủ ấu trùng sâu đầu đen tuổi 6, trứng ong B. hebetor hình bầu dục có màu trắng ngà và bóng, chiều dài trung bình là $0,7 \pm 0,07$ mm, chiều rộng trung bình là $0,2 \pm 0,03$ mm; ấu trùng tuổi 3 có màu vàng nhạt hoặc nâu đỏ, chiều dài trung bình $3,5 \pm 0,21$ mm, chiều rộng trung bình $1,2 \pm 0,09$ mm; nhộng thuộc dạng nhộng trần hình bầu dục, màu vàng tươi, trung bình chiều dài và chiều rộng nhộng 2 ngày tuổi lần lượt là $3,0 \pm 0,20$ mm và $1,2 \pm 0,08$ mm. Thành trùng đực có màu vàng nâu, chiều dài trung bình là $3,0 \pm 0,18$ mm, chiều rộng trung bình là $0,8 \pm 0,07$ mm. Thành trùng cái có màu sáng hơn và kích thước lớn hơn thành trùng đực với chiều dài trung bình là $3,2 \pm 0,17$ mm, chiều rộng trung bình là $0,8 \pm 0,10$ mm.

Lời Cam Đoan

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

Tài Liệu Tham Khảo (References)

Chomphukhiao, N. (2018). *Coconut black-headed caterpillar, opisina arenosella walker*

(Lepidoptera: Oecophoridae): biology, ecology and it's parasitoids on biological control program for sustainable coconut production (Unpublished doctoral dissertation). Kasetsart University, Bangkok, Thailand.

Le, H. K., Nguyen, L. T. Q., Le, D. T., Ha, N. T., Lu, X. N. C. Nong, Q. H., Nguyen, T. M. T., Ngo, T. Q., Mai, T. T., Nguyen, N. T. T., & Nguyen D. T. (2022). Population fluctuation, damage status, and some biological characteristics of coconut black head caterpillar (BHC), *Opisina arenosella* Walker (Lepidoptera: Xylorictidae) in Ben Tre province. *Journal of Plant Protection* 3, 23-31.

Mai, T. T. (2022). *Morphological and biological characteristics of black headed caterpillar (Opisina arenosella) damaging on coconut and laval prey consumption of chelisoches variegatus in Mekong delta* (Unpublished master's thesis). Nong Lam University, Ho Chi Minh City, Vietnam.

Mohan, C., Nair, C. P. R., Nampoothiri, C. K., & Rajan, P. (2010). Leaf-eating caterpillar (*Opisina arenosella*)-induced yield loss in coconut palm. *International Journal of Tropical Insect Science* 30(3), 132-137. <https://doi.org/10.1017/S174275841000024X>.

Nguyen, D. T., Nong, Q. H., Pham, D. P., Nguyen, T. M. T., & Le, H. K. (2023). The invasion of black headed caterpillar (*Opisina arenosella*) into Vietnam and its bio-control. In Pham, S. K. (Ed.), *International Conference on Bioprotection for Sustainable Agriculture*. Can Tho City, Vietnam: Can Tho University.

Pezzini, C., Jahnke, S. M., & Köhler, A. (2017). Morphological characterization of immature stages of *Habrobracon hebetor* (Hymenoptera, Braconidae) ectoparasitoid of *Ephesia kuehniella* (Lepidoptera, Pyralidae). *Journal of Hymenoptera Research* 60, 157-171. <https://doi.org/10.3897/jhr.60.20104>.

Antibacterial activity of the black soldier fly (*Hermetia illucens*) larva protein hydrolysates against some pathogenic bacterial strains on freshwater fish

Nhu L. K. Nguyen, Duyen T. M. Tran, Tam P. B. Nguyen, & Thy T.T. Ho*
Faculty of Fisheries, Nong Lam University, Ho Chi Minh City, Vietnam

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Research Paper	The study was carried out to determine the antibacterial activity of protein hydrolysates from black soldier fly (<i>Hermetia illucens</i>) larva (PHBSF) on some pathogenic bacteria including <i>E. ictaluri</i>, <i>A. hydrophila</i>, <i>A. verroni</i>, and <i>S. agalactiae</i> on freshwater fish. The results showed that the tested bacteria were highly sensitive with significant difference ($P < 0.05$) in diameter clear zone compared to the negative control at the tested concentrations of 20, 35, and 70 mg/100 μL. Particularly, <i>E. ictaluri</i> was sensitive at all three test concentrations with the diameter of clear zones following 14.0 ± 1.0, 18.7 ± 0.7, and 20.7 ± 0.7 mm, respectively. <i>A. veronii</i> and <i>S. agalactiae</i> were sensitive at concentrations of 35 and 70 mg/100 μL, and <i>A. hydrophila</i> with a clear zone diameter of 14.3 ± 0.3 mm at the concentration of 70 mg/100 μL. The PHBSF was able to kill <i>A. veronii</i> and <i>S. agalactiae</i> with MIC (minimum inhibitory concentration) = MBC (minimum bactericidal concentration) = 44 mg/mL, while <i>E. ictaluri</i> and <i>A. hydrophila</i> were inhibited at MIC 44 mg/mL, and MBC was 88 mg/mL. These results indicated that PHBSF could be potentially used to prevent fish diseases caused by <i>E. ictaluri</i>, <i>A. hydrophila</i>, <i>A. verroni</i>, and <i>S. agalactiae</i>.
Received: August 28, 2023	
Revised: October 16, 2023	
Accepted: October 31, 2023	
Keywords	
Antimicrobial activity	
Fresh water fish	
<i>Hermetia illucens</i>	
Pathogenic bacteria	
Protein hydrolysates	
*Corresponding author	
Ho Thi Truong Thy	
Email:	
thy.hothitruong@hcmuaf.edu.vn	

Cited as: Nguyen, N. L. K., Tran, D. T. M., Nguyen, T. P. B., & Ho, T. T. T. (2024). Antibacterial activity of the black soldier fly (*Hermetia illucens*) larva protein hydrolysates against some pathogenic bacterial strains on freshwater fish. *The Journal of Agriculture and Development* 23(2), 39-48.

Xác định khả năng kháng khuẩn dịch đậm thủy phân của nhộng ruồi lính đen (*Hermetia illucens*) lên một số chủng vi khuẩn gây bệnh trên cá nuôi nước ngọt

Nguyễn Lam Kim Như, Trần Thị Mỹ Duyên, Nguyễn Phạm Bằng Tâm & Hồ Thị Trường Thy*
Khoa Thủy Sản, Trường Đại Học Nông Lâm TP.HCM, TP. Hồ Chí Minh

THÔNG TIN BÀI BÁO

Bài báo khoa học

Ngày nhận: 28/08/2023
Ngày chỉnh sửa: 16/10/2023
Ngày chấp nhận: 31/10/2023

Từ khóa

Cá nước ngọt
Đạm thủy phân
Hermetia illucens
Kháng khuẩn
Vi khuẩn gây bệnh

***Tác giả liên hệ**

Hồ Thị Trường Thy
Email:
thy.hothitruong@hcmuaf.edu.vn

TÓM TẮT

Nghiên cứu được thực hiện nhằm xác định khả năng kháng khuẩn của dịch đậm thủy phân từ nhộng ruồi lính đen (*Hermetia illucens*) (ĐTPNRLĐ) lên một số chủng vi khuẩn gây bệnh trên cá nuôi nước ngọt bao gồm *E. ictaluri*, *A. hydrophila*, *A. veronii*, và *S. agalactiae*. Kết quả cho thấy các chủng vi khuẩn trên nhạy cảm với dịch ĐTPBSF với đường kính vòng kháng khuẩn khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê ($P < 0,05$) so với đối chứng âm ở các nồng độ thử nghiệm là 20, 35, và 70 mg/100 μ L. Cụ thể, *E. ictaluri* nhạy cảm ở cả ba nồng độ thử nghiệm với vòng kháng khuẩn lần lượt là $14,0 \pm 1$, $18,7 \pm 0,7$, và $20,7 \pm 0,7$ mm. *A. veronii* và *S. agalactiae* nhạy ở nồng độ 35 và 70 mg/100 μ L, và *A. hydrophila* với vòng kháng khuẩn $14,3 \pm 0,3$ mm ở nồng độ 70 mg/100 μ L. Dịch đậm thủy phân từ nhộng ruồi lính đen có khả năng diệt được *A. veronii* và *S. agalactiae* với giá trị MIC (minimum inhibitory concentration) = MBC (minimum bactericidal concentration) = 44 mg/mL, trong khi đó *E. ictaluri* và *A. hydrophila* bị ức chế ở MIC 44 mg/mL và MBC là 88 mg/mL. Kết quả này chứng tỏ rằng ĐTPNRLĐ có khả năng được sử dụng để phòng và trị bệnh trên cá do các chủng vi khuẩn *E. ictaluri*, *A. hydrophila*, *A. veronii*, và *S. agalactiae* gây ra.

1. Đặt Vấn Đề

Theo MITV (2022), ngành thủy sản hiện nay giữ vai trò quan trọng trong sự phát triển của nền kinh tế Việt Nam với quy mô ngày càng mở rộng. Tuy nhiên, nghề nuôi cá nước ta phải đối mặt với những khó khăn và thách thức khi dịch bệnh bùng phát và gây thiệt hại đáng kể (VA, 2021). Ngoài ra, việc điều trị bằng kháng sinh trong chăn nuôi hiện nay đã bị cấm trên nhiều nước vì những hệ lụy tiêu cực tác động vào môi trường

và sức khỏe người tiêu dùng (WAP, 2022).

Trên thế giới đã có nhiều nghiên cứu về lợi ích từ các loài côn trùng mà nó mang lại, trong đó có loài ruồi lính đen (*Hermetia illucens*) (Craig & ctv., 2002; Cickova & ctv., 2015). Ruồi lính đen có thể sống trong môi trường bất lợi, tiếp xúc với nhiều vi sinh vật khác nhau, vì chúng có khả năng tiêu thụ rác thải hữu cơ (Craig & ctv., 2002; Banks & ctv., 2013). Vì vậy, chúng có một hệ thống miễn dịch bẩm sinh rất phát triển

và có thể tạo ra các peptide có khả năng bảo vệ chống lại vi khuẩn, nấm và vi rút (Choi & ctv., 2018). Trên cơ sở đó, nghiên cứu được thực hiện nhằm khảo sát hoạt tính kháng khuẩn từ đậm thủy phân nhộng ruồi lính đen lên một số loài vi khuẩn gây bệnh trên cá nuôi nước ngọt. Nghiên cứu nhằm đóng góp thông tin khai thác lợi ích từ loài ruồi lính đen, góp phần vào việc phát triển ngành thủy sản theo hướng bền vững hạn chế việc sử dụng thuốc và hoá chất trong chăn nuôi.

2. Vật Liệu và Phương Pháp Nghiên Cứu

2.1. Thu và phân lập mẫu vi khuẩn gây bệnh

Các mẫu vi khuẩn gây bệnh được phân lập trên hai đối tượng cá nuôi nước ngọt phổ biến là cá tra và cá rô phi tại phòng lab bệnh học của công ty Proconco, Cần Thơ và công ty GenoMar, Tây Ninh. Các mẫu vi khuẩn được thu bao gồm các chủng gây bệnh xuất huyết, bệnh gan thận mủ trên cá tra, và bệnh lở loét trên cá rô phi. Cá được ghi nhận dấu hiệu bệnh lý bên ngoài, giải phẫu và phân lập vi khuẩn từ gan, thận, lách và nuôi cấy trên môi trường chọn lọc Rimler short (Himedia) dành cho *Aeromonas* spp. gây bệnh xuất huyết, *Streptococcus selective* agar (Himedia) dành cho liên cầu khuẩn gây bệnh lở loét trên cá rô phi, và EIA-*Edwardseilla ictaluri* agar (Himedia) dành cho vi khuẩn gây bệnh gan thận mủ trên cá tra.

Các chủng vi khuẩn gây bệnh được phân lập trên môi trường chọn lọc ở trên sẽ được nuôi trong môi trường dinh dưỡng TSB (Tryptic Soya Broth, Himedia) có bổ sung 25% glycerol và được trữ -80°C cho các phân tích thí nghiệm.

2.2. Định danh các chủng vi khuẩn gây bệnh

Các chủng vi khuẩn được phục hồi nuôi cấy trên môi trường TSA (Tryptic Soya Agar, Himedia) và thử nghiệm các chỉ tiêu như nhuộm Gram, phản ứng oxidase, catalase, di

động đồng thời được giải trình tự gen 16S rRNA. Các chủng được ly trích DNA bằng bộ Kit chiết tách TopPure extraction Kit (ABT, Việt Nam) sử dụng cột silicate. Gen 16S rRNA được khuếch đại sử dụng bộ mồi 1492R 5'TACGGTTACCTTGTTACGACT-3'; 27F5'-AGAGTTTGTATCCTGGCTC-3'. Chương trình được chạy với chu kỳ nhiệt thực hiện phản ứng là 95°C - 5 phút, 95°C - 1 phút, 53°C - 30 giây, 72°C - 90 giây, 72°C - 5 phút, và giữ ở 10°C. Phản ứng được lặp lại 35 chu kỳ. Các sản phẩm pcr được gửi qua công ty the First Base, Singapore để giải trình tự.

2.3. Chuẩn bị dịch đậm thủy phân từ nhộng ruồi lính đen

Quá trình chuẩn bị đậm thủy phân (ĐTP) được thực hiện theo phương pháp của Nguyen (2021) tại Viện Công Nghệ Sinh Học và Môi Trường, Trường Đại học Nông Lâm TP.HCM. Ấu trùng ruồi lính đen được nuôi tại Viện, sau 15 ngày tuổi được thu hoạch, sấy khô ở 65°C trong 48 giờ và nghiền mịn để làm nguyên liệu thủy phân. Bột nhộng ruồi tiếp tục được đưa vào thủy phân trong 3 giờ bằng enzyme alcalase ở nồng độ 2%, tỷ lệ bột nhộng và nước 1:15, trong điều kiện nhiệt độ 60°C, và pH 6,8 được điều chỉnh bởi acid acetic. Sau khi thủy phân, dung dịch được lọc bỏ cặn và ly tâm 6.000 vòng/giờ, trong 30 phút để thu lấy dịch peptide ở tầng giữa. Đạm thủy phân được bảo quản ở nhiệt độ cấp đông -20°C để sử dụng cho thí nghiệm.

2.4. Thử nghiệm tính kháng khuẩn bằng phương pháp giếng khuếch tán

Trải đều 100 µL dịch vi khuẩn ở mật độ 10^7 cfu/mL vào đĩa môi trường TSA. Tiếp tục đục lỗ có đường kính 8 mm trên bề mặt thạch. Dịch peptide nhộng ruồi được cô đặc khô trong lò sấy ở nhiệt độ 65°C trong 48 giờ, sau đó pha loãng cùng với dung dịch acid acetic 7,6 mg/mL để có nồng độ thử nghiệm 20, 35, và 70 mg/100 µL.

Tiếp tục nhỏ 100 μ L dịch peptide vào các giếng trên và ủ ở nhiệt độ 30°C, sau 24 giờ kiểm tra kích thước đường kính vòng vô khuẩn và so sánh khả năng kháng khuẩn với đối chứng. Mỗi chủng vi khuẩn thử nghiệm sẽ lặp lại 3 lần. Đối chứng dương sử dụng tetracycline 0,03 mg/100 μ L, và đối chứng âm sẽ sử dụng dung dịch acid acetic 0,76 mg/100 μ L tương đương trong môi trường thủy phân (Elhag & ctv., 2017).

2.5. Thử nghiệm tính kháng khuẩn bằng phương pháp pha loãng xác định MIC (minimal inhibitory concentration) và MBC (minimal bactericidal concentration)

Thí nghiệm được thực hiện trên đĩa nhựa 96 giếng gồm 10 nồng độ loãng dần theo tỷ lệ 1:1 cùng với dung dịch TSB (Tryptic Soya Broth) từ nồng độ peptide ban đầu 352 mg/mL, và được lặp lại 3 lần. Tiếp tục cho 10 μ L dịch vi khuẩn tương ứng với McFaland 0,5 vào dãy dung dịch trên có thể tích 100 μ L. Giếng đối chứng âm gồm dung dịch TSB và 10 μ L acid acetic 7,6 mg/mL, đối chứng dương chỉ có vi khuẩn và TSB. Sau 24 giờ ủ ở 30°C, giá trị MIC được xác định ở nồng độ thấp nhất tại giếng có sự ức chế khả năng phát triển của vi khuẩn, được biểu hiện ở độ trong của dung dịch và không có tế bào vi khuẩn lắng dưới đáy giếng. Tiếp tục dùng que cấy vòng lấy ít dịch môi trường từ dãy nồng độ ức chế vi khuẩn và cấy rìa trên thạch TSA để tìm nồng độ MBC

mà tại đó không thấy sự xuất hiện khuẩn lạc trên môi trường thạch dinh dưỡng.

2.5. Phân tích thống kê

Dữ liệu thử nghiệm hoạt tính kháng khuẩn *in vitro* được kiểm tra bằng phần mềm SPSS. Phân tích phương sai ANOVA với 95% mức độ tin cậy hoặc $\alpha = 0,05$. Sự khác biệt về kết quả giữa các nồng độ được phân tích bằng trắc nghiệm Duncan.

3. Kết Quả và Thảo Luận

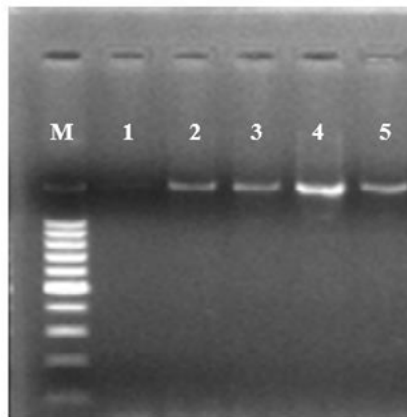
3.1. Phân lập và định danh một số chủng vi khuẩn gây bệnh trên cá nuôi nước ngọt

Các mẫu vi khuẩn phân lập được trên cá tra bao gồm 1 chủng gây bệnh gan thận mủ và 2 chủng gây bệnh xuất huyết mọc trên môi trường chọn lọc lần lượt là môi trường EIA và RSA. Mẫu vi khuẩn mọc trên EIA có màu khuẩn lạc xanh lơ, đậm dần ở tâm, mọc sau 48 giờ nuôi cấy ở nhiệt độ 28°C (Hình 1a), đối với khuẩn lạc thuộc *Aeromonas* spp. gây bệnh xuất huyết có màu vàng nhạt, tròn nhẵn, đường kính 1,5 - 2 mm mọc trên môi trường RSA (Hình 1b) sau 24 giờ nuôi cấy ở nhiệt độ 30°C. Chủng liên cầu khuẩn được phân lập trên mẫu cá rô phi có khuẩn lạc màu xanh dương trên Streptococcus selection Agar, tròn, nhẵn, đường kính 0,5 mm (Hình 1c).



Hình 1. Khuẩn lạc trên môi trường chọn lọc *Edwarseilla* spp. (a), *Aeromonas* spp. (b), *Streptococcus* spp. (c).

Các chủng trên tiếp tục được khuếch đại gen 16S rRNA có kích thước 1500 bp trên gel chạy điện di (Hình 2).



Hình 2. Kết quả điện di gen 16S rRNA. Giếng M: Thang ADN 1 kb, giếng 1: đối chứng (-) giếng 2: mẫu gây bệnh gan thận mủ; giếng 3: mẫu gây bệnh lở mắt trên cá rô phi; giếng 4, 5: mẫu gây bệnh xuất huyết trên cá tra.

Kết quả giải trình tự được thể hiện trên Gene Bank Database bao gồm lần lượt 4 chủng vi khuẩn như sau: *Edwardseilla ictaluri* ATCC 33202 (ID 98,3%), *Streptococcus agalactiae* ATCC 13813 (ID 100%), *Aeromonas hydrophila* DSM 30187 (ID 98,4%), *Aeromonas veronii* ATCC 35624 (ID 98%). Các chủng vi khuẩn này đều được các nghiên cứu trước đó gồm những chủng vi khuẩn có khả năng gây bệnh trên cá nuôi nước ngọt. Cụ thể, loài *E. ictaluri* gây bệnh gan thận mủ trên cá tra (*Pangasianodon hypophthalmus*) (Crumlish & ctv., 2002). Ngoài ra trên thế giới cũng đã có một số nghiên cứu phát hiện loài này cũng gây bệnh trên cá rô phi (*Oreochromis niloticus*) (Soto & ctv., 2012). Chủng *A. hydrophila* và *A. veronii* là loài vi khuẩn cơ hội, gây bệnh xuất huyết trên nhiều loài cá nước ngọt tại các vùng khí hậu khác nhau và xuất hiện quanh năm (Inglis & ctv., 1993). Tại Việt Nam, theo một nghiên cứu của Trương & ctv. (2019), *A. veronii* là vi khuẩn gây chết với tỷ lệ tử vong cao trên cá nheo Mỹ (*Ictalurus punctatus*) nuôi tại một số tỉnh miền Bắc Việt Nam. Một báo cáo gần đây nhất của

Rakib & ctv. (2021) cho rằng, *A. veronii* xuất hiện trên mẫu cá rô đồng (*Anabas testudineus*) bị hội chứng lở loét (Epizootic Ulcerative Syndrome). Đối với *S. agalactiae*, vi khuẩn gây bệnh nghiêm trọng có thể lây nhiễm sang người và nhiều loại động vật khác nhau (Suanyuk & ctv., 2008; Wang & ctv., 2015). Tại Việt Nam, vi khuẩn *S. agalactiae* gây bệnh trên cá rô phi có tần suất xuất hiện từ 95 - 100% khi có nhiệt độ cao với tỷ lệ gây chết 42 - 100% đàn cá nuôi tại Việt Nam (Pham & ctv., 2013). Như vậy với kết quả này, bốn chủng vi khuẩn trên thích hợp để sử dụng cho thử nghiệm *in vitro* hoạt tính kháng khuẩn của ĐTP nhộng ruồi lính đen.

3.2. Hoạt tính kháng khuẩn của ĐTP lên vi khuẩn gây bệnh bằng phương pháp giếng khuếch tán

Kết quả *in vitro* thí nghiệm giếng khuếch tán (Bảng 1) cho thấy đường kính vòng kháng khuẩn tại nồng độ 70 mg/100 μ L ức chế toàn bộ 4 chủng vi khuẩn thử nghiệm bao gồm *E. ictaluri*, *A. hydrophila*, *A. veronii*, *S. agalactiae*. Sự khác

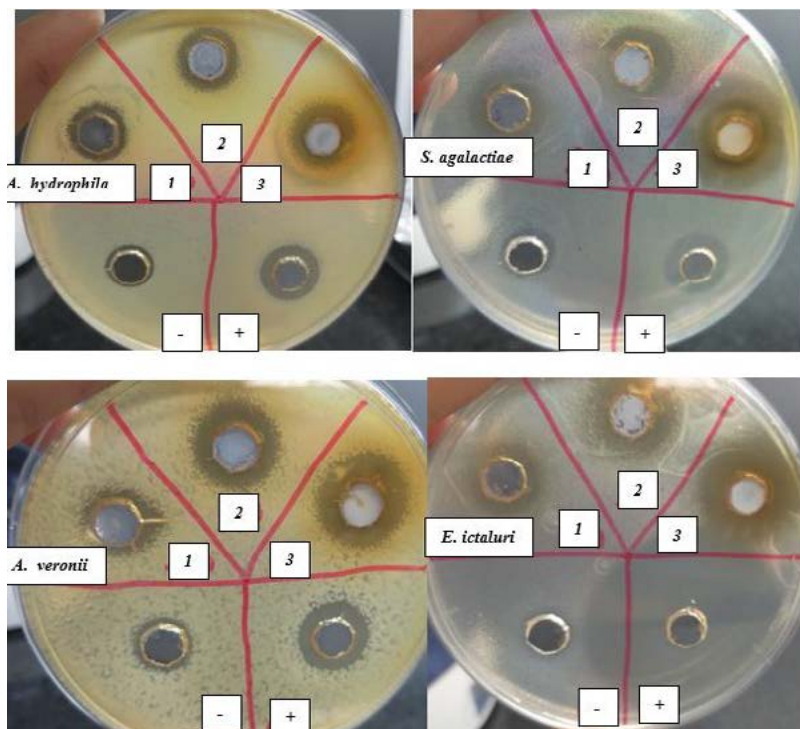
biệt này có ý nghĩa về mặt thống kê so với đối chứng âm. Ngược lại, ở nồng độ thử nghiệm 20 mg/100 μ L không ức chế 3 chủng bao gồm *A. hydrophila*, *A. veronii* và *S. agalactiae*, nhưng ức chế được chủng *E. ictaluri* với vòng kháng khuẩn 14 $\pm$ 1,0 mm, lớn khác biệt so với đối

chứng âm. Tương tự, ở nồng độ 35 mg/100 μ L thể hiện sự ức chế 3 chủng vi khuẩn *E. ictaluri*, *A. veronii*, *S. agalactiae* với vòng kháng khuẩn lần lượt là 18,7 $\pm$ 0,7, 16,3 $\pm$ 0,9, 15 $\pm$ 0,6 mm nhưng lại không ức chế được vi khuẩn *A. hydrophila* (Hình 3).

Bảng 1. Kết quả đường kính kháng khuẩn của đậm thủy phân (ĐTP) nhộng ruồi lên sự phát triển của vi khuẩn *E. ictaluri*, *A. hydrophila*, *A. veronii*, *S. agalactiae* bằng phương pháp giếng khuếch tán

Nồng độ dung dịch thử nghiệm (mg/100 μ L)	Đường kính vòng kháng khuẩn (mm)			
	<i>E. ictaluri</i>	<i>A. hydrophila</i>	<i>A. veronii</i>	<i>S. agalactiae</i>
ĐTP 20	14,0 $\pm$ 1,0 ^b	11,0 $\pm$ 0,6 ^a	13,3 $\pm$ 0,3 ^a	13,0 $\pm$ 1,5 ^{ab}
ĐTP 35	18,7 $\pm$ 0,7 ^c	12,3 $\pm$ 0,3 ^a	16,3 $\pm$ 0,9 ^b	15,0 $\pm$ 0,6 ^b
ĐTP 70	20,7 $\pm$ 0,7 ^c	14,3 $\pm$ 0,3 ^b	19,7 $\pm$ 0,9 ^c	18,3 $\pm$ 0,9 ^c
Tetracycline 0,03	45,0 $\pm$ 0 ^d	15,7 $\pm$ 0,3 ^b	15,7 $\pm$ 0,7 ^b	15,3 $\pm$ 0,3 ^b
Acid acetic 0,76	11,3 $\pm$ 0,6 ^a	11,3 $\pm$ 0,6 ^a	11,3 $\pm$ 0,6 ^a	11,3 $\pm$ 0,6 ^a

Các số liệu đi kèm các chữ (a, b, c, d) trong cùng một cột thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê dựa trên trắc nghiệm Duncan.



Hình 3. Kết quả kháng khuẩn của đậm thủy phân (ĐTP) nhộng ruồi lên các chủng vi khuẩn khác nhau. (1) ĐTP 20 mg/100 μ L; (2) ĐTP 35 mg/100 μ L; (3) ĐTP 70 mg/100 μ L; (-) ĐC âm acid acetic 0,76 mg/100 μ L; (+) ĐC dương Tetracycline 0,03 mg/100 μ L.

Một số nghiên cứu trước đây cho thấy các chiết xuất từ nhộng ruồi lính đen ức chế một số chủng vi khuẩn gây bệnh trên thú và người. Cụ thể, dịch ức chế vi khuẩn *E. coli* và *Salmonella* spp. ở nồng độ 32 mg/100 μ L trên đĩa khuếch tán với vòng kháng khuẩn lần lượt $6,00 \pm 1,0$ và $6,33 \pm 2,08$ mm (Harlystiarini & ctv., 2016). Peptide HP/F9 trong huyết thanh của nhộng ruồi có thể kháng lại vi khuẩn *Klebsiella pneumonia* gây viêm hô hấp trên người ở nồng độ 12 μ g/50 μ L (Dong & ctv., 2020). Ngoài ra, theo nghiên cứu của Elhag & ctv. (2016), có 7 đoạn gen mã hoá cho 3 loại peptide kháng khuẩn trong nhộng ruồi lính đen, một trong những đoạn gen trên là stomoxynZH1 được mã hoá cho protein thioredoxin được chuyển vào vi khuẩn *E. coli* để tổng hợp cho kết quả kháng vi khuẩn gram dương *Staphylococcus aureus*, và gram âm *E. coli*, kể cả nấm *Rhizoctonia solani* và *Sclerotinia sclerotiorum* gây bệnh trên cây lúa. Trên thủy sản, Yongkang & ctv. (2021) đã thử nghiệm bột nhộng ruồi trộn vào thức ăn tôm thẻ chân trắng (*Litopenaeus vannamei*) với tỷ lệ 10, 20 và 30% giúp tăng cường sức khỏe tôm kháng bệnh do *V. parahaemolyticus*. Những nghiên cứu trước

đây cho thấy côn trùng có hệ thống miễn dịch bẩm sinh phát triển tốt, và Park & ctv. (2015) gần đây đã xác định được AMP (antimicropeptide) mới gồm 40 axit amin và đặt tên nó là defensin-like peptide4, AMP này được tạo ra từ miễn dịch dịch thể của ấu trùng nhộng ruồi lính đen.

Như vậy, kết quả nghiên cứu này cho thấy ĐTP nhộng ruồi lính đen cũng có khả năng kháng lại các chủng vi khuẩn gây bệnh động vật thủy sản.

3.3. Nồng độ ức chế tối thiểu MIC và diệt khuẩn tối thiểu MBC

Kết quả thử nghiệm xác định MIC thực hiện trên bảng nhựa 96 giếng cho thấy MIC của ĐTP nhộng ruồi có giá trị 44 mg/mL ức chế cả 4 chủng vi khuẩn thử nghiệm *E. ictaluri*, *A. hydrophila*, *A. verroni*, *S. agalactiae* (Bảng 2, Hình 4). Tiếp tục cấy rìa lên thạch TSA, kết quả không thấy sự xuất hiện của khuẩn lạc tương ứng giá trị MBC là 88 mg/mL với 2 chủng *E. ictaluri* và *A. hydrophila*, và 44 mg/mL cho 2 chủng còn lại là *A. veronii* và *S. agalactiae* (Hình 5).

Bảng 2. Kết quả MIC (minimum inhibitory concentration) và MBC (minimum bactericidal concentration) của đậm thủy phân nhộng ruồi đối với bốn chủng vi khuẩn *E. ictaluri*, *A. hydrophila*, *A. verroni*, *S. agalactiae*

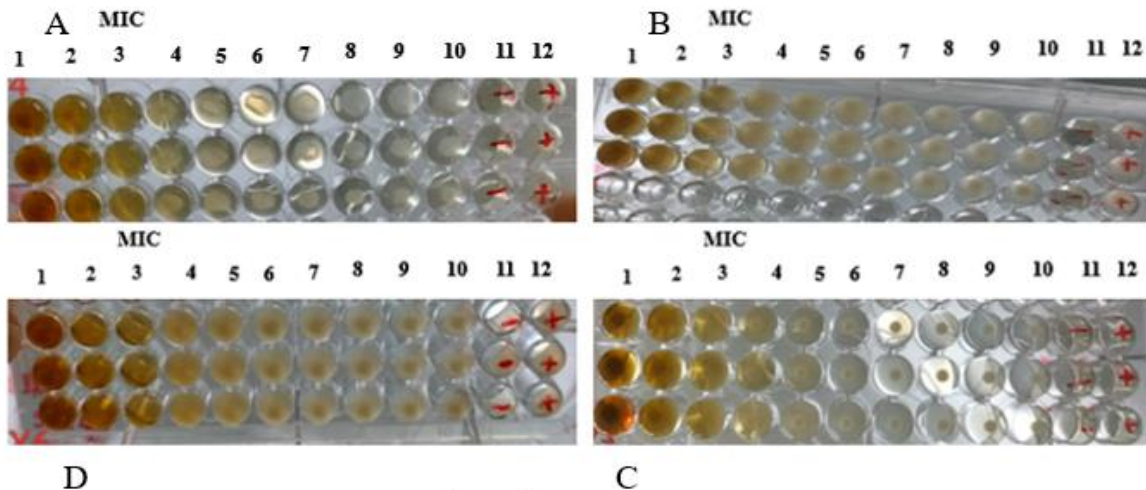
Vi khuẩn	MIC (mg/mL)	MBC (mg/mL)	MBC/MIC
<i>E. ictaluri</i>	44	88	2
<i>A. hydrophila</i>	44	88	2
<i>A. veronii</i>	44	44	1
<i>S. agalactiae</i>	44	44	1

Theo báo cáo của Canillac & Mourey (2001), nếu tỉ lệ MBC/MIC nhỏ hơn hoặc bằng 4, chiết xuất được xem là có khả năng diệt khuẩn; mặt khác, nếu tỉ lệ này lớn hơn 4, thì có tác dụng kìm khuẩn. Từ kết quả nghiên cứu trên, ĐTP nhộng

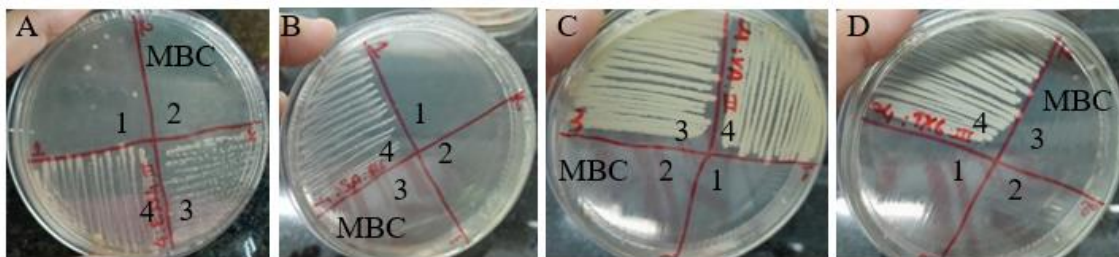
ruồi có khả năng diệt được một số vi khuẩn gây bệnh trên cá bao gồm *E. ictaluri*, *A. hydrophila*, *A. verroni*, và *S. agalactiae* (MBC/MIC < 4). Theo kết quả nghiên cứu của Elhag & ctv. (2021), chiết xuất peptide có tên là thioredoxin được mã hoá

bởi gen stomoxynZH1 có trong nhộng ruồi lính đen có thể ức chế *E. coli* ở nồng độ MIC 15 µg/mL, *S. aureus* tại MIC 27 µg/mL và *R. solani* tại MIC > 98 µg/mL. Muhammad & ctv. (2023) cho

rằng, loại enzyme và điều kiện thủy phân cũng ảnh hưởng đến khả năng chống oxy hoá và kháng khuẩn của các thành phần peptide trong ĐTP nhộng ruồi lính đen.



Hình 4. Giá trị MIC (minimum inhibitory concentration) 44 mg/mL ở giếng số 3. A: *E. ictaluri*; B: *S. agalactiae*; C: *A. hydrophila*; D: *A. veronii*.



Hình 5. Giá trị MBC (minimum bactericidal concentration) khi cấy vi khuẩn lên thạch MHA (Mueller Hinton agar) từ các giếng thử nghiệm MIC (minimum inhibitory concentration). A: *E. ictaluri*; B: *S. agalactiae*; C: *A. hydrophila*; D: *A. veronii*.

Các loại peptide kháng khuẩn đã được phân tích từ các nghiên cứu trước, hiện diện trong dịch ĐTP nhộng ruồi bao gồm defencin (Park & ctv., 2015), ceropin (Park & ctv., 2017), attacin (Shin & ctv., 2019), sarcotoxin và stomoxyn (Elhag & ctv., 2021). Các peptide này phá hủy lớp vỏ tế bào vi sinh vật bằng cách hình thành các kênh ion

hoặc lỗ xuyên màng làm tràn dịch tế bào ra bên ngoài, từ đó giết chết các tế bào (Epand & ctv., 1999). Ngoài việc gây tổn thương màng tế bào, một số peptide này có thể tự động đi qua màng, tương tác với các phân tử nội bào và do đó phá vỡ quá trình trao đổi chất trong tế bào (Nicolas & ctv., 2009).

4. Kết Luận

Dịch ĐTP nhộng ruồi lính đen có khả năng ức chế tốt trên cả bốn chủng vi khuẩn gây bệnh được phân lập trên cá, cụ thể là chủng *E. ictaluri*, *A. hydrophila* và *A. veronii* trên cá tra, và *S. agalactiae* trên cá rô phi. Do đó, thông qua kết quả đạt được, ĐTP nhộng ruồi lính đen có thể được sử dụng để thử nghiệm ở giai đoạn *in vivo* và có tiềm năng trở thành chất kháng khuẩn thay thế kháng sinh trong tương lai.

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

Chân thành cảm ơn Trường Đại học Nông Lâm TP.HCM đã hỗ trợ kinh phí để tài mã số CS-SV23-TS-02.

Tài Liệu Tham Khảo (References)

- Abduh, M. Y., Prawitasari, D. A., Fitriani, U. A., & Firmansyah, M. (2023). Effects of enzymatic hydrolysis on the antioxidant activity of protein hydrolysate derived from the larvae of black soldier fly (*Hermetia illucens*). *Journal of Applied Biology and Biotechnology* 11(2), 151-157. <https://doi.org/10.7324/JABB.2023.110215>.
- Banks, I. J., Gibson, W. T., & Cameron, M. M. (2014). Growth rates of black soldier fly larvae fed on fresh human faeces and their implication for improving sanitation. *Tropical Medicine International Health* 19(1), 14-22. <https://doi.org/10.1111/tmi.12228>.
- Canillac, N., & Mourey, A. (2001). Antibacterial activity of the essential oil of picea excelsa on listeria, *Staphylococcus aureus* and coliform bacteria. *Food Microbiology* 18(3), 261-268. <https://doi.org/10.1006/fmic.2000.0397>.
- Chen, Y., Chi, S., Zhang, S., Dong, X., Yang, Q., Liu, H., & Xie, S. (2021). Evaluation of the dietary black soldier fly larvae meal (*Hermetia illucens*) on growth performance, intestinal health, and disease resistance to *Vibrio parahaemolyticus* of the Pacific White Shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Frontiers in Marine Science* 8, 706463. <https://doi.org/10.3389/fmars.2021.706463>.
- Choi, W. H., Choi, H. J., Goo, T. W., & Quan, F. S. (2018). Novel antibacterial peptides induced by probiotics in *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae) larvae. *Entomological Research* 48(4), 237-247. <https://doi.org/10.1111/1748-5967.12259>.
- Čičková, H., Newton, G. L., Lacy, R. C., & Kozánek, M. (2015). The use of fly larvae for organic waste treatment. *Waste Management* 35, 68-80. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2014.09.026>.
- Crumlish, M., Dung, T. T., Turnbull, J. F., Ngoc, N. T. N., & Ferguson, H. W. (2002). Identification of *Edwardsiella ictaluri* from diseased freshwater catfish, *Pangasius hypophthalmus* (Sauvage), cultured in the Mekong Delta, Vietnam. *Journal of Fish Diseases* 25(12), 733-736. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2761.2002.00412.x>.
- Ehsan, R., Rahman, A., Paul, S. I., Ador, M. A. A., Haque, M. S., Akter, T., & Rahman, M. M. (2023). *Aeromonas veronii* isolated from climbing perch (*Anabas testudineus*) suffering from epizootic ulcerative syndrome (EUS). *Aquaculture and Fisheries* 8(3), 288-295. <https://doi.org/10.1016/j.aaf.2021.11.005>.
- Elhag, O., Zhou, D., Song, Q., Soomro, A. A., Cai, M., Zheng, L., & Zhang, J. (2017). Screening, expression, purification and functional characterization of novel antimicrobial peptide genes from *Hermetia illucens* (L.). *PloS One* 12(1), e0169582. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0169582>.

- Epand, R. M., & Vogel, H. J. (1999). Diversity of antimicrobial peptides and their mechanisms of action. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes* 1462(1-2), 11-28. [https://doi.org/10.1016/S0005-2736\(99\)00198-4](https://doi.org/10.1016/S0005-2736(99)00198-4).
- Harlystiarini, H., Mutia, R., Wibawan, I. W. T., & Astuti, D. A. (2019). *In vitro* antibacterial activity of black soldier fly (*Hermetia illucens*) larva extracts against gram-negative bacteria. *Buletin Peternakan* 43(2), 125-129. <https://doi.org/10.21059/buletinpeternak.v43i2.42833>.
- Inglis, V., Roberts, R. J., & Bromage, N. R. (1993). *Bacterial diseases of fish*. New York, USA: Halsted Press.
- Lee, D. H., Chu, K. B., Kang, H. J., Lee, S. H., & Quan, F. S. (2020). Peptides in the hemolymph of *Hermetia illucens* larvae completely inhibit the growth of *Klebsiella pneumonia* *in vitro* and *in vivo*. *Journal of Asia-Pacific Entomology* 23(1), 36-43. <https://doi.org/10.1016/j.aspen.2019.10.004>.
- MITV (Ministry of Industry and Trade of Vietnam). (2022). Developing Vietnam's seafood industry to adapt to the new situation. Retrieved May 20, 2023, from <https://moit.gov.vn/tin-tuc/thi-truong-trong-nuoc/phat-trien-nganh-thuy-san-viet-nam-thich-ung-voi-tinh-hinh-moi.html>.

**The effect of water hardness on the development of embryo and larvae
of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*)**

Ly H. Tien*, & Kieu T. Nguyen

Agriculture Department, Bac Lieu University, Bac Lieu City, Vietnam

ARTICLE INFO

Research Paper

Received: August 31, 2023

Revised: December 22, 2023

Accepted: December 29, 2023

Keywords

Hatchability rate

Silver carp

Survival rate

Water hardness

***Corresponding author**

Tien Hai Ly

Email: thly@blu.edu.vn

ABSTRACT

This study aimed to investigate the effect of water hardness on the fertilization rate, hatching rate, survival rate, and deformity rate of common carp larvae. In the experiment, fertilized eggs of silver carp were incubated in different water hardness levels of 70, 100, 130, 160, & 190 mg CaCO₃/L, with a stocking density of 400 eggs/L. The experimental results showed that the fertilization rate was high (78.0 - 79.3%) and did not show significant differences between the treatments ($P > 0.05$). The hatching rate ranged from 41.0 to 54.0% and larvae stage had the highest survival rate of 54.0% at 70 mg CaCO₃/L. The deformity rate of larvae ranged from 5.7 to 74.3% with the lowest observed at the 70 mg CaCO₃/L. From the results of the study, it can be assumed that silver carp eggs should be incubated in an aquatic environment with a water hardness of 70 mg CaCO₃/L.

Cited as: Tien, L. H., & Nguyen, K. T. (2024). The effect of water hardness on the development of embryo and larvae of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*). *The Journal of Agriculture and Development* 23(2), 49-56.

Ảnh hưởng của độ cứng lên sự phát triển phôi và ấu trùng của cá mè trắng (*Hypophthalmichthys molitrix*)

Tiến Hải Lý* & Nguyễn Thị Kiều

Khoa Nông Nghiệp, Trường Đại Học Bạc Liêu, Thành Phố Bạc Liêu

THÔNG TIN BÀI BÁO

Bài báo khoa học

Ngày nhận: 31/08/2023

Ngày chỉnh sửa: 22/12/2023

Ngày chấp nhận: 29/12/2023

Từ khóa

Cá mè trắng

Độ cứng nước

Tỷ lệ nở

Tỷ lệ sống

*Tác giả liên hệ

Tiến Hải Lý

Email: thly@blu.edu.vn

TÓM TẮT

Nghiên cứu này được thực hiện nhằm xác định ảnh hưởng độ cứng của nước lên tỷ lệ thụ tinh, tỷ lệ nở, tỷ lệ sống và tỷ lệ dị hình của ấu trùng cá mè trắng. Thí nghiệm ấp trứng cá mè trắng từ trứng thụ tinh đến ấu trùng tiêu hết noãn hoàng được thực hiện với các nghiệm thức có độ cứng của nước khác nhau, gồm: 70, 100, 130, 160 & 190 mg CaCO_3/L với mật số ấp là 400 trứng/L. Kết quả thí nghiệm cho thấy trứng có tỷ lệ thụ tinh cao và tương đương nhau giữa các nghiệm thức (78,0 - 79,3%); Tỷ lệ nở của trứng cá nằm trong khoảng 41,0 - 54,0%, cao nhất ở nghiệm thức 70 mg CaCO_3/L (54,0%); Ở giai đoạn cá tiêu hết noãn hoàng thì tỷ lệ sống đạt kết quả tốt hơn khi ấp ở 70 mg/L so với các nghiệm thức còn lại ($P < 0,05$). Tỷ lệ dị hình của ấu trùng cá mè trắng cao từ 5,7 - 74,3%, thấp nhất ở nghiệm thức 70 mg CaCO_3/L (5,7%). Từ kết quả nghiên cứu này có thể cho rằng trứng cá mè trắng ấp phù hợp ở trong môi trường nước có độ cứng 70 mg CaCO_3/L .

1. Đặt Vấn Đề

Nhiều quốc gia trên thế giới, trong đó có Việt Nam xem cá là nguồn thực phẩm không thể thiếu trong bữa ăn hàng ngày của con người và là nguồn nguyên liệu cần thiết cho một số ngành công nghiệp chế biến thủy sản và một số sản phẩm từ cá được chiết xuất ra insulin, vitamin, ... phục vụ cho phát triển y học. Cá có nguồn gốc từ các hồ và sông lớn ở Trung Quốc, miền Bắc Việt Nam (Xie & Chen, 2001; Froese & Pauly, 2004; FAO, 2019). Theo Kottelat & Freyhof (2007), cá mè trắng là loài cá nước ngọt ăn lọc thực vật phù du, tăng trưởng nhanh. Ở đồng bằng sông Cửu Long, cá mè trắng được người dân nuôi ghép trong các mô hình lúa - cá, vườn - ao - chuồng

(Nguyen, 2004). Gonzal & ctv. (1987) nghiên cứu ấp trứng cá mè trắng trong 19 giờ, ở 26,5°C với các mức độ cứng của nước là 100, 200, 300, 400, 500 & 600 mg CaCO_3/L thì cho rằng độ cứng của nước nên ở mức 300 - 500 mg CaCO_3/L để ấp trứng cá trắng thành công. Rach & ctv. (2010) nghiên cứu ở nước Mỹ, khi ấp trứng cá mè trắng thụ tinh trong năm mức độ cứng của nước (50, 100, 150, 200 & 250 mg CaCO_3/L) và hệ thống ấp nước chảy tuần hoàn cho rằng, tỷ lệ nở của trứng mè trắng bị hưởng bởi độ cứng của nước với tỷ lệ nở giao động từ 13,6 - 38,8% (cao nhất ở độ cứng của nước 50 mg CaCO_3/L và thấp nhất 250 mg CaCO_3/L). Ở Việt Nam chưa phát hiện các nghiên cứu về ảnh hưởng của độ cứng của nước đến sự phát triển phôi và ấu trùng của cá

mè trắng. Vì thế nghiên cứu này được tiến hành nhằm xác định độ cứng của nước để ấp trứng cá mè trắng tối ưu.

2. Phương Pháp Nghiên Cứu

2.1. Thời gian và địa điểm và đối tượng nghiên cứu

Nghiên cứu trên trứng cá và ấu trùng cá mè trắng đến giai đoạn tiêu hết noãn hoàng được thực hiện vào tháng 4 năm 2017, tại trại thực nghiệm, Khoa Nông nghiệp, Trường Đại học Bạc Liêu.

2.2. Vật liệu nghiên cứu và hệ thống thí nghiệm

Cá bố mẹ dùng kích thích sinh sản để thu trứng bố trí thí nghiệm được mua từ Trung tâm giống Nông nghiệp, quận Ô Môn, thành phố Cần Thơ. Chọn 10 cặp bố mẹ có khối lượng từ 1 - 1,2 kg/con với tỷ lệ cá đực cái là 1/1, cá hoạt động nhanh nhẹn, không sây xát, không dị hình, kích thước tương đối đồng đều. Kích thích sinh sản bằng HCG và sử dụng phương pháp tiêm 2 lần với tổng liều là 4.000 UI/kg cá cái và 2.000 UI/kg cá đực. Tất cả cá bố mẹ được tiêm vào xoang ngực.

Phương pháp tiêm HCG như sau: (i) tiêm liều sơ bộ 1.000 UI/kg cá cái, (ii) Sau 5 - 6 giờ tiêm liều quyết định với liều lượng sử dụng là 3.000 UI/kg cá cái, (iii) Cá đực được tiêm một liều duy nhất, liều lượng tiêm bằng 1/2 tổng liều cá cái và tiêm cùng thời điểm tiêm liều quyết định trên cá cái.

Nước dùng trong thí nghiệm ấp trứng được pha từ nguồn nước sông Hậu lấy tại trạm bơm quận Ô Môn, thành phố Cần Thơ và nước tại thành phố Bạc Liêu (Bảng 1). Áp dụng công thức pha loãng 2 nguồn nước với nhau theo công thức $V_1 \times C_2 = V_2 \times C_1$ để có nước thí nghiệm có độ cứng của nước là 70, 100, 130, 160 & 190 mg/L (tính theo CaCO_3). Nước dùng trong thí nghiệm được xử lý 3 mg/L thuốc tím (KMnO_4), sau 36 giờ hút loại bỏ kết tủa trong nước và tiếp tục xử lý bằng chlorin với nồng độ 50 mg/L, nước tiếp tục được sục khí liên tục 48 giờ để hết chlorine. Trước khi cấp nước vào bể ương kiểm tra nước nhiệt độ, pH, DO bằng máy đo hiệu HANNA và độ cứng của nước được kiểm tra bằng phương pháp chuẩn độ theo TCVN 6224:1996. Nước được đưa vào từng nghiệm thức qua túi siêu lọc (0,5 μM).

Bảng 1. Các chỉ tiêu nguồn nước dùng trong thí nghiệm

Các yếu tố môi trường	Nước tại Thành phố Bạc Liêu	Nước tại Huyện Ô Môn - TP. Cần Thơ	Ghi chú
pH	8,0	7,8	(Nguồn: Phân tích tại khoa thủy sản Đại học Cần Thơ)
Độ cứng (mg/L tính theo CaCO_3)	195,9	65,0	
Độ kiềm (mg/L tính theo CaCO_3)	214,8	89,5	
N- NO_2 (mg/L)	0,041	0,084	
Sắt tổng (mg/L)	0,007	0,005	
$\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$ - N (mg/L)	0,13	0,007	

Hệ thống bể ấp và nuôi dưỡng ấu trùng cá đến khi tiêu hết noãn hoàng được thiết kế theo qui trình nước chảy tuần hoàn. Mỗi nghiệm thức gồm có 5 thùng 20 L, trong đó có 3 chứa 18 L nước có gắn 1 phễu có lưới bọc phía trên mặt, phễu được thiết kế gắn ở trung tâm bình chứa nước dùng để giữ trứng trôi nổi liên tục trong nước nhờ lực đẩy của nước cấp từ bên dưới lên và hệ thống ô xy thổi liên tục trong phễu, 1 thùng dùng để lắng nước, chứa các hạt nhựa giá thể và 1 chứa nước sẵn sàng cấp trở lại cho các thùng ấp trứng cá. Nước trong hệ thống nghiệm thí được thiết kế chảy tuần hoàn nhờ hoạt động của bơm chìm từ thùng nước lắng chuyển lên chứa nước có độ cao 2 m. Nước tự động chảy xuống các bể ấp trứng theo nguyên tắc bình thông nhau.

2.3. Bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm ấp trứng cá mè trắng được thực hiện với 5 nghiệm thức (NT) có độ cứng của nước khác nhau, gồm: NT1 = 70, NT2 = 100, NT3 = 130, NT4 = 160 & NT5 = 190 mg/L (tính theo CaCO_3) với mỗi nghiệm thức được bố trí lặp lại 3 lần. Trứng cá sau khi thụ tinh nhân tạo và thì tiến hành bố trí ấp với mật số là 400 trứng/L. Trứng được ấp trong hệ thống tuần hoàn và nước được thay 100% thể tích trong 24 giờ.

Xác định các chỉ tiêu sinh sản:

- Xác định tỷ lệ thụ tinh: Quan sát khi phôi phát triển đến giai đoạn phôi vị. Lấy 150 mẫu trứng để lấy quan sát trên dưới kính hiển vi quang học ở vật kính 10X để xác định trứng đã thụ tinh.

- Xác định tỷ lệ nở: Thu mẫu phôi thụ tinh theo dõi đến khi nở hoàn toàn, xác định tỷ lệ nở.

- Xác định tỷ lệ sống của cá bột khi hết noãn hoàng: Thu mẫu toàn bộ cá sống trong các nghiệm thức để xác định tỷ lệ sống của cá.

- Xác định tỷ lệ cá bột bị dị hình: Quan sát 50 cá bột trên kính lúp quang học 10X để xác định

tỷ lệ cá bột bị dị hình. Cá dị hình thường có biểu hiện hình thái bên ngoài bất thường như cong thân, dị dạng cong cuống đuôi và vây.

Công thức tính các chỉ tiêu cụ thể như sau:

- Tỷ lệ thụ tinh (%) = $(\text{Số trứng thụ tinh} / \text{tổng số trứng quan sát}) \times 100$

- Tỷ lệ nở (%) = $(\text{Số cá nở} / \text{số trứng thụ tinh}) \times 100$

- Tỷ lệ sống (%) = $(\text{Số cá bột thu được} / \text{cá nở}) \times 100$

- Tỷ lệ dị hình (%) = $(\text{Số cá dị hình} / \text{Số cá bột quan sát}) \times 100$

2.4. Phân tích số liệu

Các số liệu tỷ lệ phần trăm được chuyển sang arcsin để tính toán các giá trị trung bình, độ lệch chuẩn bằng phần mềm Excel và phân tích thống kê (One-way ANOVA với phép thử DUNCAN) nhằm tìm ra sự khác biệt giữa các nghiệm thức bằng phần mềm SPSS phiên bản 13.0 ở mức ý nghĩa $\alpha = 5\%$.

3. Kết Quả và Thảo Luận

3.1. Môi trường ấp trứng cá

Các yếu tố môi trường trong thời gian ấp trứng cá được thể hiện qua Bảng 2.

Bảng 2. Các yếu tố môi trường trong ấp trứng cá

Thí nghiệm	Nhiệt độ (°C)		pH		DO (ppm)	
	Sáng	Chiều	Sáng	Chiều	Sáng	Chiều
NT1 (70 mg/L)	26,0 ± 0,06	28,0 ± 0,01	7,5 ± 0,02	7,9 ± 0,05	5,0 ± 0,02	5,2 ± 0,01
NT2 (100 mg/L)	27,0 ± 0,03	28,5 ± 0,03	7,0 ± 0,02	8,0 ± 0,02	5,0 ± 0,01	5,4 ± 0,02
NT3 (130 mg/L)	26,5 ± 0,05	28,0 ± 0,03	7,4 ± 0,03	8,0 ± 0,01	5,0 ± 0,01	5,4 ± 0,04
NT4 (160 mg/L)	27,5 ± 0,01	28,5 ± 0,02	8,0 ± 0,05	8,5 ± 0,03	5,2 ± 0,03	5,5 ± 0,05
NT5 (190 mg/L)	26,0 ± 0,01	28,5 ± 0,05	8,0 ± 0,02	8,5 ± 0,05	5,0 ± 0,03	5,5 ± 0,01

Ôxy hòa tan của các thí nghiệm nằm trong khoảng 5,0 - 5,5 ppm. Theo Pham & Nguyen (2009) trong từng giai đoạn phát triển của phôi cá nhu cầu về ôxy sẽ khác nhau quá trình phát triển phôi và cá bột cần rất nhiều ôxy. Hàm lượng ôxy hòa tan trong nước thấp hơn 2 ppm thì phôi sẽ chết ngạt. Để đảm bảo cho phôi phát triển bình thường thì hàm lượng oxy trong nước thấp nhất phải từ 3 - 4 ppm; Nhu cầu ôxy của trứng tăng dần theo quá trình phát triển nhưng sẽ tăng đột ngột từ giai đoạn xuất hiện mầm đuôi, nhất là trước và sau khi nở; giai đoạn còn nhỏ, cá con có ngưỡng ôxy cao, cao nhất ở giai đoạn phôi tự do và cá bột. Điều đó cho thấy, ôxy hòa tan của từng thí nghiệm thí nghiệm đều nằm trong ngưỡng cho trứng và ấu trùng cá phát triển (Boyd, 1990).

Nhiệt độ của các thí nghiệm nằm trong khoảng 26,0 - 28,5°C khá phù hợp cho với sự phát triển của trứng và phôi cá phát triển. Theo Nguyen (2004) thì giai đoạn cá giống thì nhiệt độ thích hợp là khoảng 26 - 30°C, nhưng biên độ dao động phải nhỏ, nếu dao động biên độ lớn hơn hoặc bằng 2°C thì sẽ ảnh hưởng lên quá trình phát triển của phôi, còn Pham (2006) cho rằng nhiệt độ thích hợp cho sự phát triển phôi của hầu hết các loài cá trong khoảng 27 - 29°C. Theo Nguyen (2004), ảnh hưởng của nhiệt độ lên các chỉ tiêu phôi của cá rất lớn, trứng sau khi thụ tinh khoảng

nhiệt độ > 30°C thì phôi sẽ chết hoặc cá bột nở ra sẽ bị dị hình.

pH nước hầu hết của các thí nghiệm nằm trong khoảng 7,0 - 8,5 với biên độ dao động trong ngày < 0,5, với giá trị pH nước trên phù hợp cho trứng và ấu trùng cá phát triển. Các trứng loài cá đều không có khả năng phát triển tốt trong môi trường pH quá cao hoặc quá thấp (pH < 5 hoặc pH > 9); điều quan trọng hơn cả là pH phải ổn định, bất kỳ một thay đổi nào dù rất nhỏ về pH cũng làm cho trứng ngừng phát triển. Do vậy, nguồn nước cung cấp cho quá trình ấp trứng cần được xử lý và điều khiển cho thích hợp với sự phát triển của phôi cá (Truong & ctv., 2006). Theo Rach & ctv. (2010), pH nằm trong khoảng phù hợp cho phôi cá mè trắng phát triển. Theo Nguyen (2004), pH là một trong những yếu tố môi trường ảnh hưởng rất lớn đến đời sống của cá, pH của máu tất cả các động vật đều gần bằng 7. Khi pH của môi trường quá cao hay quá thấp đều làm thay đổi áp suất thẩm thấu của màng tế bào làm rối loạn quá trình trao đổi muối nước giữa cơ thể với môi trường bên ngoài. pH có ảnh hưởng rất lớn đến sự phát triển phôi, quá trình dinh dưỡng, sinh trưởng và sinh sản của cá. Kết quả pH nước của thí nghiệm phù hợp cho sự phát triển cá nước ngọt (Boyd, 1990; Truong & ctv., 2006) và theo QCVN 02-15:2009/BNNT.

3.1. Kết quả một số chỉ tiêu ấp trứng cá

mè trắng được trình bày ở Bảng 3.

Kết quả chỉ tiêu về tỷ lệ thụ tinh, tỷ lệ nở, tỷ lệ sống và tỷ lệ dị hình trong thí nghiệm ấp trứng cá

Bảng 3. Kết quả một số chỉ tiêu theo dõi trong quá trình ấp trứng cá mè trắng

Nghiệm thức độ cứng	Tỷ lệ thụ tinh (%)	Tỷ lệ trứng nở (%)	Tỷ lệ sống cá bột (%)	Tỷ lệ cá bột dị hình (%)
NT1 (70 mg/L)	79,3 ± 0,6 ^a	54,0 ± 1,0 ^a	13,4 ± 0,6 ^a	5,7 ± 0,6 ^a
NT2 (100 mg/L)	78,7 ± 0,6 ^a	43,0 ± 1,0 ^b	9,3 ± 1,2 ^b	33,3 ± 1,5 ^b
NT3 (130 mg/L)	78,3 ± 0,6 ^a	42,0 ± 1,0 ^b	8,3 ± 0,6 ^b	52,3 ± 0,6 ^c
NT4 (160 mg/L)	79,0 ± 1,0 ^a	41,7 ± 1,2 ^b	8,0 ± 1,0 ^b	66,3 ± 0,6 ^d
NT5 (190 mg/L)	78,0 ± 1,0 ^a	41,0 ± 1,0 ^b	8,3 ± 0,6 ^b	74,3 ± 1,2 ^e

Ghi chú: Các giá trị trên cùng một cột có các ký tự khác nhau khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$).

Kết quả tỷ lệ thụ tinh của trứng cá giữa các nghiệm thức là tương đối cao và không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P > 0,05$), cao nhất ở nghiệm thức NT1 là 79,3% và thấp nhất ở nghiệm thức NT5 là 78%. Kết quả này tương đồng với nghiên cứu của Rashid & ctv. (2014) về sản xuất giống cá mè trắng trong nước có độ cứng 179 mg/L cho tỷ lệ thụ tinh là 78,12%, và cao hơn kết quả nghiên cứu của Naeem & ctv. (2005) thì tỷ lệ thụ tinh của cá mè trắng là 72,56%.

Kết quả tỷ lệ nở của các nghiệm thức đạt khá cao (41,0 - 54,0%), tỷ lệ nở ở các nghiệm thức có hướng giảm theo sự gia tăng độ cứng của nước. Kết quả này cũng phù hợp với nghiên cứu của Rach & ctv. (2010) trên cá mè trắng ở Bắc nước Mỹ khi gia tăng độ cứng của nước từ 50 mg/L lên 250 mg/L thì tỷ lệ nở giảm dần (từ 38,8% ở nồng độ 50 mg/L xuống 13,6% tại nồng độ 250 mg/L). Tuy nhiên, kết quả trên thì không phù hợp với kết quả nghiên cứu của Gonzal & ctv. (1987) trên trứng cá mè trắng được ấp trong 19 giờ ở 26,5°C ở mức độ cứng của nước là 100, 200, 300, 400, 500 & 600 mg CaCO₃/L thì cho rằng độ cứng của

nước nên ở mức 300 - 500 mg CaCO₃/L là thành công, tỷ lệ sống không bị ảnh hưởng bởi độ cứng của nước. Tỷ lệ nở cao nhất ở nghiệm thức 70 mg/L là 54,0% khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$) so với các nghiệm thức còn lại. Kết quả này cao hơn nghiên cứu của Rach & ctv. (2010) trên cá mè trắng ở Bắc nước Mỹ có tỷ lệ nở cao nhất là 38,8% (ở độ cứng 50 mg/L). Tỷ lệ nở của nghiên cứu này thu được ở mức 190 mg/L là 41,0% vẫn cao hơn nghiên cứu của Rach & ctv. (2010) trên cá mè trắng ở Bắc nước Mỹ ở nồng độ 150 mg/L (25,6%) và 200 mg/L (25,2%). Kết quả nghiên cứu trên thấp so với nghiên cứu Rashid & ctv. (2014) khi sinh sản cá mè trắng trong nước có độ cứng 179 mg/L cho tỷ lệ nở là 69,71%, phù hợp với kết quả của Naeem & ctv. (2005) sản xuất giống cá mè trắng có tỷ lệ nở là 71,09%. Kết quả các giá trị nghiên cứu về tỷ lệ nở thấp hơn các nghiên cứu trước có thể do ảnh hưởng của độ cứng của nước. Khi tăng dần độ cứng của nước thí nghiệm cho thấy có sự ảnh hưởng rõ ràng tỷ lệ nở giảm.

Tỷ lệ sống của cá bột đến hết giai đoạn sử dụng noãn hoàng của 5 nghiệm thức đạt thấp và dao động từ 8,0% đến 13,4%. Trong đó, tỷ lệ sống cao nhất ở 70 mg/L là 13,4% và khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$) so với các nghiệm thức còn lại. Thí nghiệm cũng cho thấy khi tăng dần độ cứng trong khoảng 100 - 190 mg/L để ấp trứng cá mè trắng thì tỷ lệ sống của cá ít bị ảnh hưởng. Kết quả ở 100 mg/L đạt 9,3%, ở 130 mg/L là 8,3% ở 160 mg/L là 8,0% và ở 190 mg/L là 8,3%, tỷ lệ sống của các nghiệm thức 100, 130, 160 & 190 mg/L đều khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($P > 0,05$). Kết quả nghiên cứu trên thấp so với nghiên cứu Rashid & ctv. (2014) khi sinh sản cá mè trắng trong nước có độ cứng 179 mg/L cho tỷ lệ nở là 14,56%. Qua thí nghiệm cho thấy, tỷ lệ sống của cá mè trắng bột cũng chịu ảnh hưởng bởi độ cứng của nước. Tuy nhiên, thí nghiệm cũng làm rõ hơn trong cùng điều kiện thí nghiệm độ cứng trong khoảng 100 - 190 mg/L không gây giảm tỷ lệ sống của cá mè. Kết quả nghiên cứu trên cho thấy tỷ lệ sống ở nghiệm thức 70 mg/L là cao nhất.

Kết quả trình bày Bảng 2, tỷ lệ dị hình của cá con ở tất cả các nghiệm thức dao động từ 5,7% đến 74,3%. Trong đó, tỷ lệ dị hình thấp nhất ở 70 mg/L là 5,7% và khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$) so với các nghiệm thức còn lại. Đặc biệt tỷ lệ dị hình có xu hướng gia tăng khi tăng dần độ cứng để ấp trứng cá, các giá của cá bột lần lượt của nghiệm thức 70 mg/L đến 190 mg/L là 5,7%, 33,3, 52,3%, 63,3% & 74,3%. Vấn đề tỷ lệ dị hình trên ấu trùng cá có thể liên quan đến trao đổi i on trong cơ thể cá thông qua điều hòa áp suất thẩm thấu. Farabi & ctv. (2009) cho rằng, tỷ lệ dị hình của ấu trùng cá xương có liên quan đến sự điều tiết áp suất thẩm thấu i on. Điều này có thể là cho rằng độ cứng trong nước cao là nguyên nhân ảnh hưởng gây ra tăng tỷ lệ dị hình. Về nguyên tắc độ cứng tồn tại trong nước là ở hai

dạng muối là $\text{Ca}(\text{HCO}_3)_2$ và $\text{Mg}(\text{HCO}_3)_2$, do đây là các muối hòa tan hoàn toàn nhưng không bền nên các muối này dễ dàng bị phân ly tạo thành các muối kết tủa là CaCO_3 và MgCO_3 . Kim loại thường gây ảnh hưởng độc hại lên phôi, kim loại xâm nhập trứng chủ yếu trong quá trình sưng tấy, có thể dẫn đến thân thể cá phát triển dị thường, biến dạng và thậm chí gây chết phôi (Lugowska & Witeska, 2004). Một giai đoạn khác mà phôi rất dễ nhiễm độc khi vỏ trứng vỡ và ấu trùng trực tiếp bị phơi nhiễm với các yếu tố môi trường bị thay đổi, tỷ lệ ấu trùng biến dạng cao bởi kim loại nặng có thể vượt quá 60%. Điều đó cho thấy việc tăng độ cứng khi ấp trứng cá mè trắng là nguyên nhân gây ra tăng tỷ lệ dị hình của cá mè trắng bột. Môi trường nước có độ cứng cao, có thể trong quá trình phân ly trứng và ấu trùng cá thay đổi quá trình điều hòa áp suất thẩm thấu của màng tế bào và làm rối loạn quá trình trao đổi muối nước giữa cơ thể với môi trường bên ngoài, từ đó làm tăng tỷ lệ dị hình và làm giảm tỷ lệ sống của cá (Truong & ctv., 2006). Kết quả tỷ lệ dị hình cá mè trắng trong nghiệm thức 70 mg/L là 5,7% cũng nằm trong khoảng tỷ lệ ấu trùng cá bị dị hình của một số loài cá nước ngọt được sản xuất ở ĐBSCL là nhỏ hơn 10% (Nguyen, 2004).

4. Kết Luận

Các chỉ tiêu pH, ôxy hòa tan và nhiệt độ trong thời gian thí nghiệm ấp trứng cá mè trắng đều nằm trong khoảng thích hợp cho phôi và ấu trùng cá mè trắng phát triển.

Trứng cá ấp ở độ cứng nước ở 70 - 190 mg/L có tỷ lệ thụ tinh nằm trong khoảng 78,0 - 79,3%. Tỷ lệ nở cao nhất ở nghiệm thức 70 mg/L (54,3%), tỷ lệ sống cao nhất của cá sau khi tiêu hết noãn hoàng là 13,4% ở nghiệm thức 70 mg/L. Tỷ lệ dị hình của ấu trùng cá mè trắng thấp nhất (5,7%) ở nghiệm thức 70 mg/L.

Có thể ấp trứng cá mè trắng từ giai đoạn trứng đến cá tiêu hết noãn hoàng ở độ cứng 70 - 100 mg/L.

Lời Cam Đoan

Tác giả xin cam đoan các trích dẫn tài liệu tham khảo, số liệu và kết quả trong bài báo này là trung thực.

Tài Liệu Tham Khảo (References)

- Boyd, C. E. (1990). *Water quality in ponds for aquaculture*. Alabama, USA: Alabama Agricultural Experiment Station, Auburn University.
- FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). (2019). *Hypophthalmichthys molitrix*. Retrieved September 13, 2022, from <http://www.fao.org/fi/website/FISearchAction.do>.
- Farabi, S. M. V., Najafpour, S., & Najafpour, G. D. (2009). Aspect of osmotic-ions regulation in Juveniles, Acipen sernudiventris (Lovestsky, 1828) in the Southeast of Caspian Sea *World Applied Sciences Journal* 7(9), 1090-1096.
- Froese, R., & Pauly, D. (2004). *Fish base*. Retrieved September 13, 2022, from <https://www.fishbase.org>.
- Gonzal, A. C., Aralar, E. V., & Pavico, J. M. F. (1987). The effects of water hardness on the hatching and viability of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) eggs. *Aquaculture* 64(2), 111-118. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(87\)90347-4](https://doi.org/10.1016/0044-8486(87)90347-4).
- Kottelat, M., & Freyhof, J. (2007). *Handbook of European freshwater fishes*. Berlin, Germany: Maurice Kottelat.
- Lugowska, K., & Witeska, M. (2004). The effect of copper exposure during embryonic development on deformations of newly hatched common carp larva, and further consequences ejpau. *Electronic Journal of Polish Agricultural Universities* 7(2).
- Naeem, M., Salam, A., Diba, F., & Saghir, A. (2005). Fecundity and induced spawning of silver carp, *Hypophthalmichthys molitrix* by using a single intramuscular injection of ovaprim-C at fish hatchery islamabad, Pakistan. *Pakistan Journal of Biological Sciences* 8(8), 1126-1130. <https://doi.org/10.3923/pjbs.2005.1126.1130>.
- Nguyen, K. V. (2004). *Fish reproduction techniques*. Can Tho City, Vietnam: Can Tho University Publishing House.
- Pham, K. V. (2006). *Reproduction techniques of some freshwater fish species in the Mekong Delta*. Ha Noi, Vietnam: Agricultural Publishing House.
- Pham, T. M., & Nguyen, K. V. (2009). *Scientific and technical basis of fish reproduction*. Ha Noi, Vietnam: Agricultural Publishing House.
- Rach, J. J., Sass, G. G., Luoma, J. A., & Gaikowski, M. P. (2010). Effects of water hardness on size and hatching success of silver carp eggs. *North American Journal of Fisheries Management* 30(1), 230-237. <https://doi.org/10.1577/M09-067.1>.
- Rashid, M., Balkhi, M. U. H., Naiko, G. A., & Ahamad, T. (2014). Induced breeding of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) and silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) using ovatide as synthetic hormone at national fish seed farm (Nfsf) Manasbal, Kashmir, J&K. *Fisheries and Aquaculture Journal* 5(4). <https://doi.org/10.4172/2150-3508.1000110>.
- Truong, P. Q., Nguyen, L. H. Y., & Huynh, T. G. (2006). *Water quality management in aquaculture*. Can Tho City, Vietnam: Can Tho University Publishing House.
- Xie, P., & Chen, Y. (2001). Invasive carp in China's Plateau lakes. *Science* 294 (5544), 999-1000. <https://doi.org/10.1126/science.294.5544.999c>.

Application of conjunctival graft surgery in the treatment of corneal ulcers in dogs

Tan N. Nguyen, Ba Q. Phan, & Thuong T. Nguyen*

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

ARTICLE INFO

Research Paper

Received: November 06, 2023

Revised: November 23, 2023

Accepted: November 27, 2023

Keywords

Conjunctival graft

Corneal ulcers

Dog

Ophthalmology

Surgery

*Corresponding author

Nguyen Thi Thuong

Email:

thuong.nguyenthi@hcmuaf.edu.vn

ABSTRACT

The study of conjunctival graft surgery for treating corneal ulcers in dogs was conducted at Alpha Pet Veterinary Clinic and Bang Pham Veterinary Hospital from August 2021 to August 2022. Dogs were clinically examined with corneal ulcers and corneal perforations, corneal reflexes, and then fluorescein 2% reagent was used to examine and measure the diameter of the corneal damaged area by using Castroviejo calipers. The surgical method of conjunctival stem grafting was applied and evaluated effects of treatment on corneal ulcers in dogs. A total of 3,024 dogs were examined and treated during the study period. There were 195 dogs with eye diseases, accounting for 6.45% of the cases. The rate of corneal ulcers was 15.90% (31/195 cases). Among the corneal ulcer cases, conjunctival graft surgery was performed in 14 cases. The successful rate of conjunctival stem grafting was 71.43%. The complication rate of conjunctival stem grafting was 42.86%, in which 2 cases of mild complications were successfully treated. The average wound healing duration was 39.45 days. The occurrence of complications depended on the types of complication. Mild complications including suture detachment and corneal edema appeared after 2.5 to 5.5 days while corneal epithelial cysts and ocular edema occurred at 22 to 42 days after surgery. Therefore, this method could be used in treatment of corneal ulcers, particularly in cases of deep ulcers or corneal perforations that required to directly connect to blood vessels.

Cited as: Nguyen, T. N., Phan, B. Q., & Nguyen, T. T. (2024). Application of conjunctival graft surgery in the treatment of corneal ulcers in dogs. *The Journal of Agriculture and Development* 23(2), 57-68.

Ứng dụng phẫu thuật ghép cuống kết mạc trong điều trị viêm loét giác mạc trên chó

Nguyễn Nhật Tân, Phan Quang Bá & Nguyễn Thị Thương*

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

THÔNG TIN BÀI BÁO

Bài báo khoa học

Ngày nhận: 06/11/2023

Ngày chỉnh sửa: 23/11/2023

Ngày chấp nhận: 27/11/2023

Từ khóa

Chó

Cuống kết mạc

Nhân khoa

Phẫu thuật

Viêm loét giác mạc

*Tác giả liên hệ

Nguyễn Thị Thương

Email:

thuong.nguyenthi@hcmuaf.edu.vn

TÓM TẮT

Nghiên cứu ứng dụng phẫu thuật ghép cuống kết mạc trong điều trị viêm loét giác mạc trên chó được tiến hành tại Phòng khám Thú y Alpha Pet và Bệnh viện Thú y Bằng Phạm từ tháng 08 năm 2021 đến tháng 08 năm 2022. Chó bị viêm loét giác mạc, thủng giác mạc được khám lâm sàng, kiểm tra phản xạ giác mạc và dùng thuốc thử fluorescein 2% để kiểm tra và đo kích thước vùng tổn thương giác mạc bằng thước cặp Castroviejo. Phương pháp phẫu thuật ghép cuống kết mạc được áp dụng và đánh giá hiệu quả điều trị viêm loét giác mạc trên chó. Tổng cộng 3.024 chó được mang đến khám và điều trị, có 195 chó bị bệnh về mắt, chiếm tỷ lệ 6,45%. Tỷ lệ chó bị viêm loét giác mạc chiếm 15,90% (31/195 ca). Trong các ca bị viêm loét giác mạc này có 14 ca sử dụng phương pháp phẫu thuật ghép cuống kết mạc. Tỷ lệ thành công với phương pháp ghép cuống kết mạc là 71,43%. Tỷ lệ xuất hiện biến chứng là 42,86%, trong đó có 2 ca biến chứng nhẹ được xử lý thành công. Thời gian lành vết thương trung bình là 39,45 ngày. Thời gian xuất hiện biến chứng tùy thuộc vào loại biến chứng. Những biến chứng nhẹ xuất hiện từ 2,5 đến 5,5 ngày là bung chỉ và phù giác mạc. U nang biểu mô giác mạc và phù thủng nhãn cầu xảy ra từ 22 đến 42 ngày sau phẫu thuật. Do đó, phương pháp này có thể được sử dụng trong điều trị viêm loét giác mạc và được chỉ định trong các trường hợp vết loét sâu hoặc thủng giác mạc cần mạch máu nuôi trực tiếp.

1. Đặt Vấn Đề

Bệnh về mắt trên chó được ghi nhận có rất nhiều nguyên nhân gây bệnh như bẩm sinh, chấn thương, bệnh do vi khuẩn, virus, nấm (Kalaiselvan & ctv., 2009). Hậu quả của những bệnh này khá nghiêm trọng, không những ảnh hưởng đến thị lực mà thú còn có thể bị mù hẳn

nếu không được điều trị sớm và hợp lý, ảnh hưởng rất lớn đến cuộc sống của chúng (Gelatt & ctv., 2013). Viêm loét giác mạc là một trong những bệnh về mắt khá phổ biến, chiếm 19,5 - 34,2% ở các bệnh về mắt (Doan, 2009). Việc điều trị nội khoa hay phẫu thuật khép mí chưa mang lại hiệu quả cao, đặc biệt với những vết loét sâu hoặc thủng giác mạc. Vì vậy, các can

thiệt ngoại khoa như ghép cuống kết mạc, ghép giác mạc tự thân, ghép giác mạc tương đồng cho thấy hiệu quả trong điều trị các tổn thương ở giác mạc (Hakanson & Merideth, 1987; Hansen & Guandalini, 1999; Keenan & ctv., 2020). So với phương pháp ghép giác mạc thì ghép cuống kết mạc là kỹ thuật phổ biến được chỉ định trong điều trị viêm loét, thủng giác mạc và cho kết quả phục hồi 90% (Wagner & ctv., 1992). Ngoài ra, phương pháp ghép cuống kết mạc còn có ưu điểm là chi phí thấp hơn cho chủ nuôi, quá trình thực hiện đơn giản hơn và tỷ lệ hồi phục cao. Hiện nay, vấn đề viêm loét giác mạc trên chó xảy ra ngày một nhiều tuy nhiên các phương pháp điều trị ngoại khoa còn hạn chế. Tại Việt Nam, các nghiên cứu về phẫu thuật ghép cuống kết mạc, ghép giác mạc tự thân còn bị hạn chế. Chính vì thực tế đó, chúng tôi tiến hành nghiên cứu phẫu thuật ghép cuống kết mạc trong điều trị viêm loét giác mạc trên chó nhằm đánh giá hiệu quả của phương pháp này và đưa ra hướng nghiên cứu cho nhân khoa thú y tại Việt Nam.

2.2. Vật Liệu và Phương Pháp Nghiên Cứu

2.1. Nội dung nghiên cứu

Khảo sát tỷ lệ viêm loét giác mạc trên chó và đánh giá hiệu quả điều trị viêm loét giác mạc bằng phương pháp phẫu thuật ghép cuống kết mạc.

2.2. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Nghiên cứu được tiến hành tại Phòng khám Thú y Alpha Pet, TP. Phan Thiết, tỉnh Bình Thuận và Bệnh viện Thú y Bằng Phạm, TP. Biên Hòa, tỉnh Đồng Nai từ tháng 08 năm 2021 đến tháng 08 năm 2022.

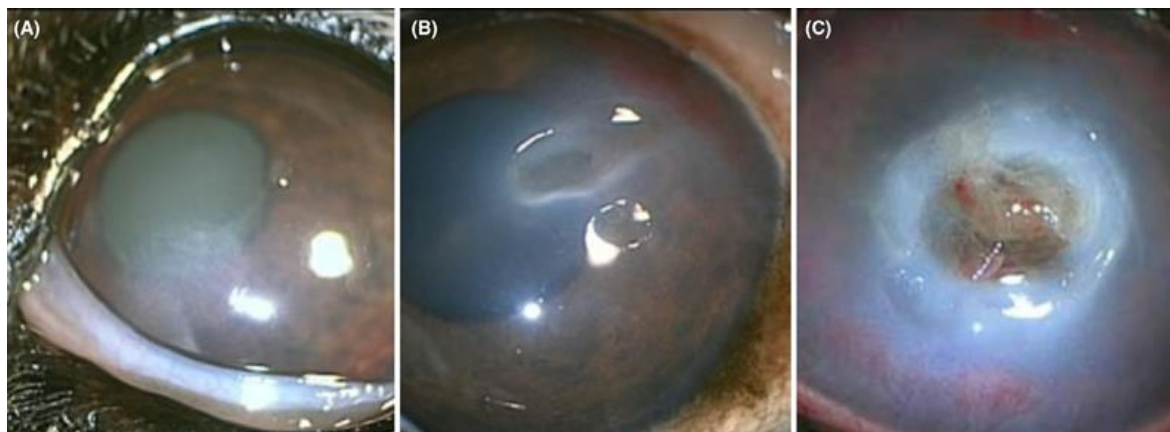
2.3. Đối tượng khảo sát

Ba mươi một con chó bị viêm loét giác mạc tiến hành khảo sát các tỷ lệ về giống, giới tính, độ tuổi, tính chất vết loét. Sau khi kiểm tra, mười bốn con chó được chẩn đoán viêm loét giác mạc với vết loét sâu bằng thuốc thử fluorescein 2% tiến hành phẫu thuật ghép cuống kết mạc. Trong đó, có 8 con đực và 4 con cái với độ tuổi từ 7 tháng đến 6 năm. Dữ liệu được thu thập cho 14 ca phẫu thuật ghép cuống kết mạc bao gồm giống, giới tính, tuổi, thời gian phẫu thuật, thời gian lành, thời gian xuất hiện biến chứng và chi phí điều trị.

2.4. Phương pháp thực hiện

2.4.1. Kiểm tra viêm loét giác mạc

Quan sát tổng thể, hình dáng bên ngoài, kiểm tra niêm mạc và xem màu sắc của dịch tiết mắt. Kiểm tra sự biến đổi màu sắc của mắt: bình thường giác mạc trong suốt, màu sắc đồng nhất giữa các phần, không xung huyết, xuất huyết ở các tổ chức xung quanh mắt như mí mắt, kết mạc. Thông qua khám lâm sàng, chúng tôi chọn những chó bị viêm loét, thủng giác mạc. Phản xạ giác mạc được kiểm tra bằng cách lấy một tấm bông tiếp xúc với giác mạc cho kết quả nhãn cầu thu lại và đóng các mí mắt. Sử dụng thuốc thử fluorescein 2% để kiểm tra và đo kích thước vùng tổn thương giác mạc bằng thước cặp Castroviejo đo đường kính vết loét. Vết loét được đánh giá theo 3 mức độ: vết loét bề mặt (nhẹ), vết loét mô đệm (vừa), vết loét lõm và có lỗ nhỏ (nặng) (Iwashita & ctv., 2020) (Hình 1).



Hình 1. Các mức độ loét giác mạc. (A): vết loét bề mặt; (B): vết loét mô đệm; (C): vết loét lõm và có lỗ nhỏ. *Nguồn:* Iwashita & ctv. (2020).

2.4.2. Phương pháp phẫu thuật ghép củng kết mạc

Thuốc tiền mê Atropin được tiêm bắp (IM) hoặc tiêm tĩnh mạch (IV) trước khi gây mê bằng cách tiêm Tiletamine và Zolazepam qua đường tĩnh mạch (Zoletil 50) (liều theo khuyến cáo của nhà sản xuất). Trong tất cả các trường hợp, phẫu thuật được thực hiện với sự hỗ trợ của kính lúp. Bề mặt giác mạc và kết mạc được rửa bằng dung dịch povidone iodine 1:50 và nước muối sinh lý 0,9%. Những trường hợp thủng giác mạc chỉ được dùng nước muối sinh lý để hạn chế việc thẩm thấu sát trùng từ vết thủng vào sâu bên trong nhãn cầu. Những mô giác mạc hoại tử, fibrin nhô ra qua vị trí thủng được cắt bỏ bằng kéo cắt giác mạc. Đường kính của tổn thương giác mạc được đo bằng thước cặp Castroviejo.

Mảnh ghép kết mạc là vùng kết mạc gần nhất với tổn thương và mảnh ghép phải nằm trong khoảng 45° so với phương thẳng đứng để giảm thiểu ảnh hưởng của mí mắt lên mảnh ghép. Một đường rạch nhỏ được cắt trong kết mạc vuông góc với mí mắt và qua đường rạch này, toàn bộ vị trí mảnh ghép kết mạc được bóc tách với chiều dài từ 1 - 1,5 cm. Mô sợi bên dưới phải được tách khỏi kết mạc bên trên để kết mạc có vẻ trong

suốt. Tiếp theo, hai vết cắt song song được thực hiện để tạo ra một vạt kết mạc và được xoay để che đi tổn thương giác mạc. Sau đó, mảnh ghép được khâu vào giác mạc bằng chỉ khâu 6 - 0 đến 8 - 0 polyglactin 910 hoặc nylon với đường khâu đơn giản, gián đoạn và cách nhau 1 - 1,5 mm.

Vị trí lấy mảnh ghép trên kết mạc phải được đóng lại bằng cách sử dụng một đường khâu đơn giản, liên tục từ chỉ 6 - 0 đến 8 - 0 polyglactin 910. Các mảnh ghép kết mạc sẽ dính vào tổn thương giác mạc và biểu mô hóa xung quanh mảnh ghép, nhưng chúng sẽ không dính bên dưới với biểu mô giác mạc bình thường. Bốn đến tám tuần sau khi đặt mảnh ghép, việc cung cấp máu nên bị gián đoạn bằng cách cắt phần gốc của mảnh ghép. Việc loại bỏ nguồn cung cấp máu sẽ cho phép mảnh ghép kết mạc liền lại và làm giảm sẹo giác mạc (Hakanson & Merideth, 1987).

Vết thương để khô thoáng, tránh để chó làm trầy xước vùng mắt bằng cách sử dụng vòng cổ Elizabeth. Vệ sinh vết thương 2 - 3 lần/ngày bằng nước muối sinh lý 0,9% trong 1 tuần sau phẫu thuật, bôi kháng sinh dạng mỡ tetracycline 2 lần/ngày trong 3 ngày đầu. Tái khám 3 lần sau 14, 30, 60 ngày phẫu thuật.

2.4.3. Biến chứng và kết quả điều trị tại các thời điểm tái khám

Theo dõi và ghi nhận các biến chứng và kết quả điều trị tại các thời điểm tái khám:

- 14 ngày sau phẫu thuật đánh giá các biến chứng gồm: Hình thành mô hạt, phù giác mạc, co rút vạt kết mạc.

- 30 ngày sau phẫu thuật đánh giá các biến chứng gồm: Sắc tố giác mạc, u nang biểu mô giác mạc.

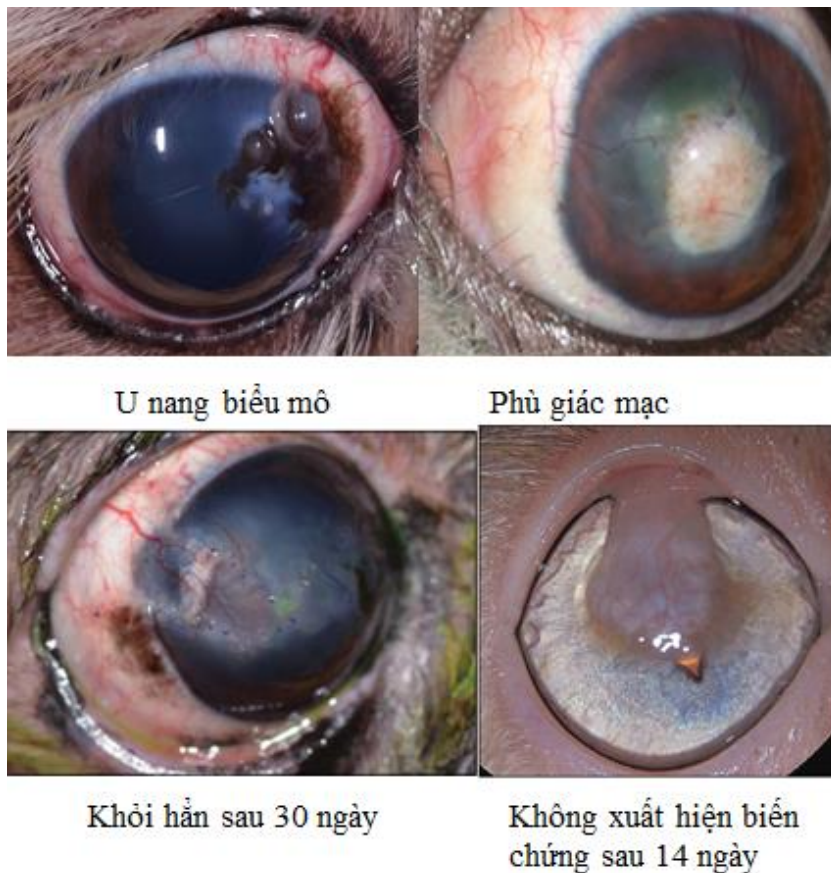
- 60 ngày sau phẫu thuật đánh giá phục hồi giác mạc với 3 kết quả điều trị:

+ Khỏi hẳn: khi có tính đồng nhất vị trí ghép vạt kết mạc, độ trong suốt của giác mạc, phản ứng với thuốc thử fluorescein 2% âm tính, có phản xạ ánh sáng.

+ Bớt: khi phản ứng với thuốc thử fluorescein 2% âm tính, có phản xạ ánh sáng nhưng vị trí ghép vạt kết mạc chưa đồng nhất.

+ Không khỏi: phản ứng với thuốc thử fluorescein 2% dương tính, không phản xạ ánh sáng, các biến chứng trở nặng.

Kết quả phục hồi và biến chứng sau phẫu thuật ghép cuống kết mạc trên chó bị viêm loét giác mạc được trình bày qua Hình 2.



Hình 2. Phục hồi và biến chứng sau phẫu thuật.

2.5. Xử lý số liệu

Các số liệu thu thập được xử lý và phân tích theo trắc nghiệm χ^2 bằng phần mềm thống kê Minitab 16.1. Các chỉ tiêu khảo sát được tính bằng phần mềm Microsoft Excel 2010.

3. Kết Quả và Thảo Luận

3.1. Tỷ lệ bệnh về mắt và viêm loét giác mạc trên chó

Tổng cộng 3.024 chó được mang đến khám và điều trị tại Bệnh viện Thú y Bằng Phạm và Phòng khám Thú y Alpha Pet có 195 chó bị bệnh về mắt, chiếm tỷ lệ 6,45% trong khoảng thời gian khảo sát từ tháng 8/2021 đến tháng 8/2022. Trong đó, Bệnh viện Thú y Bằng Phạm ghi nhận 2.125 ca

bệnh với 134 ca bệnh về mắt (6,31%) và phòng khám Thú y Alpha Pet với 899 ca bệnh thì có 61 ca bệnh về mắt (6,79%). Kết quả này gần với nghiên cứu Le & ctv. (2011) khảo sát trên 4.610 chó tới khám và điều trị tại Trạm Chẩn đoán Xét nghiệm và Điều trị, Chi cục Thú y TP.HCM có 266 chó bị bệnh về mắt, chiếm tỷ lệ 5,77%.

Hình 3 thể hiện một số ca bệnh về mắt, ở những ca không ảnh hưởng trực tiếp đến nhãn cầu (viêm kết mạc, sa mí mắt, rách mí mắt) cho tỷ lệ điều trị tốt. Theo nghiên cứu của Nguyen (2015), phẫu thuật điều trị sa mí mắt thành công 95%. Các trường hợp đục thủy tinh thể ghi nhận ở những chó trên 5 năm tuổi điều trị nội khoa không hiệu quả, kết quả này tương tự với khảo sát của Kumar & ctv. (2018) trên 4 ca đục thủy tinh thể.



Hình 3. Một số bệnh về mắt trên chó. 1. Viêm kết mạc mắt; 2. Phẫu thuật cắt mộng mắt (cherry eye); 3. Viêm loét giác mạc; 4. Đục thủy tinh thể; 5. Tăng nhãn áp; 6. Rách mí mắt dưới.

Trong 195 ca bệnh về mắt có 31 ca bị viêm loét giác mạc chiếm tỷ lệ 15,90%. Tỷ lệ này trong nghiên cứu của Iwashita & ctv. (2020) là 11,47%

với tổng 1.018 ca bị viêm loét giác mạc. Bảng 1 trình bày kết quả 31 ca viêm loét giác mạc với tỷ lệ về giống, giới tính, tuổi và tính chất vết loét.

Bảng 1. Tỷ lệ viêm loét giác mạc trên chó theo các yếu tố khảo sát (n = 31)

Chỉ tiêu khảo sát		Số con	Tỷ lệ (%)	P
Giống	Mồm dài	9	29,03	0,001
	Mồm ngắn	22	70,97	
Giới tính	Đực	17	54,84	0,446
	Cái	14	45,16	
Tuổi	< 5 tuổi	21	67,74	0,000
	> 5 tuổi	10	32,26	
Tính chất	Không loét	6	19,35	0,000
	Có loét	25	80,65	

Kết quả Bảng 1 cho thấy tỷ lệ các giống chó có cấu tạo mồm ngắn bị viêm loét giác mạc là 70,97% nhiều hơn so với chó giống mồm dài 29,03%, sự khác biệt rất có ý nghĩa ($P < 0,05$). Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Cebrian & ctv. (2021) đã điều tra tỷ lệ mắc bệnh viêm loét giác mạc trên các giống chó khác nhau, cho thấy chó mồm ngắn có nhiều khả năng bị viêm loét giác mạc hơn với tỷ lệ 77,75%. Các chó giống mồm ngắn, mắt lồi như chó Nhật, Bulldog, Pug,... có thể do cấu tạo phần đầu và mắt rất khác biệt, dễ dẫn đến tổn thương hay mắc các bệnh trên mắt.

Về giới tính, chó đực mắc bệnh viêm loét giác mạc chiếm 54,84%, trong khi chó cái mắc bệnh chiếm 45,16%, và sự khác biệt không có ý nghĩa ($P > 0,05$). Tuy nhiên, sự khác biệt về độ tuổi liên quan đến bệnh viêm loét giác mạc trên chó là có ý nghĩa ($P < 0,05$). Với đa số chó từ 5 năm tuổi trở xuống bị viêm loét giác mạc với 21 con, chiếm 67,74%. Đối với tính chất viêm loét, tỷ lệ chó bị loét chiếm 80,65%, không loét chiếm 19,35%, và sự khác biệt về tính chất bệnh là rất có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$). Điều này cho thấy đa số tình trạng viêm loét giác mạc mang đến phòng khám

khi đã chuyển biến nặng và chủ nuôi khó xác định khi thú cưng chỉ có các triệu chứng chưa điển hình.

3.2. Đánh giá hiệu quả phương pháp phẫu thuật ghép củng kết mạc

Tổng cộng 14 con chó bị viêm loét giác mạc được tiến hành phương pháp phẫu thuật ghép củng kết mạc. Trong đó, tỷ lệ đực cái là 8:6 với độ tuổi từ 7 tháng đến 6 năm. Tỷ lệ chó nội ngoại là 4:10 với sự hiện diện của các giống chó: Pug (4 ca), Bull Pháp (2 ca), Poodle (1 ca), Chihuahua (2 ca), Phoc hươu (1 ca), Việt Nam (3 ca), Phú Quốc (1 ca). Thời gian theo dõi tái khám là 3 ngày, 7 ngày, 14 ngày, 30 ngày, và 60 ngày sau phẫu thuật.

Số ca phẫu thuật mắt trái là 5 ca và mắt phải là 9 ca. Về tính chất vết loét, có 5 ca nặng với vết loét sâu và đường kính trên 2 mm, 6 ca vừa có vết loét không sâu, nhỏ dưới 2 mm, còn lại là 3 ca nhẹ với vết loét nông và rất nhỏ.

Hình 4 ghi nhận những ca viêm loét giác mạc có lỗ thủng tiến hành thực hiện phẫu thuật ghép củng kết mạc. Các ca có lỗ thủng trong viêm loét

giác mạc trên chó theo nghiên cứu của Iwashita & ctv. (2020) cho thấy mức độ loét độ 3 (thủng giác mạc) ảnh hưởng đến lớp màng Descemet của giác mạc. Màng Descemet là lớp màng đàn hồi, rất dai, có khả năng tái sinh và hình thành

một màng mới nếu có sự viêm loét. Vì thế, khi tiến hành phẫu thuật ghép sẽ ít tạo tổn thương mới cho các lớp trên của giác mạc, ngoài ra tính chất dai, đàn hồi giúp kĩ thuật may của phương pháp ghép củng kết mạc hiệu quả hơn.



Hình 4. Thủng giác mạc tiến hành phẫu thuật ghép củng kết mạc.

Phương pháp ghép cuống kết mạc có tỷ lệ thành công là 71,43%, trong đó có 8 ca thành công không xuất hiện biến chứng, 2 ca thành công nhưng có biến chứng nhẹ bung chỉ và phù giác mạc được xử lý ngay và lành hẳn sau 1 tháng (Bảng 2). Có 4 trường hợp thất bại chiếm 28,57%: 2 ca xuất hiện u nang biểu mô giác mạc, phù giác mạc và viêm kết mạc nặng sau 2 tháng hỗ trợ

nội khoa không khỏi, 2 ca còn lại xuất hiện biến chứng nặng phù thũng nhãn cầu dẫn đến phải làm phẫu thuật loại bỏ nhãn cầu. Theo nghiên cứu của Mezzadri & ctv. (2021), các ca thực hiện phẫu thuật ghép cuống kết mạc có tình trạng thũng giác mạc, có hoặc không kèm sa mống mắt 25/27 ca, tỷ lệ thành công của phương pháp ghép này là 88,89% (24/27 ca được thực hiện).

Bảng 2. Tỷ lệ thành công của phương pháp phẫu thuật ghép cuống kết mạc (n = 14)

Chỉ tiêu khảo sát		Số ca	Tỷ lệ	
Thành công	Không biến chứng	8	80%	71,43%
	Có biến chứng	2	20%	
Thất bại	Không biến chứng	0	0	28,57%
	Có biến chứng	4	100%	

Hình 5 mô tả viêm loét giác mạc trên chó Pug đực từ lúc chẩn đoán đến hồi phục sau phẫu thuật ghép cuống kết mạc.

thuật ghép cuống kết mạc.



Hình 5. Phẫu thuật ghép cuống kết mạc thành công trên chó Pug đực. 1. Mắt được chẩn đoán có vết loét giác mạc sâu; 2. Dùng thuốc thử Fluorescein 2% chẩn đoán vị trí vết loét; 3. Phẫu thuật sau 3 tuần; 4. Lành hẳn sau 2 tháng.

Về tỉ lệ xuất hiện biến chứng nói chung, trong tổng số 14 ca phẫu thuật có 6 ca xuất hiện biến chứng, chiếm tỉ lệ 42,86%, gồm 1 ca xử lý bung chỉ, 1 ca phù giác mạc sử dụng thuốc nhỏ Brinzolamid (Azopt) ngày 2 lần trong 5 - 7 ngày và 2 ca này sau 2 tháng đều lành hẳn. Có 4 ca xuất hiện các biến chứng làm phẫu thuật thất bại gồm 1 ca u nang biểu mô giác mạc sau 24 ngày phẫu thuật, 1 ca bung chỉ rồi sau đó hoại tử nhãn

cầu ngày 38, 1 ca phù giác mạc sau 1 tuần không giảm, dẫn đến hoại tử nhãn cầu và 1 ca bung chỉ kết hợp u nang biểu mô giác mạc. Kết quả của Keenan & ctv. (2020) cho thấy các biến chứng xảy ra rất nhiều có 19/19 ca bị hình thành biểu mô hạt, 4/19 ca bị phù giác mạc và 5/29 ca bị u nang biểu mô giác mạc khi thực hiện phẫu thuật ghép cuống kết mạc. Hình 6 cho thấy một số biến chứng sau phẫu thuật ghép cuống kết mạc.



Hình 6. Một số biến chứng sau phẫu thuật ghép cuống kết mạc.

Hai biến chứng u nang biểu mô giác mạc và phù thủng loại bỏ nhãn cầu để lại những tổn thương bất buộc trên giác mạc. Nếu các tổn thương này nặng, không được hậu phẫu đúng cách sẽ dẫn đến các biến chứng trong thời gian 22 và 42 ngày sau phẫu thuật đối với u nang và phù thủng giác mạc. Các biến chứng bung chỉ, phù giác mạc xảy ra trong thời gian ngắn sau phẫu thuật với thời gian từ 2,5 ngày đối với bung chỉ và 5,5 ngày xuất hiện phù giác. Các biến chứng sau phẫu thuật trên chó Poodle đực bị u nang biểu mô giác mạc và phù thủng phải loại bỏ nhãn cầu được thể hiện qua Hình 7.

Thời gian lành vết thương trung bình là 39,45 ngày và chi phí phẫu thuật tính trung bình cho chó 5 kg là 402.200 đồng được trình bày qua Bảng 3. Có thể thấy chi phí phẫu thuật ở phương pháp ghép cuống kết mạc khá cao do các nguyên vật liệu như chỉ nhãn khoa để khâu vạt kết mạc; thêm vào đó phương pháp mổ mắt cần có bộ dụng cụ chuyên biệt cần phải đầu tư ban đầu và lượng thuốc mê cũng như lượng thuốc hậu phẫu sử dụng nhiều.



Hình 7. Biến chứng sau phẫu thuật trên chó Poodle đực. 1. Mắt trái bị viêm loét giác mạc có lỗ thủng; 2. Phẫu thuật ghép cuống kết mạc và may khép mí bên ngoài; 3. Sau 3 tuần phẫu thuật vật kết mạc tiến triển tốt; 4. Biến chứng phù giác mạc sau 4 tuần; 5. U nang biểu mô giác mạc lan rộng sau khoảng 6 tuần; 6. Nhãn cầu bị phù thủng, xuất huyết bắt buộc loại bỏ nhãn cầu.

Bảng 3. Chi phí phẫu thuật tính trên chó 5 kg

	Tên vật liệu	Đơn vị	Thành tiền (đồng)
Phí phẫu thuật	Zoletil	1 mL	90.000
	Xylazine	1 mL	8.000
	Chỉ tiêu	1 tép	90.000
	Chỉ nylon	1 tép	35.000
	Chỉ nhãn khoa	1 tép	130.000
	Atropin	0,5 mL	200
	Bông gạc	0,6 bọc	40.000
Phí hậu phẫu	Cefotaxim	0,5 mL	5.000
	Vitamin K1	0,5 mL	1.000
	Lesthionine	0,5 mL	3.000
Tổng cộng		402.200	

4. Kết Luận và Đề Nghị

Phương pháp phẫu thuật ghép củng kết mạc có thể được sử dụng trong điều trị viêm loét giác mạc trên chó. Phương pháp này được chỉ định trong các trường hợp vết loét sâu hoặc thủng giác mạc cần có mạch máu nuôi trực tiếp. Tuy nhiên, còn tồn tại khá nhiều nhược điểm như yêu cầu kỹ thuật cao, tỷ lệ biến chứng lớn, các tổn thương dễ xảy ra trong quá trình phẫu thuật. Cần có thêm những định hướng so sánh phương pháp này với một số phương pháp phẫu thuật điều trị viêm loét giác mạc như may khếp mí mắt và ghép giác mạc.

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)

- Cebrian, P., Escanilla, N., Lowe, R. C., Dawson, C., & Sanchez, R. F. (2021). Corneo-limbo-conjunctival transposition to treat deep and perforating corneal ulcers in dogs: a review of 418 eyes and corneal clarity scoring in 111 eyes. *Veterinary Ophthalmology* 24(1), 48-58. <https://doi.org/10.1111/vop.12833>.
- Doan, T. T. (2009). *The survey of eye diseases in dogs and records of treatment results at the diagnostic, testing and treatment center, Ho Chi Minh City Veterinary Department* (Unpublished master's thesis). Nong Lam University, Ho Chi Minh City, Vietnam.
- Gelatt, K. N., Gilger, B. C., & Thomas, J. K. (2013). *Veterinary ophthalmology* (5th ed.). Iowa, USA: Wiley-Blackwell.
- Hakanson, N. E., & Merideth, R. E. (1987). Conjunctival pedicle grafting in the treatment of corneal ulcers in the dog and cat. *The Journal of the American Animal Hospital Association* 23(6), 641-648.
- Hansen, P. A., & Guandalini, A. (1999). A retrospective study of 30 cases of frozen lamellar corneal graft in dogs and cats. *Veterinary Ophthalmology* 2(4), 233-241. <https://doi.org/10.1046/j.1463-5224.1999.00084.x>.
- Iwashita, H., Wakaiki, S., Kazama, Y., & Saito, A. (2020). Breed prevalence of canine ulcerative keratitis according to depth of corneal involvement. *Veterinary Ophthalmology* 23(5), 849-855. <https://doi.org/10.1111/vop.12808>.
- Kalaiselvan, A., Pawde, A. M., Kinjavdekar, P., Aithal, H. P., & Gupta, O. P. (2009). Occurrence of ocular affections in domestic animals. *Indian Journal of Animal Sciences* 79(10), 1020-1021.
- Keenan, A. V., Boveland, S. D., Rodriguez Galarza, R., & Moore, P. A. (2020). Corneconjunctival transposition with and without ACell® for deep corneal ulcer repair in 18 dogs. *Veterinary Ophthalmology* 23(5), 884-891. <https://doi.org/10.1111/vop.12815>.
- Kumar, T., Punia, M., Agnihotri, D., Sindhu, N., & Jain, V. K. (2018). Incidence of ophthalmic affections in dogs-A short study. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* 7(9), 1560-1565. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2018.709.187>.
- Le, V. T., Le, Q. T., Vu, K. C., & Doan, T. T. (2011). The survey of eye diseases in dogs and records of treatment results. *Journal of Veterinary Science and Technology* 18(7), 18-24.
- Mezzadri, V., Crotti, A., Nardi, S., & Barsotti, G. (2021). Surgical treatment of canine and feline descemetocoeles, deep and perforated corneal ulcers with autologous buccal mucous membrane grafts. *Veterinary Ophthalmology* 24(6), 599-609. <https://doi.org/10.1111/vop.12907>.
- Nguyen, Q. T. (2015). *Third eyelid ptosis (cherry eye) in dogs: Prevalence and comparison of two treatment methods* (Unpublished master's thesis). Nong Lam University, Ho Chi Minh City, Vietnam.
- Wagner, J., Nasisse, M., & Davidson, M. (1992). A retrospective study of conjunctival flaps in 67 dogs and 17 horses 1987 - 1991. *Veterinary Pathology* 29, 476.